

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

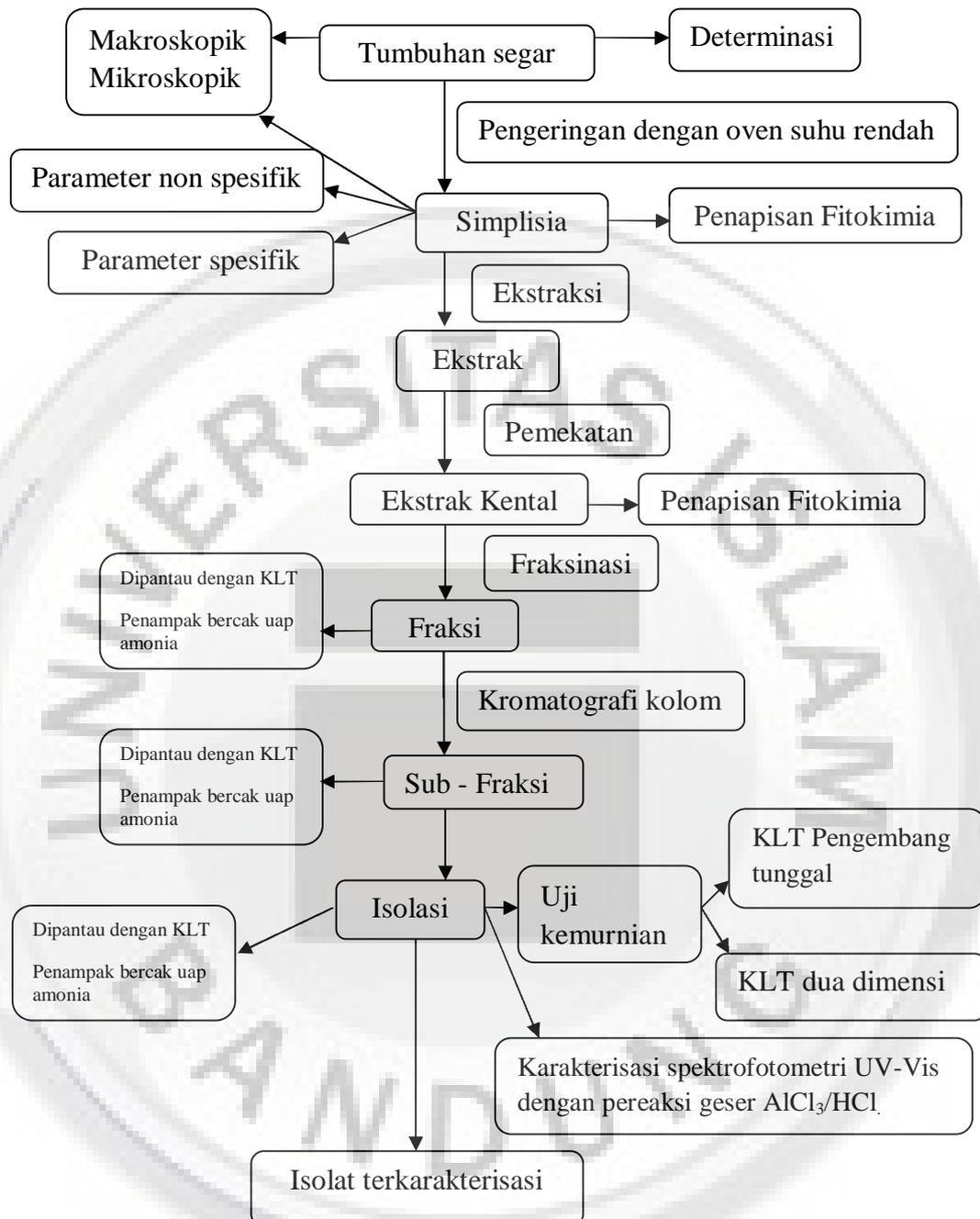
Penelitian mengenai isolasi senyawa flavonoid ekstrak etanol pada daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) meliputi pengumpulan bahan tanaman, determinasi, pengeringan simplisia, pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik, penapisan fitokimia, ekstraksi, karakterisasi ekstrak dan simplisia, fraksinasi, pemantauan KLT, dan isolasi terkarakterisasi. Penyiapan bahan meliputi pengumpulan bahan, determinasi bahan, dan pengolahan bahan hingga menjadi serbuk simplisia. Pengolahan bahan meliputi sortasi basah yang diambil dari daerah Subang selanjutnya dilakukan proses pencucian, pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C dan pembuatan serbuk dari daun yang telah dikeringkan. Determinasi bahan dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung bertujuan untuk memastikan kebenaran identitas bahan.

Pemeriksaan makroskopik meliputi pemeriksaan terhadap bentuk, warna dan karakteristik daun tumbuhan pacar air yang segar dan serbuk simplisianya. Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia pacar air dan untuk melihat struktur daun dilakukan dengan membuat penampang melintang daun.

Karakterisasi serbuk simplisia dan ekstrak meliputi parameter non spesifik (kadar abu, susut pengeringan bobot jenis, dan kadar air) parameter spesifik (organoleptik, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol). Penapisan fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, polifenol, saponin, monoterpen dan seskuiterpen, triterpenoid dan steroid dan kuinon.

Simplisia diekstraksi dengan ekstraksi cara dingin yaitu cara maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 95%. Ekstrak yang diperoleh dilakukan tahapan fraksinasi secara ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan air. Fraksi selanjutnya dipantau dengan kromatografi lapis tipis, untuk melihat profil kromatografi lapis tipis dari daun pacar air. Eluen yang digunakan n-heksana : etil asetat (5:5) dengan uap amonia.

Selanjutnya dilakukan isolasi menggunakan Kromatografi kolom dan KLT preparatif dengan pengembang yang sesuai, uji kemurnian menggunakan KLT dua dimensi, KLT pengembang tunggal dengan berbagai eluen yang cocok. Apabila sudah di dapat satu noda maka isolat telah murni. Selanjutnya isolat diidentifikasi dengan menggunakan metode spektrofotometri UV- Vis dengan menggunakan pereaksi geser $AlCl_3/HCl$. Hasil akhir penelitian ini akan diperoleh informasi golongan senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun pacar air. Bagan alir penelitian dapat dilihat pada **Gambar II.I**.



Gambar II.I Bagan alir Penelitian