

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium, dengan rancangan untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan daun kecemcem dari pengambilan sari dengan pembレンダー dan penggilingan batu, dengan menggunakan metode Diphenyl-picylhydrizyl-radical (DPPH) Spektrofotometri UV - VIS.

1. Tahap Persiapan

Tahap persiapan dalam penelitian ini meliputi objek penelitian, mempersiapkan prosedur kerja, dan persiapan alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian.

2. Tahap Pelaksanaan

Tahap pelaksanaan dalam penelitian ini mengambil sari daun kecemcem dengan metode pembレンダー dan penggilingan, melakukan uji organoleptik, uji skrining fitokimia meliputi flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin, menitung berat jenis dan menguji aktivitas antioksidan sari daun kecemcem yang diperoleh dari pembレンダー dan penggilingan dengan metode DPPH. Spektrofotometri UV - VIS.

3. Tahap Akhir

Pada tahap ini dilakukan pengolahan analisis data yang diperoleh berdasarkan dari hasil penelitian.

3.2 Populasi dan sampel

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah sari daun kecemcem yang diperoleh dengan pemblenderan dan penggilingan

3.2.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah sebagian sari daun kecemcem yang diperoleh dengan pemblenderan dan penggilingan

3.3 Lokasi dan Waktu penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang jalan Barito No 5, waktu penelitian yang dibutuhkan mulai tahap persiapan, pelaksanaan, dan pengujian tanggal 13 Mei 2022 sampai 25 Mei 2022.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Penelitian ini mencakup dua variable, yaitu variable bebas dan variable terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah simplisia daun kecemcem dan variable terikat dalam penelitian ini adalah uji aktivitas antioksidan daun kecemcem.

Tabel Definisi Operasional Variabel ditunjukkan pada Tabel 3.1 pada Lampiran Gambar.

3.5 Pengumpulan Data

3.5.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan corong, pipet volume, neraca analitik, blender, penggilingan batu, spektrofotometri UV -VIS, labu takar, penangan air, dan peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium, batang pengaduk, botol plastik 600ml, dan kertas saring.

Bahan yang digunakan adalah daun kecemcem, etanol p.a, aquadest, DPPH, asam askorbat, asam asetat, asam sulfat, logam Mg, HCl 2N, dan FeCl₃ 1%.

3.5.2 Pengambilan Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah mengambil sari dari daun kecemcem 400 gram, dengan pembagian masing-masing metode pembelenderan 200 gram dan penggilingan batu 200 gram dari daun kecemcem dan penambahan air 400 ml dalam metode pembelenderan.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Organoleptik (Depkes RI, 2008)

- Diambil sari simplisia daun kecemcem
- Diamati bentuk, warna, bau, dan rasa pada sari simplisia daun kecemcem.

3.6.2 Pengujian Senyawa Daun Kecemcem

3.6.2.1 Uji Flavonoid

0,1 gram sari daun kecemcem ditambah 5 ml etanol, dan ditambah 0,1 gram logam Mg. Jika terbentuk warna kuning jingga maka menunjukkan reaksi positif adanya flavonoid.

3.6.2.2 Uji Saponin

Sejumlah 0,1 gram sari daun kecemcem ditambahkan dengan 5 mL aquades panas lalu didinginkan. Setelah itu campuran dikocok sampai muncul buih dan didiamkan selama 2 menit. Selanjutnya campuran ditambahkan dengan 2 tetes HCl 2 N dan dikocok lagi sampai terbentuk buih yang mantap selama 10 menit. Terbentuknya buih tersebut sebagai indikator reaksi positif adanya saponin..

3.6.2.3 Uji Tanin

0,1 gram sari ditambah 5 ml etanol absolut kemudian ditetaskan dengan FeCl_3 1%. Terbentuk warna biru tua menunjukkan reaksi positif adanya tanin.

3.6.2.4 Uji Terpenoid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform dalam tabung reaksi yang kering. Lalu, ke dalamnya ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau menunjukkan reaksi positif.

3.6.2.4 Bobot Jenis

- Bersihkan piknometer hingga tidak meninggalkan bekas tetesan air dengan cara setelah dibersihkan dengan aquadest, bilas dengan pelarut aseton atau alkohol pekat.
- Piknometer panaskan pada suhu 100° C selama 1 jam, kemudian masukkan kedalam eksikator sampai dingin.
- Timbang dalam neraca analitik (a)
- Isikan sari yang akan diukur ke dalam piknometer hingga penuh.
- Timbang dalam neraca analitik (b)
- Isikan air suling yang akan diukur ke dalam piknometer hingga penuh
- Timbang dalam neraca analitik (c)
- Hitung $\frac{b-a}{c-a}$
- $$\text{Bobot Jenis} = \frac{\text{Bobot pikno sampel} - \text{bobot pikno kosong}}{\text{Bobot pikno air} - \text{bobot pikno kosong}}$$

3.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan

Larutan induk sari daun kecemcem pada proses penggilingan 200% pada proses blender 40% dan diencerkan masing-masing menjadi 5% sari daun kecemcem, masing-masing di pipet 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 3ml, dan 4 ml dimasukkan dalam labu ukur 10mL dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,5 mM volumenya dicukupkan dengan etanol p.a sampai garis tanda. Larutan pembanding asam askorbat 100 ppm dipipet masing-masing 8ppm, 10 ppm, 12 ppm, 20 ppm, 30 ppm. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan larutan DPPH 40 ppm dengan perbandingan 1:1. Kemudian didiamkan selama 30 menit lalu diukur absorbansinya pada panjang

gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. (Rahman et al., 2014)

2. Pengukuran Serapan Blanko

Pipet 2 ml DPPH tambahkan etanol p.a sampai garis batas. Larutan ini dihomogenkan dan dibiarkan 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-VIS pada Panjang gelombang 517 nm. Selama proses tidak terkena sinar matahari.

3. Pengukuran Inhibisi Radikal DPPH

Pengukuran Inhibisi Radikal DPPH diukur setelah 30 menit pada Panjang gelombang 517 nm. Presentase Inhibisi Radikal DPPH dihitung dengan rumus (Restuti dan Purwanti, 2012).

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{(\text{abs blanko} - \text{abs sampel})}{\text{abs blanko}} \times 100$$

4. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Nilai IC₅₀ merupakan nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi dari uji sari daun kecemcem yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC₅₀ didapat dari hasil perhitungan sari daun kecemcem dengan menggunakan persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier diperoleh dengan memasukkan konsentrasi sampel uji sebagai absis (sumbu x) dan nilai persen inhibisi DPPH sebagai ordinatnya (sumbu y) yang selanjutnya akan didapat nilai r (koefisien relasi). Dari data tersebut maka akan diperoleh persamaan $y = bx + a$, dimana a

sebagai intersep, b sebagai *slope*, dan nilai koefisien regresi linier dinyatakan sebagai r (Sulandi, 2014).

3.7 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan setelah data terkumpul, kemudian dikelompokkan sesuai variabel yang diteliti. Analisis yang dilakukan sebagai berikut:

1. Mendeskripsikan hasil pengamatan uji organoleptik, uji skrining fitokimia, dan berat jenis dengan menggunakan tabel.
2. Mengukur dan membandingkan hasil uji aktivitas antioksidan sari daun kecemcem pada loloh cemcem dengan proses pemblenderan dan penggilingan batu.
3. Mengukur dan membandingkan hasil uji aktivitas antioksidan sari daun kecemcem menggunakan metode DPPH Spektrofotometri.