

3.3.2 Sampel

Sampel kulit batang Balik Angin (*Alphitonia incana*) diperoleh dari daerah Mandi Angin Timur yang terletak di Kecamatan Karang Intan, Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan yang digunakan adalah bagian kulit batangnya yang masih segar.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini yaitu minyak atsiri dari kulit batang Balik Angin (*Alphitonia incana*).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini yaitu nilai Rf, warna noda pada kromatogram serta profil spektrum IR dan GC-MS dari minyak atsiri hasil destilasi kulit batang Balik Angin (*Alphitonia incana*).

3.5. Alat dan Bahan

3.5.1 Alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain seperangkat alat gelas labu erlenmeyer, labu ukur, chamber, pipa kapiler, serangkaian alat destilasi, neraca analitik, plat KLT, pipet volume, mikropipet, refraktometer, termometer, lampu UV 254 nm & 366 nm, spektrofometer GC-MS(Shimadzu®) dan FT- spektrofometer FT-IR(Shimadzu®).

3.5.2 Bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain kulit batang *Alphitonia incana*, asam asetat (Merck®), akuades, etil asetat (Merck®), methanol, pereaksi Liebermann burchard (Merck®) dan plat KLT (Merck®).

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi sampel Tanaman Balik Angin (*Alphitonia incana*) dilakukan di Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI.

3.6.2 Pengumpulan Bahan

Tanaman Balik Angin (*Alphitonia incana*) di peroleh dari Mandi Angin Timur yang terletak di Kecamatan Karang Intan, Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan dimana sampel yang digunakan adalah bagian kulit batangnya.

3.6.3 Proses Destilasi

Tahap ini dilakukan dengan cara pertama-tama merangkai alat destilasi yang akan digunakan, selanjutnya memasukan serbuk simplisia kulit batang *Alphitonia incana* sebanyak 200 gram dan pelarut aquadest 1000 ml kedalam labu alas bulat, kemudian dilakukan proses destilasi kurang lebih 4 jam. Kemudian destilat minyak atsiri dipisahkan dari hidrolit dengan partisis cair-cair menggunakan corong pisah dengan natrium sulfat. (Yulvianti *et al.*, 2014).

3.6.4 Uji Indeks Bias

Sebelum dilakukan pengukuran, dilakukan pengenceran karena refraktometer yang digunakan tidak dapat membaca indeks bias minyak dikarenakan viskositas ekstrak tinggi. Pengenceran dilakukan menggunakan etanol 70% setelah itu dilakukan pengukuran dimana minyak atsiri diteteskan pada prisma refraktometer yang sudah distabilkan pada suhu tertentu, dibiarkan selama 1-2 menit untuk mencapai suhu stabil lalu dilakukan pembacaan indeks bias (Slamet *et al.*, 2019).

3.6.5 Identifikasi Minyak Atsiri

3.6.5.1 Identifikasi Minyak Atsiri menggunakan KLT

Fase gerak berupa etil asetat, metanol dan asam asetat dijenuhkan dalam chamber. Minyak atsiri ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Bercak diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm serta sebagai penampak bercak disemprotkan pereaksi Lieberman burchard. Noda bercak pada kromatogram diukur dan dihitung nilai Rfnya dan hasilnya dibandingkan dengan Rf pembanding.

3.6.5.2 Identifikasi Gugus dengan Spektrofotometer IR

Pembuatan pellet dari ekstrak kulit batang dengan KBr dengan perbandingan 2:10 mg kemudian dicetak membentuk plat tipis (Transparan) kemudian sampel dibaca

menggunakan FT-IR dan kromatogram yang dihasilkan dibandingkan dengan tabel IR (Sulistiyani & Huda, 2017).

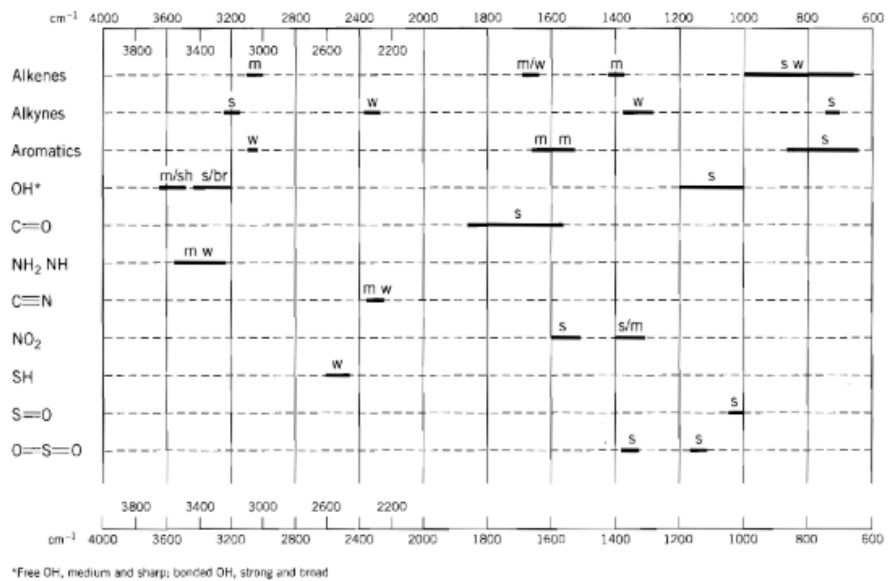
3.6.5.3 Identifikasi Gugus dengan Spektrofotometer GC-MS

Sampel sebanyak 2 μL diinjeksikan ke GC-MS yang memiliki kolom kapiler, dengan panjang 30 mm diameter 0,25 mm dan ketebalan 0,25 μm . Gas pembawa helium pada laju alir 1ml/menit dengan rasio split 1:10. Temperatur oven terprogram yaitu 50°C dan disimpan isothermal selama 5 menit, laju peningkatan menjadi 10°C/menit dan suhu ditingkatkan hingga 280°C selama 15 menit. Suhu injektor adalah 290°C dan antarmuka spektrometer massa yaitu 230°C (Novitasari *et al.*, 2016).

3.7. Analisis Data

3.7.1 Analisis Data FT-IR

Spektrum yang dihasilkan berupa grafik yang menunjukkan bilangan gelombang dan persentase transmittan yang bervariasi pada setiap frekuensi radiasi inframerah untuk menentukan gugus fungsi yang terdapat pada sampel. Berikut analisis data IR pada Gambar 3.



Gambar 3. Analisis Data FT-IR

Tabel 2. Tipe Ikatan yang terserap

Tipe Ikatan	Daerah Penyerapan (cm ⁻¹)
C-C, C-O, C-N, C=C	1300 – 800
C=C, C=O, C=N, N=O	1900 – 1500
C≡C, C≡N	2300 – 2000
C-H, O-H, N-H	3800 – 2700

3.7.2 Analisis Data GC-MS

Analisis data GC-MS berupa Spektrum massa biasanya digambarkan seperti grafik batang, dimana setiap puncak menyatakan suatu fragmen molekul, fragmen ditata menurut kenaikan m/z dari kiri ke kanan dengan intensitas puncak sebanding dengan kelimpahan relatif fragmen, puncak tertinggi (puncak dasar) diberi nilai 100%, puncak yang lain relative terhadap puncak dasar, untuk mengetahui rumus molekul atau fragmen tertentu dapat dibantu dengan tabel Beynon. Adapun perbandingan massa fragmen tersebut dengan

muatannya disebut *mass to charge ratio* yang disimbolkan M/Z (Made *et al.*, 2015).