

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Pada penelitian ini spesimen tidak diberikan perlakuan tambahan, melainkan hanya diberikan gambaran mengenai metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak etanol 96% umbi dan daun ubi Cilembu dengan menggunakan alat *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS).

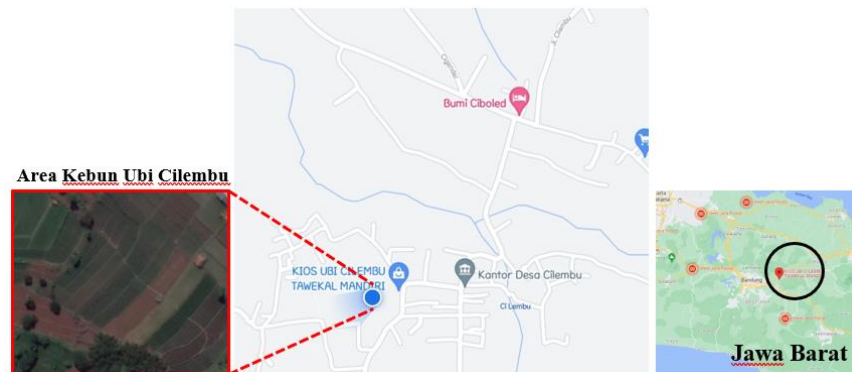
3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah tanaman ubi Cilembu yang dibudidayakan di kebun dari dua tempat, yaitu Desa Cilembu, Kabupaten Sumedang, dan Desa Patrolsari, Kabupaten Bandung. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi dan daun. Kebun di Desa Cilembu memiliki luas sekitar 400 m² dan terdiri dari 8 bedeng. Kebun di Desa Patrolsari memiliki luas sekitar 150 m² dan terdiri dari 5 bedeng. Sampel berupa umbi dan daun yang digunakan diambil dari setiap bedeng sehingga total diperoleh sekitar 1,5 kg untuk setiap sampelnya (Lampiran 1).

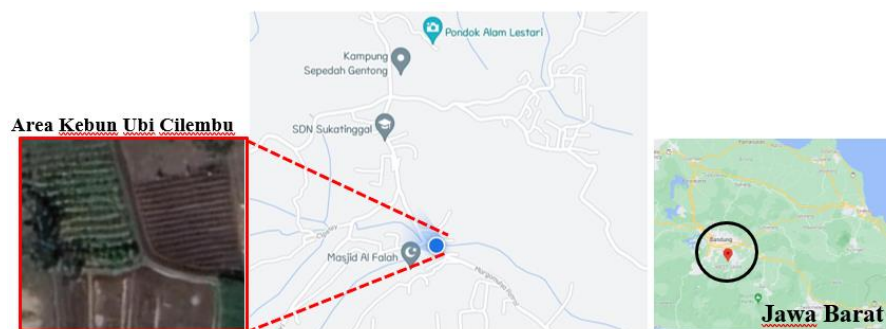
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Pengambilan sampel (umbi dan daun ubi Cilembu), faktor abiotik lingkungan (suhu, pH, kelembaban, dan ketinggian), autentikasi sampel, dan analisis GC-MS dilakukan pada bulan Januari – Maret 2022. Pengambilan sampel ubi Cilembu berlokasi di Desa Cilembu, Kecamatan Pamulihan, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat (Gambar 3.1 dan Gambar 3.3.A) dan di Desa Patrolsari, Kecamatan Arjasari, Kabupaten Bandung, Jawa Barat (Gambar 3.2 dan Gambar 3.3.B). Persiapan alat dan bahan (Lampiran 2) serta ekstraksi sampel dilakukan di Laboratorium Riset, FPMIPA UPI. Autentikasi sampel dilakukan di Herbarium Bandungense (FIPIA) SITH ITB. Analisis senyawa metabolit sekunder pada sampel dilakukan di Pusat

Laboratorium Forensik (Puslabfor) Bareskrim Polri, Sentul Bogor dengan menggunakan alat GC-MS.



Gambar 3.1. Lokasi Pengambilan Sampel Ubi Cilembu di Desa Kabupaten Sumedang (Google Maps, 2022)



Gambar 3.2. Lokasi Pengambilan Sampel Ubi Cilembu di Kabupaten Bandung (Google Maps, 2022)



Gambar 3.3. Kebun Ubi Cilembu
A. Sumedang; B. Bandung

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel umbi dan daun ubi Cilembu diambil dari individu saat panen (berumur 5 bulan). Bagian umbi yang digunakan adalah seluruh bagian dagingnya. Sampel umbi dan daun ubi Cilembu masing – masing dimasukkan ke dalam kantong yang terpisah. Berat basah, kering, serbuk simplisia, serta penentuan jumlah serbuk yang digunakan dalam proses ekstraksi hingga ekstrak yang kental diperoleh pada setiap sampelnya dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.4.2 Pengukuran Faktor Abiotik

Lokasi atau tempat tumbuhnya ubi Cilembu yaitu kebun di daerah Kabupaten Sumedang dan Kabupaten Bandung diukur faktor abiotiknya meliputi suhu, pH, kelembaban, dan ketinggian. Suhu diukur menggunakan termometer (Gambar 3.4), pH dan kelembaban diukur menggunakan *soil tester* (Gambar 3.5), dan ketinggian diukur menggunakan altimeter (Gambar 3.6).

Berdasarkan hasil pengukuran faktor abiotik, diketahui bahwa di daerah Cilembu, Kecamatan Pamulihan, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat, kebun tempat tanaman ubi Cilembu tumbuh memiliki tanah dengan suhu 24°C, pH 7, dan kelembaban 90%, dengan ketinggian tempat 821 mdpl. Daerah Desa Patrolsari, Kecamatan Arjasari, Kabupaten Bandung, Jawa Barat, kebun tempat tanaman ubi Cilembu tumbuh memiliki tanah dengan suhu 27°C, pH 7, dan kelembaban 80%, dengan ketinggian tempat 803 mdpl (Lampiran 3).



Gambar 3.4. Termometer



Gambar 3.5. *Soil tester*



Gambar 3.5. Altimeter

3.4.3 Autentikasi Sampel

Autentikasi sampel dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan merupakan spesies tanaman yang diuji. Karakteristik morfologi dari tanaman ubi Cilembu dilakukan dengan pengamatan secara langsung terhadap setiap organnya (akar, batang, daun, dan umbi) kemudian dibandingkan dengan data pada pustaka yang ada di Herbarium Bandungense (FIPIA) SITH ITB yaitu buku “*A Revised Handbook to the Flora of Ceylon I* (1980)”, buku “*Flora of Java* (1965)”, artikel “Diversitas morfologi dan fenologi serta ancaman kepunahan terhadap varietas lokal ubi jalar asal Cilembu (2011)”, dan artikel “*The Convolvulaceae of Timor with special reference to East Timor* (2011)” (Lampiran 4).

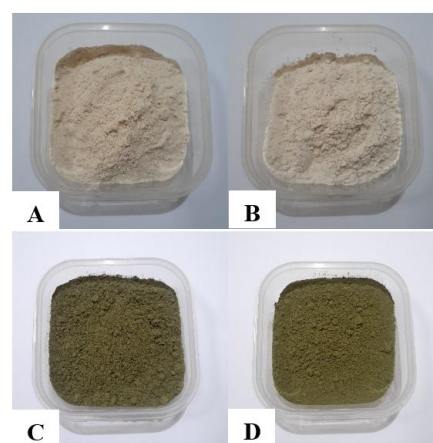
3.4.4 Persiapan Bahan

Sampel tanaman ubi Cilembu berupa umbi dan daun dicuplik dan dipisahkan dari organ lainnya, untuk umbi dibersihkan dan diiris tipis. Berat basah (1.400 – 1.600 gr) ditimbang dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga beratnya konstan dan diperoleh simplisia (200 – 300 gr) (Gambar 3.7). Sampel kering umbi dan daun dihaluskan menggunakan *blender* dan disaring menggunakan saringan 100 *mesh* hingga serbuk simplisia diperoleh (150 – 300 gr) (Gambar 3.8) (Lampiran 1 dan Lampiran 5). Metode pengeringan dan penyaringan mengikuti metode yang dilakukan Wahyuni dkk. (2016).



Gambar 3.7. Simplisia:

A. Umbi Sumedang; B. Umbi Bandung;
C. Daun Sumedang; D. Daun Bandung



Gambar 3.8. Serbuk Simplisia:

A. Umbi Sumedang; B. Umbi Bandung;
C. Daun Sumedang; D. Daun Bandung

Talitha Dier Aliyya Rahman, 2022

ANALISIS METABOLIT SEKUNDER DARI UMBI DAN DAUN UBI JALAR (*Ipomea batatas L.*)
CILEMBU MENGGUNAKAN GC-MS

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

3.4.5 Ekstraksi

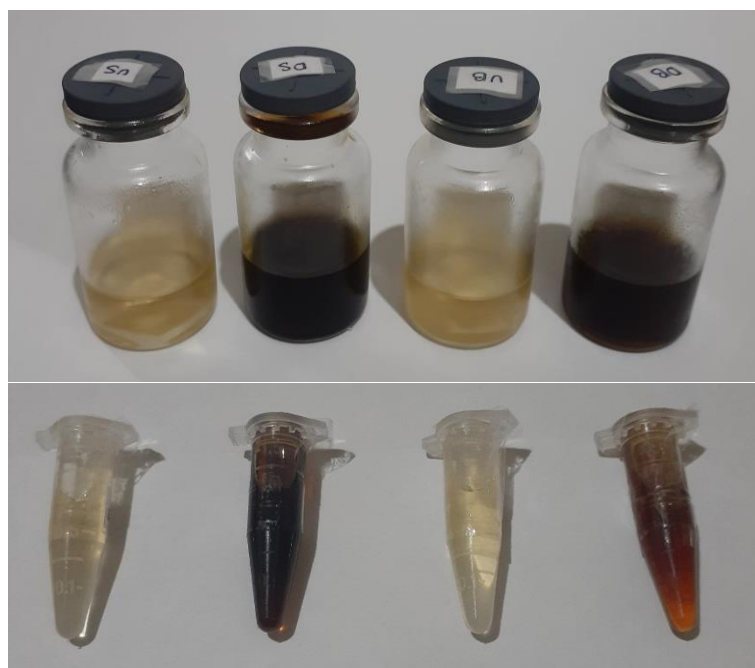
Pemilihan metode dan jenis serta perbandingan pelarut dalam proses ekstraksi didasari penelitian yang dilakukan Nur dkk. (2020) dan Senja dkk. (2014). Serbuk simplisia yang telah diperoleh diekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, dengan perbandingan antara serbuk simplisia dan pelarut adalah 1 : 10. Sebanyak 20 g serbuk simplisia dari setiap sampel dilarutkan dengan 200 mL etanol 96% di dalam tabung erlenmeyer yang sekelilingnya ditutup dengan alumunium foil dan mulut tabung ditutup dengan plastik *wrap* untuk mencegah terjadinya penguapan. Proses perendaman dilakukan selama 24 jam dan disimpan dalam inkubator dengan suhu 28°C, secara periodik tabung erlenmeyer diaduk (Gambar 3.9). Hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring *whatman* no.1 dengan tujuan untuk memisahkan serbuk simplisia dari ampas (Gambar 3.10). Ampas yang sudah dipisahkan tersebut diambil untuk dilakukan perendaman kembali dengan pelarut etanol 96% yang baru. Proses perendaman dan penyaringan dilakukan sebanyak tiga kali. Ekstrak diuapkan menggunakan *water bath* pada suhu 40°C hingga ekstrak kental diperoleh (15 mL) (Lampiran 1 dan Lampiran 5). Proses penguapan ini mengikuti metode yang dilakukan oleh Juwita dkk. (2013). Ekstrak disimpan di dalam botol vial pada suhu ruang dan siap digunakan untuk analisis lebih lanjut (Gambar 3.11).



Gambar 3.9. Maserasi Ekstrak Umbi dan Daun Ubi Cilembu



Gambar 3.10. Penyaringan Ekstrak Umbi dan Daun Ubi Cilembu



Gambar 3.11. Hasil Ekstraksi Umbi dan Daun Ubi Cilembu

3.4.6 Analisis GC-MS

Untuk analisis kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol umbi dan daun ubi Cilembu dilakukan dengan menggunakan alat *Gas Chromatography – Mass Spectrometry* (GC-MS) di Pusat Laboratorium Forensik (Puslabfor) Bareskrim Polri, Sentul Bogor. Alat GC-MS yang digunakan yaitu Agilent 5977B (Gambar 3.12) dengan tipe kolom Agilent 19091S-433UI HP-5MS (30 m x 250 μm x 0.25 μm). Gas pembawa berupa helium pada laju laju aliran konstan 1 mL/menit. Volume sampel diinjeksikan sebanyak 1 μL dengan rasio *split* 20 : 1. Suhu oven diatur dengan suhu awal 70°C lalu ditingkatkan menjadi 290°C

dengan kecepatan $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$, suhu maksimal diatur pada 325°C . Total waktu yang dibutuhkan untuk menjalankan proses kromatografi gas yaitu 35 menit. Detektor spektrofotometri massa dioperasikan dengan pemindaian 35-600 m/z dan menghabiskan waktu selama 35 menit. Hasil dari GC-MS berupa kromatogram dan spektrum massa (Lampiran 6) yang kemudian diidentifikasi menggunakan pustaka pada *software* WILLEY09TH.



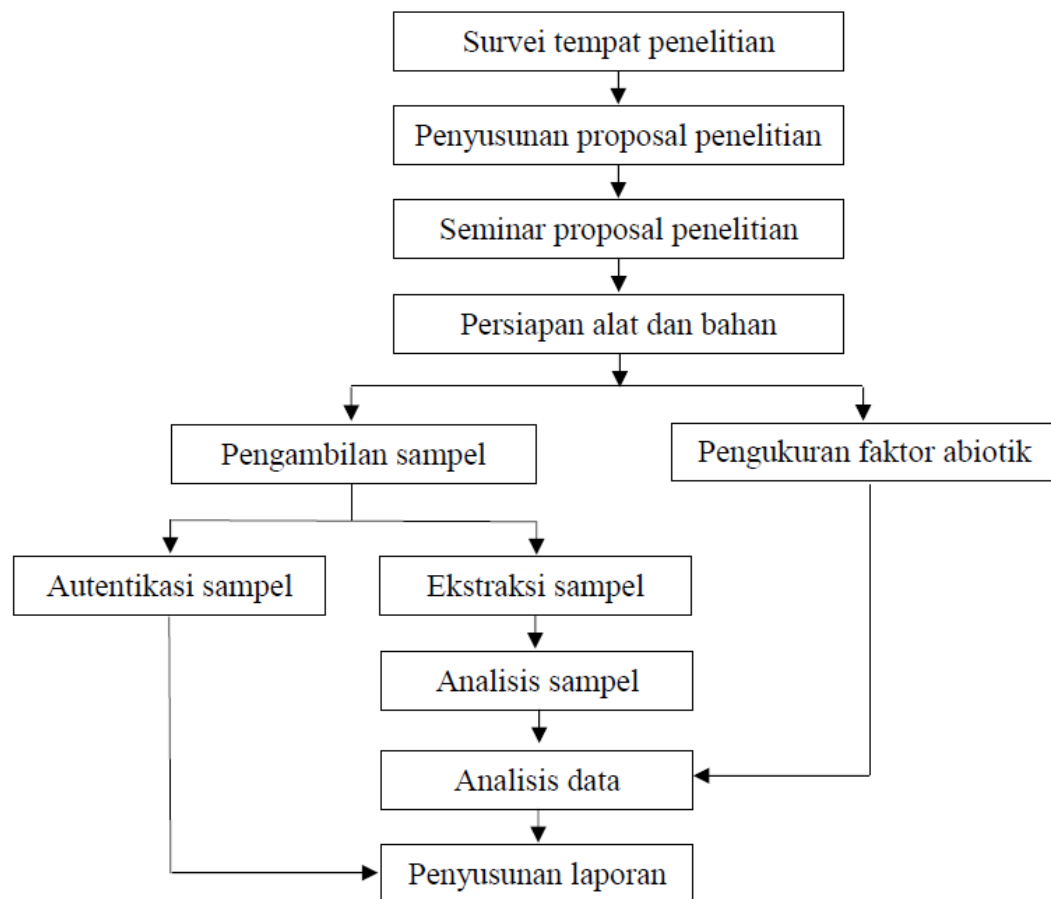
Gambar 3.12. GC-MS Agilent 5977B
(Komunikasi Pribadi, 2022)

3.4.7 Analisis Data

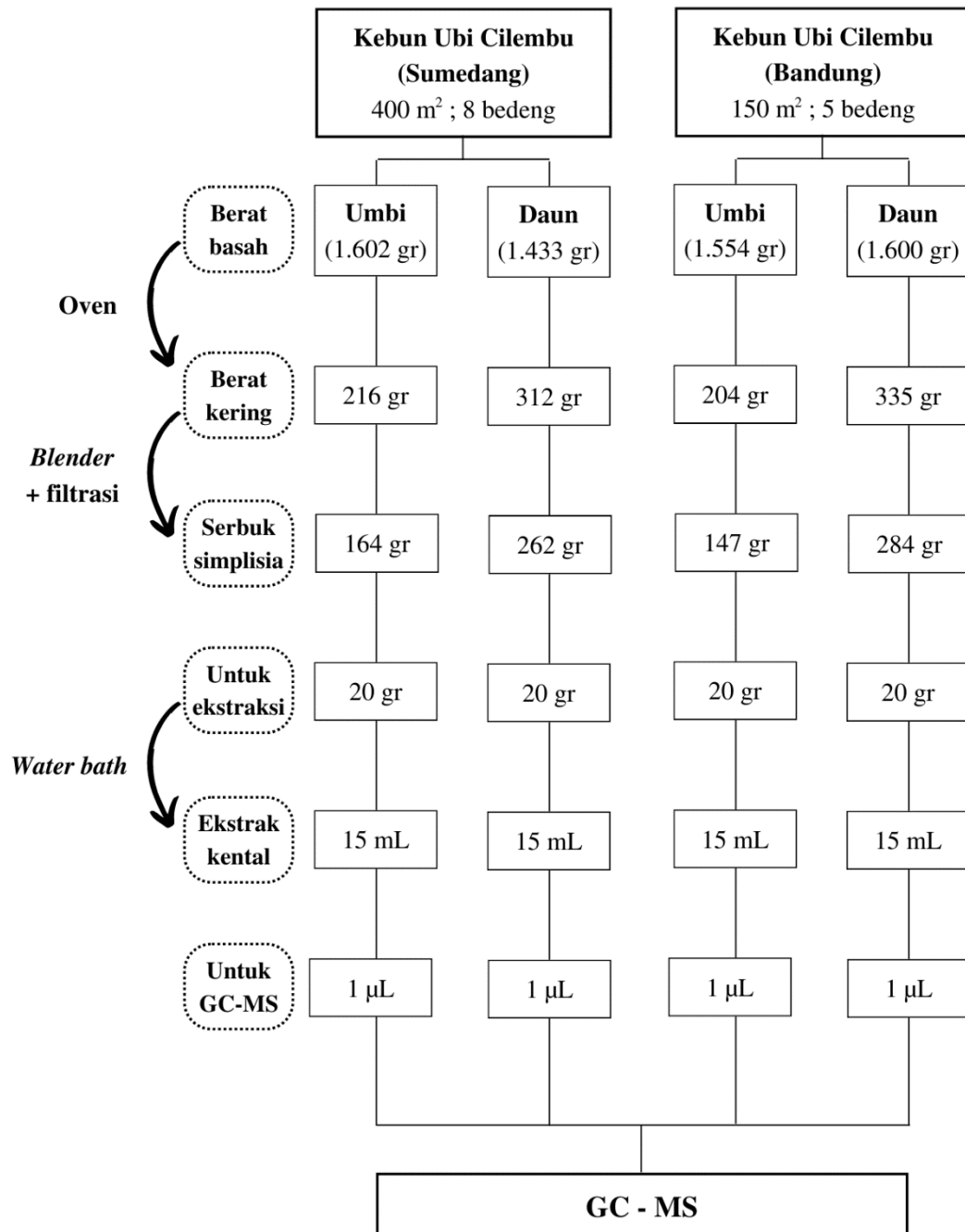
Hasil analisis kandungan senyawa yang dihasilkan dari alat GC-MS berupa grafik berbentuk puncak. Senyawa dengan nilai *quality* $\geq 80\%$ akan diidentifikasi dengan cara melihat indeks kesamaan (*similarity index*) dengan data yang ada pada pustaka *National Institute of Standards and Technology* (NIST). Informasi dari nama umum dan IUPAC untuk setiap senyawa diperoleh dari situs *web* PubChem. Hasil analisis data akan disajikan dalam bentuk tabel, diagram venn, dan *heat map*. Informasi tentang aktivitas biologis dan manfaat dari setiap senyawa sekunder diperoleh melalui studi pustaka.

3.5 Alur Penelitian

Alur penelitian (Gambar 3.13) dan persiapan sampel (Gambar 3.14) pada penelitian ini terlihat sebagai berikut.



Gambar 3.13. Bagan Alur Penelitian



Gambar 3.14. Persiapan Sampel