

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif laboratorik. Penelitian deskriptif ini dilakukan di laboratorium dengan tujuan mengetahui pengaruh metode maserasi – sokletasi dan pelarut etil asetat – etanol 70% dengan melakukan skrining fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) flavonoid ekstrak umbi bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb).

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dimulai dari bulan Februari 2024 hingga Mei 2024. Tempat yang digunakan untuk penelitian adalah Laboratorium Bahan Alam Universitas Borneo Lestari.

3.3. Populasi dan Teknik Pengambilan Data

3.3.1. Populasi dan Sampel

a. Populasi :

Untuk populasi dari penelitian ini adalah umbi bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill)Urb.) yang tumbuh di Provinsi Kalimantan Selatan.

b. Sampel :

Untuk sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah umbi bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) diperoleh di Landasan Ulin, Kec. Liang Anggang, Kota Banjarbaru, Provinsi Kalimantan Selatan.

3.4. Variabel Penelitian

3.3.2. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah metode maserasi dan sokletasi drngan pelarut etil asetat dan etanol 70%.

3.3.3. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil skrining fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

3.5. Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat – alat gelas (*Pyrex*®), ayakan no. 20, blender simplisia (*Miyako*®), Chamber KLT, *hot plate*, Lemari asam, lampu UV 254nm dan 366nm, labu alas bulat, Mikropipet, Oven (*Memmert UP400*®), *rotary evaporator*, penampak bercak, seperangkai alat soklet, timbangan analitik, *waterbath*.

3.5.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak umbi bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb), etil asetat,

etanol 70%, plat KLT, *aquadest*, AlCl_3 pereaksi *dragendorff*, pereaksi *wagner*, pereaksi *mayer*, pereaksi *Liebermann buchard*, serbuk mg, HCl Pekat, FeCl_3 10%, KOH 10%, NaOH, aluminium foil, dan kertas saring.

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Pengumpulan Bahan

Sampel yang digunakan adalah umbi Bawang Dayak yang diambil langsung dari Landasan Ulin, Kec. Liang Anggang, Kota Banjarbaru.

3.6.2. Determinasi

Determinasi sampel dari umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) ke Laboratorium Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

3.6.3. Pengolahan Simplisia

Melakukan pengambilan sampel umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) sebanyak 3 kg lalu, Tujuan dari teknik yang dikenal sebagai sortasi basah ini adalah untuk memisahkan daun dari bahan atau kotoran lainnya. Kemudian, air bersih yang mengalir digunakan untuk mencuci umbi bawang dayak. Untuk memudahkan proses pengeringan, penggilingan, dan penyimpanan, langkah selanjutnya adalah perajangan. kemudian menggunakan oven bersuhu 70°C untuk mengeringkan. Selanjutnya, hilangkan tanah yang masih menempel pada umbi bawang dayak dengan melakukan sortasi

kering. Simplisia yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender lalu diayak dengan menggunakan mesh 20, lalu serbuk simplisia disimpan (Prasetyo & Inorih, 2013). Rendemen simplisia dapat menggunakan rumus :

$$\text{Persentase rendemen} = \frac{\text{bobot simplisia}}{\text{bobot bahan baku}} \times 100\%$$

3.7. Pengolahan Ekstrak

Serbuk umbi Bawang Dayak ditimbang 100 gram dan dimaserasi di dalam wadah kaca dengan pelarut etil asetat dan etanol 70% sebanyak 1:3, pelarut tersebut dimasukan kedalam bejana maserasi, dengan direndam dan diaduk beberapa kali selama 6 jam pertama kemudian didiamkan selama 18 jam. Kemudian dipisahkan hasil maserasi dengan cara menyaring ampas. Selanjutnya dimaserasi sebanyak dua kali dengan pelarut yang sama dan metode yang sama dengan sebelumnya. Filtrat dipekatan menggunakan *Rotary evaporator*; kemudian dimasukan kedalam cawan penguap dan diuapkan di atas *waterbath* sampai terbentuk ekstrak kental (Sari *et al.*, 2021).

Metode ekstraksi sokletasi, dengan pelarut etil asetat dan etanol 70%, sampel yaitu serbuk umbi Bawang Dayak ditimbang sebanyak 100 gram yang akan dibungkus dengan kertas saring dimana diikat pada kedua ujungnya dengan benang. Kemudian dimasukkan kedalam alat soklet dan masukkan pelarut etil asetat dan etanol 70% sebanyak 1:5 ke dalam labu alas bulat (Labu soklet). Sokletasi dijalankan hingga tetesan siklus tidak berwarna lagi dengan tetap menjaga tidak lebih dari suhu 70°C kemudian

filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu tidak lebih dari 70°C dan diuapkan pada *waterbath* sampai memperoleh ekstrak kental (Sa'adah & Nurhasnawati, 2017). Rendemen ekstrak etil asetat dan etanol 70% umbi Bawang Dayak dihitung dengan rumus sebagai berikut (Febryanto, 2017):

$$\text{Rendemen\%} = \frac{\text{berat ekstrak yang didapat}}{\text{berat simplisia sebelum di ekstraksi}} \times 100\%$$

3.8. Skrining Fitokimia

Untuk melakukan skrining fitokimia pada uji identifikasi senyawa tanin, flavonoid, saponin dan fenol pertama-tama dilakukan pengeceran, ekstrak kental ditimbang sebanyak 0,5 gram, kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 5 mL di dalam beaker glass lalu dilakukan identifikasi (Kasitowati *et al.*, 2017).

a. Identifikasi Alkaloid

Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb, ekstrak dari umbi bawang Dayak, diukur dalam 0,5 gram dan dicampur dengan satu ml HCl 2 N dan sembilan ml akuades. Campuran tersebut dipanaskan di atas penangas air selama dua menit, didinginkan, dan disaring hingga diperoleh filtrat. Setelah itu, filtrat dipisahkan menjadi tiga tabung, dan dengan menggunakan tiga reagen yang berbeda, setiap tabung dianalisis untuk melihat apakah mengandung alkaloid (Fitriyanti *et al.*, 2019). Tabung 1 diisi dengan pereaksi *Mayer*, jika hasil tes positif maka akan terbentuk endapan berwarna putih dan kuning. Tabung 2 diisi dengan pereaksi *Dragendorff*, jika tes berhasil, endapan berwarna

coklat kemerahan akan muncul. Tabung 3 diisi dengan pereaksi *Wagner*, jika hasil tes positif maka akan muncul endapan berwarna kuning (Nugrahani *et al.*, 2016).

b. Identifikasi Fenol

Setelah membuat larutan ekstrak umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb), ambil 1 mL dan tambahkan dua tetes larutan 1% FeCl₃. Menurut Nugrahani *et al* (2016), keberadaan senyawa fenol ditandai dengan dihasilkannya larutan berwarna hijau atau biru hijau.

c. Identifikasi Flavonoid

Setelah menyiapkan larutan ekstrak umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) yang sudah disiapkan sebanyak 1 mL, lalu tambahkan 0,1 gram bubuk magnesium, 10 tetes HCl pekat, dan 2 ml amil alkohol. Campuran tersebut kemudian diaduk dan diberi waktu untuk memisahkannya. Jika muncul warna kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol, berarti positif mengandung flavonoid (Hasibuan, 2015).

d. Identifikasi Saponin

Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb adalah ekstrak dari umbi bawang Dayak, dibuat dalam 1 mL, ditambahkan 10 mL air mendidih, didinginkan, dan kemudian dikocok dengan keras selama 10 detik. Terciptanya busa yang stabil yang bertahan setidaknya selama satu menit menunjukkan hasil yang sukses (Hanani, 2015).

e. Identifikasi Tanin

Setelah menyiapkan 1 mL larutan ekstrak umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb), ditambahkan 2-3 tetes larutan gelatin 1%, yang sebelumnya telah dicampur dengan 2-3 tetes NaCl. Jika terjadi endapan, maka positif mengandung tanin (Saputri & Putri, 2017).

f. Identifikasi Kuinon

Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb, yaitu ekstrak dari umbi bawang dayak, digunakan dengan perbandingan 1:1 dengan 5% NaOH dan 2N HCl. Senyawa kuinon hadir dalam sampel jika sampel menjadi kuning atau kembali ke warna awal (sama dengan blanko) (Sari, 2019).

g. Identifikasi Steroid dan Terpenoid

Tabung reaksi yang berisi 0,1 mL ekstrak diisi dengan 1 mL kloroform, dan pereaksi *Liebermann-Burchard* (CH_3COOH anhidrat: H_2SO_4 pekat) ditambahkan setelah itu. Triterpenoid hadir jika hasil temuan menunjukkan cincin berwarna ungu atau kecoklatan. Menurut Harap *et al* (2016), keberadaan steroid diindikasikan jika warna hijau biru berkembang.

3.9. KLT

Untuk melakukan KLT, Setelah menambahkan ekstrak ke dalam pelarut, campuran ditotolkan pada pelat KLT dan dimasukkan ke dalam bejana yang telah diisi penuh dengan eluen. Sampai eluen mencapai batas yang ditentukan, pelat KLT disimpan di dalam wadah. Setelah itu,

dikeluarkan dari wadah, dibiarkan mengering, lalu disinari dengan sinar UV pada 254 dan 366 nm (Arnida, 2021). Hitung nilai Rf dengan mengukur dan mencatat jarak masing-masing bercak dari lokasi bercak (Zainab, 2013).

a. Alkaloid

Ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) disemprotkan di atas pelat silika gel selama kromatografi, yang dilakukan di dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan fase gerak (kloroform: metanol, 8:2) (Muthia *et al.*, 2022). Setelah elusi selesai, pelat dikeringkan, dan cahaya tampak digunakan untuk pengamatan. Pereaksi *Dragendorff* disemprotkan di atas plat KLT, dan keberadaan alkaloid dideteksi dengan warna coklat atau oranye (FHI, 2017).

b. Fenol

Ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) disemprotkan di atas pelat silika gel selama kromatografi, yang dilakukan di dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan fase gerak (kloroform: metanol, 8:2) (Muthia *et al.*, 2022). Bercak FeCl_3 terlihat jelas selama pemeriksaan yang dilakukan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm setelah lempeng yang telah dielusi dibuang dan dikeringkan. Uji fenol dinyatakan positif jika noda berwarna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang jelas. Asam galat digunakan sebagai pembanding dalam analisis KLT (FHI, 2017).

c. Flavonoid

Ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) disemprotkan di atas pelat silika gel selama kromatografi, yang dilakukan di dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan fase gerak (kloroform: metanol, 8:2) (Muthia *et al.*, 2022). Setelah dielusi, pelat dikeluarkan dan dikeringkan. Kemudian dipanaskan hingga 100°C selama lima menit, dan dilihat di bawah sinar UV dengan bercak aluminium klorida yang dapat dilihat pada panjang gelombang 366 nm. Jika noda berwarna kuning kehijauan, maka uji flavonoid positif. Kuersetin digunakan sebagai pembanding dalam analisis KLT (FHI, 2017). Menghitung nilai Rf dengan mengukur dan mencatat jarak masing-masing bercak dari lokasi bercak (Zainab, 2013).

d. Tanin

Kromatografi dilakukan di dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan fase gerak yaitu kloroform : metanol (8:2) kemudian ditotolkan ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb)) pada plat silika gel (Muthia *et al.*, 2022). Penampak bercak yang digunakan adalah pereaksi semprot FeCl₃. Hasil positif jika terbentuk warna ungu kehitaman (FHI, 2017).

e. Saponin

Kromatografi dilakukan di dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan fase gerak yaitu kloroform : metanol (8:2) kemudian ditotolkan ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb)) pada

plat silika gel (Muthia *et al.*, 2022). Penampak bercak yang digunakan adalah pereaksi *Liebermann Burchard*. Hasil positif jika warna biru hingga biru keunguan berkembang, hal ini kadang-kadang dapat bermanifestasi sebagai bercak yang terlihat dalam cahaya dan dapat berwarna merah, kuning, biru tua, ungu, hijau, atau kuning kecokelatan (Arnida *et al.*, 2021). Hitung nilai Rf dengan mengukur dan mendokumentasikan jarak setiap bercak dari lokasi bercak (Zainab, 2013).

f. Kuinon

Untuk mengidentifikasi kuinon dengan menotolkan ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) pada plat silika gel, kromatografi dilakukan dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan fase gerak, yaitu kloroform:metanol (8:2) (Muthia *et al.*, 2022). Kertas saring dapat digunakan untuk mencapai kejenuhan fase gerak di dalam chamber (Asvia, 2021). Titik-titik tersebut terlihat pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, serta pada sinar tampak. Hitung nilai Rf dengan mengukur dan mencatat jarak bercak dari titik bercak. Jika tes positif, bercak akan berubah menjadi merah, ungu, hijau, atau ungu. Bercak tersebut adalah 10% KOH. *Eleutherine* digunakan sebagai pembanding dalam analisis KLT (Zainab, 2013).

3.10. Analisis Data

Data dari hasil penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan menjabarkan hasil yang diperoleh dalam bentuk tabel dan gambar serta

melakukan analisis data dengan menghitung nilai Rf. Hasil yang didapatkan dari nilai Rf dapat dihitung dengan perhitungan sebagai yaitu :

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}}$$

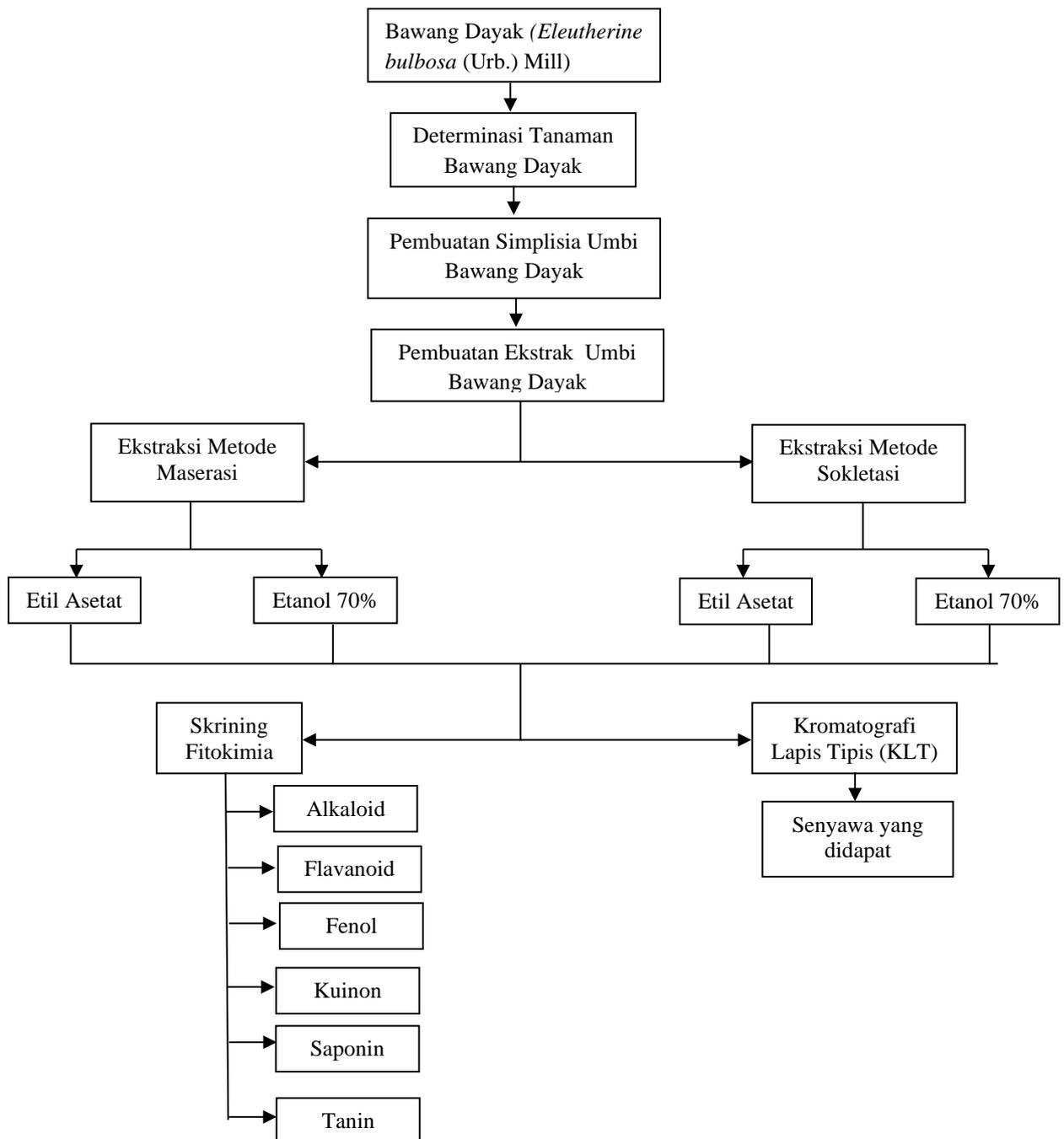
Profil senyawa pada KLT yang didapatkan akan disemprot menggunakan penampak UV 254 nm, 366 nm, dan H₂SO₄ 10% dalam metanol. Selanjutnya, akan dipilih penampak bercak spesifik sesuai dengan profil KLT yang didapatkan.

Berikut tabel penampak bercak yang dapat digunakan :

Tabel 1. Penampak Bercak KLT

Senyawa	Penampak Bercak	Pembanding	Hasil	Keterangan	Referensi
Flavonoid	Alumunium Klorida	Kuersetin	Warna kuning kehijauan	Selama lima menit, plat dipanaskan hingga 100°C, dilihat di sinar tampak maupun sinar UV 366 nm	(FHI, 2017)

3.11. Kerangka penelitian



Gambar 2. Kerangka Penelitian