

## **BAB II**

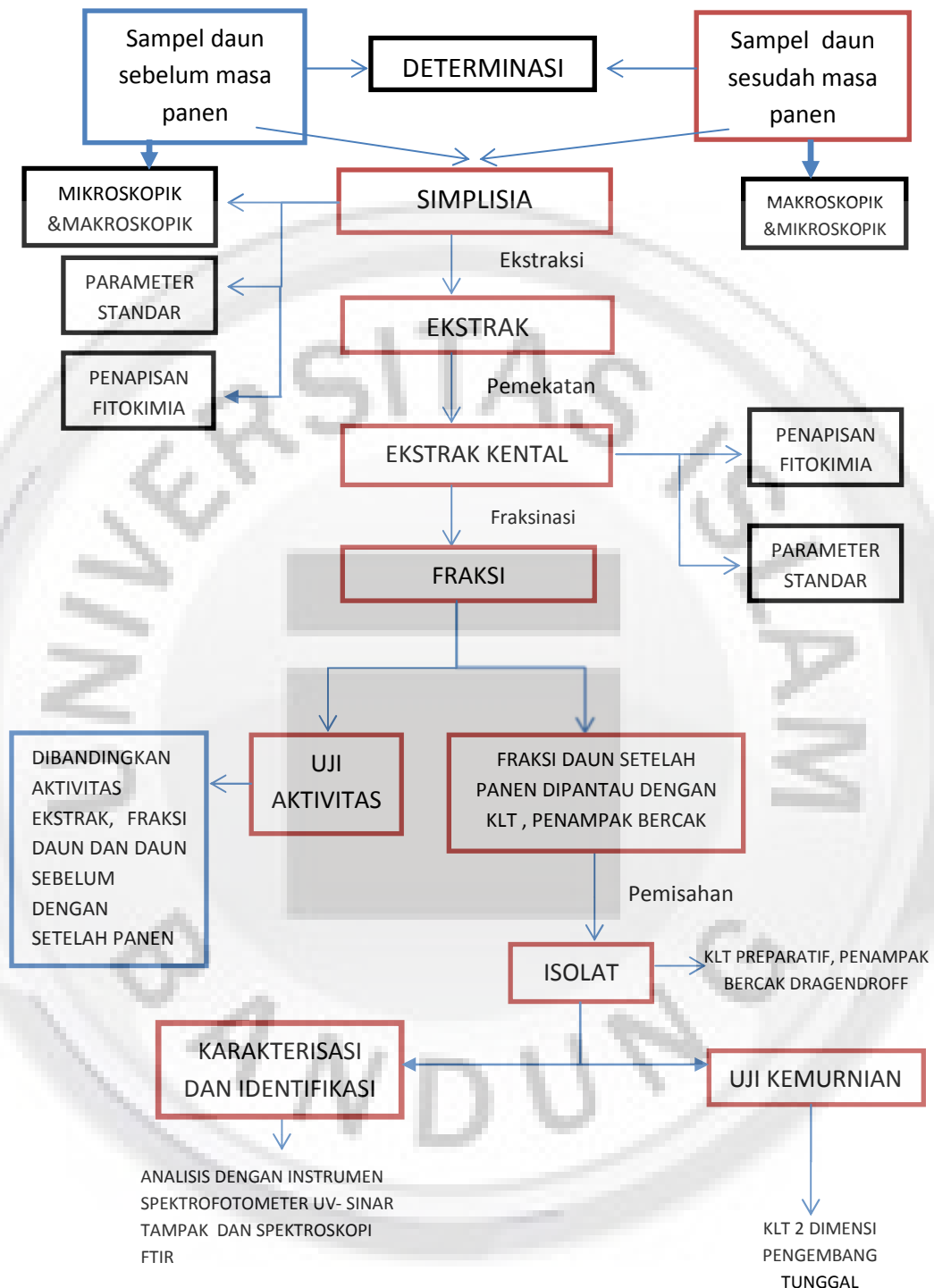
### **METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian mulai dilaksanakan pada bulan Februari 2014, pengumpulan dan proses pengambilan sampel dilakukan sejak bulan November 2013. Daun tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) diambil di desa Cibodas Lembang. Determinasi daun dilakukan di Herbarium ITB untuk memastikan jenis dari sampel. Sampel daun tomat sebelum dan setelah panen yang telah diambil kemudian dicuci untuk menghilangkan pengotor berupa tanah dan pasir. Setelah itu dilakukan proses pengeringan di bawah cahaya lampu 5 watt.

Simplisia dihaluskan kemudian diekstraksi dengan cara maserasi selama 3 hari dengan etanol 95% dimana ekstrak ditampung setiap harinya. Ekstrak kemudian dipekatkan dengan vaporasi menggunakan alat *vacum rotatory vaporator*, dan dilanjutkan dengan melakukan fraksinasi menggunakan ECC (ekstraksi cair-cair) yaitu dengan cara mengasamkan lalu membasakan ekstrak untuk didapatkan fraksi yang mengandung alkaloid. Ekstrak etanol dan fraksi yang didapat dari simplisia daun sebelum dan setelah panen diuji aktivitas anti bakteri terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum* menggunakan metode difusi agar. Kemudian ekstrak dan fraksi, daun tomat sebelum dan setelah masa panen di bandingkan aktivitas hambatnya dengan uji statistik. Fraksi daun tomat setelah masa panen, dipantau dengan menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan silika gel GF<sub>254</sub>, dan penampak bercak Dragendroff. Fraksi daun setelah

panen yang mengandung alkaloid lalu di lakukan pemisahan dengan KLT preparatif. Isolat yang didapat diuji kemurniannya dengan KLT 2 dimensi dan pengembang tunggal. Untuk penelusuran senyawa alkaloid yang terkandung dalam fraksi dianalisis menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Sinar Tampak dan Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier (FTIR). Diagram alir penelitian dapat dilihat pada **Gambar II.1**.





**Gambar II.1.** Diagram Alur Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri dan Isolasi Alkaloid dalam Daun Tomat