

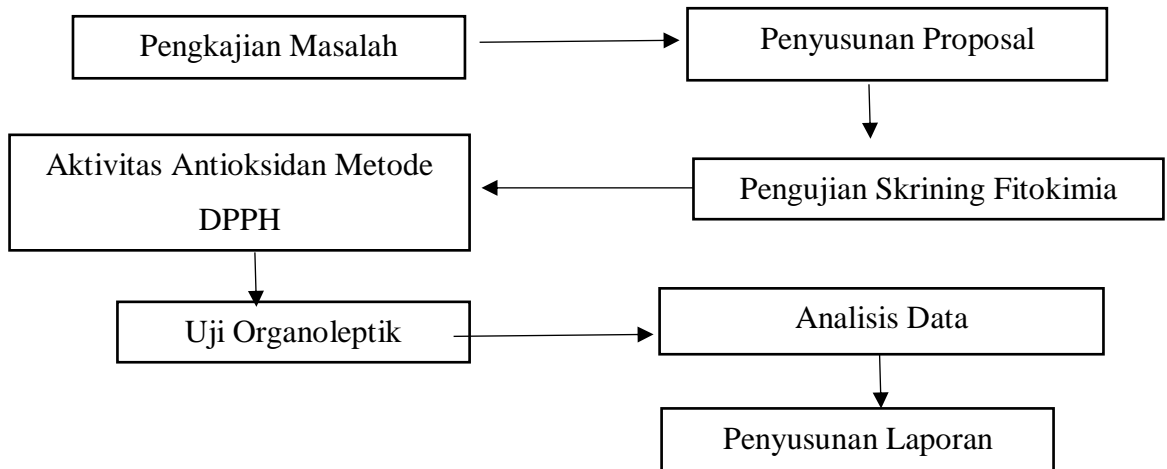
BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, yaitu penelitian yang dilakukan untuk mendeskripsikan atau menggambarkan suatu objek melalui sampel populasi yang diteliti (Notoatmodjo, 2010). Pada penelitian ini menggambarkan hasil skrining fitokimia, aktivitas antioksidan dan uji organoleptik pada teh kombinasi daun salam dan daun kemangi.

B. Alur Penelitian

Alur penelitian pada penelitian ini disajikan pada gambar dibawah ini:



Gambar 4 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Tempat yang digunakan untuk penelitian adalah Laboratorium Analisis Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilakukan pada bulan Januari- Maret 2023.

D. Populasi dan Sampel

1. Unit Analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah teh kombinasi daun salam dan daun kemangi.

2. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah daun salam yang memenuhi kriteria, yang dikumpulkan dari lingkungan sekitar Desa Jegu, Penebel, Tabanan dan daun kemangi dikumpulkan dari perkebunan yang ada di Desa Jegu, Penebel, Tabanan yang memenuhi kriteria sampel.

3. Sampel

Sampel dari penelitian ini adalah daun salam dan daun kemangi yang memenuhi kriteria sampel adalah:

- a. Kriteria sampel daun salam yang digunakan adalah daun salam tidak terserang hama penyakit memiliki morfologi daun yang utuh (tidak berlubang), berwarna hijau segar, merupakan daun ke3-5 dari ujung daun.
- b. Kriteria sampel daun kemangi yang digunakan adalah daun kemangi yang memiliki warna hijau gelap, tidak ada cacat pada daun, daun tidak berwarna kuning.

4. Jumlah dan besar sampel

Massa sampel basah yang dibutuhkan yaitu 500 gram untuk masing-masing sampel dan massa kering yang dibutuhkan untuk 3 formulasi masing-masing sampel daun salam dan daun kemangi yang digunakan yaitu 50 gram.

5. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *purposive* sampling, karena sampel yang dipilih harus memenuhi kriteria yang telah disesuaikan dengan kebutuhan peneliti (Sugiono, 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

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengumpulan data primer dan data sekunder. Data primer dalam penelitian ini adalah hasil yang diperoleh dari skrining fitokimia, aktivitas antioksidan dan uji organoleptik teh kombinasi daun salam dan daun kemangi. Sedangkan data sekundernya diperoleh dari sumber literatur yang terkait penelitian ini.

2. Cara pengumpulan data

Cara pengumpulan data pada penelitian ini adalah dengan melakukan percobaan suatu uji laboratorium dengan cara menganalisis kandungan fitokimia secara kualitatif, aktivitas antioksidan secara kuantitatif dan uji organoleptik

dilakukan dengan observasi menggunakan skala hedonik sebanyak 30 panelis pada teh kombinasi daun salam dan daun kemangi.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan dalam pengumpulan data dalam penelitian ini adalah:

- a. Alat tulis
- b. Kamera
- c. Alat dan bahan untuk skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan.
- d. Kuisisioner untuk uji organoleptik.

4. Alat dan bahan

- a. Alat

Alat-alat yang diperlukan pada percobaan ini adalah pipet volume 1 mL, 2 mL, 5 mL (Pyrex), pipet ukur (Pyrex) 50 mL, pipet tetes, bulb pipet (*Ddann ball pipet*), batang pengaduk, spatula, ayakan 40 mesh, nampan, kaleng plastik, beaker gelas (Iwaki) 250 ml, erlenMayer (Iwaki) 250 ml, gelas ukur (Iwaki) 50 ml, tabung reaksi (Iwaki), rak tabung reaksi labu takar (Iwaki), vortex mixer, termometer air raksa, blender (Philip), hot plate (Thermo Scientific), neraca analitik (Ohaus), oven (Memmert Germany) kuvet dan spektrofotometer Uv-Vis (Libra s60).

- b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*), daun kemangi (*Ocimum basilicum*), kantong teh celup 5,5 x 7 cm, 300 mL akuades, 10 mL air panas, kertas label, tissue, Fe (III) klorida 1%, Serbuk Magnesium, asam sulfat pekat, 1 mL reagen Dragendorf, 1 mL

reagen Mayer, 1 tetes asam klorida 2 N, Methanol , 5 mg padatan DPPH, dan 10 cm alumunium foil.

5. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan yaitu:

a. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun salam diperoleh dari tumbuhan daun salam yang tumbuh dilingkungan Desa Jegu, sedangkan pengambilan sampel daun kemangi diperoleh dari perkebunan di Desa Jegu. Sampel daun salam dan daun kemangi yang dipilih adalah sampel daun yang memenuhi kriteria sampel.

b. Pembuatan Serbuk Simplisia

Cara untuk pembuatan serbuk simplisia kering daun salam dan daun kemangi, sebagai berikut:

- 1) Mengumpulkan daun salam dan daun kemangi,
- 2) Melakukan pencucian daun salam dan daun kemangi dengan air mengalir lalu menyeortasi sesuai kriteria sampel dan dilayukan,
- 3) Mengeringkan sampel daun salam dan daun kemangi dengan oven suhu 50°C, sampai kering (Dharma, Nocianitri dan Yusasrini, 2020).
- 4) Menghaluskan masing-masing sampel yang telah kering dengan cara diblender,
- 5) Mengayak serbuk sampai diperoleh bubuk halus menggunakan ayakan.

c. Pembuatan Teh Kombinasi

Adapun cara untuk pembuatan teh kombinasi dari daun salam dan daun kemangi adalah:

- 1) Serbuk dari masing-masing sampel dicampurkan dan dimasukkan kedalam masing-masing kantong teh celup sesuai formulasi perbandingan. Tabel perbandingan sebagai berikut:

Tabel 2
Formulasi Perbandingan Sampel

Sampel	Perbandingan		
	1:1	1:2	2:1
Daun salam	1,5 gram	1 gram	2 gram
Daun Kemangi	1,5 gram	2 gram	1 gram
Massa Total	3 gram	3 gram	3 gram

(Wahyuni dan Bolly, 2021)

- 2) Pembuatan teh dilakukan dengan menyeduh masing-masing kantong teh celup dengan air sebanyak 100 mL dengan suhu 70°C selama 5 menit (Mutmainnah, Chadijah, dan Qaddafi, 2018) dan disaring jika terdapat ampas pada teh.

d. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid (Wahid dan Safwan, 2020).

1) Alkaloid

- a) Filtrat masing-masing formulasi sampel teh yang diperoleh dibagi ke dalam 3 tabung reaksi,
- b) Tabung pertama berfungsi sebagai blanko, ditambahkan dengan 3 tetes HCl 2 N,
- c) Tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff ,dan
- d) Tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer,

- e) Diamati dan dibaca perubahan warna yang terjadi, pada pereaksi Dragendorff akan terbentuk endapan berwarna merah sedangkan pereaksi Mayer akan terbentuk endapan putih yang menandakan positif adanya Alkaloid.
- 2) Flavonoid
- a) Filtrat masing-masing formulasi sampel teh dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat,
 - b) Diamati dan dibaca perubahan warna yang terjadi, uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga hingga merah.
- 3) Tanin
- a) Filtrat masing-masing formulasi sampel teh dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan dengan beberapa tetes Fe (III) klorida 1%,
 - b) Diamati dan dibaca perubahan warna yang terjadi, jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin.
- 4) Saponin
- a) Filtrat masing-masing formulasi sampel teh dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi,
 - b) Kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, lalu ditambahkan 1 tetes HCl 1 N,
 - c) Diamati dan dibaca perubahan warna yang terjadi, uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit.

5) Steroid

- a) Filtrat masing-masing formulasi sampel teh dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes,
- b) Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit,
- c) Diamati dan dibaca perubahan warna yang terjadi, adanya Steroid ditunjukkan oleh warna biru.

e. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH (Tristantini, *et al.*, 2016), dilakukan sebagai berikut:

1) Pembuatan Larutan Induk Sampel

- a) Dibuat larutan uji dalam berbagai konsentrasi dengan larutan induk 5000 ppm masing-masing formulasi teh kombinasi daun salam dan daun kemangi,
- b) Sampel teh kombinasi daun salam dan daun kemangi masing-masing formulasi dibuat dengan melarutkan 0,125 g sampel pada 25 mL akuadest,
- c) Melakukan pengenceran menggunakan akuadest dengan membuat variasi konsentrasi yaitu 30, 60, 90, 120 dan 140 ppm dipipet masing-masing 0,06, 0,12, 0,18, 0,24 dan 0,28 mL, dimasukkan pada labu ukur dan dicukupkan akuadest hingga 10 mL,

2) Menyiapkan larutan stock DPPH 40 ppm

- a) Ditimbang padatan DPPH sebanyak 4 mg,
- b) Dilarutkan dengan methanol 100 mL dalam labu ukur sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 40 ppm.

- 3) Penentuan Serapan Larutan Blanko DPPH
 - a) Larutan DPPH 40 ppm dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan 1 mL metanol dimasukkan kedalam vial,
 - b) Diukur dengan Spektrofotometri UV- Vis pada panjang gelombang (λ) 516 nm.
- 4) Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel Teh Kombinasi Daun Salam Dan Daun Kemangi Terhadap DPPH.
 - a) Larutan seri tiap masing-masing formulasi sampel yaitu 30, 60, 90, 120 dan 140 ppm dipipet masing-masing 1ml ditambahkan dengan 1ml larutan DPPH , dimasukkan pada labu ukur semua sampel dibuat triplo,
 - b) Larutan divortex dan didiamkan 30 menit di tempat gelap, pada suhu 27°C hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH,
 - c) Serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang (λ) 516 nm.
- f. Uji Organoleptik teh kombinasi daun salam dan daun kemangi
 - 1) Disiapkan 3 formulasi daun salam : daun kemangi (1:1), (1:2) dan (2:1) yang sudah diseduh,
 - 2) Disiapkan 30 panelis (panelis terdiri atas panelis tidak terlatih),
 - 3) Panelis diminta mengisi kelengkapan biodata pada formulir uji organoleptik,
 - 4) Dilakukan penilaian uji organoleptik teh kombinasi daun salam dan daun kemangi, meliputi warna, aroma, dan rasa.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

a. Pengolahan data skrining fitokimia

Dilakukan dengan cara analisis kualitatif yaitu menjelaskan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel teh kombinasi daun salam dan daun kemangi, seperti (alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid). Data yang diperoleh disajikan dalam tabel, dinarasikan dan dibandingkan dengan literatur terkait.

b. Pengolahan data aktivitas antioksidan metode DPPH

Dianalisis dengan penentuan %inhibisi perhitungan dengan menggunakan persamaan:

$$\%inhibisi = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban Sampel}}{\text{Absorban Blanko}} \times 100\%$$

Setelah diperolehkan %inhibisi masing-masing konsentrasi sampel, hasil perhitungan dibuat dalam suatu persamaan linier $y = ax + b$, hasil dari persamaan linier yang dihasilkan digunakan untuk memperoleh nilai IC_{50} . Rumus untuk menghitung nilai IC_{50} adalah $50 = ax + b$, penentuan nilai aktivitas Antioksidan (AAI), diperoleh dari perhitungan (Zakiyah, 2018):

$$AAI = \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{IC_{50}}$$

Penggolongan kategori hasil berdasarkan Nilai IC_{50} dibuat berdasarkan tabel.

Tabel 3
Penggolongan Kategori Hasil Berdasarkan Nilai IC₅₀

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

(Bahriul, Rahman dan Diah, 2014)

c. Pengolahan Data Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik pada teh kombinasi daun salam dan daun kemangi diolah dengan menggunakan teknik tabel pengolahan data secara tabulasi, yaitu teknik penyajian data dalam bentuk tabel, kemudian dideskripsikan dalam bentuk narasi.

2. Analisis Data

Analisis data pada hasil skrining fitokimia dianalisis secara deskriptif kualitatif dengan menjelaskan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada teh kombinasi daun salam dan daun kemangi. Sedangkan kandungan aktifitas antioksidan yang terdapat pada teh kombinasi daun salam dan daun kemangi disajikan dalam bentuk deskriptif kuantitatif dan penentuan aktivitas antioksidan yang diperoleh dihitung menggunakan rumus persamaan linier, hasil yang diperoleh disesuaikan dengan penggolongan kategori hasil berdasarkan nilai IC₅₀ disajikan dalam tabel lalu dinarasikan dan uji organoleptik dilakukan dengan analisis data deskriptif yaitu menggambarkan hasil penilaian warna, aroma, dan rasa berdasarkan penilaian dari 30 panelis terhadap teh kombinasi daun salam dan daun kemangi.

G. Etika Penelitian

Etika Penelitian yang dilakukan pada penelitian ini memperingatkan bahwa pengambilan, penggunaan dan penyimpanan bahan biologis tersimpan (BBT) memerlukan pembenaran etis, dan dilakukan mengikuti peraturan etik. BBT yang disimpan dengan harapan bahwa di kemudian hari bisa digunakan untuk penelitian kesehatan yang tentu saja harus memenuhi persyaratan ilmiah dan etik (Triono, 2017).

Uji organoleptik yang menggunakan manusia sebagai panelis, menggunakan etika penelitian, menurut Mappaware 31 (2016), terdapat 3 prinsip etik (kaidah dasar moral) jika penelitian kesehatan yang menjadikan manusia sebagai subjek penelitian yaitu sebagai berikut :

1. *Respect for person* (others)

Tujuan dari etika penelitian *Respect For Person* adalah menghormati otonomi seseorang untuk menentukan keputusannya sendiri dan untuk melindungi orang-orang yang dependent atau rentan dari penyalahgunaan (*harm dan abuse*). Pada penelitian ini, keputusan yang dibuat oleh responden untuk dihormati. Digunakan dengan salah satu cara yaitu dengan memberikan persetujuan atau *informed consent* kepada responden. Bagi peneliti hal tersebut penting untuk mendapatkan pengakuan rasa hormat kepada panelis yang bersedia menjadi subjek penelitian.

2. *Beneficence* dan *Non Malieficence*

Prinsip dari etika penelitian *Beneficence* dan *Non Malieficence* adalah bersikap baik, memberikan manfaat yang besar dan risiko yang seminimal mungkin jika terdapat risiko maka harus sewajarnya serta mengikuti prinsip *do*

no harm (tidak merugikan, *non maleficence* / tidak memperburuk keadaan). Responden diusahakan untuk mendapatkan keuntungan yang didapatkan dari penelitian yang dilakukan oleh peneliti serta tidak memberikan resiko yang dapat membahayakan panelis.

3. *Justice* (Keadilan)

Prinsip ini menekankan bahwa hak atas keadilan distributif berhak didapatkan oleh semua orang dengan bersifat adil. Dalam penelitian ini panelis diperlakukan secara adil serta diperlakukan sama oleh peneliti tanpa memandang suku, ras, agama, dan status sosial.