

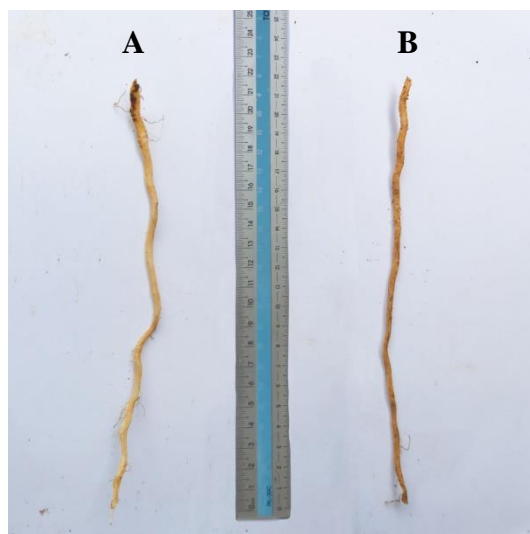
BAB III METODE PENELITIAN

1.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Penelitian ini hanya memberikan gambaran mengenai seluruh metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak etanol akar dan daun hanjeli ketan dan hanjeli putih menggunakan alat GC-MS. Penelitian ini tidak memberikan perlakuan tambahan apapun pada sampel.

1.2. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tanaman hanjeli ketan dan hanjeli putih yang dibudidayakan di Desa Cikadut, Kecamatan Cimenyan, Kabupaten Bandung, Jawa Barat. Sampel dalam penelitian ini adalah akar (Gambar 3.1) dan daun (Gambar 3.2) dari tanaman hanjeli ketan dan hanjeli putih yang berada pada daerah tersebut. Akar dan daun diambil dari tanaman hanjeli yang sudah berbuah. Bagian akar yang digunakan adalah seluruh bagian akar dari pangkal hingga ke ujung. Bagian daun yang digunakan adalah bagian helaian (lamina) yang sudah dewasa.



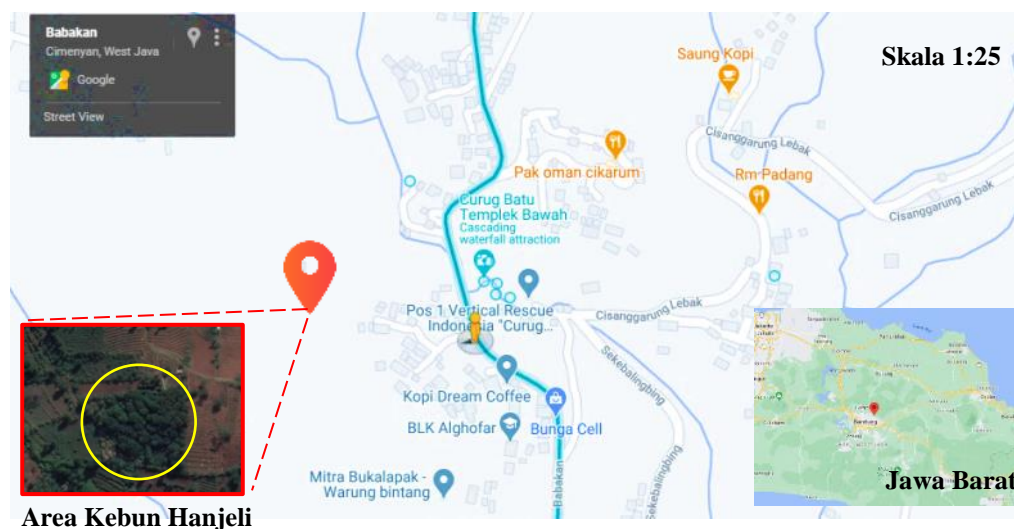
Gambar 3.1. Akar Hanjeli:
A. Ketan; B. Putih



Gambar 3.2. Daun Hanjeli:
A. Ketan; B. Putih

1.3. Waktu dan Tempat

Pengambilan data dilakukan pada bulan Januari–Maret 2020. Lokasi pengambilan sampel tanaman hanjeli dilakukan di Desa Cikadut, Kecamatan Cimenyan, Kabupaten Bandung, Jawa Barat (Area yang dilingkari kuning) (Gambar 3.3). Persiapan alat dan bahan (Lampiran 1) serta ekstraksi sampel dilakukan di Laboratorium Unit Pelaksana Teknis Pembibitan Tanaman Pangan Hortikultura & Peternakan (TPHP). Autentifikasi sampel dilakukan di Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Analisis metabolit sekunder pada sampel dengan menggunakan GC-MS dilakukan di Pusat Laboratorium Forensik Bareskrim Polri, Sentul Bogor.



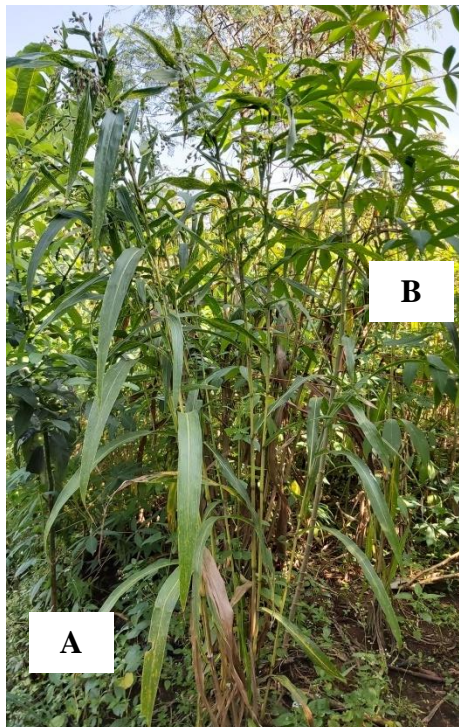
Gambar 3.3. Peta Lokasi Pengambilan Sampel (Google Maps, 2020)

1.4. Prosedur Penelitian

1.4.1. Pengambilan sampel

Sampel akar dan daun hanjeli ketan dan hanjeli putih diperoleh dari kebun hanjeli yang berada di Desa Cikadut, Kecamatan Cimenyan, Kabupaten Bandung, Jawa Barat. Hanjeli ketan dan hanjeli putih ditanam pada bidang lahan yang sama dan ditanam secara tumpang sari dengan tanaman singkong (Gambar 3.4). Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Januari 2021, yaitu pada waktu panen hanjeli. Sampel

akar dan daun hanjeli ketan dan hanjeli putih diambil dari individu yang sudah berbuah. Bagian akar yang digunakan adalah seluruh bagian akar dari pangkal hingga ke ujung. Bagian daun yang digunakan adalah bagian helaian (lamina) dari daun yang sudah dewasa. Sampel akar dan daun hanjeli ketan dan hanjeli putih dimasukkan masing-masing ke dalam kantong terpisah.



Gambar 3.4. Penempatan Tanaman Hanjeli di Kebun:
A. Hanjeli; B. Singkong

1.4.2. Pengukuran Faktor Abiotik

Pengukuran faktor abiotik dilakukan pada tanah tempat tumbuhnya hanjeli. Faktor yang diukur adalah suhu tanah, pH tanah, kelembaban tanah, dan ketinggian tempat. Suhu tanah diukur menggunakan termometer (Gambar 3.5). Kelembaban dan pH tanah diukur menggunakan soil tester. Soil tester ditancapkan pada tanah sampai bagian sensor (plat metal) terendam oleh tanah, kemudian dидiamkan beberapa saat hingga jarum bergerak menunjukkan nilai kelembaban tanah. Nilai pH tanah akan ditunjukkan setelah menekan tombol yang ada pada soil tester (Gambar 3.6). Ketinggian tempat diukur dengan menggunakan altimeter (Gambar 3.7).

Hasil pengukuran faktor abiotik diketahui bahwa di daerah Cikadut, Kecamatan Cimenyan, Bandung, Jawa Barat, tempat tanaman hanjeli tumbuh memiliki suhu tanah sebesar 26°C, pH tanah 6,4 dan kelembaban tanah 70%. Ketinggian tempat hanjeli tumbuh adalah 997 mdpl (Lampiran 3).



Gambar 3.5. Termometer tanah



Gambar 3.6. Soil tester



Gambar 3.7. Altimeter

1.4.3. Autentifikasi sampel

Autentifikasi sampel dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang diambil memang merupakan spesies tanaman yang akan diujikan. Bagian tumbuhan dari akar, batang, daun, dan buah dikumpulkan kemudian dikirim ke Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Autentifikasi sampel dilakukan dengan pengamatan morfologi hanjeli dan membandingkannya dengan data yang ada pada pustaka di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor.

1.4.4. Persiapan Bahan

Sampel akar dan daun kedua hanjeli dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Metode pengeringan sampel dilakukan seperti cara yang dilakukan oleh Puspitasari & Proyogo (2010). Berat basah masing-masing sampel ditimbang dan dikeringkan dengan diangin-anginkan selama beberapa hari hingga kadar air berkurang. Sampel akar dan daun dipotong-potong kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C hingga berat sampel konstan dan diperoleh simplisia (Gambar 3.8). Simplisia dihaluskan dengan blender dan disaring menggunakan saringan 100 mesh hingga diperoleh serbuk simplisia (Gambar 3.9).



Gambar 3.8. Simplisia: A. Daun Hanjeli Ketan; B. Daun Hanjeli Putih; C. Akar Hanjeli Ketan; D. Akar Hanjeli Putih

Gambar 3.9. Serbuk Simplisia: A. Daun Hanjeli Ketan; B. Daun Hanjeli Putih; C. Akar Hanjeli Ketan; D. Akar Hanjeli Putih

1.4.5. Ekstraksi

Pemilihan cara, jenis, dan perbandingan pelarut dalam proses ekstraksi didasari oleh penelitian yang dilakukan oleh Dinigrat dkk. (2018), Nur dkk. (2020) dan Senja dkk. (2014). Serbuk simplisia yang telah diperoleh diekstraksi dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% dengan perbandingan serbuk simplisia dan pelarut adalah 1:10. Serbuk simplisia untuk setiap sampel ditimbang sebanyak 20 g dan dilarutkan dengan 200 mL pelarut etanol 96% di dalam gelas kaca

tahan panas (Gambar 3.10). Selama perendaman dilakukan, gelas tersebut ditutup untuk mencegah penguapan pelarut. Perendaman dilakukan selama 24 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan. Hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring *whatman* no.1 untuk memisahkan ampas serbuk simplisia (Gambar 3.11). Ampas yang telah dipisahkan diambil kembali untuk dilakukan perendaman dengan etanol 96% baru. Proses perendaman dan penyaringan tersebut dilakukan hingga tiga kali. Ekstrak tersebut diuapkan menggunakan *oven* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental. Proses penguapan ini dilakukan dengan cara yang sama seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Bennour dkk. (2020). Hasil penguapan tersebut kemudian disimpan dalam *microtube* pada suhu ruang dan siap digunakan untuk analisis GC-MS (Gambar 3.12).



Gambar 3.10. Serbuk Simplisia yang Direndam dalam Etanol 96%



Gambar 3.11. Penyaringan Ekstrak Akar dan Daun Hanjeli



Gambar 3.12. Hasil Ekstraksi Akar dan Daun Hanjeli

1.4.6. Analisis GC-MS

Analisis metabolit sekunder pada ekstrak etanol akar dan daun hanjeli ketan dan hanjeli putih dilakukan menggunakan alat *Gas Chromatography – Mass Spectrometry* (GC-MS) di Pusat Laboratorium Forensik Bareskrim Polri, Sentul Bogor. Alat GC-MS yang digunakan yaitu Agilent 5977B (Gambar 3.13) dengan tipe kolom Agilent 19091S-433UI HP-5MS (30 m x 250 μ m x 0.25 μ m). Helium digunakan sebagai gas pembawa pada laju aliran konstan 1mL/menit. Volume sampel yang diinjeksikan adalah 1 μ L dengan rasio split 20:1. Suhu oven diatur dengan suhu awal 80°C lalu ditingkatkan menjadi 300°C dengan kecepatan 15°C/menit, suhu maksimal diatur pada 325°C. Total waktu yang dibutuhkan untuk menjalankan proses GC yaitu 34 menit. Detektor spektrofotometri massa dioperasikan dengan pemindaian 30-600 m/z dan menghabiskan waktu selama 41 menit. Hasil kromatogram dan spektrum massa diidentifikasi menggunakan perangkat lunak WILLEY09TH.



Gambar 3.13. GC-MS Agilent 5977B
(Komunikasi Pribadi, 2021)

1.4.7. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil analisis GC-MS berupa grafik yang menunjukkan jenis dan kadar senyawa. Data hasil GC-MS tersebut diidentifikasi dengan melihat indeks kesamaannya dengan data yang ada di pustaka *National Institute of Standards and Technology* (NIST) menggunakan perangkat lunak WILLEY09TH. Senyawa yang ditampilkan pada penelitian ini adalah senyawa yang memiliki indeks kesamaan minimal 80%. Hal ini didasarkan pada pernyataan Wu (2019) bahwa senyawa dengan

Allia Yasmin Gismar, 2021

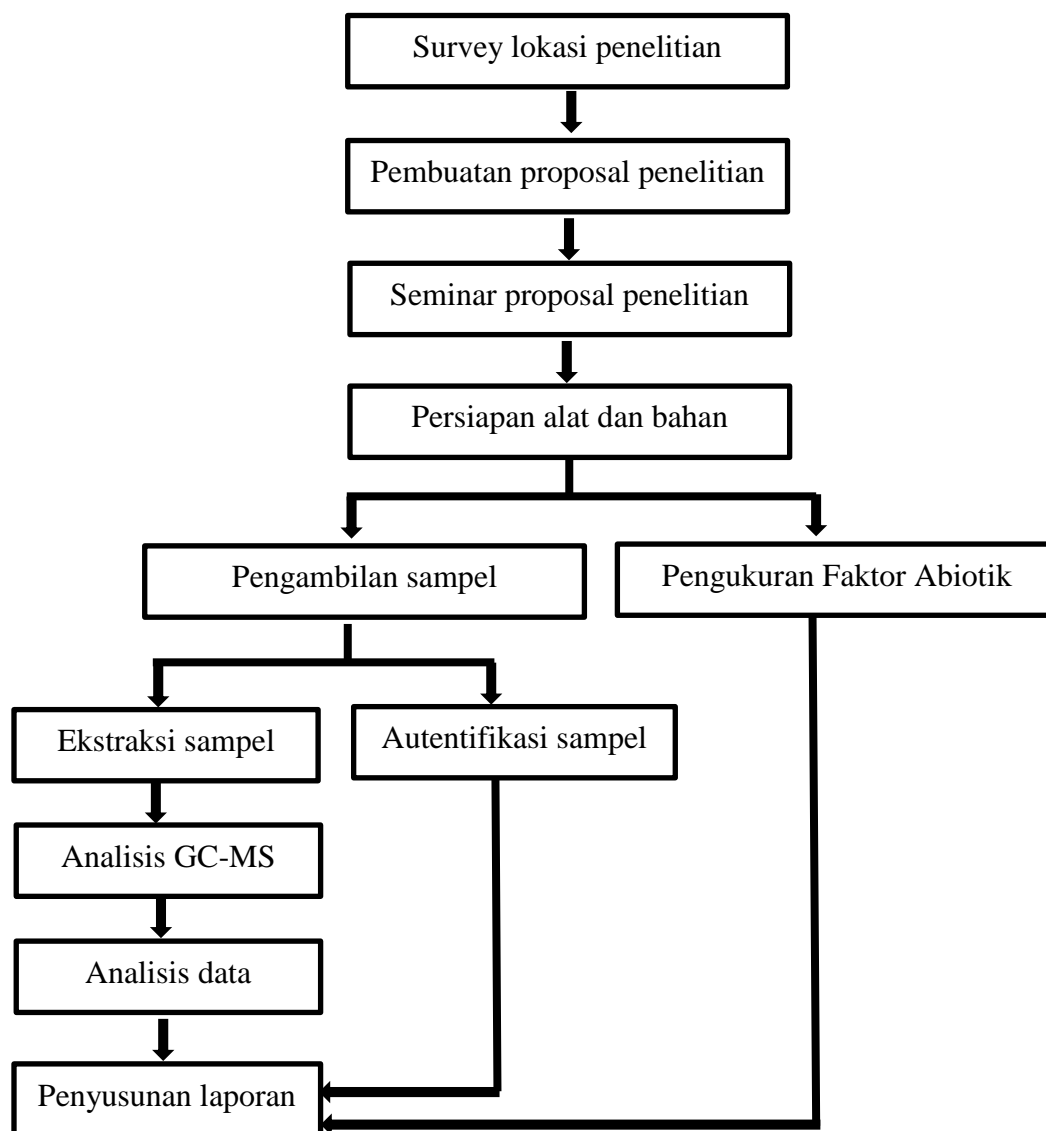
ANALISIS METABOLIT SEKUNDER DARI AKAR DAN DAUN HANJELI (*Coix lacryma-jobi* L.) KETAN DAN HANJELI PUTIH MENGGUNAKAN GC-MS

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

indeks kesamaan <80% terdaftar sebagai senyawa yang tidak diketahui. Informasi nama umum dan IUPAC bagi setiap senyawa diperoleh dari situs web PubChem. Data disajikan dalam bentuk tabel, diagram venn, dan *heat map* untuk mempermudah pemahaman profil metabolit sekunder dari setiap sampel. Informasi aktivitas biologis dan manfaat dari setiap senyawa diperoleh melalui studi pustaka.

1.5. Alur Penelitian

Alur penelitian pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.14.



Gambar 3.14. Bagan Alur Penelitian