

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan mulai bulan Maret 2023 hingga Agustus 2023. Lokasi pelaksanaan penelitian isolasi dan karakterisasi dilakukan di Laboratorium Riset Kimia, FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1 Alat

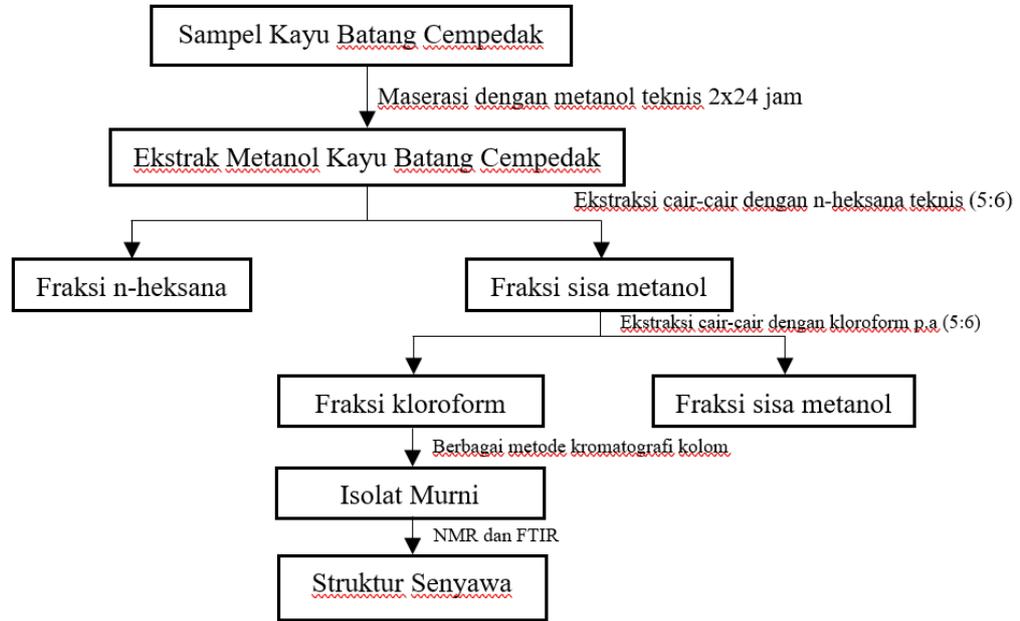
Alat yang digunakan untuk tahap isolasi dan pemurnian pada penelitian ini adalah gelas kimia 250 mL; 500 mL; 1000 mL, neraca analitik, gelas ukur 10 mL; 100 mL, labu dasar bulat 500 mL, spatula, batang pengaduk, corong pisah 500 mL, corong Buchner, labu Erlenmeyer 500 mL, pipet tetes, botol vial 10 mL; 100 mL; 300 mL; 500 mL, set *rotatory evaporator*, set Kromatografi Cair Vakum (KCV) dengan kolom berdiameter 7 cm dan 5 cm, chamber Kromatografi Lapis Tipis (KLT), set Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLT-P), dan lampu ultraviolet (UV) dengan panjang gelombang 254 nm. Alat yang digunakan untuk tahapan karakterisasi adalah spektrofotomer *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) 1D ( $^1\text{H-NMR}$ )

##### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah kayu batang cempedak (*Artocarpus integer*) yang dikumpulkan dari Tasikmalaya pada tahun 2023 kemudian spesimen kayu batang cempedak dideterminasi di Herbarium Bandungense SITH ITB, Jatinangor. Bahan lain yang digunakan pada penelitian ini adalah pelarut metanol teknis dan pro analisis, etil asetat teknis, kloroform pro analisis, *n*-heksana teknis, aseton teknis, aquades, kertas saring, pipa kapiler, silika gel 60 (70-230 mesh) untuk impregnasi pada KCV dan plat 60 F<sub>254</sub> untuk pengujian KLT dan plat silika PF<sub>254</sub> 20 cm x 20 cm untuk KLT-P.

### 3.3 Prosedur Penelitian

Tahap ekstraksi, pemurnian dan karakterisasi ditunjukkan dengan bagan alir pada Gambar 2.



Gambar 2. Bagan alir penelitian

### 3.4 Tahapan Penelitian

#### 3.4.1 Preparasi sampel

Pada penelitian ini digunakan 3 kg batang cempedak yang diperoleh dari Tasikmalaya, Jawa Barat. Batang cempedak dikuliti terlebih dahulu untuk memisahkan kayu batang dengan kulit terluar. Kayu batang yang sudah bersih dirajang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, 1 kg kayu batang cempedak digiling untuk memperoleh serbuk simplisia kayu batang cempedak.

#### 3.4.2 Ekstraksi

Serbuk simplisia sebanyak 839 gram diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol teknis selama 2x24 jam dengan pengambilan ekstrak setiap 1x24 jam. Ekstrak hasil maserasi disaring dengan corong Buchner kemudian dipekatkan menggunakan evaporator vakum. Ekstrak metanol dibagi menjadi dua bagian. Sebanyak

100 mL dari ekstrak metanol dipekatkan sampai kering untuk mendapatkan massa total dari ekstrak metanol. Bagian sisanya difraksinasi lebih lanjut dengan n-heksana dan etil asetat.

### 3.4.3 Fraksinasi dan Purifikasi

Ekstrak metanol yang sudah dipekatkan sebelumnya, akan difraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Pelarut yang digunakan pada ekstraksi cair-cair ini adalah n-heksana dan kloroform. Proses fraksinasi diawali dengan menggunakan n-heksana. Selanjutnya, fraksi sisa metanol difraksinasi lebih lanjut dengan kloroform. Pada penelitian ini, isolasi senyawa flavonoid dari kayu batang difokuskan pada fraksi kloroform. Fraksi kloroform dipekatkan menggunakan evaporator vakum kemudian ditimbang untuk mengetahui massa yang diperoleh. Setelah diketahui massanya, dilakukan KLT terlebih dahulu untuk menentukan eluen dan perbandingan yang tepat untuk tahap pemisahan selanjutnya.

Fraksi kloroform yang sudah pekat akan dipisahkan dengan menggunakan metode KCV. Fraksi kloroform dilarutkan dengan menggunakan aseton kemudian diimpregnasi ke dalam silika gel berukuran 70-230 mesh. Kolom yang digunakan untuk KCV ini berdiameter 5 cm. Eluen yang digunakan dalam pemisahan dengan KCV ini didasarkan pada hasil KLT fraksi kloroform yaitu etil asetat 100% serta campuran n-heksana dan etil asetat pada perbandingan tertentu. Fraksi hasil KCV selanjutnya dianalisis dengan KLT untuk melihat pola noda dari setiap hasil KCV. Hasil KCV dengan noda yang sama selanjutnya digabungkan dan dipekatkan dengan evaporator vakum.

Salah satu dari beberapa fraksi KCV gabungan dipilih untuk dipurifikasi lebih lanjut. Proses ini dilakukan beberapa kali merujuk pada kemurnian dari isolat yang didapatkan dari hasil KLT. Fraksi yang dipilih kemudian dipurifikasi dengan menggunakan KLT-P untuk diperoleh isolat murni.

### 3.4.5 Karakterisasi Senyawa Murni

Senyawa murni yang sudah diperoleh akan dikarakterisasi dengan menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) 1D ( $^1\text{H-NMR}$ ) untuk analisis struktur senyawa tersebut.