

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan selama lima bulan, terhitung dari bulan Maret hingga bulan Agustus 2023. Lokasi penelitian dilakukan pada tiga tempat, yaitu :

- a. Proses pemisahan dan pemurnian senyawa metabolit sekunder dari fraksi non-polar dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Hayati FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.
- b. Karakterisasi dengan spektroskopi NMR dilakukan di Laboratorium Kimia Institut Teknologi Bandung.
- c. Karakterisasi dengan spektroskopi FTIR dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.

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

##### **3.2.1 Alat**

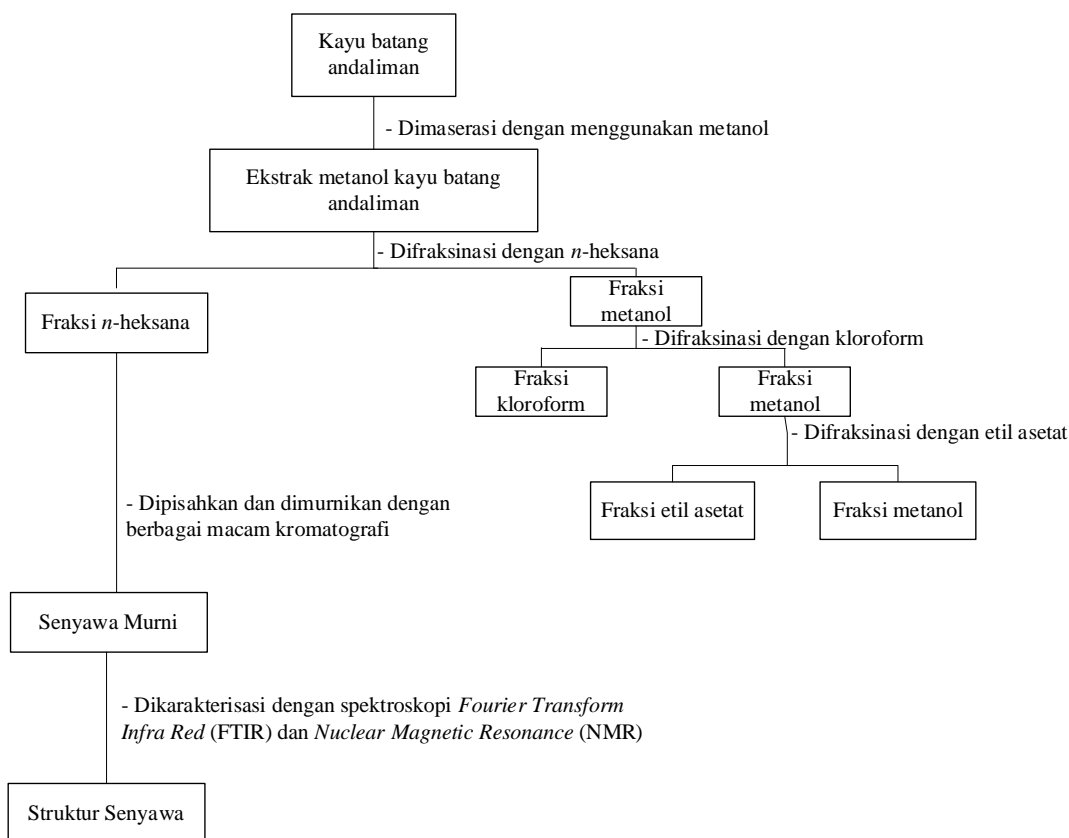
Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik, gelas kimia, labu ukur, labu Erlenmeyer, *vacuum rotatory evaporator*, botol vial (100 mL dan 10 mL), corong pisah, statif dan klem, pipet tetes, spatula, chamber untuk kromatografi lapis tipis, pensil, penggaris, pinset, lampu UV 254 nm, set alat kromatografi cair vakum (KCV), set alat kromatografi kolom gravitasi (KKG), spektrometer *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak metanol kayu batang andaliman, aquades, metanol, n-heksana, etil asetat, diisopropil eter, kloroform, silika gel 60 ukuran 70-230 mesh untuk impregnasi sampel pada kromatografi cair vakum (KCV) dan sebagai fasa

diam pada kromatografi kolom gravitasi (KKG), silika gel 60 GF<sub>254</sub> sebagai fasa diam pada kromatografi cair vakum (KCV), plat silika gel 60 F<sub>254</sub> untuk kromatografi lapis tipis, pipa kapiler, kertas saring, selotip dan sealtape.

### 3.3 Bagan Alir Penelitian



**Gambar 3.1** Bagan alir penelitian

### 3.4 Tahapan Penelitian

#### 3.4.1 Ekstraksi

Sampel kayu batang andaliman diperoleh dari daerah Toba Samosir, Sumatera Utara, Indonesia pada tahun 2018. Tumbuhan ini dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, LIPI, Cibinong, Jawa Barat. Kayu batang andaliman sebanyak 8 kg dihaluskan hingga menjadi serbuk. Sebanyak 3 kg serbuk kayu batang andaliman kemudian dimaserasi

Eka Nikita Pratiwi, 2023

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI METABOLIT SEKUNDER DARI FRAKSI NON-POLAR KAYU BATANG ANDALIMAN (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) ASAL SUMATERA UTARA**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

dengan menggunakan metanol selama 3×24 jam pada suhu ruang. Ekstrak metanol kayu batang andaliman kemudian dipekatkan dengan evaporator vakum untuk selanjutnya dilakukan penimbangan massa total ekstrak metanol yang diperoleh. Dalam penelitian ini, proses ekstraksi tidak dilakukan karena sudah dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Ekstrak metanol kemudian dilakukan KLT untuk dapat mengetahui banyaknya komponen senyawa pada ekstrak metanol kayu batang andaliman.

### 3.4.2 Fraksinasi

Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Dalam tahap fraksinasi digunakan tiga pelarut yaitu, *n*-heksana, kloroform, dan etil asetat. Proses fraksinasi ekstrak metanol ini diawali dengan menggunakan pelarut *n*-heksana. Fraksi sisa metanol dari ekstraksi *n*-heksana kemudian difraksinasi lebih lanjut dengan kloroform dan etil asetat secara berturut-turut.

Dalam penelitian ini proses isolasi senyawa metabolit sekunder dari kayu batang andaliman difokuskan pada fraksi *n*-heksana. Fraksi *n*-heksana yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan evaporator vakum untuk mengetahui massa fraksi *n*-heksana yang akan dikerjakan lebih lanjut. Fraksi *n*-heksana ini juga dilakukan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui eluen yang cocok pada proses pemisahan selanjutnya.

### 3.4.3 Pemisahan dan Pemurnian

Fraksi *n*-heksana yang sudah pekat dilakukan pemisahan dengan metode KCV. Proses pemisahan dengan KCV ini menggunakan kolom dengan diameter 7 cm. Eluen yang digunakan untuk KCV fraksi *n*-heksana didasarkan pada hasil KLT fraksi *n*-heksana yaitu *n*-heksana 100%, campuran *n*-heksana dan etil asetat pada perbandingan tertentu. Fraksi hasil KCV kemudian dianalisis menggunakan KLT, yang nantinya fraksi dengan pola noda yang sama akan digabungkan dan dipekatkan dengan evaporator vakum. Salah satu fraksi gabungan hasil KCV dipisahkan lebih lanjut

dengan menggunakan kolom KCV yang lebih kecil. Selanjutnya pemisahan juga dilakukan dengan menggunakan metode KKG, disesuaikan dengan hasil pola noda pada plat KLT dan massa dari masing-masing fraksi. Proses ini dilakukan beberapa kali hingga diperoleh isolat murni.

#### **3.4.4 Uji Karakterisasi Senyawa Murni**

Senyawa murni yang telah diperoleh kemudian dilakukan uji karakterisasi dengan menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) untuk analisis gugus fungsi dan spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) untuk analisis penentuan struktur.