

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Deskripsi Penelitian**

Lokasi pengambilan sampel bertempat di daerah Cihideung Lembang Kab Bandung Barat. Sampel yang diambil berupa tanaman KPD. Penelitian berlangsung sekitar 11 bulan dari bulan Maret 2009 sampai bulan Februari 2010. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Lingkungan FPMIPA UPI Bandung dan analisis logam dilakukan di Laboratorium Kimia B4T (Balai Besar Barang dan Bahan Teknik) Bandung.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: botol sampel, neraca analitik, pemanas listrik (*heater*), *vacuum rotary evaporator*, tabung reaksi, gelas ukur 10 mL, 100 mL, 500mL merk Pyrex, kertas label, kertas saring, spatula, corong pendek, batang pengaduk, gelas kimia 100 mL, 250 mL, 1L, 5L, merk Pyrex, pipet tetes, cawan penguapan, kaca arloji, botol timbang, pipet volme 10 mL, pipet mikro 1 mL, cawan krus, botol semprot, spektrofotometer FT-IR 8400 merk *Shimadzu* 8400, GC-MS merk *Shimadzu* QP 5050 Z.

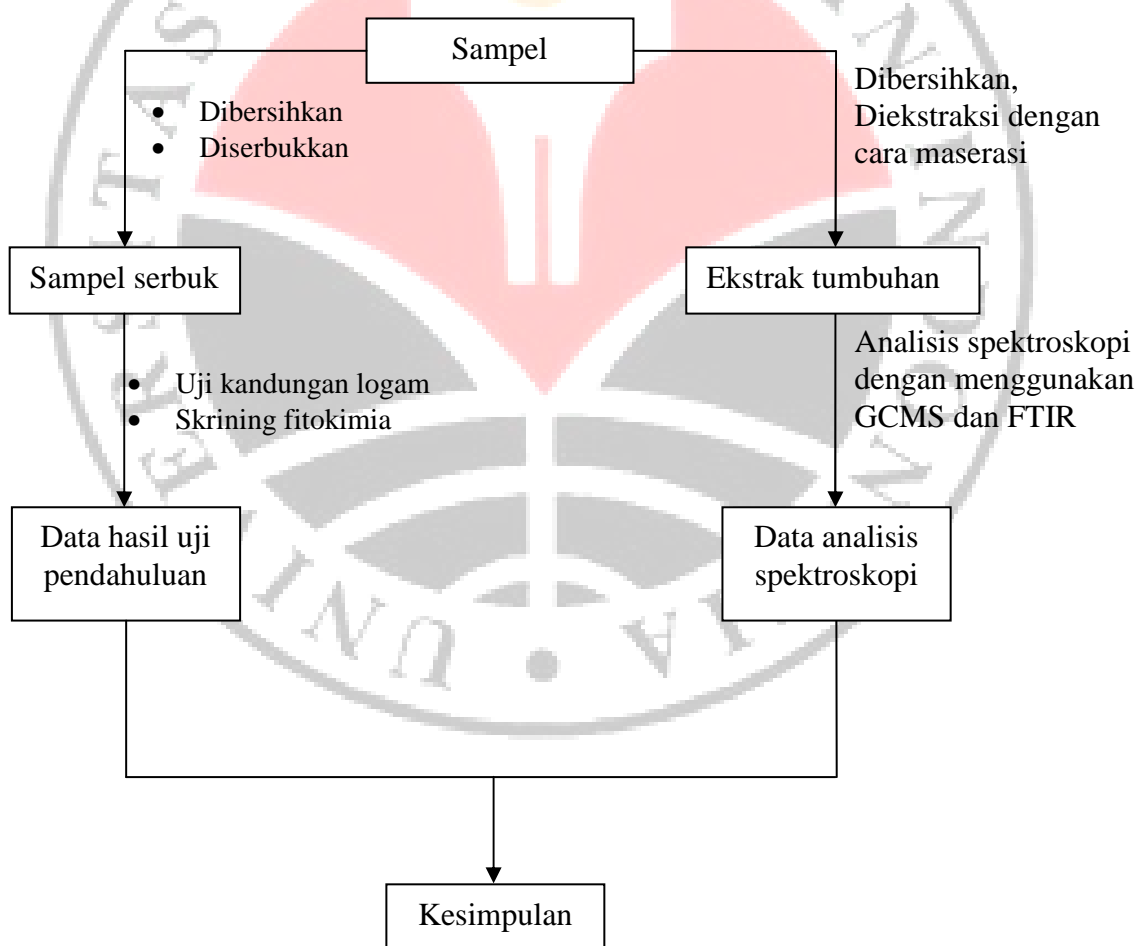
##### **3.2.2 Bahan**

Bahan atau zat-zat kimia yang digunakan dalam penelitian ini produk Merk *pure analytical grade* antara lain sebagai berikut: metanol, kloroform,

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaOH, etanol, indikator universal, KI, serbuk Mg, HCl, CH<sub>3</sub>COOH glasial, FeCl<sub>3</sub>.

### 3.3 Bagan Alir Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini dibagi dalam beberapa tahap . Tahapan tersebut meliputi pengumpulan bahan, uji pendahuluan, ekstraksi, analisis dan karakterisasi senyawa. Secara umum tahapan–tahapan tersebut dijelaskan pada gambar 3.1.



**Gambar 3.1** Bagan Alir Penelitian Secara Umum

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap yaitu tahap pengumpulan sampel, dilanjutkan dengan identifikasi awal sampel. Identifikasi awal sampel yang dilakukan adalah skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada sampel dan pengujian logam dengan menggunakan XRF, kemudian dilanjutkan dengan proses ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Setelah itu dilanjutkan dengan karakterisasi senyawa yang didapatkan dengan menggunakan FTIR dan GC-MS.

### **3.4 Prosedur Kerja**

#### **3.4.1 Pengumpulan Bahan**

Pengumpulan bahan dilakukan di daerah Cihideung Lembang, sebanyak tujuh kilogram tanaman KPD. Tanaman KPD kemudian dicuci dengan air sampai bersih sehingga bebas dari debu dan kotoran yang menempel, selanjutnya dilakukan penyortiran. Yang dipakai hanya bagian yang bagus dan tidak terkena hama dan penyakit.

#### **3.4.2 Pembuatan Larutan**

Larutan- larutan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

1. Pereaksi Mayer, dibuat dengan cara 1,358 gram  $\text{HgCl}_2$  dilarutkan kedalam 60 mL akuades, 5 gram KI dilarutkan ke dalam 10 mL akuades, kemudian dicampurkan dan diencerkan sampai 100mL.
2. Larutan NaOH 0.1N, dibuat dengan melarutkan 0,4 gram NaOH dalam 10 mL akuades.

3. Larutan HCl 0,1N, dibuat dengan mengencerkan asam klorida pekat 12M sebanyak 0,2 mL diencerkan sampai 24 mL dengan akuades.
4. Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M, dibuat dengan mengencerkan asam sulfat pekat 18M sebanyak 10 mL diencerkan sampai 90 mL.
5. Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5%, dibuat dengan mengencerkan asam sulfat pekat 18M sebanyak 2,5 mL dan diencerkan sampai 500mL.

### 3.4.3 Uji Pendahuluan

Setelah dicuci sampai bersih, tanaman KPD kemudian dikeringkan dan dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang ada dalam tanaman.

- **Pemeriksaan Alkaloid**  
Ekstrak kental KPD sebanyak 1 mL ditambahkan 5 tetes kloroform dan beberapa pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan berwarna putih menunjukkan adanya alkaloid.
- **Pemeriksaan Flavonoid**  
Ekstrak kental KPD sebanyak 1 mL ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat. Terbentuknya warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.
- **Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid**  
Ekstrak kental KPD sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL asam asetat glasial dan 1 mL asam sulfat pekat. Terbentuknya warna merah

menunjukkan adanya terpenoid sedangkan terbentuknya warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid.

- Pemeriksaan Tanin

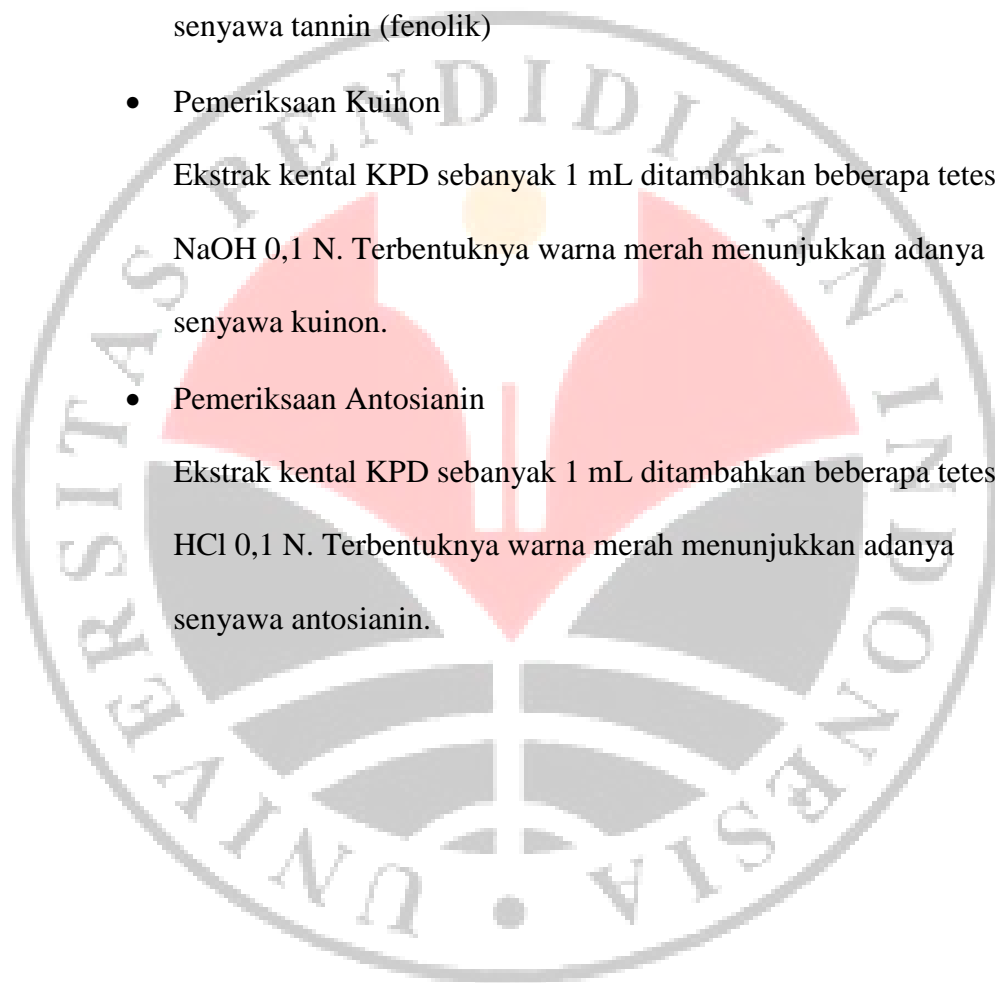
Ekstrak kental KPD sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Terbentuknya warna biru tua menunjukkan adanya senyawa tannin (fenolik)

- Pemeriksaan Kuinon

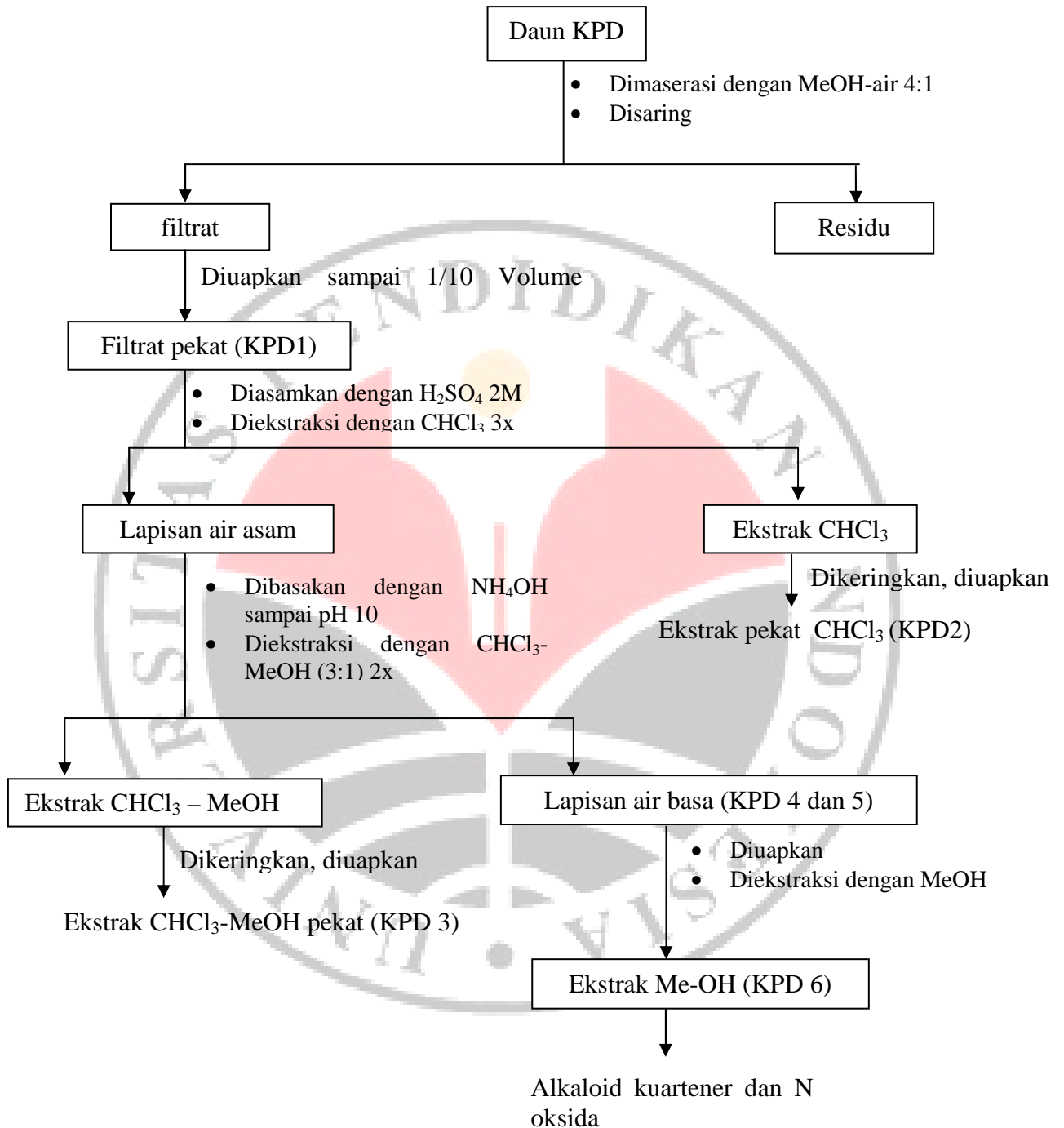
Ekstrak kental KPD sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes  $\text{NaOH}$  0,1 N. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya senyawa kuinon.

- Pemeriksaan Antosianin

Ekstrak kental KPD sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes  $\text{HCl}$  0,1 N. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya senyawa antosianin.



### 3.4.4 Ekstraksi KPD dengan cara maserasi



**Gambar 3.2** Ekstraksi KPD dengan cara maserasi

Tanaman KPD sebanyak tujuh kg yang telah dicuci sampai bersih dimaserasi dengan pelarut metanol air dengan perbandingan 4:1 di dalam wadah kaca yang bersih kemudian ditutup dengan rapat. Tanaman dimaserasi sampai warna hijau dari daun KPD memudar kemudian disaring. Filtrat yang didapatkan kemudian dipekatan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* sampai 1/10 volume.

Filtrat pekat diasamkan dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (aq) 2M sampai pH 4 kemudian diekstraksi dengan  $\text{CHCl}_3$  p.a sebanyak tiga kali sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan yang terbentuk dipisahkan. Ekstrak  $\text{CHCl}_3$  (KPD 2) diuapkan dan dikeringkan (ekstrak polar pertengahan) kemudian dianalisis menggunakan FTIR dan GC-MS.

Lapisan air asam dibasakan dengan  $\text{NH}_4\text{OH}$  (aq) sampai pH 10, kemudian diekstraksi dengan  $\text{CHCl}_3$ -metanol dengan perbandingan 3:1 sebanyak dua kali dan dengan  $\text{CHCl}_3$ . Lapisan yang terbentuk dipisahkan. Pada lapisan air basa terbentuk endapan kemudian endapan (KPD 4) disaring dan dipisahkan untuk selanjutnya dianalisis dengan FTIR dan GCMS. Lapisan air basa (KPD 5) diuapkan, kemudian diekstraksi dengan Metanol. Lapisan air basa (KPD 5) dan lapisan metanol (KPD 6) dianalisis dengan FTIR dan GC-MS. Lapisan Ekstrak  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (KPD 3) diuapkan dan dianalisis dengan FTIR dan GC-MS.

### 3.4.5 Tahap Karakterisasi

Tahap karakterisasi yang dilakukan adalah uji kandungan logam dengan menggunakan XRF, uji FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam hasil ekstraksi dan uji GC-MS untuk mengetahui senyawa apa saja yang terdapat dalam sampel hasil ekstraksi

#### 3.4.5.1 Uji XRF

Untuk mengetahui kandungan logam yang terdapat dalam KPD dilakukan analisis dengan menggunakan XRF (X-Ray Fluorescence). Sampel yang diuji adalah tumbuhan KPD dan pasta KPD yang berasal dari ekstrak metanol.

#### 3.4.5.2 Uji FTIR

Untuk menentukan gugus fungsi pada sampel hasil ekstraksi, digunakan spektroskopi inframerah FTIR 8400. Sampel yang diuji sebanyak lima sampel yaitu antara lain tanaman KPD, ekstrak metanol KPD hasil evaporasi (KPD), ekstrak  $\text{CHCl}_3$  (KPD 2), ekstrak  $\text{CHCl}_3$ -Metanol (KPD 3), endapan yang berasal dari lapisan air basa (KPD 4), lapisan air basa (KPD 5) dan lapisan metanol (KPD 6).

Semua sampel mendapatkan perlakuan yang sama, dimana sampel harus bebas air dan dihaluskan kemudian dipadatkan dan dianalisis dalam bentuk pelet KBr. Spektrum direkam dalam daerah bilangan gelombang dari  $4000\text{ cm}^{-1}$  sampai  $600\text{ cm}^{-1}$ .



### 3.4.5.3 Uji GC-MS

Uji GC-MS ini bertujuan untuk mengetahui senyawa apa saja yang terdapat dalam sampel hasil ekstraksi. Sampel yang diuji sebanyak empat sampel yaitu antara lain ekstrak metanol KPD hasil evaporasi (KPD), ekstrak  $\text{CHCl}_3$  (KPD 2), ekstrak  $\text{CHCl}_3$ -Metanol (KPD 3), endapan yang berasal dari lapisan air basa (KPD 4), lapisan air basa (KPD 5) dan lapisan metanol (KPD 6). Semua sampel dilarutkan di dalam pelarut yang sesuai kemudian diinjeksikan ke dalam kolom alat GC-MS.

