

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan September 2015 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya. Pengukuran spektroskopi IR dan ¹H-NMR dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung, Bandung. Pengukuran spektroskopi GC-MS dilakukan di Laboratorium Analisa Instrumen, Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari seperangkat alat destilasi, *grinder*, seperangkat alat *rotary evaporator*, berbagai peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium kimia, pipa kapiler, chamber, lampu UV, oven, botol vial, *hot plate*, neraca analitik, seperangkat alat kromatografi cair vakum, seperangkat alat kromatografi radial, seperangkat alat kromatografi gravitasi, alat pengukur titik leleh Fisher-Johns, FTIR Perkin ELMER *Spectrum One*, NMR Agilent DD2 (500 MHz ¹H-NMR) dan GC-MS Shimadzu-QP 5050.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari sampel buah mengkudu (*M. citrifolia* Linn.), pelarut-pelarut seperti metanol, *n*-heksana, etil asetat teknis (Brataco, Indonesia) yang kemudian didestilasi, kloroform p.a (Merck, Jerman), aseton p.a (Fisons, Inggris), plat kromatografi lapis tipis silika gel G 60 F₂₅₄, silika gel G 60 (35-70 mesh) untuk impregnasi, silika gel G 60 untuk kromatografi cair vakum, plat kromatografi radial silika gel G 60 PF₂₅₄, silika gel G 60 (230-400 mesh) untuk kromatografi gravitasi dan serum sulfat 1,5% dalam H₂SO₄ 2 N.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

Sampel buah mengkudu segar berwarna kuning keputihan diperoleh dari daerah Jalan Lunjuk Jaya, Bukit Besar, Palembang. Semua bagian buah mengkudu yang terdiri dari kulit, biji dan daging buah dibersihkan, dipotong tipis-tipis, kemudian dijemur di bawah sinar matahari sampai kering. Sampel yang telah kering digiling hingga berbentuk serbuk.

3.3.2 Ekstraksi Senyawa Kimia

Serbuk buah mengkudu sebanyak 1 kg diekstraksi dengan cara maserasi (direndam) dengan pelarut metanol selama 1 x 24 jam dan dilakukan dua kali pengulangan. Setiap pengulangan dilakukan penyaringan untuk memisahkan ekstrak metanol dari ampasnya. Filtrat dari setiap pengulangan maserasi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Masing-masing ekstrak pekat metanol dicampurkan kemudian dipekatkan kembali dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol dan kemudian disimpan dalam wadah tertutup.

3.3.3 Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Kimia

Terhadap ekstrak pekat metanol dilakukan analisa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan berbagai sistem eluen untuk melihat kandungan kimia dan untuk mengetahui eluen yang tepat yang akan digunakan untuk proses pemisahan dengan teknik Kromatografi Cair Vakum (KCV). Ekstrak pekat metanol buah mengkudu dilarutkan dalam aseton dan diimpregnasi dengan cara ditambahkan silika gel G 60 dengan perbandingan 1:2 lalu diaduk hingga tercampur merata. Setelah itu pelarutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan.

Kolom KCV dibuat dengan cara memadatkan silika gel G 60 dengan perbandingan 1:10 di dalam kolom menggunakan pompa vakum sambil ditekan hingga padat sempurna. Setelah itu kolom dielusi dengan n-heksan, kemudian sampel yang telah diimpregnasi diletakkan di bagian atas kolom silika gel G 60 dan ditutup dengan kertas saring. Proses elusi dilakukan menggunakan eluen yang

diperoleh dari hasil analisa KLT dengan kepolaran yang meningkat.

Masing-masing eluat dari hasil KCV ditampung dalam botol kemudian pelarutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dianalisa dengan KLT untuk melihat pola nodanya. Eluat dengan pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi, sehingga diperoleh beberapa fraksi. Fraksi yang berpotensi dipisahkan lebih lanjut menggunakan berbagai teknik kromatografi hingga didapatkan senyawa murni.

3.3.4 Uji Kemurniaan Senyawa Hasil Isolasi

Kemurnian senyawa hasil isolasi ditentukan dengan KLT menggunakan berbagai sistem eluen. Senyawa dikatakan murni jika memperlihatkan satu noda pada plat KLT. Uji kemurnian juga dilakukan dengan mengukur titik leleh. Senyawa dikatakan murni jika memiliki range titik leleh $< 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.3.5 Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi

Senyawa murni yang diperoleh dari hasil isolasi selanjutnya dilakukan pengukuran menggunakan spektroskopi IR, $^1\text{H-NMR}$ dan GC-MS untuk mengidentifikasi struktur senyawa tersebut.