

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan meliputi pengumpulan dan determinasi bahan, pembuatan simplisia, pemeriksaan parameter standar simplisia, ekstraksi, penetapan kadar alkaloid, fraksinasi, pemantauan fraksi, isolasi senyawa alkaloid, uji kemurnian, dan karakterisasi senyawa isolat. Tahapan metode yang dilakukan ditunjukkan pada **Gambar II.1**.

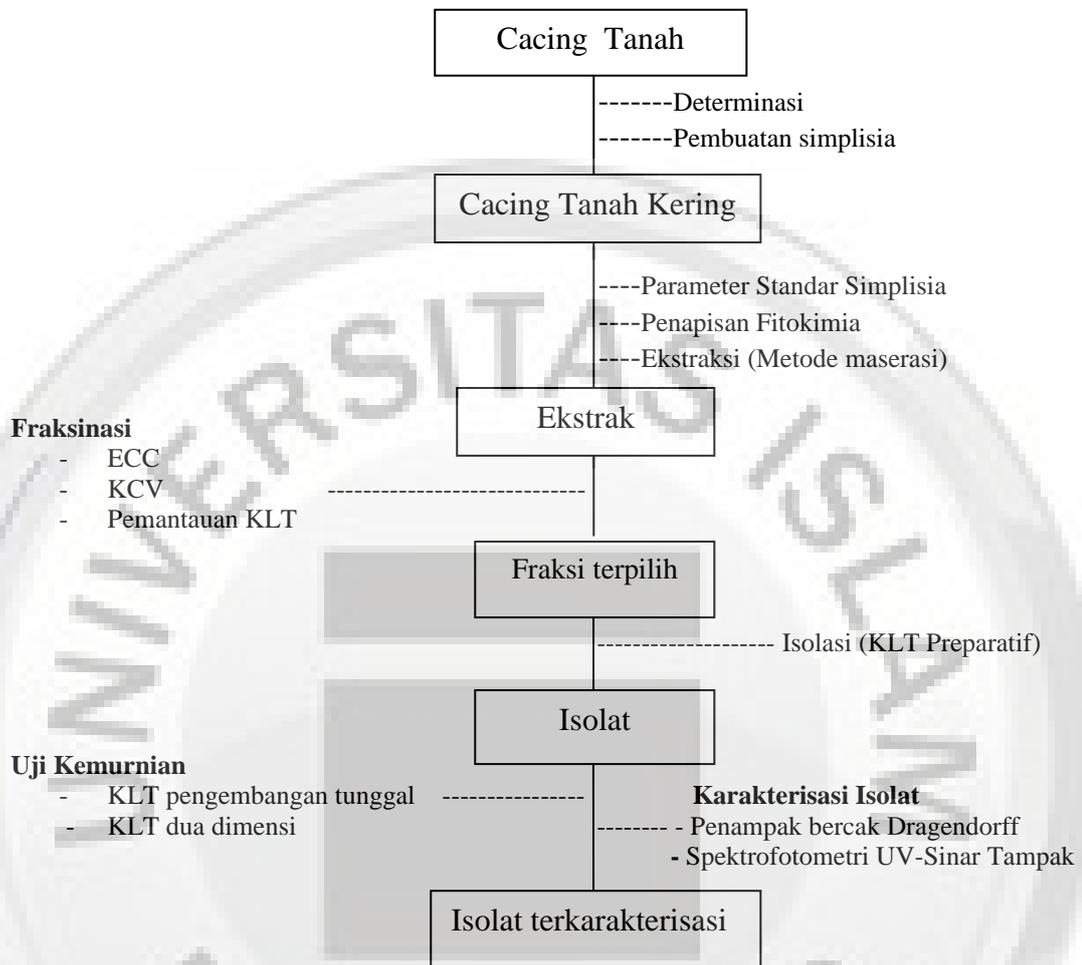
Penyiapan bahan terdiri dari pengumpulan bahan, determinasi, dan pembuatan simplisia. Pemeriksaan parameter standar simplisia terdiri dari parameter spesifik, yaitu parameter identitas, organoleptik, dan senyawa terlarut dalam pelarut tertentu serta parameter non spesifik, yaitu kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan kadar air.

Ekstraksi cacing tanah kering dilakukan dengan metode maserasi dengan waktu 3x24 jam pada suhu kamar. Fraksinasi terhadap ekstrak yang diperoleh dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut dengan kepolaran meningkat yaitu n-heksana, etil asetat dan air. Dilakukan fraksinasi kembali terhadap fraksi terpilih dengan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) menggunakan elusi secara landaian.

Setelah melakukan fraksinasi, dilakukan pemantauan terhadap setiap fraksi dan ekstrak yang dihasilkan dengan metode kromatografi lapis tipis dengan penampak bercak Dragendorff. Terhadap fraksi terpilih dilakukan isolasi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) preparatif sehingga diperoleh isolat.

Berikutnya dilakukan uji kemurnian dengan metode KLT pengembangan tunggal dengan 3 komposisi eluen yang berbeda dan KLT dua dimensi. Selanjutnya isolat dikarakterisasi dengan Penampak bercak Dragendorff dan Spektrofotometer UV-Sinar Tampak.





Gambar II.1 Diagram alir prosedur kerja