

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Bahan Kimia dan Peralatan yang dipergunakan

Sampel yang digunakan adalah daging buah tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* dengan nama daerah mentimun gagak, merupakan koleksi laboratorium Kimia Organik FMIPA UNRI (Eryanti dkk 2004, 2005).

Bahan kimia yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah metanol, asam klorida, heksana, amoniak, diklorometan, natrium sulfat anhidrat, silica gel, etil asetat dan lain-lain.

Peralatan yang digunakan adalah rotary evaporator, plat KLT, kolom kromatografi corong pisah dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium kimia organik.

3.2. Prosedur kerja isolasi senyawa alkaloid

1. Sampel buah dipotong-potong dan dikeringkan. Setelah kering sampel diblender hingga diperoleh sebanyak 460,7 gram. Kemudian sampel tersebut dimaserasi dengan metanol selama 2x24 jam dan disaring, diperoleh filtrat berwarna kecoklatan. Maserasi dilakukan beberapa kali sampai warnanya bening.
2. Ekstrak metanol yang berwarna kecoklatan diuapkan dan diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 42 gram yang berwarna coklat kehitaman.

Ekstrak kental metanol sebanyak 42 gram diasamkan dengan HCl 1 N dan dibiarkan selama 1x24 jam. Kemudian dilakukan ultrasonifikasi selama 15 menit dan disaring (dilakukan sebanyak 3x).

Lapisan asan dipartisi dengan heksan untuk menghilangkan senyawa non-polarnya. Kemudian lapisan asam dibasakan dengan larutan amonia (basa lemah) hingga pH nya 8.5 dan dipartisi dengan diklorometan (diulangi beberapa kali).

Kemudian lapisan diklorometan dicuci dengan air untuk menghilangkan basa. Untuk mengeringkan air tambahkan Na_2SO_4 anhidrat.

3. Lapisan dikloromatan yang mengandung alkaloid diuapkan dan diperoleh total crude alkaloid sebanyak 0.417 gram dan dikolom dengan kromatografi kilat.
4. Crude alkaloid sebanyak 0.2 gram dipreadsorbsi dengan silika gel. Kemudian dimasukkan dalam kolom. Elusi dilakukan dengan eluen dimulai dari etil asetat 100% dan kepolaran ditingkatkan dengan kenaikan kepolaran metanol sampai perbandingan etil asetat : metanol 5;5. diperoleh 46 fial.
5. Sampel lalu di TLC dengan eluen etil asetat : metanol (7:3) dan diperoleh 1 fraksi. Fraksi gabungan larut dalam pelarut metanol dan dilakukan analisa dengan IR, UV dan ¹H-NMR.