BAB III
TATA KERJA

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu alat-alat gelas (*Pyrex*), *Vortex,* Spektrofotometri Uv-Vis (*Shimadzu).*

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah simplisia kunyit *(Curcuma domestica* Val.*)*, silika gel 60, vanillin-asam sulfat, Aseton, *n*-heksana, etil asetat, kloroform, aseton, diklorometan, Akuadest bidestillata, vanillin asam-sulfat, asetonitril, metanol pro analisis.

3.2 Metodologi Penelitian

Metode penelitian meliputi proses pengumpulan bahan tanaman rimpang kunyit (*Curcuma domestika* Val.), ekstraksi simplisia rimpang kunyit dengan ekstraksi maserasi, isolasi senyawa bisakuron dengan berbagai pelarut dan identifikasi hasil isolasi dengan Spektrofotometri UV.

3.2.1 Persiapan Bahan Baku Simplisia

7 kg Simplisia rimpang kunyit di bersihkan dengan air bersih lalu dirajang dan dikeringkan dengan cara dioven pada suhu kurang lebih 50ºC selama 40 jam (Chassagnez-Méndez *et al.*, 2000)

3.2.2 Ekstraksi

Simplisia rimpang kunyit kering dimaserasi menggunakan aseton dengan perbandingan 1:2 (b/v) dan direndam selama 3 x 24 jam dalam wadah maserasi dan dilakukan pengadukan secara berkala kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental (Wahyuningtias, dkk, 2017).

3.2.3 Parameter Standarisasi Simplisia dan Ekstrak

a. Organoleptis

Penetapan organoleptik dilakukan dengan mengamati kekhususan bau dan rasa simplisia yang diuji (Depkes RI 1987).

b. Identifikasi Senyawa Seskuiterpen

1. Penapisan Fitokimia

Simplisia atau ekstrak kunyit dilarutkan kedalam petroleum eter, kemudian diuapkan hingga kering, dan ekstrak pekat yang dihasilkan ditambah dengan preaksi vanillin 10% dalam asam sulfat. Hasilnya adalah larutan yang menghasilkan warna ungu (Muti'ah, dkk., 2013).

2. Kromatografi Lapis Tipis

Disiapkan alat dan bahan yang digunakan meliputi fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF_{254} dan fase gerak atau eluen yang digunakan yaitu *n*-heksan dan kloroform (9:1). Ditotolkan sampel pada lempeng silika gel yang telah diberi batas pada masing-masing bagian dengan menggunakan pipa kapiler. Dimasukkan lempeng silika gel dalam chamber. Dielusi hingga gerak eluen mencapai garis batas atas. Dikeluarkan lempeng dan dikering anginkan. diamati noda yang terbentuk pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm, dengan penambahan penampak bercak vanillin-asam sulfat dan dipanaskan noda dengan warna ungu menandakan senyawa golongan seskuiterpen (Muti'ah, dkk., 2013).

3.2.4 Pemisahan

Ekstrak didekantasi dengan *n*-heksana, Fraksi kemudian di pekatkan kemudian dihitung rendemen dan identifikasi senyawa. Fraksi diambil sebanyak 5ml dicampur dengan adsorben silika gel 60 sebanyak 5 gram lalu dibiarkan mengering. Campuran fraksi dan silika gel diambil masing-masing 1 gram dan dilarutkan dengan masing-masing pelarut *n*-heksana, etil asetat, kloroform, aseton, diklorometan (Yusin, dkk., 2014) dengan perbandingan 1:5 (b/v) kemudian dilakukan pengadukan (Vitasari, dkk., 2016).

Selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan kertas saring, filtrat diuapkan kemudian di analisa kandungan senyawa bisakuron.

3.2.5 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Pemurnian isolat dilakukan dengan kromatografi lapis tipis preparatif dengan fase diam silika gel 60H GF_{254} dan fase gerak n-heksan : etil asetat (9:1) (Muti'ah, dkk.,2013) . Kemudian dideteksi di bawah sinar UV 254 nm. Bercak yang terbentuk diduga bisakuron dikerok dan dilarutkan dengan metanol, kemudian isolat dipisahkan dari silika gel dan ditampung pada vial.

3.2.6 Identifikasi Bisakuron

Isolat yang diperoleh dilarutkan dengan metanol dan dianalisis menggunakan Spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum di 237 – 240 nm (Uehara *et al.,* 1989;Wang *et al.,* 2016).