

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Sampel dan Lokasi Penelitian

Sampel atau bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Artocarpus communis* (sukun) yang diperoleh dari Garut, Jawa Barat serta mencit jantan galur Swiss Webster dengan bobot badan rata-rata 20-40 gram yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Institut Teknologi Bandung (PAU ITB).

Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium Riset dan Laboratorium Instrumen, FPMIPA UPI, Laboratorium Kimia LIPI Serpong, dan Laboratorium Farmasi UNIGA.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan pada tahap isolasi dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, perangkat alat destilasi, penguap berputar vakum (*vaccum rotary evaporator*), pompa vakum, corong *Buchner*, kolom kromatografi vakum cair diameter 7 cm, dan kolom kromatografi tekan. Sedangkan alat instrumen yang digunakan untuk karakterisasi adalah spektrometer ^1H NMR dan ^{13}C NMR JEOL JNM ECA-500 serta spektrometer FTIR SHIMADZU 8400.

Adapun bahan utama yang digunakan adalah daun sukun yang telah dibersihkan dan dikeringkan. Sedangkan bahan kimia yang digunakan meliputi

berbagai pelarut organik dan silika gel. Pelarut teknis yang kemudian didestilasi, diantaranya metanol, etanol 70%, etil asetat, n-heksan, diklorometan dan aseton. Jenis-jenis silika gel yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain silika gel Merck 60 GF₂₅₄, silika gel Merck 60 (70 - 230 mesh), silika gel Merck 60 (35 - 70 mesh), dan plat KLT kieselgel Merck 60 F₂₅₄ dengan ketebalan 0,25 mm.

3.3 Metodologi Penelitian

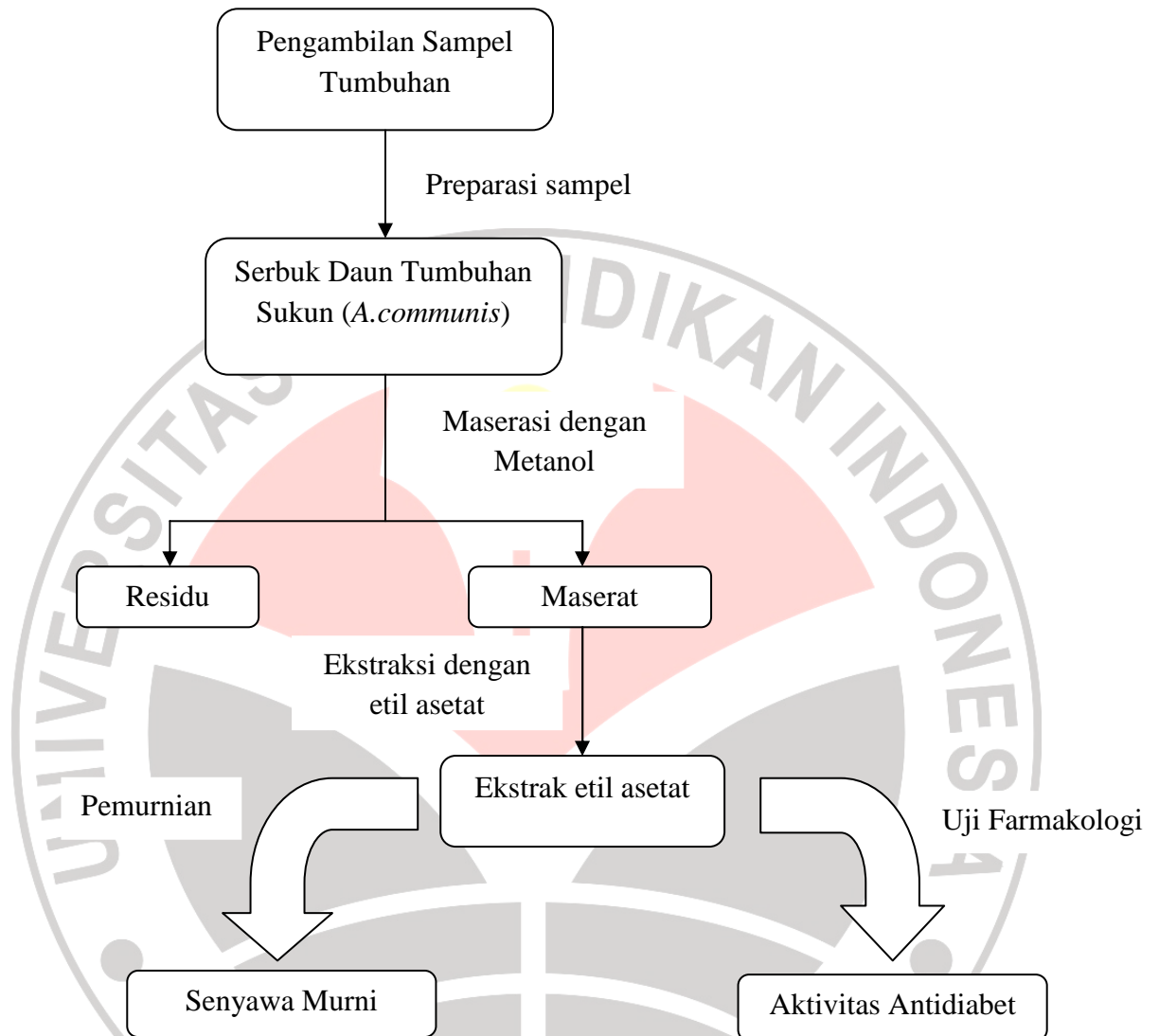
Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahapan tersebut yaitu penyiapan sampel, ekstraksi, fraksinasi, uji fitokimia, uji farmakologi, dan karakterisasi. Bagan alir penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.1.

1) Penyiapan Sampel Tumbuhan

Tahap awal penelitian dimulai dari pengambilan sampel daun *Artocarpus communis* (sukun) yang berada di daerah Garut, Jawa Barat. Daun sukun yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu dari kotoran yang menempel. Setelah itu, dikeringkan dengan bantuan sinar matahari sampai kering. Sampel yang telah kering kemudian dihaluskan dengan mesin penggiling sampai berbentuk serbuk. Kemudian serbuk daun sukun yang diperoleh ditimbang untuk mengetahui berat daun dalam kondisi yang telah dikeringkan.

2) Proses Ekstraksi

Serbuk daun sukun (*Artocarpus communis*) diekstraksi menggunakan pelarut metanol. Teknik ekstraksi yang digunakan ialah ekstraksi cair-padat dengan metode maserasi. Sampel direndam dalam pelarut metanol 20 liter selama 3 x 24 jam.



Gambar 3.1. Bagan Alir Penelitian

Ekstrak hasil maserasi kemudian disaring menggunakan corong *Buchner*. Lalu filtratnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dalam keadaan vakum. Ekstrak pekat metanol kemudian ditimbang dan diencerkan kembali menggunakan 1000 ml air hangat. Kemudian disaring dengan corong *Buchner* sehingga diperoleh kembali ekstrak metanol.

Ekstrak metanol yang telah diencerkan difraksinasi dengan etil asetat sehingga diperoleh ekstrak etil asetat dan metanol sisa. Masing-masing ekstrak yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan cara penguapan menggunakan alat *rotary evaporator* sampai diperoleh massa yang tetap dari masing-masing ekstrak.

3) Uji Skrining Fitokimia

Ekstrak Etil Asetat diidentifikasi komponen fitokimianya dengan metode pereaksi warna yang bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak. Uji skrining fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, tanin dan saponin. Prosedur kerja yang dilakukan ialah sebagai berikut :

1. Pemeriksaan Alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan dengan 5 tetes kloroform dan beberapa tetes Pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya alkaloid.

Pembuatan Pereaksi Mayer yaitu satu gram KI dilarutkan dalam 20 ml aquades sampai semuanya melarut. Lalu ke dalam larutan KI tersebut dimasukkan 0,271 gram HgCl_2 sampai larut.

2. Pemeriksaan Flavonoid

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara, ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Timbulnya warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

3. Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid

Pemeriksaan terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara, ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan 1 ml CH_3COOH glasial dan 1 ml H_2SO_4 pekat. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya terpenoid sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid.

4. Pemeriksaan Tanin

Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara, ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 5%. Adanya perubahan warna menunjukkan adanya senyawa tanin (fenolik).

5. Pemeriksaan Saponin

Pemeriksaan saponin dilakukan dengan cara, ekstrak sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan aquades. Kemudian tabung dikocok dengan kuat selama 10 menit. Lalu diamati perubahan yang terjadi. Terbentuknya busa atau buih menandakan adanya saponin.

4) Uji Farmakologi Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun

Aloksan monohidrat dosis 70 mg/kg bb diberikan secara intra vena melalui ekor mencit. Perkembangan diabetes diuji setiap hari dengan menentukan kadar gula darah dalam urin dengan menggunakan stik glukotest. Mencit yang positif diabetes pada stik glukotest akan memberikan warna hijau.

Mencit diabetes aloksan dipuaskan selama 16 jam, kemudian diambil darah mencit sebagai kadar glukosa awal. Mencit dibagi menjadi 6 kelompok mencit. Masing-masing kelompok terdiri dari tiga ekor mencit. Kepada masing-masing

kelompok mencit diberi perlakuan sebagai berikut : kelompok I diberi suspensi tragakan 2% sebagai kelompok kontrol positif, kelompok II diberi air suling sebagai kelompok kontrol negatif, kelompok III diberi ekstrak etil asetat daun sukun dosis 50 mg/kg bb, kelompok IV diberi ekstrak etil asetat daun sukun dosis 100 mg/kg bb, kelompok V diberi ekstrak etil asetat daun sukun dosis 200 mg/kg bb, dan kelompok VI diberi pembanding glibenklamid dosis 0,65 mg/kg bb.

Sediaan uji diberikan secara peroral sebanyak 0,5 ml/20 g bb satu kali sehari terhadap semua kelompok perlakuan selama 14 hari. Pengambilan cuplikan darah dilakukan dengan cara memotong sedikit bagian ekot mencit. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan sebelum pemberian zat uji pada jam ke-1 setelah pemberian sediaan uji pada hari ke-1, 7, dan 14.

5) Isolasi dan Karakterisasi Senyawa

Ekstrak etil asetat daun sukun kemudian dipisahkan dan dimurnikan lebih lanjut dengan berbagai teknik kromatografi, antara lain Kromatografi Vakum Cair (KVC), Kromatografi Kolom Tekan (KKT), dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Senyawa murni yang diperoleh dikarakterisasi dengan alat spektroskopi ^1H NMR dan ^{13}C NMR JEOL JNM ECA-500 untuk mengetahui jumlah dan jenis H dan C dalam struktur senyawa murni yang diperoleh serta spektrometer FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa murni yang diperoleh.