

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada awal bulan Maret hingga akhir bulan Juni. Adapun lokasi pelaksanaan penelitian ini terbagi menjadi dua tempat. Proses ekstraksi dan isolasi dilakukan di laboratorium kimia organik Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA UPI, dan uji karakterisasi spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ dilakukan di laboratorium kimia Institut Teknologi Bandung (ITB).

3.2 Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas kimia, labu Erlenmeyer, gelas ukur, neraca analitik, spatula besi, ayakan, corong, kertas saring, pipa kapiler, *rotary evaporator*, lampu ultraviolet, botol vial, set alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan silika gel GF₂₅₄, set alat Kromatografi Cair Vakum (KCV) menggunakan silika gel 60, Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) menggunakan silika GF₂₅₄, dan spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR).

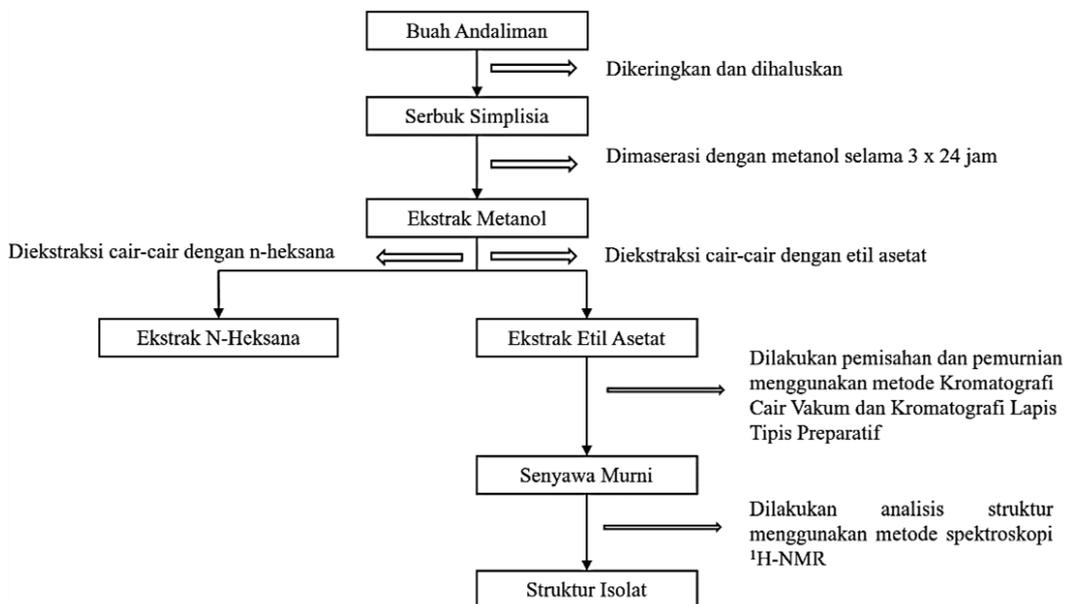
2. Bahan

Buah andaliman dikumpulkan dari Toba Samosir pada tahun 2018 kemudian spesiemen andaliman di determinasi di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi, LIPI, Cibinong.

Adapun bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, metanol, dan n-heksana teknis, etil asetat teknis dan etil asetat *pro analysis*.

3.3 Bagan Alir Prosedur Penelitian

Berikut merupakan bagan alir penelitian yang dilakukan



3.4 Tahapan Penelitian

1. Pengumpulan bahan tumbuhan dan penyiapan sampel

Buah dari tanaman andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) diperoleh dari Sumatera Utara. Sampel tanaman tersebut dikeringkan dan dihaluskan hingga menjadi serbuk simplisia.

2. Ekstraksi

Ekstraksi serbuk kering (simplisia) dilakukan dengan pelarut metanol teknis menggunakan metode maserasi 3x24 jam dengan 1 kali pengambilan ekstrak setiap 24 jam. Kemudian diekstraksi cair-cair dengan cara fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak etil asetat selanjutnya dikeringkan hingga bebas pelarut dengan menggunakan penguap gasing (*rotary evaporator*) vakum. Namun proses ini tidak dilakukan oleh penulis, melainkan ekstrak etil asetat telah tersedia dari penelitian sebelumnya.

3. Analisis kromatografi lapis tipis (KLT)

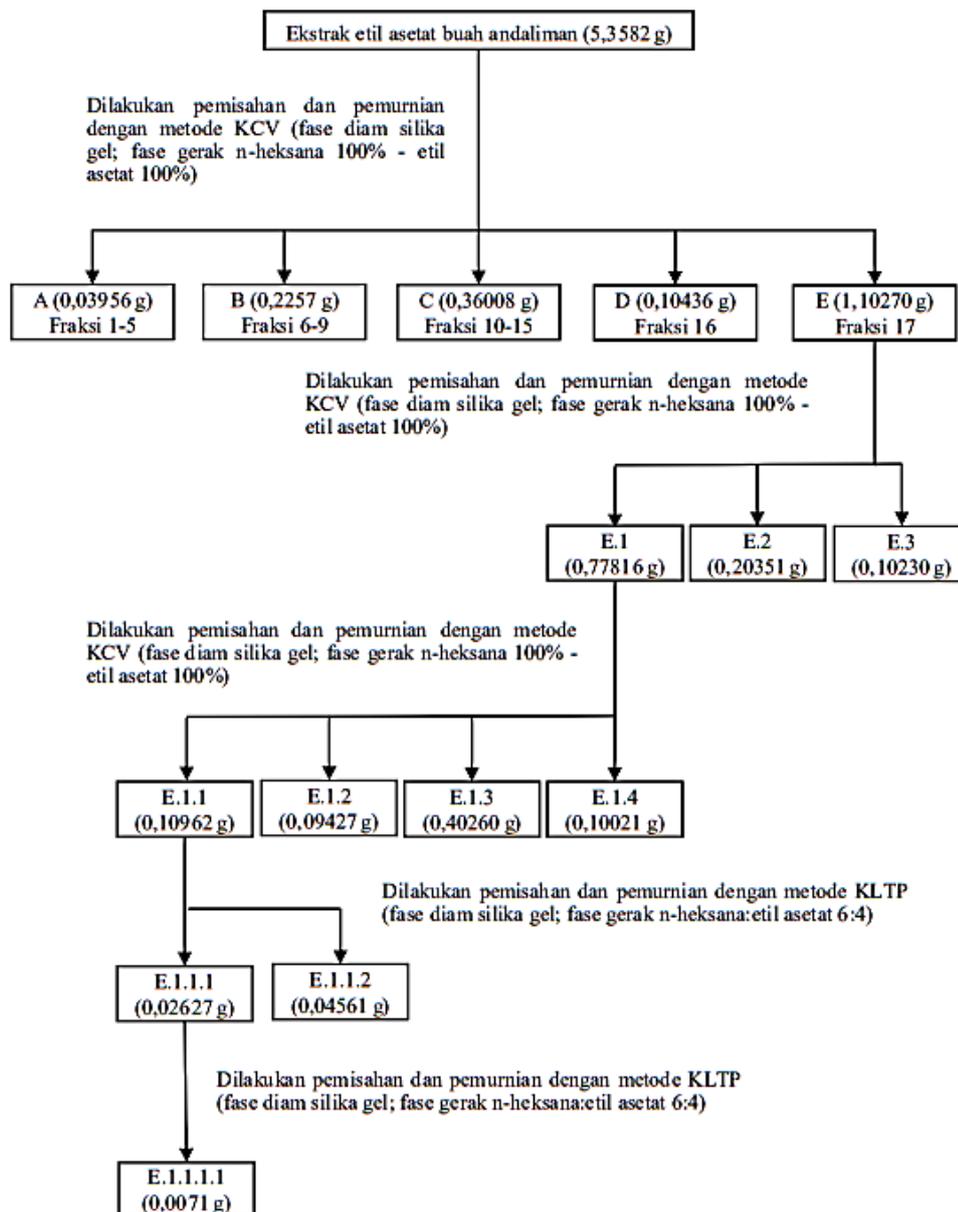
Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) pada tahap ini dimaksudkan untuk mengetahui perkiraan jumlah komponen yang akan diisolasi, serta penentuan jenis-jenis eluen yang sesuai pada tahapan fraksinasi.

4. Fraksinasi

Ekstrak etil asetat yang telah dikeringkan selanjutnya difraksinasi menggunakan metoda kromatografi cair vakum (KCV). Eluen yang digunakan adalah etil asetat (EtOAc) dan n-heksana. Hasil fraksinasi juga dimonitor oleh analisis KLT.

5. Pemurnian komponen

Fraksi etil asetat selanjutnya dimurnikan dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif. Fase gerak kromatografi dipilih sedemikian rupa sehingga sesuai untuk tahap pemurnian. Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat dan n-heksana dengan perbandingan tertentu. Tahap ini dilakukan beberapa kali, sesuai dengan hasil pengujian kemurnian dengan menggunakan KLT. Tahapan pemisahan dan pemurnian senyawa disajikan dalam bagan sebagai berikut



6. Analisis (penentuan) struktur senyawa murni

Analisis (penentuan) struktur dilakukan berdasarkan metoda spektroskopi, yaitu dengan proton *Nuclear Magnetic Resonance* ($^1\text{H-NMR}$) pada CDCl_3 pada frekuensi 500 MHz dengan spektrometer agilent DD2.