

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian jenis deskriptif. Pada penelitian ini memberikan gambaran mengenai kandungan metabolit sekunder yang terdeteksi pada akar, daun, tangkai buah dan biji sorgum menggunakan alat GC-MS. Pada penelitian ini tidak memberikan perlakuan tambahan apapun pada sampel. Penelitian deskriptif merupakan penelitian yang dilakukan untuk mengetahui nilai variabel mandiri, baik satu variabel atau lebih (independen) tanpa membuat perbandingan, atau menghubungkan dengan variabel yang lain (Sugiyono, 2018).

3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2022 sampai Maret 2023. Lokasi pengambilan sampel sorgum di Kampung Bojongkoneng atau biasa disebut Kampung Abah Sorgum di Jl. Bojongkoneng No.2, Bojongmanggu, Kecamatan Pameungpeuk, Kabupaten Bandung, Jawa Barat (Gambar 3.1). Lahan yang digunakan untuk pengambilan sampel memiliki luas 200 m² (Gambar 3.2). Pada penelitian ini mulai dari persiapan alat dan bahan penelitian, serta proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Riset Bioteknologi FPMIPA UPI (Gambar 3.3). Autentifikasi tanaman sorgum dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB (Gambar 3.4). Analisis metabolit sekunder pada sampel dengan menggunakan GC-MS dilakukan di Badan Reserse Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik Sentul (Gambar 3.5).



Gambar 3.1 Peta Lokasi Pengambilan Sampel Sorgum
(Dok. Google Maps, 2022)



Gambar 3.2 Lahan Sorgum Bojongkoneng
(Dok. Pribadi, 2022)



Gambar 3.3 Laboratorium Riset Bioteknologi FPMIPA UPI
(Dok. Pribadi, 2023)



Gambar 3.4 Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB
(Dok. Admin SITH, 2020)



Gambar 3.5 Badan Reserse Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik Sentul
(Komunikasi Pribadi, 2023)

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah tanaman sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) varietas Bioguma. Sampel organ dalam penelitian ini adalah akar, daun, tangkai buah dan biji sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) jenis bioguma yang sudah siap dipanen pada usia 4 bulan.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

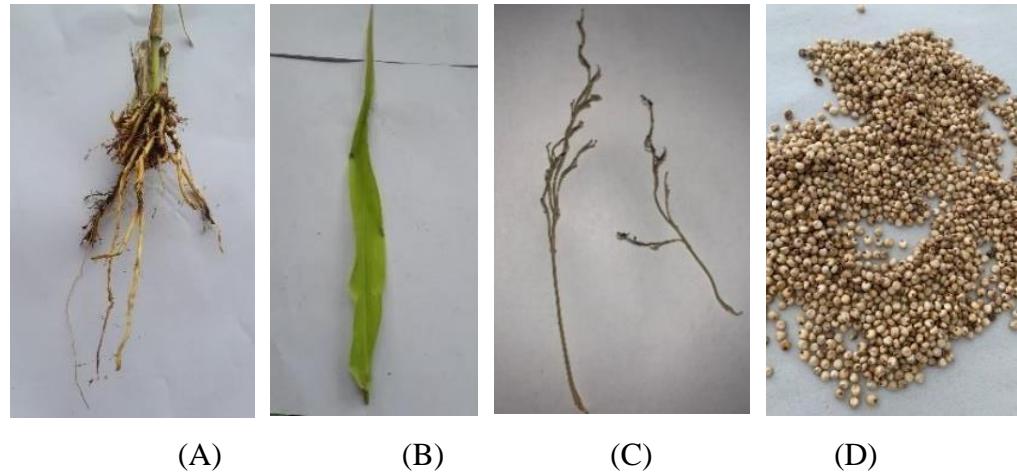
Teknik pengambilan sampel dilakukan berdasarkan teknik *simple random sampling* yaitu pengambilan secara acak dari seluruh populasi sorgum yang berlokasi di lahan yang sama. Sampel organ yang diambil adalah akar, daun, tangkai buah dan biji sorgum di lahan sorgum yang dibudidayakan (Gambar 3.6 dan 3.7). Sampel organ diambil pada lahan dengan luas 200 m² dan terdapat 4 titik pengambilan sampel (Gambar 3.8). Masing-masing sampel dimasukan ke dalam wadah yang terpisah dan sampel diambil sebanyak 50 gram - 300 gram.



Gambar 3.6 Proses Pengambilan Sampel Sorgum
(Dok. Pribadi, 2022)

Hanna Yustianisa, 2023

*SENYAWA METABOLIT PADA AKAR, DAUN, TANGKAI BUAH DAN BIJI SORGUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) JENIS BIOGUMA DI BOJONGKONENG KABUPATEN BANDUNG.*
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu



Gambar 3.7 Organ Tanaman Sorgum
Akar (A), Daun (B), Tangkai (C), dan Biji (D)
(Dok. Pribadi, 2022)



Gambar 3.8 Lahan pengambilan sampel
(Dok. Pribadi, 2022)

3.4.2 Autentifikasi Sampel

Pada penelitian ini dilakukan autentifikasi pada tanaman sorgum yang diambil dari Kampung Abah Sorgum Bojongkoneng Kabupaten Bandung untuk memastikan bahwa tanaman yang diambil merupakan spesies tanaman yang akan diujikan. Bagian tumbuhan dari akar, daun, tangkai buah dan biji dikumpulkan dan digunakan untuk identifikasi. Dilakukan pengamatan karakteristik morfologi secara langsung terhadap setiap organ dan dibandingkan pada pustaka yang terdapat di

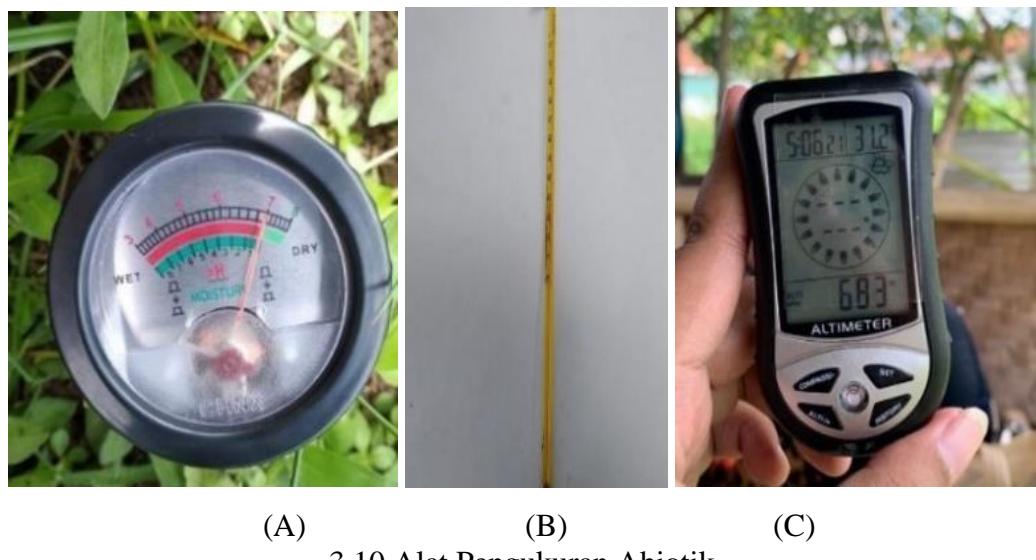
Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB (Gambar 3.9). Hasil autentifikasi sampel sorgum dapat dilihat pada Lampiran 2.



Gambar 3.9 Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB
(Dok. Admin SITH, 2020)

3.4.3 Pengukuran Faktor Abiotik

Pada lokasi pengambilan sampel sorgum dilakukan pengukuran faktor abiotik menggunakan alat pengukur abiotik (Gambar 3.10) meliputi suhu udara dan suhu tanah, pH tanah serta ketinggian tempat. Termometer digunakan untuk mengukur suhu tanah, soil tester digunakan untuk mengukur pH tanah dan altimeter digital digunakan untuk mengukur suhu dan ketinggian tempat. Hasil pengukuran faktor abiotik diketahui bahwa di Kampung Bojongkoneng, Kabupaten Bandung, Jawa Barat, memiliki suhu udara 31°C, suhu tanah 27,5°C, pH tanah 7 dan ketinggian tempat 683 mdpl.



3.10 Alat Pengukuran Abiotik
Soil tester (A), Termometer (B), dan Altimeter (C)
(Dok. Pribadi, 2022)

Hanna Yustianisa, 2023

SENYAWA METABOLIT PADA AKAR, DAUN, TANGKAI BUAH DAN BIJI SORGUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) JENIS BIOGUMA DI BOJONGKONENG KABUPATEN BANDUNG.
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.4.4 Persiapan Bahan

Sampel yang telah dikumpulkan, dibersihkan dari bahan asing dan bagian-bagian yang tidak diperlukan. Sampel akar dan daun dicuci terlebih dahulu setelah itu dipotong-potong. Masing-masing sampel ditimbang berat basahnya kemudian dikeringkan selama beberapa hari dengan cara diangin-anginkan hari hingga kadar air berkurang atau berat konstan sebagaimana cara yang dilakukan oleh Puspitasari dan Prayogo (2017). Simplisia yang sudah kering dihaluskan menggunakan *blender* (Gambar 3.11) setelah itu disaring menggunakan saringan 100 mesh (Gambar 3.12) hingga diperoleh serbuk simplisia (Gambar 3.13).



3.11 Penghalusan Sampel
(Dok. Pribadi, 2022)



3.12 Penyaringan Sampel
(Dok. Pribadi, 2022)



3.13 Simplisia Sampel Sorgum
Akar (A), Daun (B), Tangkai Buah (C), dan Biji (D)
(Dok. Pribadi, 2022)

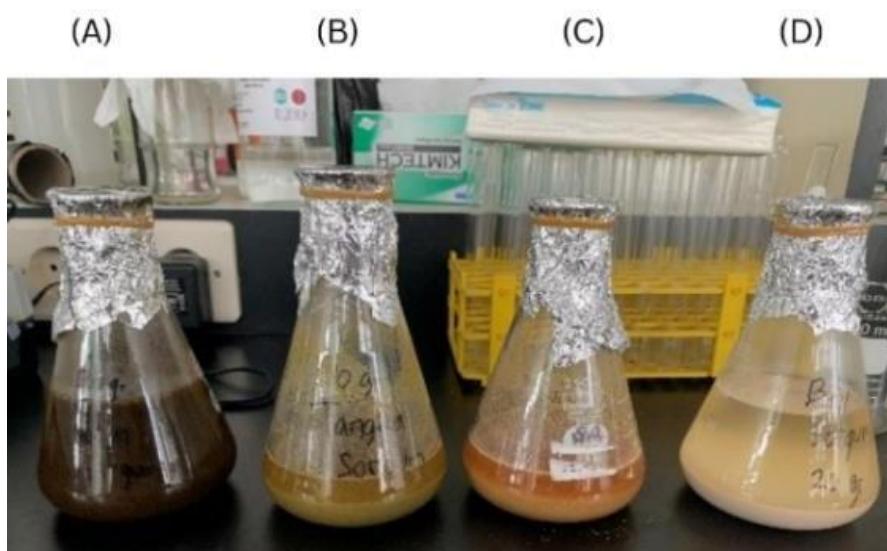
Hanna Yustianisa, 2023

SENYAWA METABOLIT PADA AKAR, DAUN, TANGKAI BUAH DAN BIJI SORGUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) JENIS BIOGUMA DI BOJONGKONENG KABUPATEN BANDUNG.
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.4.5 Ekstraksi

Metode ekstraksi secara maserasi dilakukan pada serbuk simplisia yang telah diperoleh. Pada penelitian ini menggunakan etanol p.a sebagai pelarut dengan perbandingan serbuk simplisia dan pelarut adalah 1:10. Perbandingan pada sampel daun dan biji masing-masing adalah 20 g serbuk simplisia yang dilarutkan dengan 200 mL pelarut etanol p.a 70%. Perbandingan untuk sampel akar dan tangkai buah masing-masing 10 g serbuk simplisia yang dilarutkan dengan 100 mL etanol p.a 70%. Masing-masing sampel diekstrak dalam erlenmeyer. Perendaman sampel dilakukan selama 7 hari dan sesekali dilakukan pengadukan. Selama perendaman, erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil untuk mencegah terjadinya penguapan (Gambar 3.14).

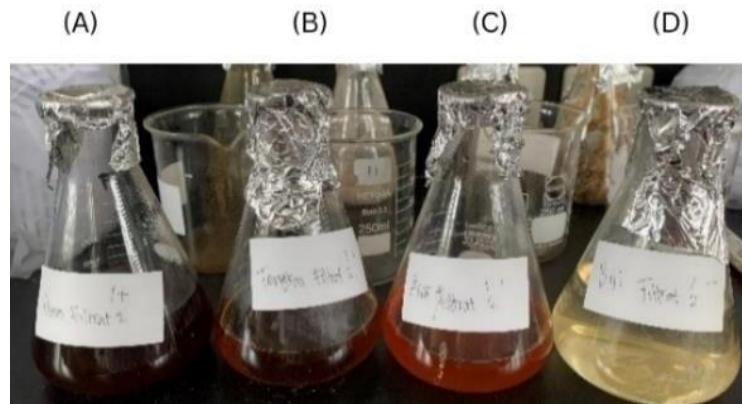
Hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring Whatman No.1 untuk memisahkan ampas serbuk simplisia dengan hasil ekstraksi (filtrat I). Pada penelitian ini ampas yang telah dipisahkan dilakukan perendaman kembali dengan etanol 70% p.a sebanyak 50 mL, kemudian disaring dan menghasilkan filtrat II. Hasil ekstraksi filtrat I dan II dicampur dan disaring menggunakan kertas saring Whatman No.1. (Gambar 3.15). Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *waterbath shaker* pada suhu 70°C (Gambar 3.16). Hasil ekstraksi sebanyak 1 gram disimpan dalam botol vial ukuran 10 ml pada suhu ruang dan selanjutnya siap untuk digunakan pada analisis GC-MS (Gambar 3.17).



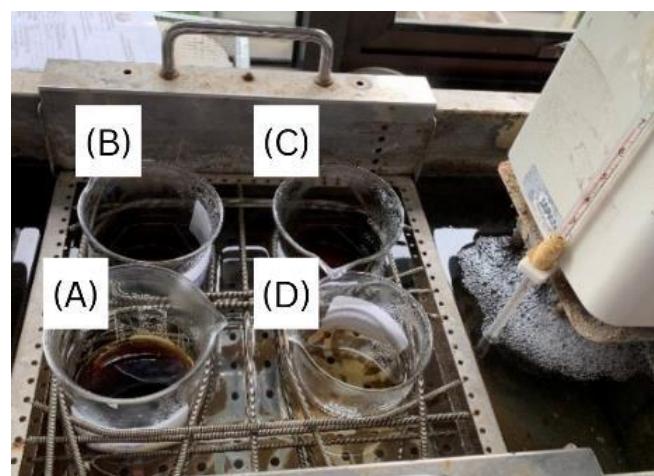
Gambar 3.14 Maserasi Sampel dalam Erlenmeyer selama 7 Hari
Daun Sorgum (A), Tangkai Sorgum (B), Akar Sorgum (C), dan Biji Sorgum (D)
(Dok. Pribadi, 2023)

Hanna Yustianisa, 2023

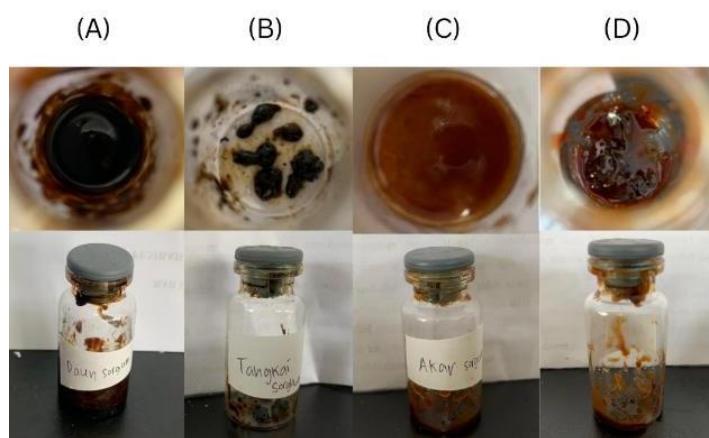
SENYAWA METABOLIT PADA AKAR, DAUN, TANGKAI BUAH DAN BIJI SORGUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) JENIS BIOGUMA DI BOJONGKONENG KABUPATEN BANDUNG.
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu



Gambar 3.15 Filtrat I dan II Hasil Ekstraksi
Daun Sorgum (A), Tangkai Sorgum (B), Akar Sorgum (C), dan Biji Sorgum (D)
(Dok. Pribadi, 2023)



Gambar 3.16 Penguapan Sampel
Daun Sorgum (A), Tangkai Sorgum (B), Akar Sorgum (C), dan Biji Sorgum (D)
(Dok. Pribadi, 2023)



Gambar 3.17 Hasil Ekstraksi
Daun Sorgum (A), Tangkai Sorgum (B), Akar Sorgum (C), dan Biji Sorgum (D)
(Dok. Pribadi, 2023)

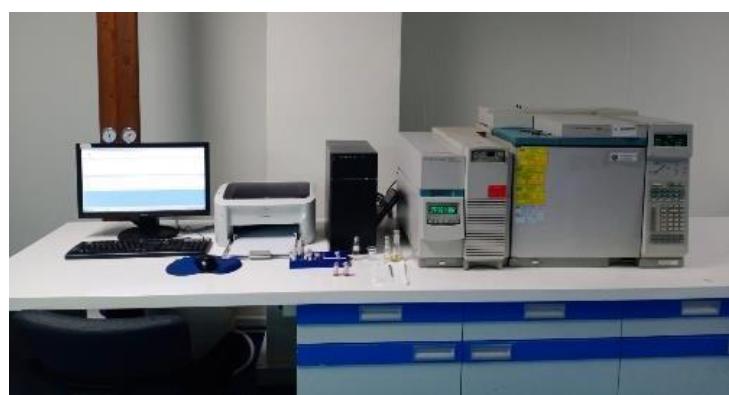
3.4.6 Analisis Senyawa

GC-MS (*Gas Chromatography – Mass Spectrometry*) bertujuan untuk menganalisis berbagai senyawa yang terdapat pada suatu sampel. Analisis senyawa metabolit pada ekstrak etanol akar, batang, daun dan biji sorgum varietas bioguma dilakukan menggunakan alat GC-MS di Badan Reserse Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik Sentul (Gambar 3.18). Digunakan sampel sebanyak 1 μL tanpa pengulangan. Ekstrak etanol akar, daun, tangkai buah dan biji sorgum varietas bioguma dianalisis dengan teknik GC-MS tanpa pengulangan.



Gambar 3.18 Badan Reserse Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik Sentul
(Komunikasi Pribadi, 2023)

Perangkat GC-MS yang digunakan pada penelitian ini adalah Agilent 5977B (Gambar 3.19) dengan kolom Agilent 190915-433UI. Gas pembawa berupa helium dengan laju aliran konstan 1 mL/menit. Volume sampel yang diinjeksikan adalah 1 μL dengan rasio split 20 : 1. Suhu oven diatur dengan suhu awal 60°C lalu ditingkatkan menjadi 290 °C. Waktu yang digunakan untuk proses GC-MS adalah 43 menit. Perangkat lunak menggunakan pustaka WILLEY 09TH untuk mengidentifikasi hasil dari kromatogram dan spektrum massa.



Gambar 3.19 Perangkat GC-MS
(Komunikasi Pribadi, 2023)

Hanna Yustianisa, 2023

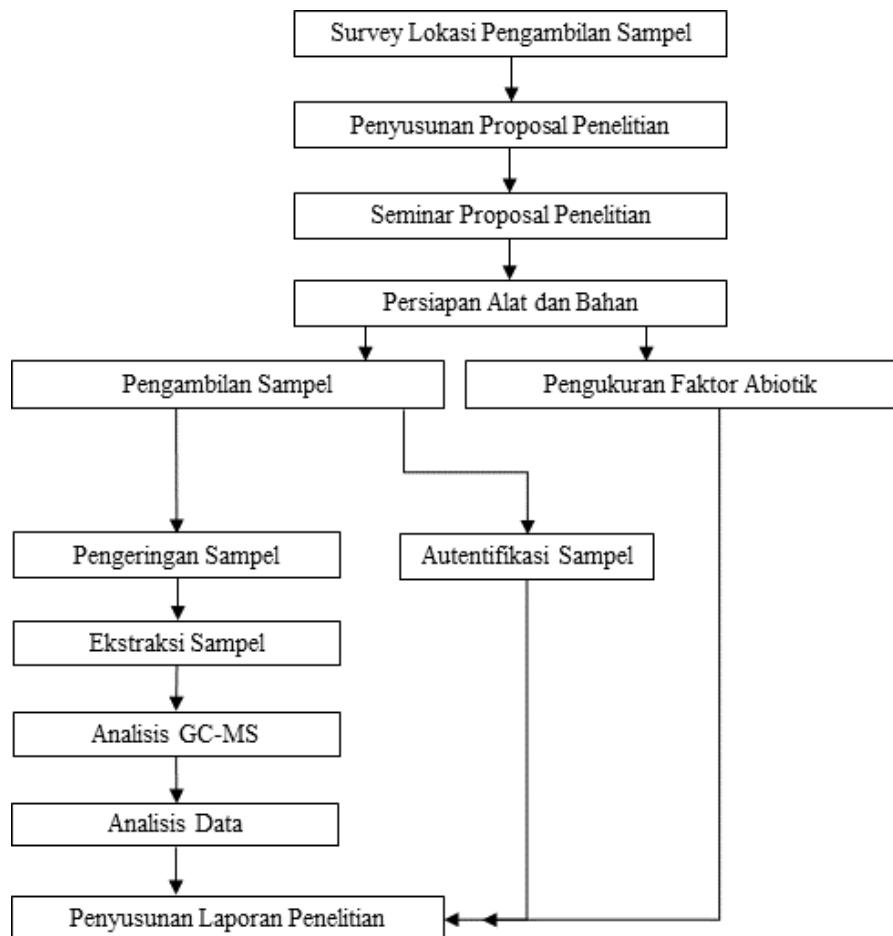
SENYAWA METABOLIT PADA AKAR, DAUN, TANGKAI BUAH DAN BIJI SORGUM (*Sorghum bicolor (L.) Moench*) JENIS BIOGUMA DI BOJONGKONENG KABUPATEN BANDUNG.
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.4.7 Analisis Data

Pada analisis GC-MS didapatkan hasil berupa grafik yang menunjukkan kadar senyawa dan jenis senyawa. Berdasarkan hasil GC-MS tersebut akan dilihat indeks kesamaannya dan diidentifikasi dengan data yang ada di pustaka *National Institute of Standards and Technology (NIST)* dan *PubChem*. Senyawa yang akan ditampilkan pada penelitian ini adalah senyawa yang memiliki indeks kesamaan minimal 80% terdaftar sebagai senyawa tidak diketahui yang didasarkan pada penelitian Wu (2009). Pengolahan data untuk hasil GC-MS akan disajikan dengan menggunakan tabel, diagram venn, dan *heatmap* yang dibuat menggunakan Microsoft Excel 2019.

3.5 Alur Penelitian

Alur penelitian dalam proses pembuatan tugas akhir dapat dilihat pada Gambar 3.20.



Gambar 3.20 Bagan Alur Penelitian