

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu menggunakan metode eksperimental dengan pendekatan kualitatif di laboratorium untuk mencari tahu kandungan senyawa metabolit sekunder di dalam rimpang Bangle dan melakukan pengujian antifungi pada ekstrak Rimpang Bangle terhadap *Trychopyton Rubrum*.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan dan Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian :

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan penelitian yang akan digunakan adalah Rimpang Bangle (*Zingiber montanum* (J.Koenig), Aquadest, metanol, *Potatos Dextros Agar* (PDA), HCL, FeCl₃, Ketokonazol, N-heksan, etyl asetat, bakteri *Trychopyton Rubrum*, masker, sarung tangan, plat KLT, pipa kapiler.

3.2.2 Peralatan Penelitian

Alat-alat penelitian yang akan digunakan adalah maserator, timbangan digital, tabung reaksi (PIREX), spatula, corong, pipet tetes, pipet volume, batang pengaduk, beaker glass, erlenmeyer, chamber, botol coklat, oven (QEMMYCO), cawan petri, *Rotary Evaporator*, water bath, Lampu UV, jangka sorong, *incubator* (QEMMYCO), jarum ose, mikropipet, Bunsen, *autoclave*, Kaca arloji.

3.3 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian berada di Laboratorium Bahan alam Universitas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2021 – Agustus 2021.

3.4 Pengolahan Sample

Bahan tanaman yang sudah dikumpulkan untuk diteliti, cara pengumpulan atau cara pengambilan herba tanaman ini adalah diambil bagian akar yang menempel pada Rimpang Bangle. Rimpang bangle selanjutnya di bersihkan menggunakan air mengalir. Rimpang Bangle yang telah dibersihkan dirajang agar mempermudah untuk memblender. Pengeringan rimpang Bangle dilakukan dengan cara diangin-anginkan, Pengeringan dilakukan tidak langsung di bawah sinar matahari dikarenakan menjauhkan rusaknya zat kimia di dalam Rimpang Bangle. Hasil Simplisia kering kemudian dihaluskan dengan blander.

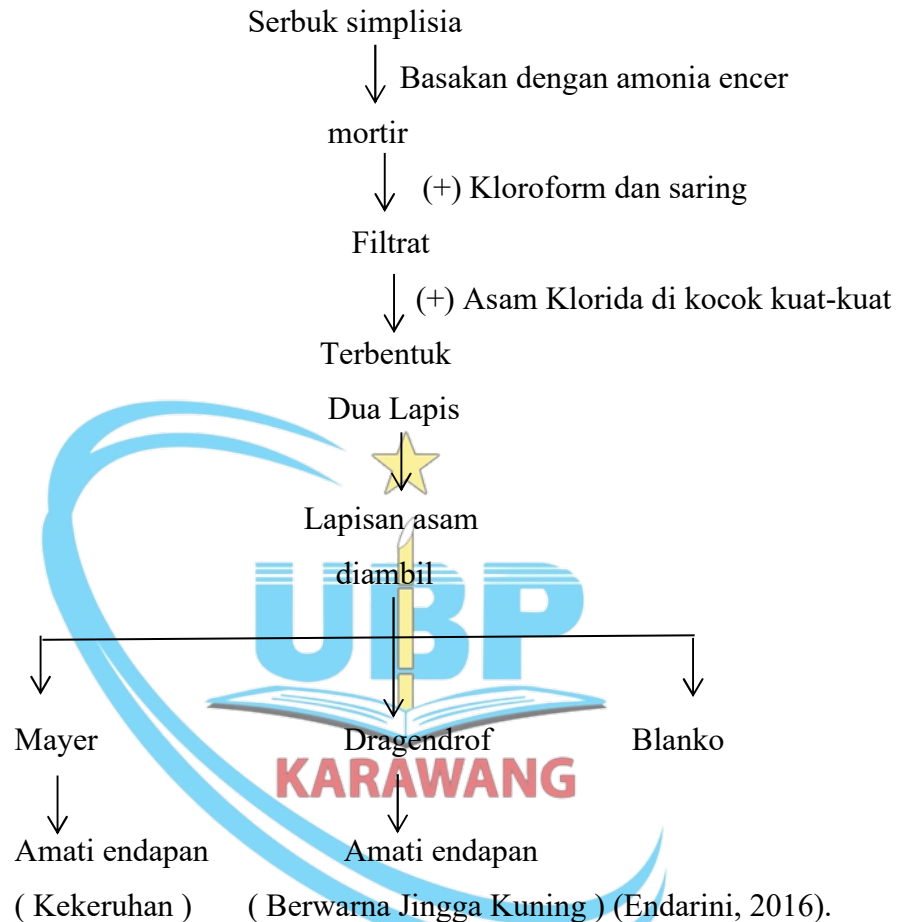
3.5 Ekstraksi Sample

Metode maserasi yaitu dengan cara simplisia Rimpang Bangle (*Zingiber montanum* (J.Koenig) Link A.Dietr. direndam pada maserator sampel terlebih dahulu ditimbang, kemudian sampel direndam menggunakan pelarut etil asetat, n-heksan, dan metanol di tempatkan dalam wadah maserator sampai serbuk terendam diaduk. Selama 1x24 jam sampel direndam dan diaduk sesekali. Selanjutnya sampel di saring, sehingga mendapatkan ekstrak cair. Lalu seluruh ekstrak yang didapat dievaporasi hingga mengental. Untuk mendapatkan ekstrak kental perlu melakukan pengupan ekstrak cair di waterbath pada temperatur 50°C. Kemudian dihitung rendemen ekstrak yang diperoleh. (Susanty & Bachmid, 2016).

3.6 Skrining fitokimia

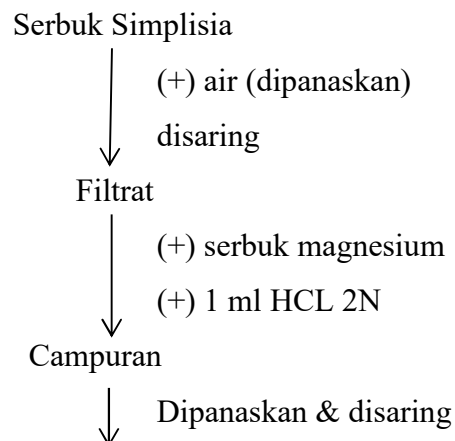
Pemeriksaan metabolit sekunder dilakukan dengan metode skrining fitokimia sebagai berikut :

3.6.1 Pemeriksaan Alkaloid



Gambar 1.3 Diagram Alir Uji Alkaloid

3.6.2 Pemeriksaan Flavonoid





Gambar 3.2 Diagram Alir Uji Flavonoid

3.6.3 Pemeriksaan Saponin

Timbang ekstrak hingga 1g. Menambahkan 10ml air hangat, selama 10 detik tabung dikocok. Tambahkan HCL 2 hingga 3 tetes, amati buih tidak hilang (Yanuartono et al., 2017).

3.6.4 Pemeriksaan Tanin

Timbang ekstrak hingga 1g masukan kedalam tabung reaksi. Tambahkan 10ml air panas, tunggu hingga dingin. Tambahkan larutan gelatin satu dua tetes, amati jika terdapat endapan putih (Hidayah, 2016).

3.6.5 Pemeriksaan Polifenolat

Simplisia ditimbang sebanyak 1g masukan kedalam tabung reaksi. Tambahkan 10ml air panas, tunggu hingga dingin. Tambahkan larutan FeCl_3 1% 2 hingga 3 tetes. Amati jika berwarna hijau kebiruan (Hidayah, 2016).

3.6.6 Pemeriksaan Steroid

Simplisia ditimbang sebanyak 1g, tambahkan 20 mL eter digerus dan di saring menggunakan kertas saring, tambahkan pereaksi LB 2 hingga 3 tetes. Amati jika berwarna hijau violet atau biru (Moltmann et al., 2017)

3.7 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Uji dalam kromatografi lapis tipis (KLT) untuk ekstrak pekat menggunakan eluen N-heksana dan Etil asetat. Ekstrak ditotolkan menggunakan

pipa kapiler keatas plat KLT, diamkan terlebih dahulu. Lalu plat KLT di masukan kedalam chamber, tunggu hingga eluen bergerak hingga tanda batas. Plat diangkat amati menggunakan lampu Ultra Violet dengan panjang gelombang 254nm dan 366nm, lalu hting nilai Rf (Suhartati, n.d.)

3.8 Uji Aktivitas Antijamur

3.8.1 Pembuatan Potatos Dextros Agar (PDA)

1. Media PDA ditimbang berdasarkan prosedur.
2. Siapkan erlenmeyer masukan serbuk PDA secara perlahan.
3. Siapkan batang pengaduk, tambahkan aquadest aduk hingga merata
4. Media dipanaskan menggunakan penangas hingga media tercampur dan berwarna jernih kekuningan
5. Jika sudah berwarna jernih kekuningan dinginkan erlenmeyer, lalu tutup menggunakan kasa dan kertas coklat untuk di sterilisasi.
6. Sterilisasi dengan menggunakan autoklaf.
7. Media PDA yang berada di cawan petri, keluarkan dari autoklaf dan bekukan (Mala, 2020).

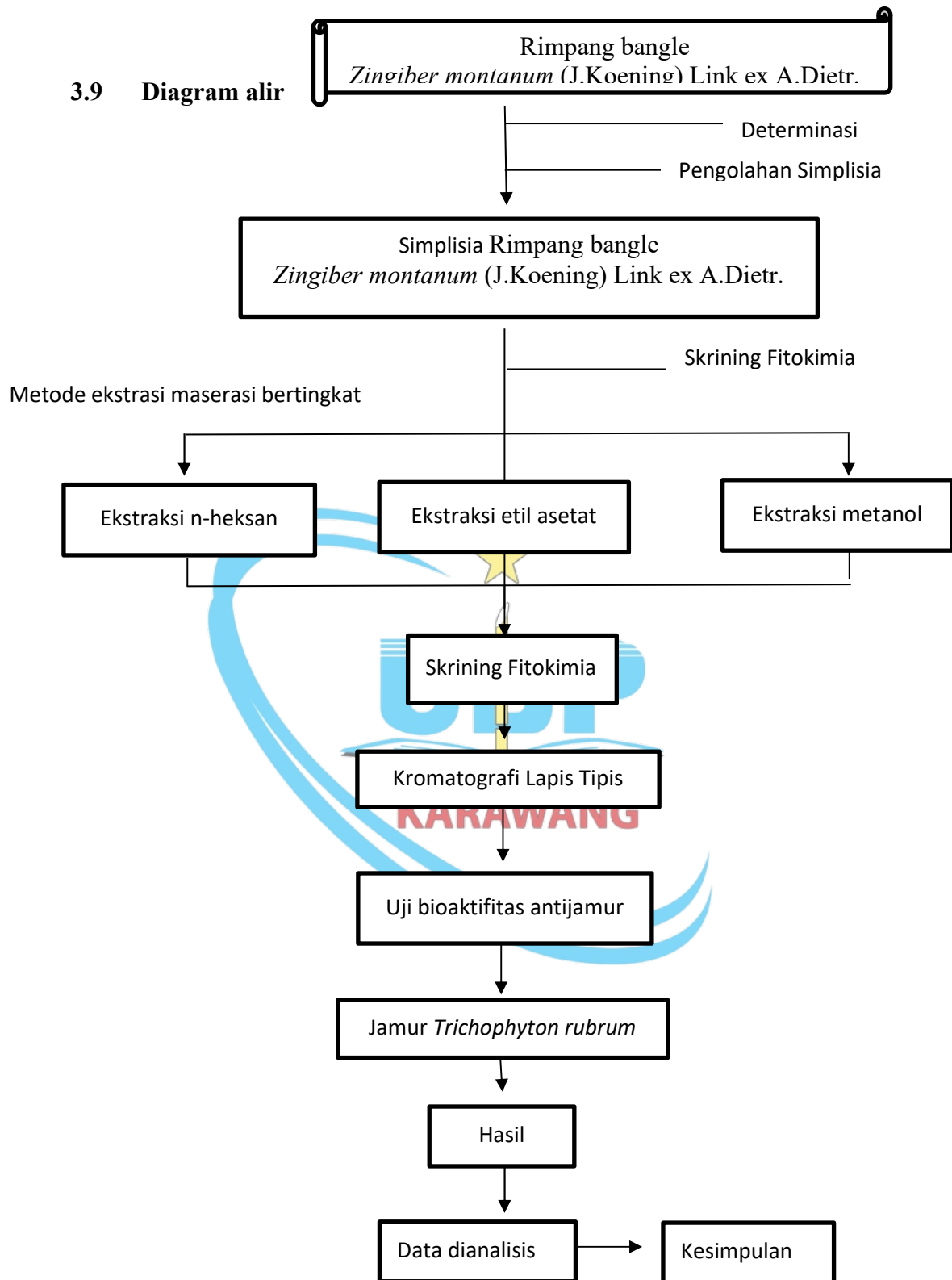
3.8.2 Pengujian Antijamur dengan metode Difusi Sumuran

Pengujian antijamur menggunakan difusi sumuran diawali dengan menyiapkan cawan petri yang sudah berisi Potatos Dextros Agar. Lalu hasil dari suspensi jamur *Trichophyton rubrum* diinokulasikan menggunakan batang L kedalam suspensi yang sudah dibandingkan dengan pelarut standar Mc Farland. Media yang sudah diinokulasikan jamur *Trichophyton rubrum* dibuat lubang sumuran pada cawan petri dengan diameter 4-5cm. Untuk setiap lubang sumuran di tetesi ekstrak dengan konsentrasi masing-masing 175%, 150%, 125% dan 75%, kontrol positif, dan kontrol negatif menggunakan mikropipet. Perlakuan dilakukan *triplo*, cawan petri diletakan di inkubator pada temperatur 24-27°C selama 24 jam.

3.8.3 Pembuatan Kontrol Negatif

CMC 1% digunakan untuk membuat larutan kontrol positif dengan cara : timbang CMC sebanyak 1g lalu tambahkan aquadest ad 100 ml lalu dikocok ad homogen (Pangalinan et al., 2011).





Gambar 3.3 Diagram alir Penelitian