

## BAHAN DAN METODE

### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2013 sampai dengan Maret 2014 di laboratorium Kimia Bahan Alam Universitas Sumatera Utara, Laboratorium Biologi Universitas Medan Area.

### 3.2. Bahan dan Alat Penelitian

#### Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan kirinyuh (*E.odoratum*) yang diperoleh dari beberapa perkarangan milik warga dan taman di daerah Tanah Karo (Brastagi), Sumatera Utara. Bahan kimia yang digunakan antara lain aquades, Metanol (teknis dan p.a). Asam Klorida (HCl) pekat, n-heksana (p.a), Natrium hidroksida (NaOH), serbuk Magnesium, Etil Asetat (p.a.), Aquadest, Asam Sulfat pekat,  $H_2SO_4$  (97–98%), Asam asetat anhidrid ( $CH_3COOH$ ), dan  $F_eCl_3$  pereaksi Meyer, Bouchardat, Wagner dan Drangendorff encer,  $O_4$ ) pekat, larutan Mg–HCl encer, perekasi Lieberman–Burehard, Nutrien. Agar dan mikroba uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*, dan *E.Coli* yang diperoleh dari subkultur di laboratorium Universitas Medan Area.

#### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : cawan petri, beaker glass, spatula, gelas ukur, neraca analitik, pisau, pipet tetes, saringan, blender, kamera, satu set tabung reaksi dan penguap putra vakum (rotary vacuum evaporator).

### 3.3. Prosedur kerja

Prosedur kerja yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tiga tahap, yaitu tahap I adalah pembuatan ekstrak Koronyuh (*Euphatorium odoratum L*) melalui metode maserasi dengan menggunakan pelarut n-heksan dan methanol. Pada tahap II, yang akan dilakukan adalah skrining fitokimia yaitu melakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder(alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid) terhadap ekstrak kasar daun Kirinyuh (*Euphatorium odoratum L*) dan tahap II, melakukan uji bioaktivitas ekstrak daun Kirinyuh (*Euphatorium odoratum L*) berupa sifat antimikroba ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Echericia coli* dengan variasi konsentrasi ekstrak 0%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25 % dan diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam.

#### Ekstraksi

Ekstraksi dimulai dengan melakukan maserasi dengan pelarut n-heksan dan methanol terhadap serbuk daun *Euphatorium odoratum* yang telah dikeringkan dengan kualitas teknis masing-masing selama 3 x 24 jam dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Ekstrak kemudian dipekatkan, sehingga diperoleh ekstrak pekat n-heksan dan metanol.

#### Uji Fitokimia

Untuk mengetahui golongan senyawa kimia dari daun *Euphatorium odoratum*, maka dilakukan skrining fitokimia yang terdiri atas alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, triterpenoid dan steroid, Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak kasar. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi-pereaksi yang spesifik untuk senyawa-senyawa tersebut. Skrining alkaloid menggunakan pereaksi Meyer, Bouchardat, Wagner dan Drangendorff. Skrining senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode seperti yang digunakan Harbone (1987).

Pereaksi yang digunakan terdiri atas larutan NaOH encer, Asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ) pekat, larutan Mg-HCl encer, dimana dengan pereaksi NaOH encer ini akan membentuk warna biru violet, dengan ( $H_2SO_4$ )pekat akan membentuk warna oramnge kekuning-kuningan, dan dengan larutan Mg-Hcl encer akan membentuk warna merah jambu. Pembentukan warna dengan penambahan pereaksi-pereaksi tersebut mengindikasikan adanya senyawa flavonoid. Skrining senyawa triterpenoid dan steroid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard (Harbone, 1987). Adanya triterpenoid ditandai dengan perubahan warna menjadi merah, sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid, Skrining senyawa Fenolik dilakukan dengan menggunakan preaksi  $FeCl_3$  1% (Harbone, 1987). Munculnya warna biru atau biru ungu mengindikasikan positif untuk fenolik. Skrining senyawa saponin dilakukan dengan menggunakan air rebusan dalam tabung reaksi lalu dikocok kuat beberapa saat. Jika terbentuk busa permanen kurang lebih 15 menit dengan penambahan satu atau dua tetes asam klorida (HCl) 2N, maka menunjukkan uji positif untuk saponin (Harbone, 1987).

### **Uji Antimikroba**

Untuk uji aktivitas antimikroba, ekstrak daun *Euphatorium odoratum* dengan membuat larutan dengan konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15%, dan 20% dan pelarut yang digunakan aquades steril, Suspensi biakan diambil dari kultur yang sudah ada di laboratorium, terlebih dahulu mengambil satu ose dan dilarutkan dalam sepuluh tabung air aquades steril. Bakteri diambil dengan menggunakan pipet tetes steril yang kemudian disebarkan pada media agar dengan merata pada yang sudah dituang pada petri dengan cara mengggoyang secara angka delapan. Sediakan lima kertas cakram yang masing-masing telah ditetaskan atau dilumuri dengan ekstrak sesuai

konsentrasi pada setiap perti, dan diletakan dengan cara menekan cakram yang sudah mengandung ekstrak agar menempel dengan baik. Cawa yang sudah diberi cakram dan telah dibagi kuatdran berdasarkan konsentrasi diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam.

Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya zona bening disekitar ekstrak tanaman, hal itu menunjukan bahwa ekstrak berpotensi sebagai bahan antimikroba. Diameter zona hambat yang terbentuk dapat diukur dengan jangka sorong menurut metode Kirby-baurier of Susceptibility Testing dalam suatu mm (Cappucino & Sherman, 1999).

