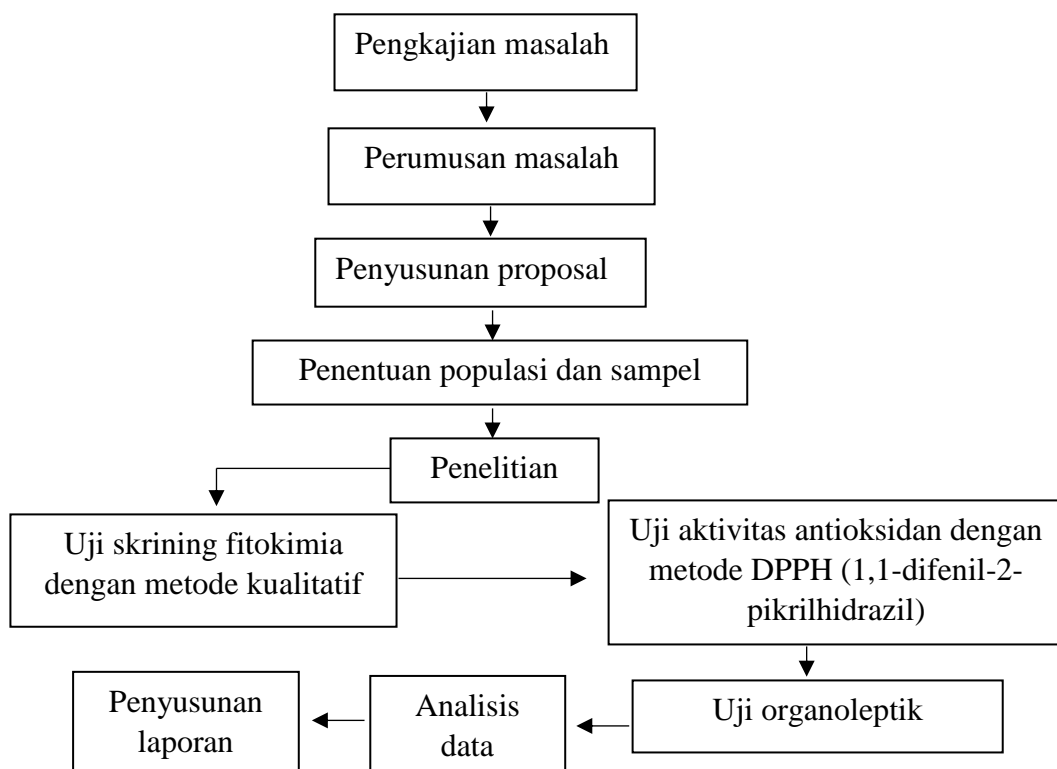


BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Penelitian ini berfungsi memberikan suatu gambaran mengenai uji skrining fitokimia, aktivitas antioksidan, uji organoleptik pada teh kombinasi bunga rosella dan daun seledri. (Sugiyono, 2017).

B. Alur Penelitian



Gambar 4 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Lokasi penelitian adalah Laboratorium Analisis Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Maret 2023.

D. Populasi dan Sampel

1. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini teh kombinasi bunga rosella dan daun seledri.

2. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah bunga rosella dipetik dari perkebunan Taman Petanu di daerah Kemenuh, Sukawati, Gianyar dan daun seledri dipetik dari pertanian di daerah Bedugul, Tabanan.

3. Sampel

Sampel dari penelitian ini adalah tanaman rosella dan seledri. Bunga rosella yang memenuhi kriteria sampel yaitu memiliki morfologi bunga yang utuh, berwarna merah, tidak terserang hama penyakit, segar dan tidak layu. Daun seledri yang memenuhi kriteria sampel yaitu memiliki morfologi daun yang utuh berwarna hijau, tidak terlalu tua, tidak terserang hama penyakit, segar dan tidak berlubang.

4. Jumlah dan besar sampel

Massa sampel yang dibutuhkan yaitu massa basah 500 gram dan dari tiga formulasi perbandingan dibuat masing-masing 3 sampel kantong teh dengan massa kering yaitu, bunga rosella dibutuhkan 50 gram dan daun seledri dibutuhkan 50 gram.

5. Teknik sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *purposive* sampling, karena sampel yang dipilih harus memenuhi kriteria yang telah disesuaikan dengan kebutuhan peneliti (Sugiyono, 2017). Masing-masing sampel diambil 500 gram untuk memenuhi massa sampel basah. Seluruh proses yang dilakukan dengan dasar bahwa kandungan bahan berkhasiat sehingga hasil yang diharapkan maksimal.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Didapatkan dari hasil skrining fitokimia, aktivitas antioksidan dan uji organoleptik teh kombinasi bunga rosella dan daun seledri.

b. Data sekunder

Data sekunder dari penelitian ini didapat dari beberapa referensi dan literatur pada penelitian ini.

2. Cara pengumpulan data

Cara pengumpulan data pada penelitian ini adalah analisis laboratorium mengenai skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) pada spektrofotometer UV-vis.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan adalah:

a. Alat tulis

b. Kamera

c. Alat serta bahan untuk uji skrining fitokimia, uji aktivitas antioksidan dan uji organoleptik.

4. Alat bahan dan prosedur kerja

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pipet volume (Pyrex) 100 ml, pipet ukur (Pyrex) 50 ml, pipet tetes, bulb (D & n ball), batang pengaduk, spatula, erlenmeyer (Iwaki) 250 ml, beaker glass (Iwaki) 250 ml, gelas ukur (Iwaki) 100 ml, tabung reaksi (Iwaki), rak tabung reaksi, labu ukur (Pyrex) 100 ml, oven (Mettler), blender (Philip), neraca analitik (Ohaus), hot plate (Thermo), spektrofotometer UV-vis (Libra s60).

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) 500 gram, seledri (*Apium graveolens L.*) 500 gram, kantong teh celup 5,5 x 7 cm, akuades 300 ml, pereaksi dragendorff (Merck) 5 ml, pereaksi mayer (Merck) 5 ml, serbuk magnesium (Merck) 2 mg, 5 ml HCl pekat, 5 ml HCl 2 N, 2 ml asam sulfat pekat (H_2SO_4) (Smartlab), 3 ml asam klorida 2 N (Merck), 2 ml, Besi (III) klorida ($FeCl_3$) 10 % (Merck), methanol (Merck) 100 ml, 5 ml DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) (Merck), aluminium foil (Lokal) 10 cm, kertas label, tissue.

c. Prosedur Kerja

1. Pembuatan serbuk simplisia

- a. Memetik bunga rosella dan daun seledri masing-masing sebanyak 500 gram, kemudian bunga rosella dipisahkan dari bijinya
- b. Melakukan sortasi basah sampel kelopak bunga rosella dan daun seledri sesuai kriteria sampel, kemudian dicuci kelopak bunga rosella dan daun seledri dengan air mengalir hingga bersih, kemudian dilakukan pelayuan sebelum dimasukkan kedalam oven

- c. Mengeringkan menggunakan oven sampel kelopak bunga rosella dan daun seledri dengan suhu 50°C sampai kering (Dharma, Nocianitri dan Yusasrini, 2020)
 - d. Menghaluskan masing-masing sampel bunga rosella kering dan daun seledri kering menggunakan blender
 - e. Mengayak serbuk menggunakan ayakan sampai didapat bubuk halus agar tidak ada bahan yang tidak layak lolos
2. Pembuatan seduhan teh kombinasi
 - a. Menimbang kelopak bunga rosella dan daun seledri yang telah menjadi bubuk halus, ditimbang dengan tiga formulasi perbandingan sebagai berikut :

Tabel 2
Formulasi Perbandingan Sampel

Sampel	Perbandingan		
	1 : 1	1 : 2	2 : 1
Bunga rosella	1,5 gram	1 gram	2 gram
Daun seledri	1, 5 gram	2 gram	1 gram
Massa total	3 gram	3 gram	3 gram

(Sumber : Wahyuni dan Bolly, 2021)

- b. Mengemas masing-masing sampel bunga rosella dan daun seledri sesuai formulasi perbandingan pada tabel 2 kedalam sediaan kantong teh celup
- c. Menyeduh teh kombinasi dengan akuades sebanyak 100 ml dengan suhu air 65°C selama 7 menit (Agustini, Puryana dan Putri, 2019), kemudian didinginkan dan disaring jika terdapat ampas pada teh.

3. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid

(Wahid dan Safwan, 2020) :

1. Alkaloid
 - a. Sampel teh dibagi dalam 3 tabung reaksi
 - b. Tabung pertama, untuk blanko kemudian menambahkan 3 tetes HCl 2 N
 - c. Tabung kedua, menambahkan 3 tetes reagen *Dragendorff*
 - d. Tabung ketiga, menambahkan 3 tetes reagen *Mayer*
 - e. Diamati perubahan warna dan endapan yang terbentuk, blanko digunakan sebagai perbandingan dan hasil tidak terbentuk endapan sesuai hasil positif untuk uji alkaloid, pada reagen *Dragendorff* menandakan positif alkaloid jika terbentuk endapan berwarna merah sedangkan pada reagen *Mayer* menandakan positif alkaloid jika terbentuk endapan putih.
2. Flavonoid
 - a. Sampel teh dipipet sebanyak 5 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,05 mg serbuk magnesium dan ditambahkan 1 ml HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat
 - b. Diamati perubahan warna yang terjadi, uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.
3. Tanin
 - a. Sampel teh dipipet sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan dengan beberapa tetes larutan besi (III) klorida 10%
 - b. Diamati perubahan warna yang terjadi, jika terjadi warna biru tua atau coklat kehijauan menunjukkan adanya tanin.

4. Saponin

- a. Sampel teh dipipet sebanyak 2-3 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, lalu ditambahkan 1 tetes HCl 2 N
- b. Diamati perubahan busa yang terjadi, uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit.

5. Steroid

- a. Sampel teh dipipet sebanyak 2 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi menambahkan H₂SO₄ pekat 2 tetes, larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit
- b. Diamati perubahan warna yang terjadi, adanya steroid ditunjukkan oleh warna biru atau hijau.

4. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, dilakukan sebagai berikut (Tristantini *dkk.*, 2016) dengan modifikasi :

1. Pembuatan larutan sampel

- a. Larutan induk sampel sebesar 5000 ppm, dibuat dengan menimbang 0,125 gram serbuk teh kombinasi dengan tiga formulasi sampel, kemudian larutkan pada 25 ml akuades
- b. Kemudian melakukan pengenceran menggunakan akuades dengan membuat seri konsentrasi yaitu 100, 160, 220, 280 dan 320 ppm pada sampel, dengan memipet 0,2 ml, 0,32 ml, 0,44 ml, 0,56 ml, 0,64 ml dan dicukupkan hingga 10 ml akuades

2. Pembuatan larutan stock DPPH 40 ppm
 - a. Menimbang padatan DPPH sebanyak 4 mg
 - b. Kemudian dilarutkan kedalam 100 ml metanol
3. Pembuatan larutan perbandingan (blanko)
 - a. Memipet 1 ml akuades dan 1 ml larutan DPPH 40 ppm, dihomogenkan
 - b. Kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 27°C, lalu diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm
4. Pengujian aktivitas antioksidan
 - a. Memipet masing-masing larutan sampel sebanyak 1 ml, lalu ditambahkan larutan DPPH sebanyak 1 ml, dihomogenkan
 - b. Kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 27°C hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH, semua sampel dibuat triplo kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm
5. Uji organoleptik
 - a. Menyiapkan 3 formulasi teh kombinasi bunga rosella dan daun seledri yang telah diseduh
 - b. Menyiapkan 30 orang panelis panel tidak terlatih melakukan uji organoleptik
 - c. Meminta panelis untuk mengisi *informed consent* dan identitas pada formulir
 - d. Meminta panelis memberi penilaian teh kombinasi bunga rosella dan daun seledri meliputi rasa, aroma, warna pada formulir uji organoleptik
 - e. Mengumpulkan hasil penilaian dari panelis.

F. Pengolahan Data dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Pengolahan data penelitian ini dilakukan dengan cara :

a. Skrining fitokimia

Data yang diperoleh disajikan dalam tabel kemudian diuraikan secara naratif dibandingkan dengan literatur. Untuk uji skrining fitokimia dengan analisis kualitatif dengan menjelaskan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid pada teh kombinasi bunga rosella dan daun seledri.

b. Aktivitas antioksidan

Untuk uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara analisis kuantitatif yaitu dengan menggunakan perhitungan rumus, sebagai berikut :

1. Penentuan % inhibisi

$$\text{Persentase inhibisi} = \frac{[\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}]}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\%$$

2. Penentuan nilai IC₅₀ (*Inhibitor Concentraion*)

Nilai IC₅₀ diperoleh garis 50% daya hambat dengan sumbu konsentrasi, dengan persamaan $y = ax + b$ dimana $y = 50$ dan x adalah konsentrasi larutan uji yang mampu menghambat 50% larutan radikal bebas.

3. Penentuan nilai Aktivitas Antioksidan (AAI)

$$\text{AAI} = \left(\frac{\text{konsentrasi DPPH}}{\text{IC}_{50}} \right)$$

Tabel 3
Interpretasi Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ (ppm)	Kategori
<50	Sangat kuat
50-100	Kuat
100-150	Sedang
150-200	Lemah
>200	Sangat lemah

(Sumber : Rizki *dkk.*, 2021)

c. Uji Organoleptik

Data yang diperoleh disajikan dalam tabel kemudian diuraikan secara naratif dibandingkan dengan literatur. Untuk uji organoleptik dilakukan dengan cara analisis deskriptif yaitu dengan menjelaskan rasa, aroma, warna pada teh kombinasi bunga rosella dan daun seledri.

2. Analisis data

Pada skrining fitokimia, uji organoleptik dianalisis secara deskriptif dan hasil uji aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif kuantitatif, disajikan dalam bentuk tabel yang dijabarkan secara narasi, yaitu menguraikan dan menjelaskan tentang hasil pengamatan yang telah dilakukan.

G. Etika penelitian

Etika penelitian pada penelitian ini yaitu bahwa pengambilan, penggunaan dan penyimpanan bahan biologis tersimpan (BBT) memerlukan pembenaran etis dan dilakukan mengikuti peraturan etik. Bahan biologis tersimpan diharapkan bahwa dikemudian hari bisa digunakan untuk penelitian kesehatan yang harus memenuhi persyaratan ilmiah dan etik (Soendoro dan Siswanto, 2017).

Uji organoleptik yang menggunakan manusia sebagai panelis, menggunakan etika penelitian, sebagai berikut :

1. Lembar persetujuan (*Informed Consent*)

Responden mendengarkan penjelasan peneliti tentang tujuan penelitian selama pelaksanaannya sehingga mereka mengetahui setiap prosedur tanpa curiga. Peneliti kemudian meminta izin untuk berpartisipasi sebagai responden. Responden melengkapi struktur persetujuan yang diberikan oleh dokter untuk mengikuti ujian sehingga tidak mempengaruhi keragaman data.

2. Tanpa nama (*Anonymity*)

Pada lembar kuesioner responden hanya mencantumkan kode bukan nama.

3. Kerahasiaan (*Confidentially*)

Data atau informasi yang diceritakan oleh responden hanya diketahui peneliti. Demikian pula lembar kuesioner tidak dapat disebarluaskan, dan hanya peneliti yang mengetahui isinya.

4. Keadilan (*Justice*)

Peneliti harus adil untuk memperlakukan responden lain secara adil. Prinsip ini menegaskan bahwa hak atas keadilan distributif berhak didapatkan oleh semua orang dengan adil. Dalam penelitian ini responden diperlakukan secara adil serta diperlakukan sama oleh peneliti tanpa memandang suku, ras, agama, dan status sosial.