

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

Tahapan kerja dalam penelitian ini meliputi penyiapan bahan tumbuhan, pengujian parameter standar simplisia dan ekstrak (bobot jenis), penapisan fitokimia, ekstraksi, isolasi salah satu senyawa, uji kemurnian, dan karakterisasi senyawa isolat (**Gambar II.1**).

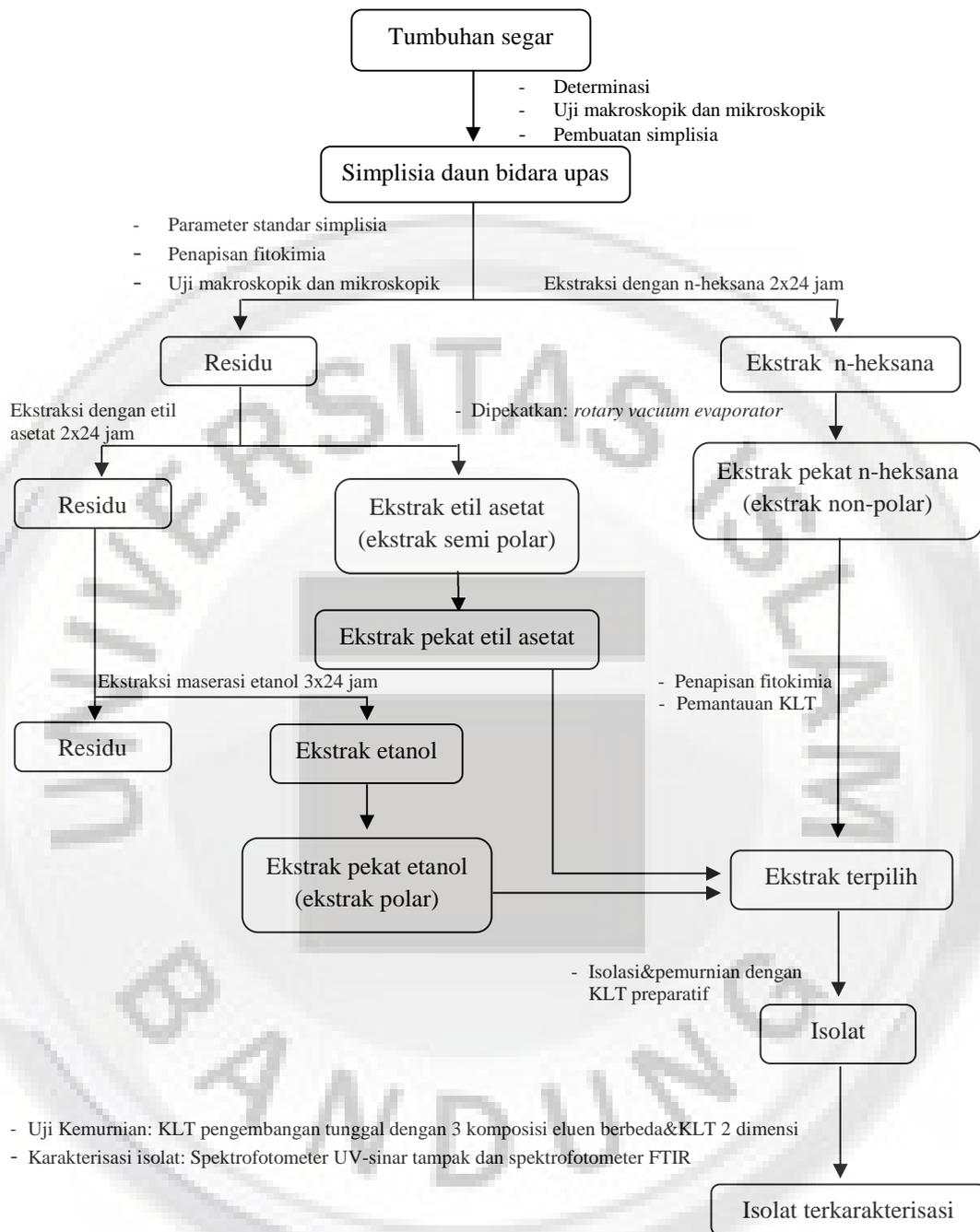
Bahan yang digunakan adalah daun bidara upas segar yang diperoleh dari Kediri, Jawa Timur. Penyiapan bahan terdiri dari pengumpulan bahan, determinasi tumbuhan, dan pembuatan simplisia. Pembuatan simplisia meliputi sortasi basah, perajangan, pengeringan, sortasi kering, dan penghalusan simplisia. Simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup rapat.

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tannin, dan steroid/terpenoid. Selain itu, dilakukan pemeriksaan parameter standar mutu simplisia yang meliputi pengujian parameter spesifik dan non-spesifik. Parameter spesifik yang diuji meliputi identitas (makroskopis dan mikroskopis), parameter organoleptis, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Parameter non-spesifik yang diuji meliputi kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, bobot jenis dan susut pengeringan.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi bertingkat berupa maserasi dengan menggunakan tiga pelarut dengan kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar) dan etanol (polar). Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* hingga menjadi

ekstrak pekat. Terhadap ekstrak pekat yang diperoleh, kemudian dilakukan penapisan fitokimia dan pemantauan komponen dalam ekstrak dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Terhadap ekstrak terpilih dilakukan isolasi salah satu senyawa menggunakan metode KLT preparatif sehingga diperoleh isolat. Uji kemurnian kemudian dilakukan terhadap isolat menggunakan metode KLT pengembangan tunggal dengan 3 komposisi fasa gerak berbeda dan KLT pengembangan dua dimensi. Selanjutnya dilakukan karakterisasi isolat menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak dan spektrofotometer Transformasi Fourier Inframerah/*Fourier Transform Infrared* (FTIR).



Gambar II.1. Diagram alir tahapan penelitian