

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh metode maserasi-sokletasi dan pelarut n-heksana – etanol 96% terhadap skrining fitokimia dan profil KLT ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Urb.) Mill).

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Universitas Borneo Lestari Banjarbaru, Kalimantan Selatan pada Bulan Januari – Mei 2024.

#### **3.3 Variabel Penelitian**

##### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metode maserasi-sokletasi dan pelarut n-heksana – etanol 96%.

##### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil skrining fitokimia dan profil KLT ekstrak umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Urb.) Mill).

### 3.4 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, batang pengaduk (PT. *Pandu Multi Jaya*<sup>®</sup>), botol semprot, blender (*Maspion*<sup>®</sup>), cawan porselen (PT. *Pandu Multi Jaya*<sup>®</sup>), *chamber*, gelas beker (*Pyrex*<sup>®</sup>), gelas ukur (*Pyrex*<sup>®</sup>), hotplate (IKA<sup>®</sup>), kertas saring, lampu UV 254 nm dan 366 nm, *mesh* 20 (*Pharmalab*<sup>®</sup>), oven (*Memmert*<sup>®</sup>), pipa kapiler, *rotary evaporator* (IKA<sup>®</sup>), seperangkat alat maserasi dan alat soklet (*Pyrex*<sup>®</sup>), tabung reaksi (*Pyrex*<sup>®</sup>), timbangan analitik (OHAUS<sup>®</sup>), vial, *waterbath* (*Memmert*<sup>®</sup>).

#### 3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian untuk pembuatan ekstrak adalah etanol 96% (*Merck*<sup>®</sup>), n-heksana, simplisia umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Urb.) Mill). Untuk skrining fitokimia dan KLT adalah AlCl<sub>3</sub> (*Nitrat kimia*), amil alkohol (*Emsure*<sup>®</sup>), asam galat, asam klorida p (HCl), aquadest, eleutherine (*Nitrat kimia*), FeCl<sub>3</sub> (PT. Kimia Jaya), gelatin (*Nitrat kimia*), HCl pekat (*Nitrat kimia*), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (*Merck*<sup>®</sup>), kloroform (*Merck*<sup>®</sup>), kuarsetin (*Nitrat kimia*), metanol, NaCl (*Nitrat kimia*), NaOH (*Merck*<sup>®</sup>), plat KLT silica gel 60 GF<sub>254</sub>, pereaksi *Dragendorff* (*Nitrat kimia*), pereaksi Liebarmann Burchard (*Nitrat kimia*), pereaksi *Mayer* (*Nitrat kimia*), pereaksi *Wagner* (*Nitrat kimia*).

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Determinasi Sampel**

Determinasi tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Urb.) Mill) di Laboratorium Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

#### **3.5.2 Pengumpulan Bahan dan Pembuatan sampel**

Sampel tanaman umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Urb.) Mill) yang diambil dari lokasi tempat tumbuh di Kelurahan Landasan Ulin Utara, Kecamatan Liang Anggang, Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Umur umbi saat dipanen yaitu sekitar 3 bulan, dipanen pada pagi hari jam 07.00 – 10.00 WITA, bulan panen yaitu pada bulan Januari 2024. Sampel umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Urb.) Mill) yang diperoleh kemudian disortir basah untuk memisahkan benda-benda asing dan dicuci dengan air bersih yang mengalir. Selanjutnya dirajang dengan ukuran kecil dan dikeringkan di oven dengan suhu 50°C, setelah sampel kering kemudian dilakukan sortasi kering lalu ditimbang dan dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, kemudian diayak dengan *mesh* 20 dan di simpan dalam wadah tertutup rapat (Fathurriziq, 2021).

### 3.5.3 Proses Ekstraksi Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Urb.)

#### Mill)

##### a. Maserasi

Sebanyak 100 gram serbuk simplisia umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Urb.) Mill) dimaserasi secara terpisah dengan cara memasukkan masing-masing serbuk simplisia ke dalam bejana. Perbandingan pelarut yang digunakan yaitu 1:3. Bejana pertama ditambahkan n-heksana sebanyak 300 mL dan bejana kedua ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 300 mL. Direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Remaserasi dilakukan sebanyak dua kali. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan wadah yang ditutupi dengan aluminium foil dan disimpan pada suhu ruang serta tempat yang terlindung dari sinar matahari. Maserat yang telah dihasilkan dipisahkan dengan cara disaring kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada temperature tidak lebih dari 50°C dan diuapkan pada *waterbath* sampai menjadi ekstrak kental (Muthia *et al.*, 2021).

##### b. Sokletasi

Sebanyak 100 gram serbuk simplisia umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Urb.) Mill) yang akan dibungkus dengan kertas saring dimana diikat kedua bagian ujungnya dengan benang. Kemudian dimasukkan ke dalam alat soklet dan masukkan pelarut ke dalam labu alas bulat (labu soklet). Sampel diekstraksi secara terpisah

dengan memasukkan masing-masing pelarut ke labu soklet. Pelarut yang digunakan dengan perbandingan 1:5 yaitu n-heksana sebanyak 500 mL dan etanol 96% sebanyak 500 mL. Sokletasi dijalankan hingga tetesan siklus tidak berwarna lagi dengan tetap menjaga temperatur tidak lebih dari 70°C. Kemudian filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu tidak lebih dari 50°C dan diuapkan pada *waterbath* sampai menjadi ekstrak kental (Sa'adah *et al.*, 2017).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$

### 3.5.4 Skrining Fitokimia

#### a. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak kental masing-masing dilarutkan 5 mL aquadest dan HCl 2N di tabung reaksi, dipanaskan selama 2 menit, kemudian didinginkan. Ambil filtrat sebanyak 3 tetes untuk ditambahkan reagen. Reagen *Mayer* membentuk endapan berwarna putih jika mengandung alkaloid, untuk reagen *Wagner* apabila positif mengandung senyawa alkaloid akan menghasilkan endapan coklat, dan reagen *Dragendorff* akan menghasilkan endapan jingga atau merah apabila mengandung senyawa alkaloid (Pertiwi *et al.*, 2022).

**b. Uji Fenol**

Sejumlah sampel 0,1 gram masing-masing diekstrak dengan 2 mL, kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl 5%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau kebiruan (Nugrahani *et al.*,2016).

**c. Uji Flavonoid**

Sampel ekstrak kental masing-masing ditimbang sebanyak 0,5 gram dilarutkan kedalam 5 mL aquadest didalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan logam magnesium 0,1 gram, HCl pekat 1 mL, dan amil alcohol 3 mL dikocok, biarkan memisah. Apabila larutan berwarna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alcohol maka positif mengandung senyawa flavonoid (Nugrahani *et al.*,2016).

**d. Uji Kuinon**

Sampel ekstrak kental ditimbang sebanyak 0,5 gram masing-masing lalu tambahkan dengan beberapa tetes larutan NaOH, kemudian panaskan di atas penangas air. Apabila terbentuk warna merah menunjukkan adanya kuinon (Muthoharoh *et al.*,2015).

**e. Uji Saponin**

Sampel ekstrak kental ditimbang sebanyak 0,1 gram masing-masing kemudian ditambahkan dengan 10 mL aquadest. Ekstrak yang sudah ditambahkan aquadest dikocok selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 menit. HCl 2N sebanyak 1 mL ditambahkan

kedalam tabung reaksi yang berisi sampel. Sampel dinyatakan positif apabila buih yang terbentuk stabil setelah penambahan HCl (Ramadhan *et al.*, 2020).

#### **f. Uji Steroid/Terpenoid**

Sebanyak 0,1 mL ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 1 mL kloroform lalu ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard ( $\text{CH}_3\text{COOH}$  anhidrat :  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat). Hasil yang diperoleh jika berupa cincin coklat atau berwarna violet menunjukkan adanya terpenoid, Jika terbentuk warna hijau kebiruan adanya steroid (Nugrahani *et al.*, 2016).

#### **g. Uji Tanin**

Sebanyak 0,1 gram ekstrak masing-masing dilarutkan dengan 2 mL pelarut, kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan gelatin 1% dan dimasukkan 2-3 tetes larutan NaCl. Hasil positif jika terbentuk endapan (Saputri *et al.*, 2017).

### **3.5.5 Analisis Kualitatif Senyawa Pada Ekstrak Umbi Bawang Dayak (Eleutherine bulbosa (Urb.) Mill) Metode KLT**

Fase diam KLT yang digunakan pada penelitian ini yaitu plat silika gel GF<sub>254</sub> dengan ukuran 2,5 cm x 8 cm yang diberi tanda batas dengan jarak 0,5 cm dari tepi atas plat dan 0,5 cm pada bagian bawah plat.

### a. Flavonoid

Kromatografi dilakukan di dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan fase gerak yaitu n-heksana : etil asetat (7:3) pada ekstrak n-heksana dan fase gerak yaitu kloroform : metanol (8:2) pada ekstrak etanol 96%. Kemudian ditotolkan ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Urb.) Mill) pada plat silika gel (Muthia *et al.*, 2023). Setelah terelusi lempeng diangkat dan dikeringkan, panaskan lempeng pada suhu 100° selama 5 menit, dilakukan pengamatan di bawah sinar UV pada Panjang gelombang 366 nm dengan penampak bercak AlCl<sub>3</sub>. Hasil positif flavonoid jika noda berwarna kuning kehijauan. Analisis KLT menggunakan kuarsetin sebagai pembanding (FHI, 2017).

### 3.5.6 Analisis Data

Data dari hasil penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan menjabarkan hasil yang diperoleh dalam bentuk tabel dan gambar serta melakukan analisis dengan membandingkan dengan literatur. Hasil yang didapatkan dari nilai Rf dapat dihitung dengan perhitungan sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh zat dari penotolan}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh fase gerak}}$$

Profil senyawa pada KLT yang didapatkan akan disemprot menggunakan penampak bercak universal yaitu H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% dan penampak bercak flavonoid sesuai dengan **Tabel. 1**. Kemudian diidentifikasi dengan



sinar tampak maupun dengan sinar UV 254 dan UV 366 nm. Berikut tabel penampak bercak yang digunakan :

**Tabel 1.** Penampak Bercak

| <b>Senyawa</b> | <b>Penampak Bercak</b> | <b>Pembanding</b> | <b>Hasil</b>           | <b>Keterangan</b>                              | <b>Referensi</b>    |
|----------------|------------------------|-------------------|------------------------|--|---------------------|
| Flavonoid      | AlCl <sub>3</sub>      | Kuarsetin         | Warna kuning kehijauan | Dilihat di sinar tampak maupun sinar UV 366 nm | (Kemenkes RI, 2017) |

### 3.6 Kerangka Penelitian

