

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif kualitatif, metode ini untuk mengidentifikasi senyawa metabolit alkaloid, tanin, saponin dan steroid pada ekstrak metanol daun kelengkeng dengan metode reaksi warna . Penelitian ini dapat mendeskripsikan data-data yang dikumpulkan agar memecahkan masalah.

B. Populasi dan sampel

Populasi pada penelitian ini adalah tanaman kelengkeng didaerah Kecamatan Kedungwuni Kabupaten Pekalongan Jawa Tengah. Sampel pada penelitian ini adalah daun kelengkeng yang masih segar kemudian di ekstrak dengan metanol.

C. Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat dan bahan sebagai berikut :

1. Alat

Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel daun kelengkeng adalah kantong plastik, gunting, timbangan, pisau, kertas label, tampah, kain hitam, blender, toples, sarung tangan, kain flanel, rotary vacum evaporator (*Scilogex*®), gelas ukur (*Pyrex*®). Alat yang dibutuhkan untuk identifikasi senyawa antara lain spatula, kertas saring, corong, pengaduk kaca (*Pyrex*®), tabung reaksi, pipet ukur, pipet tetes (*assistant*®), neraca analitik (*Pyrex*®).

2. Bahan

Daun kelengkeng yang masih segar diambil didaerah Kedungwuni Pekalongan Jawa Tengah, Metanol p.a, baku pembanding Kafein, Tanin, Saponin, Beta Sitosterol, Kloroform, pereaksi Mayer, Wagner, Asetat anhidrat dan Asam sulfat, Ammonia 10%, Liberman-Buchard, Vanilin-asam sulfat, Besi (III) klorida, larutan Gelatin, NaCl 10%, Aquadest, FeCl₃ 1%, Dragendroff, H₂SO₄ 2 N, HCl 2N.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Desember 2019 – Januari 2020. Pengambilan sampel daun kelengkeng didaerah Kedungwuni Kabupaten Pekalongan Jawa Tengah. Kegiatan penelitian ini dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Pekalongan.

E. Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian deskriptif kualitatif, untuk mengetahui senyawa golongan alkaloid, tanin, saponin dan steroid dengan metode reaksi warna. Penelitian ini menggunakan 2 tahap yaitu metode Ekstraksi dan Identifikasi. Ekstraksi dilakukan dengan pengumpulan daun kelengkeng kemudian di ekstrak dengan pelarut metanol, ekstrak yang didapat kemudian dilakukan Identifikasi golongan senyawa alkaloid, tanin, saponin, dan steroid dengan menggunakan reagen yang sesuai metode reaksi warna.

F. Prosedur penelitian

Sampel diambil dari Daerah Kedungwuni kemudian dilakukan identifikasi golongan senyawa alkaloid, tanin, saponin, steroid dengan metode reaksi warna.

1. Pengumpulan Bahan

Daun Kelengkeng yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Desa Ambokembang Kecamatan Kedungwuni Kabupaten Pekalongan . Daun Kelengkeng yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau tua dan segar sebanyak 4 kg.

2. Preparasi Sampel

- a. Sampel daun kelengkeng yang sudah diperoleh.
- b. Dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda benda-benda asing dan kotoran yang menempel pada daun .
- c. Dicuci bersih daun kelengkeng dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 3 hari .
- d. Kemudian serbuk daun kelengkeng kering dengan blender (Salamah & Widyasari, 2015).

3. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng

Serbuk daun kelengkeng ditimbang sejumlah 500,0 g dimasukkan kedalam wadah yang tertutup dan direndam dengan menggunakan pelarut metanol sebanyak 2.500 mL hingga seluruh simplisia terendam. Setiap 1 x 24 jam dilakukan pengadukan selama 3 hari, kemudian Fitrat yang diperoleh dipekatkan dengan Rotary Evaporator pada suhu 50°C diperoleh ekstrak kental kemudian dihitung randemennya (Salamah & Widyasari, 2015).

4. Identifikasi

- a. Uji Alkaloid

Baku pembanding yang digunakan adalah kafein

- 1) Ekstrak 1 mL ditambahkan beberapa tetes pereaksi Wagner, reaksi positif jika terbentuk endapan coklat dan negatif jika terjadi perubahan warna (Ikalinus, 2015).
- 2) Ekstrak sampel 1 mL ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendroff, reaksi positif terbentuknya endapan jingga (Ikalinus, 2015).
- 3) Ekstrak 1 g, ditambahkan 1 mL kloroform dan 5 mL ammonia 10% Lalu tambahkan 10 tetes asam sulfat 2 N untuk memperjelas pemisahan terbentuknya 2 fase yang berbeda. Fase bagian atas diambil, kemudian ditambahkan reagen Mayer adanya alkaloid dalam sampel ditandai dengan terbentuknya endapan merah (Isnani & Frenly, 2014).

b. Uji Tanin

Baku pembanding yang digunakan adalah tanin.

- 1) Sampel dididihkan dengan 20 mL air lalu disaring, ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%, reaksi positif dengan terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman (Ikalinus, 2015).
- 2) Ekstrak 0,5 g ditambahkan 2 mL gelatin, reaksi positif endapan putih (Wardhani, 2012).
- 3) Ekstrak 2 mL ditambahkan dengan 10 mL air panas, kemudian ditetesi menggunakan besi (III) klorida, reaksi positif ditandai warna hijau kehitaman (Isnani & Frenly, 2014).

c. Uji Saponin

Baku pembanding yang digunakan adalah saponin.

- 1) Ekstrak 1 mL ditambahkan 1 mL Vanilin-asam sulfat. Reaksi positif dengan adanya warna biru hingga ungu-biru (Hanani, 2017).
- 2) 1 mL larutan ekstrak ditambahkan pereaksi Liberman-Buchard. Reaksi positif dengan terbentuknya warna hijau hingga biru (Hanani, 2017).
- 3) Ekstrak 1 g ditambah air hangat, dikocok vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, ditambahkan HCl 2N 1 tetes busa tidak hilang (DepKes, 1995).

d. Steroid

Baku pembanding yang digunakan adalah Beta-sitosterol.

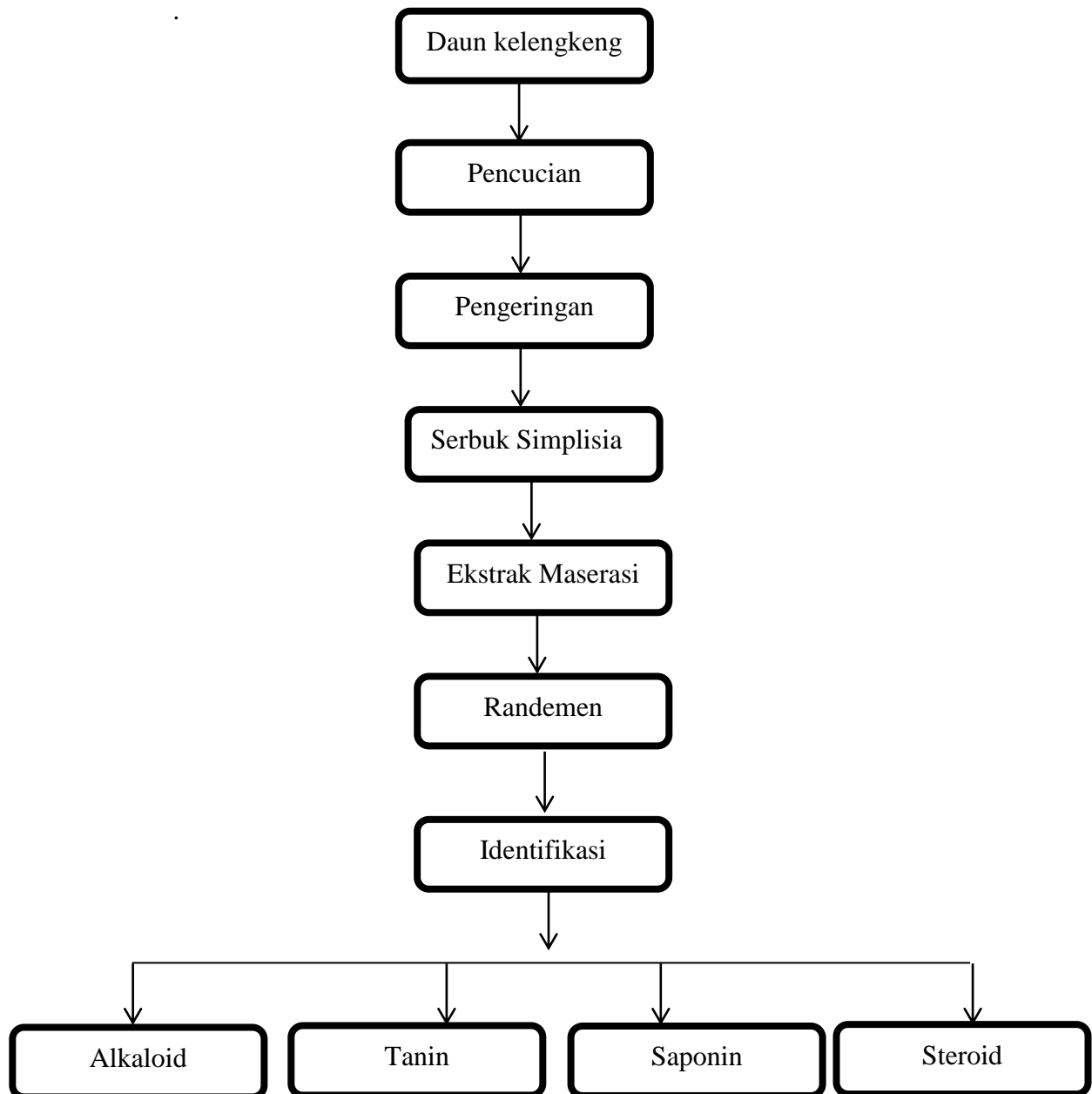
- 1) Ekstrak diambil 2 g dan ditambahkan 1 mL kloroform, setelah itu campuran dikocok lalu tambahkan asetat anhidrat dan asam sulfat masing-masing 2 tetes. Reaksi positif pertama kali merah kemudian biru dan hijau (Isnani & Frenly, 2014).
- 2) Larutan uji sebanyak 0,5 g diuapkan dalam cawan penguap residu dilarutkan dengan 0,5 ml Kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi. Terbentuknya cincin biru kehijauan adanya steroid (Mahatrinny, 2014).
- 3) 0,5 g sampel ditambah dengan pereaksi Liberman-Buchard 1 mL. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman

G. Analisa Data

Pengumpulan data dilakukan dengan melakukan pengujian identifikasi fitokimia senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol daun kelengkeng dengan metode reaksi warna (metode tabung) dengan menggunakan reagen yang berbeda-beda pada tiap pengujian senyawa dengan 3 kali percobaan dan 1 kali pembuatan larutan baku pembanding (kontrol positif) pada setiap pengujian senyawa.

Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis secara deskriptif dalam bentuk tabel hasil pengujian kemudian dideskripsikan dan dibandingkan dengan hasil pustaka yang ada.

H. Diagram Alir Cara Kerja



Gambar 6. Diagram alir kerja