

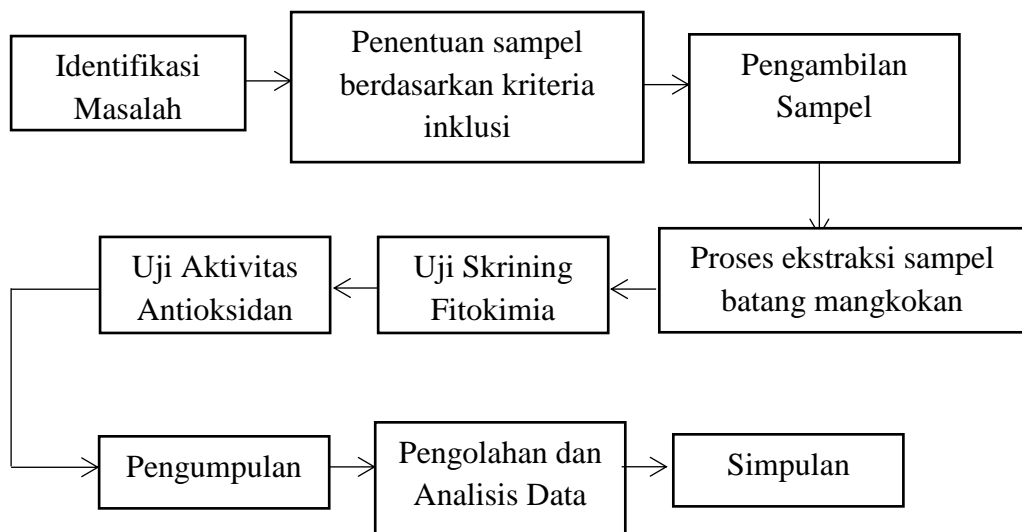
## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif adalah jenis penelitian yang bertujuan untuk mendapatkan pemahaman yang jelas tentang nilai-nilai variabel mandiri, baik itu satu variabel atau lebih, tanpa melakukan perbandingan atau menghubungkannya dengan variabel lain (Sugiyono, 2018).

#### B. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

#### C. Tempat dan Waktu Penelitian

##### 1. Tempat penelitian

Tempat yang digunakan penelitian adalah Laboratorium Kimia Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar.

## 2. Waktu penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan November 2022 sampai April 2023

## D. Sampel

### 1. Sampel penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah batang mangkokan yang diperoleh di Desa Kediri, Kabupaten Tabanan.

### 2. Kriteria sampel

#### a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi tanaman mangkokan yaitu batang yang tidak terlalu tua berukuran 30cm yang diambil dari 6 daun pertama sampai pangkal, warna batang yang masih putih coklat, batang yang tidak berlubang dan masih segar.



(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

Gambar 5. Batang Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.)

b. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi tanaman mangkokan yaitu batang yang layu atau kering, berlubang. Sehingga dalam penelitian ini menggunakan sampel yang memenuhi kriteria inklusi.

## **E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data**

### **1. Jenis data yang dikumpulkan**

Dalam penelitian ini, berbagai jenis data dikumpulkan. data primer yaitu meliputi kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang mangkokan (*Nothopanax Scutellarium* Merr.)

### **2. Metode pengumpulan data**

Metode pengumpulan data penelitian ini adalah dengan cara melakukan percobaan uji laboratorium. Data dikumpulkan dengan melakukan analisis kandungan fitokimia secara kualitatif dan uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif pada ekstrak batang mangkokan menggunakan metode (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) (DPPH) . Analisis kualitatif adalah analisis yang dilakukan untuk melakukan identifikasi elemen, spesies atau senyawa dalam sampel (Gandjar dan Rohman, 2007).

### **3. Instrumen pengumpulan data**

Instrument yang digunakan dalam pengumpulan data pada penelitian ini meliputi :

- a. Alat tulis
- b. Pisau
- c. Kamera

d. Alat dan bahan untuk uji fitokimia, dan aktivitas antioksidan

1) Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri blender, neraca analitik (Radwag), saringan, batang pengaduk, kompor listrik, pipet tetes, pipet ukur 5 mL (Iwaki pyrex), ball pipet (Ddann ball pipet), tabung reaksi (Iwaki), labu ukur (Iwaki), labu takar 10 mL dan 50 mL (Iwaki pyrex), beaker glass, rotatory evaporator, rak tabung, termometer air raksa, dan spektrofotometer UV-vis. G.

2) Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang mangkokan, etanol 70%, aquadest, asam sulfat, pereaksi dragendorff, pereaksi mayer wagner, ammonia 25, pereaksi salkowsy (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat), asam klorida (HCl) dan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*).

**3) Prosedur kerja**

a) Pengambilan Sampel

- (1) Batang mangkokan diambil di Desa Kediri, Kabupaten Tabanan,
- (2) Batang yang digunakan yaitu batang yang masih segar, tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, panjang berukuran 30cm, tidak retak dan warna batangnya masih segar seperti warna coklat dan tidak berlubang.

b) Pembuatan serbuk simplisia

- (1) Batang mangkokan yang telah didapatkan ditimbang dan disortasi,
- (2) Lalu dicuci dengan air mengalir dan ditimbang berat batang yang masih segar,
- (3) Setelah itu, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan atau dioven.

- (4) Setelah kering batang kembali disortasi untuk memisahkan dari bahan-bahan yang ikut tercampur dalam proses pengeringan,
- (5) Kemudian diserbukkan dengan cara batang tersebut di blender atau ditumbuk dan ditimbang berat keringnya.

c) Proses Ekstraksi

- (1) Sampel tanaman dikeringkan dan dihaluskan. Setelah itu ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan perbandingan 1: 5 dengan cara menimbang serbuk simplisia batang mangkokan sebanyak 594 g dengan 3000ml etanol 70% lalu ditutup dan dibiarkan selama 2 hari.
- (2) Setelah 2 hari saring etanol kemudian ampas batang mangkokan ditambahkan 3000 ml etanol 70% lalu ditutup dan biarkan selama 2 hari.
- (3) Setelah 2 hari, etanol dan ampas batang mangkokan kembali disaring, lakukan hal yang sama kemudian simpan selama 3 hari.
- (4) Setelah disimpan selama 3 hari maserat dituang dan disaring
- (5) Hasil maserat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C, hingga dihasilkan ekstrak kental.
- (6) Ekstrak kental tersebut ditimbang dan dihitung rendemen ekstrak kentalnya.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

Menurut Hasanah and Novian (2020), pemilihan pelarut etanol 70% yaitu karena etanol dapat menarik senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan dengan jenis pelarut organik lainnya Etanol memiliki titik didih yang rendah

yaitu 79°C sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan

#### d) Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan steroid.

##### (1) *Alkaloid*

Sampel sebanyak 3 mL ditambahkan ke dalam tabung, kemudian ditambahkan 3 tetes asam klorida 2 N. Filtrat yang dihasilkan dibagi menjadi dua tabung. Pada tabung pertama ditambahkan pereaksi dragendorff, pada tabung kedua ditambahkan pereaksi Mayer dan Wagner . Jika terbentuknya endapan berwarna jingga hingga merah pada tabung pertama, dan endapan berwarna putih hingga kekuningan pada tabung kedua, ini menunjukkan adanya alkaloid dalam sampel yang diuji (Hanani, 2014).

##### (2) *Flavanoid*

Uji flavonoid dilakukan menggunakan satu tabung, memipet sebanyak 1 ml sampel kemudian ditambahkan dengan Ammonia 25%, lalu ditambahkan pereaksi HCl pekat sebanyak 3 tetes. Jika terbentuk warna kuning menunjukkan adanya *flavonoid* (Cahaya, 2022).

##### (3) *Tanin*

Uji tanin dilakukan menggunakan satu tabung dengan memipet sampel sebanyak 2 ml ditambahkan dengan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1 %. Jika terjadi perubahan warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya *tanin* (Sangi, *et al.*, 2008).

(4) *Saponin*

Uji saponin dilakukan menggunakan satu tabung dengan memipet sampel sebanyak 1 ml lalu ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2N menunjukkan adanya *saponin* (Sangi, *et al.*, 2008).

(5) *Steroid*

Uji steroid dilakukan dengan sejumlah 3 ml sampel ditambahkan  $H_2SO_4$  lalu dikocok. Jika terbentuk warna merah menunjukkan hasil positif adanya *steroid* (Hanani, 2014).

e) Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

1. Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM

Pembuatan larutan DPPH dilakukan dengan menimbang sebanyak 4 mg serbuk DPPH dilarutkan dengan menggunakan metanol sebanyak 100 mL.

2. Absorbansi Control

Pada tahapan absorbansi control dilakukan dengan mengambil 1 ml larutan DPPH dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan etanol sebanyak 3 ml setelah itu tabung reaksi dengan aluminium foil agar tidak terkontaminasi dengan udara luar, selanjutnya tabung reaksi di inkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Kemudian tabung reaksi yang sudah di inkubasi tersebut dimasukkan kedalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-vis.

3. Panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui pada serapan berapa zat yang dibaca oleh alat spektrofotometer *UV-vis* secara

optimum, bentuk kurva absorbansi yang linier dan menghasilkan hasil yang cukup konstan jika dilakukan berulang kali. Penentuan panjang gelombang DPPH dilakukan dengan larutan diambil menggunakan pipet volume sebanyak 1ml kemudian ditambahkan 3ml larutan etanol dan dibiarkan 30 menit di tempat yang gelap dan diukur serapannya pada panjang gelombang 517nm.

#### 4. Pembuatan Larutan Kontrol

Pembuatan larutan blanko dilakukan dengan memipet sebanyak 1 mL larutan DPPH ditambahkan dengan 3 mL metanol, kocok hingga homogen dan diamkan selama 30 menit. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

#### 5. Pembuatan Larutan Stok

Sebanyak 20 mg ekstrak etanol batang mangkoka (*Nothopanax Scutellarium* Merr.) dilarutkan dalam etanol 70% ad.100 ml (konsentrasi 200 ppm). Dengan masing-masing konsentrasi, 100 µg/ml, 75 µg/ml, 50 µg/ml, dan 25 µg/ml dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu:

$$M_1.V_1 = M_2.V_2.$$

Keterangan:

$V_1$  = Volume awal larutan

$M_1$  = Konsentrasi awal larutan

$V_2$  = Volume akhir larutan

$M_2$  =Konsentrasi akhir

Pada setiap konsentrasi yang telah dihitung, volume  $V_1$  yang diperoleh dari pengenceran dipipet dan ditambahkan dengan etanol 70% hingga mencapai tanda batas volume 10 ml. Selanjutnya, campuran tersebut



dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan menggunakan aluminium foil untuk persiapan penggunaan pada tahap perlakuan selanjutnya. (Damanis dkk, 2020)

Contoh pembuatan konsentrasi larutan 100ppm, dihitung dengan rumus :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$200 \times V_1 = 100 \times 10$$

$$V_1 = 100 \times 10 : 200$$

$$V_1 = 5\text{ml}$$

**Tabel 4**

**Volume Larutan Awal Pada Beberapa Konsentrasi**

<b>Konsentrasi (ppm)</b>	<b>V<sub>1</sub> (Volume Larutan Awal)</b>
100	5 ml
75	3,75 ml
50	2,5 ml
25	1,25 ml

#### 6. Uji Aktivitas Antioksidan

- a). Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan mengambil sebanyak 3 mL ekstrak etanol batang mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.)
- b). Setelah itu dimulai dengan 100ppm, 75ppm, 50ppm, 25ppm
- c). Ditambahkan masing-masing 1 mL larutan DPPH dalam etanol dan divorteks selama 5 detik.
- d). Berubahnya warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan adanya efisiensi penangkal radikal bebas.

e). Selanjutnya ukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, setelah diinkubasi selama 30 menit.

Perhitungan Presentase Inhibisi dan Nilai IC<sub>50</sub> :

Perhitungan presentase inhibisi dilakukan dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\%$$

Sedangkan perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi dimana ekstrak dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linear  $y = bx + a$ . Grafik dibuat dengan konsentrasi sampel uji (ppm) sebagai absis (sumbu x) terhadap persen inhibisi sebagai ordinat (sumbu y) (Rumagit, *et al.*, 2015).

## **F. Pengolahan Data dan Analisis Data**

### **1. Pengolahan Data**

Data penelitian ini dianalisis secara kualitatif untuk menentukan keberadaan tanin, flavonoid, alkaloid, steroid, dan saponin dalam batang mangkokan. Selain itu, untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH, digunakan persamaan perhitungan khusus

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai % IC<sub>50</sub> (*Inhibition Concentration*) digunakan untuk menentukan konsentrasi larutan uji yang memiliki daya hambat 50% terhadap larutan radikal bebas. Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dengan menggambar garis yang melewati titik 50% daya hambat pada sumbu konsentrasi, dengan menggunakan  $y = bx$

+ a dimana  $y=50$  dan  $x$  adalah konsentrasi larutan uji yang mampu menghambat 50% larutan radikal bebas.

## 2. Analisis Data

Analisis data hasil uji fitokimia akan dianalisis secara deskriptif kualitatif sedangkan aktivitas antioksidan akan dianalisis secara deskriptif kuantitatif.