

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif adalah metode yang digunakan untuk meneliti atau mendeskripsikan suatu gejala, kondisi, peristiwa, hubungan antara berbagai fenomena yang dianalisis, serta pencarian fakta yang terjadi pada masa kini atau masalah aktual dengan interpretasi yang tepat dan akurat (Whitney, 1960).

3.2. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tanaman bayam (*Amaranthus viridis* L. dan *Amaranthus tricolor* L.). Sampel dalam penelitian ini adalah akar (Gambar 3.1) dan daun (Gambar 3.2) bayam yang saat dipanen. Daun diambil dari buku ke-1 sampai 8. Bayam cabut dipanen saat umur tanaman bayam telah mencapai 3 minggu.



Gambar 3.1. Akar Bayam:
A. Liar; B. Cabut



Gambar 3.2. Daun Bayam:
A. Liar; B. Cabut

3.3. Waktu dan Tempat

Pengambilan data dilakukan pada bulan Januari 2022, saat panen di Ciamis, Jawa Barat (Gambar 3.3). Persiapan alat dan bahan (Lampiran 1) serta ekstraksi sampel dilakukan di Laboratorium Riset, FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia (UPI), Bandung. Autentikasi sampel dilakukan di Museum Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH), ITB, Bandung. Analisis metabolit sekunder pada sampel menggunakan *Gas Chromatography- Mass Spectrometry* (GC-MS) yang dilakukakan di Pusat Laboratorium Forensik Bareskrim Polri, Sentul Bogor.



Gambar 3.3. Lokasi Pengambilan Sampel Bayam:
(a) *Amaranthus viridis* L. dan (b) *Amaranthus tricolor* L.
(Google Earth, 2022)

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Pengambilan Sampel

Bagian akar yang digunakan yaitu bagian pangkal akar hingga ke ujung akar. Bagian daun yang digunakan yaitu helai daun hingga ke tangkai daun. Tanaman *Amaranthus viridis* L. tumbuh dengan sendirinya di lahan dekat pemukiman warga (Gambar 3.4). Tanaman *Amaranthus tricolor* L. dibudidayakan di perkebunan Kelompok Tani Mekarsari 1 Benteng, serta menggunakan jenis bayam cabut yang berwarna hijau (Gambar 3.5).

Hilma Adila Indriani, 2022

ANALISIS METABOLIT SEKUNDER PADA AKAR DAN DAUN TANAMAN BAYAM (*Amaranthus viridis* L. dan *Amaranthus tricolor* L.) MENGGUNAKAN GC-MS

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



Gambar 3.4. Lokasi Bayam Liar



Gambar 3.5. Lokasi Bayam Cabut

3.4.2. Pengukuran Faktor Abiotik

Pengukuran faktor abiotik yang diukur adalah pH, kelembaban, dan suhu tanah, serta ketinggian tempat tumbuhnya tanaman bayam. Kelembaban dan pH tanah diukur menggunakan soil tester (Gambar 3.6). Soil tester ditancapkan pada tanah sampai bagian sensor (plat metal) terendam oleh tanah, kemudian nilai pH tanah muncul setelah menggeserkan tombol pada keterangan pH. Sama halnya pada nilai kelembaban tanah muncul setelah menggeserkan tombol pada keterangan (*moist*) di alat soil tester (Wardah dkk., 2019). Suhu tanah diukur menggunakan termometer (Gambar 3.7) dan ketinggian tempat diukur menggunakan altimeter (Gambar 3.8).

Berdasarkan hasil pengukuran abiotik (Lampiran 2) diketahui bahwa di daerah Ciamis, Kabupaten Ciamis, Jawa Barat, tempat bayam liar tumbuh memiliki kelembaban tanah 55%, pH tanah 6,0, dan suhu tanah sebesar 26°C. Tempat bayam cabut tumbuh dengan kelembaban tanah 60%, pH tanah 7,0 dan suhu tanah 26°C. Ketinggian tempat kedua bayam tumbuh adalah 250 mdpl.



Gambar 3.6. Soil Tester



Gambar 3.7. Termometer

Hilma Adila Indriani, 2022

ANALISIS METABOLIT SEKUNDER PADA AKAR DAN DAUN TANAMAN BAYAM (*Amaranthus viridis* L. dan *Amaranthus tricolor* L.) MENGGUNAKAN GC-MS

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



Gambar 3.8. Altimeter

3.4.3. Autentikasi Sampel

Autentikasi sampel dilakukan untuk memastikan kebenaran spesies tanaman bayam yang dicuplik merupakan tanaman yang akan diujikan. Autentikasi yang dilakukan dengan menganalisis morfologi bayam seperti morfologi akar, batang, daun, bunga, dan dibandingkan dengan data pustaka dari buku phytotaxa “*taxonomic revision of the genus Amaranth (Amaranthaceae) in Italy*” (2015) yang terdapat di Museum Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH), ITB, Bandung.

3.4.4. Persiapan Bahan

Akar dan daun tanaman bayam dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat. Berat basah masing-masing sampel ditimbang, kemudian akar dan daun dipotong-potong dan dilanjutkan pengeringan sampel menggunakan oven pada suhu 40°C (Gambar 3.9) hingga beratnya konstan. Pengeringan sampel mengikuti metode Daboor dkk. (2007). Hasil pengeringan pada oven memperoleh simplisia (161 gram) (Gambar 3.10), kemudian dihaluskan dan diayak menggunakan pengayak 100 mesh sampai memperoleh serbuk simplisia (Gambar 3.11). Pengayakan mengikuti metode Koswara (2013). Serbuk simplisia digunakan untuk analisis lebih lanjut.



Gambar 3.9. Pengeringan Sampel

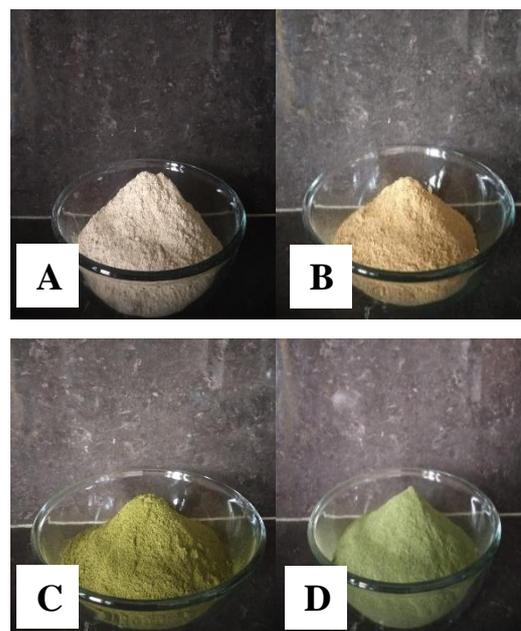
Hilma Adila Indriani, 2022

ANALISIS METABOLIT SEKUNDER PADA AKAR DAN DAUN TANAMAN BAYAM (*Amaranthus viridis* L. dan *Amaranthus tricolor* L.) MENGGUNAKAN GC-MS

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



Gambar 3.10. Simplisia: A. Akar Bayam Liar; B. Akar Bayam Cabut; C. Daun Bayam Liar; D. Daun Bayam Cabut



Gambar 3.11. Serbuk Simplisia: A. Akar Bayam Liar; B. Akar Bayam Cabut; C. Daun Bayam Liar; D. Daun Bayam Cabut

3.4.5. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% dengan perbandingan serbuk simplisia dan pelarut adalah 1:10. Pemilihan etanol sebagai pelarut karena dapat lebih banyak menarik senyawa (Marnoto dkk., 2012; Prasetya dkk., 2020). Perbandingan antara serbuk simplisia dan pelarut berdasarkan penelitian Nur dkk. (2020). Serbuk simplisia untuk setiap sampel digunakan sebanyak 20 g dan dilarutkan dengan 200 mL pelarut etanol 96% dalam tabung erlenmeyer. Perendaman dilakukan selama 24 jam dengan dilakukan pengadukan beberapa kali. Selama perendaman tabung erlenmeyer disimpan dalam inkubator dengan suhu 28°C serta tabung tersebut ditutup menggunakan plastik *wrap* dan aluminium untuk mencegah penguapan pelarut (Gambar 3.12). Hasil dari rendaman disaring menggunakan kertas saring *whatman* nomor 1 untuk memisahkan ampas serbuk simplisia dengan hasil ekstraksi (Gambar 3.13). Ampas simplisia diambil untuk dilakukan perendaman kembali dengan etanol 96% baru. Proses perendaman dan penyaringan dilakukan hingga tiga kali sampai diperoleh ekstrak etanol akar dan daun bayam. Perendaman dan penyaringan mengikuti metode Senja dkk. (2014). Ekstrak tumbuhan tersebut

Hilma Adila Indriani, 2022

ANALISIS METABOLIT SEKUNDER PADA AKAR DAN DAUN TANAMAN BAYAM (*Amaranthus viridis* L. dan *Amaranthus tricolor* L.) MENGGUNAKAN GC-MS

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

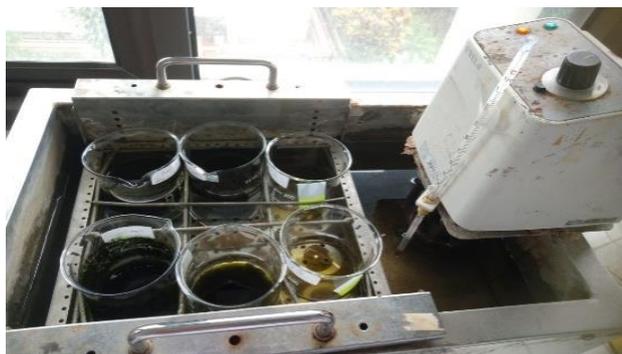
diuapkan menggunakan *waterbath* (Gambar 3.14) dengan suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (10 ml) sesuai dengan penelitian Sari dkk. (2017) untuk menguapkan etanol. Hasil ekstraksi disimpan dalam *microtube* pada suhu ruang dan siap digunakan untuk analisis GC-MS (Gambar 3.15).



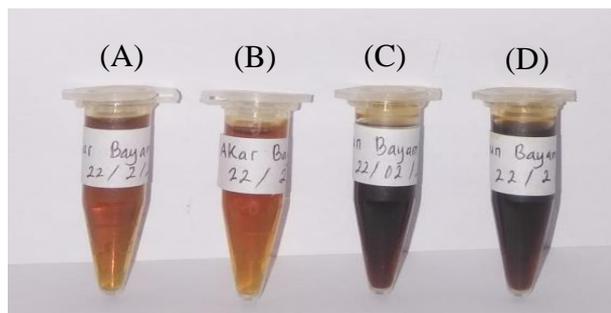
Gambar 3.12. Maserasi Sampel



Gambar 3.13. Penyaringan Ekstrak Akar dan Daun Bayam



Gambar 3.14. Penguapan Sampel



Gambar 3.15. Hasil Ekstraksi Akar Bayam Liar (A), Akar Bayam Cabut (B), Daun Bayam Liar (C), Daun Bayam Cabut (D)

3.4.6. Analisis GC-MS

Ekstrak etanol akar dan daun dianalisis menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) tanpa pengulangan. Sampel yang digunakan sebanyak 1 μ L berupa ekstrak. Pengujian GC-MS ini dilakukan di Pusat Laboratorium Forensik Bareskrim Polri, Sentul Bogor. Alat GC-MS yang digunakan yaitu Agilent 5977B (Gambar 3.16) dengan kolom Agilent 19091S-433 HP-5MS (5% *Phenyl Methyl Silox*), dengan panjang kolom 30 m, ketebalan kolom 250 μ m, dan diameter kolom 250 μ m. Gas pembawa yang digunakan adalah gas helium pada laju aliran konstan 1 mL/menit. Volume sampel yang diinjeksikan adalah 1 μ L dengan rasio split 20:1. Suhu awal oven 70°C lalu ditingkatkan menjadi 290°C dengan kecepatan 10°C/menit. Total waktu untuk menjalankan proses GC yaitu selama 35 menit. Detektor spektrometri massa dioperasikan dengan pemindaian 35-600 m/z dan menghabiskan waktu selama 35 menit. *Electron Multiplier Voltage* (EM Voltage) dipertahankan pada 1597 V. Hasil dari GC-MS berupa kromatogram dan spektrum massa yang kemudian diidentifikasi dengan perangkat lunak menggunakan pustaka pada *software* WILLEY 09TH.



Gambar 3.16. Perangkat GC-MS (*Komunikasi Pribadi, 2022)

Hilma Adila Indriani, 2022

ANALISIS METABOLIT SEKUNDER PADA AKAR DAN DAUN TANAMAN BAYAM (*Amaranthus viridis* L. dan *Amaranthus tricolor* L.) MENGGUNAKAN GC-MS

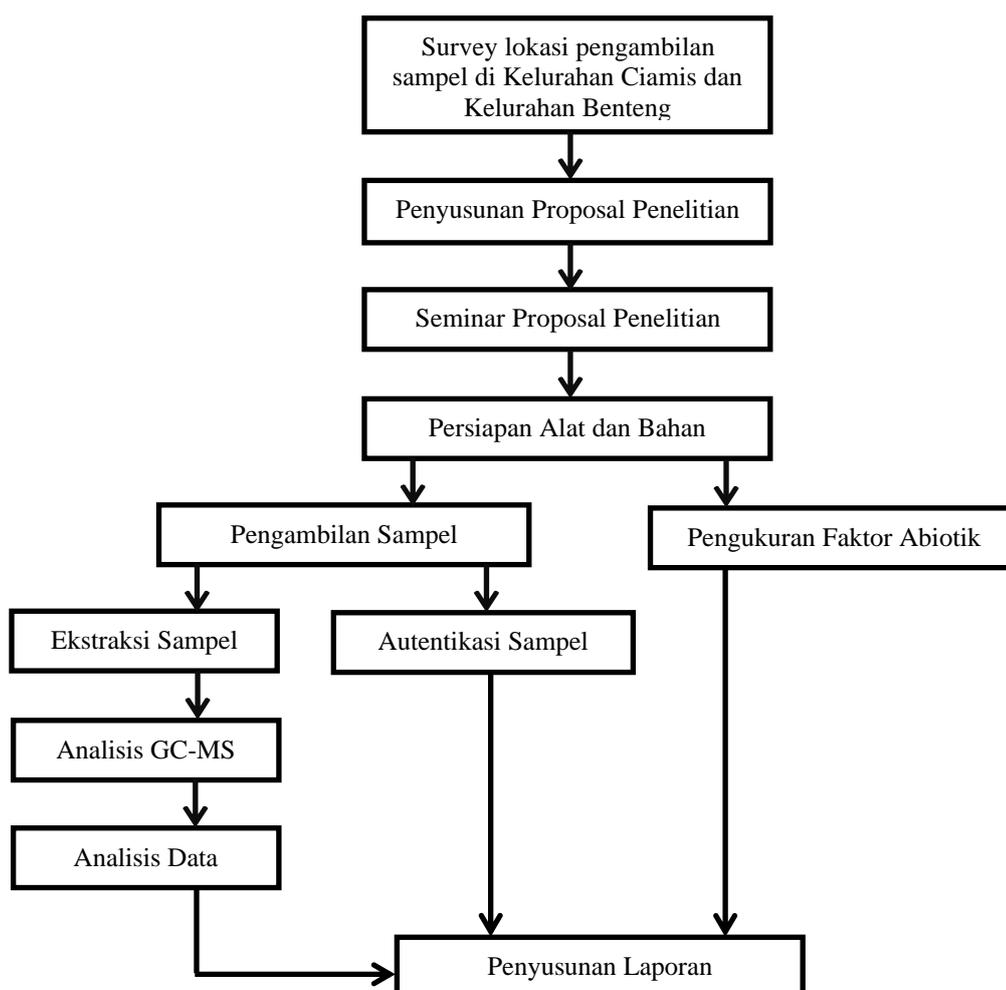
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.4.7. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil analisis GC-MS berupa grafik dengan berbentuk puncak (*peak*) dengan *quality* $\geq 80\%$. Data hasil GC-MS diidentifikasi dengan cara melihat kemiripannya (*similarity index*) dengan data yang ada di Pustaka *National Institute of Standards and Technology* (NIST). Informasi nama umum dan IUPAC dari setiap senyawa diperoleh dari situs web PubChem. Hasil pengolahan data disajikan dengan menggunakan tabel, diagram venn, dan *heatmap* yang dibuat menggunakan *Microsoft Excel 2016*.

3.5. Alur Penelitian

Alur penelitian dari penelitian tentang metabolit sekunder pada akar dan daun tanaman bayam menggunakan Kromatografi Gas-Spektrofotometri Massa (GC-MS) terdapat pada Gambar 3.17.



Gambar 3.17. Bagan Alur Penelitian