

BAB IV

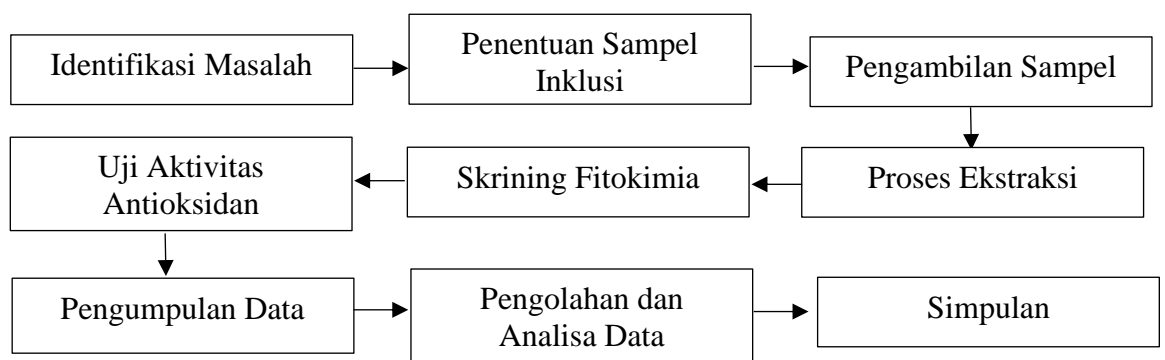
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan menggunakan metode kualitatif dan kuantitatif. Pengujian skrining fitokimia pada ekstrak etanol batang marigold menggunakan kualitatif dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol batang marigold secara kuantitatif.

Penelitian deskriptif adalah penelitian yang diarahkan untuk memberikan gejala-gejala, fakta-fakta atau kejadian-kejadian secara sistematis dan akurat, mengenai sifat-sifat populasi atau daerah tertentu. Dalam penelitian deskriptif cenderung tidak perlu mencari atau menerangkan saling hubungan dan menguji hipotesis (Ahyar dkk., 2020). Dalam penelitian ini mendeskripsikan tentang skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang marigold (*Tagetes erecta* Linn.).

B. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Terapan dan Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2022 sampai bulan April 2023.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Sampel penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah batang marigold yang diperoleh dari perkebunan bunga Bapak Kadek Anti yang terletak Desa Belok, Kecamatan Petang, Kabupaten Badung.



Sumber: dokumentasi pribadi

Gambar 5. Sampel Batang Marigold dengan Panjang 30-40 cm

2. Kriteria sampel

Kriteria sampel tanaman marigold yang digunakan adalah batang yang diambil dari pangkal hingga pucuk batang yang tidak berlubang, batang yang segar, tidak terdapat hama yang menempel disekeliling batang, panjang batang yang digunakan adalah 30-40 cm, batang berumur 1-2 bulan.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Adapun jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah jenis data primer yaitu meliputi kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang marigold (*Tagetes erecta* Linn.).

2. Cara pengumpulan data

Metode pengumpulan data pada penelitian ini adalah dengan pengamatan langsung yaitu dengan cara menganalisis secara kualitatif kandungan fitokimia dan analisis kuantitatif uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol batang marigold.

Analisis kualitatif merupakan analisis untuk melakukan identifikasi elemen, spesies dan senyawa- senyawa yang ada di dalam sampel. Analisis kualitatif berkaitan dengan cara untuk mengetahui ada atau tidaknya suatu analit yang dituju dalam suatu sampel (Ayuchecaria dkk., 2017).

Penelitian kuantitatif adalah penelitian ilmiah yang sistematis terhadap bagian-bagian dan fenomena serta hubungan-hubungannya. Tujuan penelitian kuantitatif adalah mengembangkan dan menggunakan model matematis, teori atau hipotesis yang berkaitan dengan fenomena alam. Proses pengukuran adalah bagian krusial

dalam penelitian kuantitatif. Hal ini memberikan gambaran atau jawaban akan hubungan yang fundamental dari hubungan kuantitatif (Ahyar dkk., 2020).

3. Alat dan bahan

a. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari blender, alat timbang, saringan, toples, pipet tetes, tabung reaksi, labu ukur, *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-vis.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang marigold (*Tagetes erecta* Linn.) , etanol 96%, asam sulfat, pereaksi *dragendorff*, pereaksi *mayer wagner*, serbuk magnesium, H₂SO₄, HCl dan serbuk DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) pereaksi besi (III) klorida 1 %, asam klorida 2 N.

4. Prosedur penelitian

a. Pengambilan sampel

Batang marigold diambil dari perkebunan Bapak Kadek Anti batang yang diambil yaitu dari pangkal hingga pucuk batang yang tidak berlubang, batang yang segar, tidak terdapat hama yang menempel disekeliling batang, panjang batang yang digunakan adalah 30-40 cm, batang berumur 1-2 bulan.

b. Pembuatan serbuk simplisia

Batang marigold yang telah didapatkan disortasi lalu ditimbang, kemudian dicuci dengan air mengalir dan ditimbang berat batang yang masih segar, batang yang digunakan sebanyak 2827 gram, lalu dikeringkan dengan cara dioven dengan suhu 50⁰C. Setelah kering batang yang sudah kering diserbukan dengan cara diblender dan ditimbang berat keringnya.

c. Ekstraksi

Batang marigold segar dipetik kemudian di sortasi basah, dicuci, dirajang, timbang berat batang marigold, setelah itu sampel dikeringkan, setelah sampel dilanjutkan dengan disortasi kering dan timbang berat sampel tersebut selanjutnya blender hingga berbentuk serbuk simplisia. Serbuk simplisia batang marigold di ekstraksi dengan metode maserasi. Sebanyak 483 gram serbuk simplisia batang marigold direndam dengan etanol 96% sebanyak 2000 ml lalu ditutup dan dibiarkan selama 2 hari. Setelah 2 hari saring etanol kemudian ampas batang marigold ditambahkan 2000 ml etanol 96% lalu ditutup dan biarkan selama 2 hari. Setelah 2 hari, etanol dan ampas batang marigold kembali disaring, lakukan hal yang sama kemudian simpan selama 3 hari. Setelah disimpan selama 3 hari maserat dituang dan disaring. Hasil maserat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga dihasilkan ekstrak kental, ekstrak ini kemudian diuji skrining fitokimia dan aktivitas antioksidannya. Hitung rendemen yang diperoleh (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

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

Maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Menurut Trifani (2012), etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar dan mudah didapat. Etanol 96% dipilih karena selektif, tidak toksik, absorbsinya baik

dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar (Wendersteyt dkk., 2021).

d. Skrining fitokimia

Adapun prosedur pemeriksaan skrining fitokimia ekstrak etanol batang marigold yang diadaptasi dari panduan praktikum mata kuliah *Tourism Medical Laboratory II* pada praktikum analisa fitokimia jamu dan loloh jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar.

1) Pemeriksaan *alkaloid*

Sampel sebanyak 3 ml kemudian ditambahkan 3 tetes asam klorida 2 N. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi 2 tabung untuk test *alkaloida* sebagai berikut:

- a) Filtrat ditambahkan 3 tetes pereaksi *dragendorf*, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga.
- b) Filtrat ditambahkan 3 tetes larutan pereaksi *mayer wagner*, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning.

2) Pemeriksaan *flavonoid*

1 ml sampel ditambahkan 0,1gr magnesium, lalu ditambahkan pereaksi HCl pekat sebanyak 10 tetes. Jika terbentuk warna jingga menunjukkan adanya *flavonoida*.

3) Pemeriksaan *tanin*

Sampel sebanyak 2 ml ditambahkan dengan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1 %. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya *tanin*.

4) Pemeriksaan *saponin*

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*.

5) Pemeriksaan *steroid*

Sampel sebanyak 3 ml ditambah dengan 2 ml pereaksi Salkowsky (H_2SO_4 pekat). Apabila terbentuk warna merah menunjukkan adanya *steroid*.

e. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Adapun prosedur uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang marigold yang diadaptasi dari penelitian yang dilakukan oleh (Damanis dkk., 2020) yaitu sebagai berikut:

1) Pembuatan larutan DPPH

Sebanyak 4 mg serbuk DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 100 mL. Selanjutnya larutan stok DPPH dilakukan pengujian kontrol, dengan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 517nm (Damanis dkk., 2020).

2) Pembuatan larutan stok

Sebanyak 100 mg ekstrak etanol batang Marigold dilarutkan didalam etanol 96% sebanyak 100 mL jadi didapatkan konsentrasi 1000 ppm. Dengan masing

| | |
|-----|------|
| 125 | 1,25 |
| 100 | 1 |
| 75 | 0,75 |

4) Pembuatan larutan kontrol

Pembuatan absorbansi kontrol dengan mengambil 1 ml larutan DPPH dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan etanol sebanyak 3 ml setelah itu tutup tabung reaksi dengan aluminium foil agar tidak terkontaminasi dengan udara luar, lalu inkubasi pada suhu ruang selama 30 menit.

5) Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dengan metode DPPH

Sebanyak 3 mL ekstrak etanol batang marigold (*Tagetes erecta* Linn.) dengan konsentrasi 150 µg/mL, 125 µg/mL, 100 µg/mL, 75 µg/mL. Ditambahkan masing-masing 1 mL larutan DPPH dalam etanol dan dihomogenkan. Berubahnya warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Diukur absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm, setelah diinkubasi selama 30 menit (Damanis dkk., 2020).

1) Perhitungan presentase inhibisi dan nilai IC₅₀

Presentase inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus:

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

Sedangkan nilai IC₅₀ ditentukan dengan persamaan garis kuadrat, $y = bx+a$, yang terbentuk dari presentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi. Dalam persamaan tersebut nilai x merupakan konsentrasi zat yang diukur dan nilai y merupakan serapan yang terukur dari sampel yang sedang diuji (Rahmatullah dkk., 2019).

Tabel 3

Sifat Antioksidan Berdasarkan (*Antioxidant Activity Index*) AAI

| Nilai AAI (ppm) | Kategori |
|-----------------|-------------|
| >2,0 | Sangat Kuat |
| 1,0-2,0 | Kuat |
| 0,5-1,0 | Sedang |
| <0,5 | Lemah |

Sumber: (Scherer and Godoy, 2009)

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data primer dalam penelitian skrining fitokimia ekstrak etanol batang marigold yang berupa perubahan warna pada setiap uji yang dilakukan diolah dengan menggunakan teknik pengolahan data secara tabulating data atau data yang ditampilkan berupa tabel dan naratif.

Untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dihitung dengan menggunakan persamaan

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Nilai % IC₅₀ (*Inhibition Concentration 50*) menentukan nilai IC₅₀ diperoleh garis 50% daya hambat dengan sumbu konsentrasi, dengan persamaan $y = bx + a$ 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 sedangkan aktivitas antioksidan akan dianalisis secara deskriptif kuantitatif.