

## BAHAN DAN METODE

### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

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

### 3.2. Bahan Dan Alat Penelitian

#### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bawang batak yang diperoleh dari beberapa pasar di Daerah Tebing Tinggi, 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, Etilasetat (p.a.), aquadest, asam sulfat pekat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (97-98%), asam asetat anhidrid (CH<sub>3</sub>COOH), dan FeCl<sub>3</sub> preaksi Meyer, Bouchardat, Wagner dan Drangendorff, encer, O<sub>4</sub> pekat, larutan Mg-HCl encer, pereaksi Lieberman-Burchard, Media Nutrien Agar dan Mikroba Uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* yang diperoleh dari subkultur di Laboratorium Universitas Medan Area.

#### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : cawan petris, beaker glass, spatula, gelas ukur, neraca analitik, pisau, pipet tetes, saringan, blender, kamera, satu set tabung reaksi dan penguap putar 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 kasar umbi bawang batak, *Allium cinense*, melalui metode maserasi dengan menggunakan pelarut n-heksan dan metanol. Pada tahap II yang akan dilakukan adalah Skrining fitokimia, yaitu melakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder (alkaloid, flavonoid, dan steroid) terhadap ekstrak kasar umbi bawang batak, *Allium cinense*, dan tahap III, melakukan bioaktivitas ekstrak umbi bawang batak, *Allium cinense*, berupa sifat antimikroba ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Escheria coli* dengan variasi konsentrasi ekstrak 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%, dan diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam.

### 3.4. Ekstraksi

Ekstraksi dimulai dengan melakukan maserasi dengan pelarut n-heksan dan metanol terhadap umbi bawang batak, *Allium cinense* yang telah dihancurkan 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.

### 3.5. Uji Fitokimia

Untuk mengetahui golongan senyawa kimia dari umbi bawang batak, 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 orange kekuning-kuningan, dan dengan larutan Mg-HCl encer akan membentuk warna merah jambu. Pembentukan karena 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 pereaksi  $FeCl_3$  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 15 menit dengan penambahan satu atau dua tetes asam klorida (HCl) 2 N, maka menunjukkan uji positif untuk saponin (Harbone, 1987).

### **3.6. Uji Antimikroba**

Untuk uji aktivitas antimikroba, ekstrak kasar (Crude Kasar) umbi bawang batak dengan membuat larutan dengan konsentrasi 0%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. Pelarut yang digunakan aquadest steril. Suspensi biakan diambil dari kultur yang sudah ada di laboratorium yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, terlebih dahulu mengambil satu ose dan dilarutkan dalam 10 ml air aquades steril. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia*

diambil dengan menggunakan cotton bud yang kemudian diusapkan pada media agar yang sudah dituangkan pada cawan Petri dengan merata, kertas cakram sebanyak 15 buah yang masing-masing dengan diameter yang sama telah ditetesi dengan ekstrak sesuai konsentrasi pada setiap cawan Petri dan diletakan dengan cara menekan cakram yang sudah mengandung ekstrak agar menempel dengan baik. Cawan 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 menunjukkan bahwa ekstrak berpotensi sebagai bahan antimikroba. Diameter zona hambat yang berbentuk dapat diukur dengan jangka sorong menurut metode Kirby-baurier of Susceptibility Testing dalam satuan mm(Cappucino & Sherman, 1999).