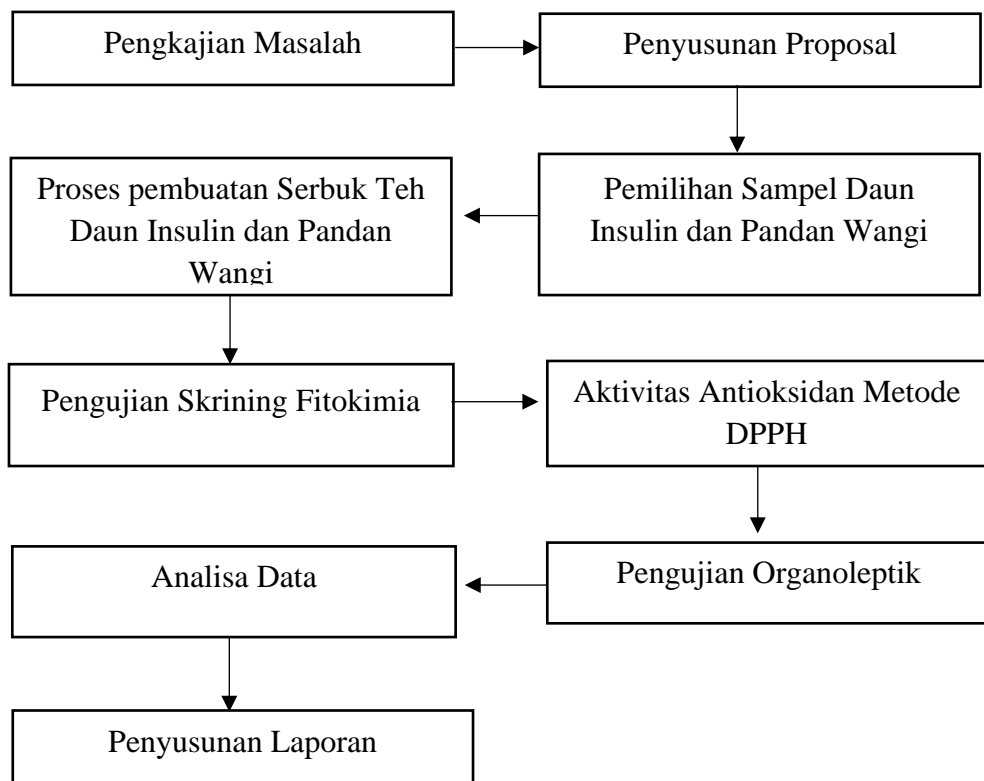


## BAB IV METODE PENELITIAN

### A. Jenis Penelitian

Metode yang digunakan untuk penelitian ini adalah *pre-exsperiment*. Metode *pre-experimen* digunakan untuk melakukan studi pendahuluan sebelum dilakukan *experimen* sebenarnya. Penelitian *pre-experimen* adalah rancangan penelitian yang belum dikategorikan sebagai eksperimen sungguhan, dikarenakan pada metode ini belum dilakukan pengambilan sampel secara acak dan tidak dilakukan kontrol yang cukup terhadap variabel (Hamsir, 2017).

### B. Alur Penelitian



Gambar 4 Alur Penelitian

### **C. Tempat dan Waktu Penelitian**

#### 1. Tempat Penelitian

Tempat pengujian sampel dilakukan di Laboratorium Analisis Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa.

#### 2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Mei 2023.

### **D. Populasi dan Sampel Penelitian**

#### 1. Unit Analisis

Unit Analisis dalam penelitian ini adalah teh kombinasi daun insulin dan daun pandan wangi.

#### 2. Populasi

Sampel dalam penelitian ini adalah daun insulin dan daun pandan wangi. Sampel daun insulin dan pandan wangi diperoleh dari daerah Padangsambian Klod Kecamatan Denpasar Barat.

#### 3. Sampel Penelitian

Sampel yaitu bagian dari populasi penelitian yang memenuhi kriteria sampel. Sampel dalam penelitian ini adalah daun insulin dan daun pandan wangi yang mempunyai kriteria daun yang digunakan yaitu daun keempat sampai daun ketujuh dari daun pucuk, berwarna hijau, segar, tidak berlubang.

#### 4. Jumlah dan besar sampel

Sampel yang diperlukan pada masing- masing daun sebanyak 50 gram massa kering. Dalam pengujian skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan daun insulin dikombinasikan dengan daun pandan wangi menjadi teh menggunakan tiga

formulasi. Tabel formulasi perbandingan kombinasi sampel disajikan sebagai berikut:

**Tabel 3**  
**Formulasi Perbandingan Sampel**

Sampel	Perbandingan		
	1:1	1:2	2:1
<b>Daun Insulin</b>	1,5 gram	1 gram	2 gram
<b>Daun Pandan Wangi</b>	1,5 gram	2 gram	1 gram
<b>Massa Total</b>	3 gram	3 gram	3 gram

Sumber : (Wahyuni dan Bolly, 2021)

#### 5. Teknik Pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu teknik *purposive sampling* yang merupakan teknik pengambilan sampel dengan menentukan kreterian-kriteria tertentu, berdasarkan ciri atau sifat-sifat populasi yang sudah diketahui sebelumnya (Sugiono, 2008 dalam Mukhsin, Mappigau dan Tenriawaru, 2017).

### E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

#### 1. Jenis data yang dikumpulkan

Data yang dikumpulan berupa data primer dan data sekunder. Untuk memperoleh data primer dilakukan pengujian skringing fitokimia dan uji aktivitas antioksidan serta uji organoleptik pada seduhan teh kombinasi daun insulin dengan pandan wangi. Sedangkan untuk memperoleh sekunder diperoleh dari referensi-referensi mengenai pengujian skringing fitokimia dan aktivitas antioksidan yang berasal dari literatur yang terkait.

#### 2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini adalah dengan melakukan pengujian skringing fitokimia yang terdiri dari pemeriksaan alkaloid, flavonoid, tannin, steroid dan saponin, dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode

DPPH serta uji organoleptik untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis pada seduhan teh kombinasi daun insulin dengan daun pandan wangi.

### 3. Instrumen pengumpulan data

Beberapa Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Alat tulis
- b. Alat dokumentasi (camera)
- c. Alat pelindung diri (APD)
- d. Alat pengambilan dan pemeriksaan sampel

#### 1) Alat

Alat yang digunakan yaitu timbangan, pisau, baskom, kantong teh, silika gel, jarring besi, ayakan 40 mesh (abm), blender (Philip) dan peralatan analisis: neraca analitik (Abs 220-4n), oven (Memmert), kompor listrik (S-300), rak tabung, pipet tetes, tabung reaksi (Iwaki), labu ukur (Iwaki), pipet volume, pipet ukur, bulb, batang pengaduk, spatula, beaker gelas, spektrofotometer UV-vis (Libra S60).

#### 2) Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun insulin, daun pandan wangi, asam sulfat 2 N, reagen dragendorf, reagen mayer, bubuk magnesium,  $H_2SO_4$ , larutan besi(III) Klorida 1% , HCL 2 N, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil), akuades, metanol.

#### 3) Prosedur Penelitian

##### a) Persiapan Simplisia

Prosedur persiapan simplisia merujuk pada (Angraiyati dan Hamzah, 2017)

- (1) Dilakukan pemetikan langsung dari pohonnya

- (2) Daun insulin dan pandan wangi disortir berdasarkan warna daun yang sama yaitu berwarna hijau segar.
- (3) Daun insulin dan pandan wangi yang digunakan yaitu pada daun keempat sampai daun ketujuh dari daun pucuk. Daun pandan kemudian dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil.
- (4) Dilakukan pencucian terhadap sampel daun untuk menghilangkan kotoran yang menempel.

b) Proses Pelayuan

Proses pelayuan merujuk pada (Lagawa, Kencana dan Aviantara, 2019)

- (1) Dilakukan pemaparan daun insulin dan daun pandan wangi di atas jaring besi pada suhu ruang selama 12 jam.
- (2) Daun insulin dan daun pandan wangi dibalik sebanyak 3 kali setiap 2 jam.

c) Pembuatan Bubuk Teh Daun Insulin Kombinasi Daun Pandan Wangi.

Proses pengeringan merujuk pada (Lagawa, Kencana dan Aviantara, 2019; Handoyo dan Pranoto, 2020)

- (1) Tahap pengeringan, menggunakan teknik pengeringan dengan oven, dimasukkan potongan daun teh ke dalam oven.
- (2) Proses pengeringan dilakukan menggunakan oven dengan suhu 50<sup>0</sup>C, hingga kering.
- (3) Dilakukan penghalusan menggunakan blender kemudian diayak dengan ayakan 40 mesh sehingga memisahkan antara bahan yang layak lolos dan tidak layak lolos.
- (4) Dibuat kombinasi bubuk daun insulin dan pandan wangi kering dengan kombinasi (1:1, 1:2, 2:1) dengan total massa akhir yang sama.

(5) Bubuk dimasukkan ke dalam kantong teh dengan total massa akhir yang sama dengan kombinasi yang sudah ditentukan, untuk formulasi kombinasi sesuai dengan Tabel 3.

d) Pembuatan seduhan teh kombinasi daun insulin dan daun pandan wangi.

Proses penyeduhan mejuruk pada (Kushargina, Kusumaningati, Yuniyanto, 2022; Fajar, Wrasati dan Suhendra, 2018) telah dimodifikasi:

Penyeduhan untuk pengujian Skrining fitokimia dan uji organoleptik

(1) Kantong teh yang sudah berisi bubuk kombinasi daun insulin dan daun pandan wangi dengan tiga formulasi yaitu 1:1; 1:2 dan 2:1 dimasukkan ke dalam beaker glass

(2) Masing-masing dari ketiga formulasi diseduh menggunakan 100 ml aquadest dengan suhu 70<sup>0</sup>C, kemudian ditutup dan dibiarkan selama 5 menit.

(3) Seduhan teh kombinasi daun insulin dan daun pandan wangi selanjutnya disaring dan dilakukan pengujian.

Penyeduhan untuk pengujian aktivitas antioksidan:

(1) Kantong teh yang sudah berisi bubuk teh kombinasi daun insulin dan pandan wangi dengan tiga formulasi dimasukkan ke dalam beaker glass sebanyak 0,125 gram.

(2) Dilarutkan menggunakan 25 ml aquadest dengan suhu 70<sup>0</sup>C, kemudian ditutup dan dibiarkan selama 5 menit.

(3) Selanjutnya seduhan teh kombinasi daun insulin dan daun pandan wangi disaring dan dilanjutkan untuk pengujian.

e) Prosedur Uji Skrining fitokimia

Prosedur Uji skrining Fitokimia merujuk pada (Purwati, T Lumowa dan Samsurianto, 2017) telah dimodifikasi:

a) Uji Alkalioid

- (1) Dipipet seduhan teh kombinasi sebanyak 3 ml, kemudian ditambahkan beberapa tetes asam sulfat 2 N
- (2) Larutan sampel dibagi menjadi 2 bagian
- (3) Satu bagian ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi dreagendroff.
- (4) Bagian yang lain ditambahkan 2 tetes reagen mayer
- (5) Diamati perubahan yang terjadi
- (6) Hasil dinyatakan positif bila terbentuk warna merah-jingga dengan pereaksi dreagendroff, dan terbentuk endapan putih kekuningan pada pereaksi mayer.

b) Uji Flavonoid

- (1) Dipipet seduhan teh kombinasi sebanyak 1 ml
- (2) Ditambahkan 0,1 mg bubuk magnesium dan 5 tetes HCl.
- (3) Sampel dikocok dan diamati perubahan yang terjadi, terbentuknya endapan warna merah, kuning atau jingga pada larutan menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

c) Uji Tanin

- (1) Dipipet seduhan teh kombinasi sebanyak sebanyak 1 ml
- (2) Ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl 1%.
- (3) Perubahan yang terjadi diamati, terbentuknya warna biru tua, hitam atau coklat kehijauan menunjukkan adanya senyawa tannin.

d) Uji Saponin

- (1) Dipipet seduhan teh kombinasi sebanyak 1 ml, kemudian ditambahkan 10 ml air panas pada sampel.
- (2) Dikocok kuat-kuat campuran selama 10 detik
- (3) Diamati busa yang muncul selama 5 menit, kemudian ditambahkan 1 tetes HCL 2 N. Hasil positif jika busa yang terbentuk tidak hilang.

e) Uji Steroid

- (1) Dipipet seduhan teh kombinasi sebanyak 1 ml, kemudian ditambahkan 3 tetes HCl dan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.
- (2) Diamati perubahan pada sampel, terbentuknya warna merah pada larutan pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau menunjukkan reaksi positif.

f) Prosedur Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal DPPH merujuk pada prosedur (Nuraziza, Dali dan Waris, 2017; Cahyaningsih, Yuda dan Santoso, 2019) telah dimodifikasi:

- (1) Pembuatan Larutan Sampel (larutan induk 5000 ppm)
  - (a) Larutan uji dibuat dalam berbagai konsentrasi dengan larutan induk 5000 ppm.
  - (b) Larutan induk 5000 ppm dibuat dengan menimbang tiga formulasi sampel sebanyak 0,125 gram kemudian dilarutkan pada 25 ml aquadest.
  - (c) Selanjutnya dilakukan pengenceran menggunakan pelarut aquades untuk membuat variasi konsentrasi yaitu 60, 120, 180, 240 dan 300 ppm pada setiap masing-masing formulasi sampel.



- (2) Pembuatan larutan stok DPPH 40 ppm
  - (a) Larutan stok DPPH dibuat dengan melarutkan 4 mg padatan DPPH ke dalam 100 ml metanol dengan labu ukur.
  - (b) Hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 40 ppm.
- (3) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH
  - (a) Larutan DPPH dengan konsentrasi 40 ppm, dimasukkan ke dalam kuvet.
  - (b) Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 400-700 nm menggunakan spektrofotometer, hingga diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH.
- (4) Pengukuran serapan larutan blanko DPPH
  - (a) Disiapkan larutan yang terdiri dari larutan blanko yang berisi 1 ml aquadest dan 1 ml larutan DPPH 40 ppm dimasukkan dalam vial dan dihomogenkan.
  - (b) Kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 27°C
  - (c) Diukur dengan spektrofotometri Uv-vis pada panjang gelombang maksimum (516 nm).
- (5) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Sampel Teh Daun Insulin Kombinasi Daun Pandan Wangi
  - (a) Untuk sampel uji, dipipet masing-masing 1 ml larutan sampel yaitu larutan seri 60 ppm, 120 ppm, 180 ppm, 240 ppm, dan 300 ppm dan 1 ml larutan DPPH, kemudian dihomogenkan.
  - (b) Setelah itu diinkubasi selama 45 menit pada suhu 27°C hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH.
  - (c) Semua sampel dibuat pengulangan triplo

(d) Sampel yang telah diinkubasi diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri Uv-vis pada panjang gelombang maksimum (516 nm).

g) Pengujian Organoleptik

Menggunakan metode uji hedonik dengan skala hedonik untuk mengetahui tingkatan kesukaan atau tingkatan ketidaksukaannya terhadap suatu produk.

- (1) Disiapkan 3 buah seduhan teh kombinasi yang terdiri dari 1:1, 1:2, 2:1
- (2) Disiapkan 30 panelis untuk melakukan pengujian sensori (menggunakan panelis tidak terlatih)
- (3) Panelis diminta mengisi biodata pada lembar formulir uji organoleptik
- (4) Panelis diminta menilai formulasi kombinasi seduhan teh meliputi warna, rasa, aroma, pada formulir uji organoleptik
- (5) Setelah proses penilaian selesai data formulir penilaian segera dikumpulkan.

**F. Pengolahan dan Analisis Data**

1. Pengolahan Data

Pengolahan data penelitian ini dilakukan dengan cara:

a. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan cara analisis kualitatif dengan menjelaskan pengujian yang terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan steroid dalam seduhan teh kombinasi daun insulin dan pandan wangi. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan diuraikan secara naratif dengan literatur yang terkait.

b. Aktivitas Antioksidan

1) Penentuan % inhibisi pada seri larutan sampel

Persentase inhibisi menggunakan persamaan:

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

2) Penentuan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*)

Perubahan warna yang terjadi pada setiap sampel setelah inkubasi dengan DPPH digunakan untuk analisis antioksidan. Jika semua elektron pada DPPH berpasangan dengan elektron pada sampel ekstrak, maka warna akan berubah dari ungu tua menjadi kuning. Sampel diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration 50*) 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)

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

c. Uji Organoleptik

Uji Organoleptik menggunakan skala hedonik untuk mengetahui tingkatan kesukaan atau tingkatan ketidaksukaan terhadap teh daun insulin dengan kombinasi daun pandan wangi. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan diuraikan secara naratif dengan literatur yang terkait.

2. Analisis Data

Analisis data dari hasil uji skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan serta uji organoleptik dianalisis secara deskriptif disajikan dalam bentuk tabel, yang dijabarkan secara naratif, yaitu menguraikan dan menjelaskan tentang hasil pengamatan yang dilakukan.

## **G. Etika Penelitian**

Etika Penelitian yang dilakukan pada penelitian ini memperingatkan bahwa penggunaan, pengambilan dan penyimpanan bahan biologis tersimpan (BBT) memerlukan pembenaran etis, dan dilakukan mengikuti peraturan etik. BBT yang telah memperoleh pengesahan dari sumber BBT dikumpulkan dan dikelola oleh lembaga kesehatan dan lembaga penelitian untuk kemudian digunakan dalam pendidikan atau ujian di bidang kesehatan (Ramadianto, 2018).

## **H. Etika Penelitian Terhadap Panelis**

### **1. Lembar persetujuan (*Informed Consent*)**

Responden mendengarkan arahan dari peneliti guna untuk mengetahui setiap prosedur yang akan dilakukan tanpa ada rasa takut dan curiga. Kemudian responden melakukan. Kemudian responden mengisi lembar persetujuan.

### **2. Tanpa nama (*Anonimity*)**

Pada lembar kuesioner hanya dicantumkan kode sampel.

### **3. Kerahasiaan (*Confidentialy*)**

Lembar kuesioner tidak disebar luaskan hanya responden dan peneliti yang mengetahui.

### **4. Keadilan (*Justice*)**

Peneliti harus bersikap adil kepada semua responden.