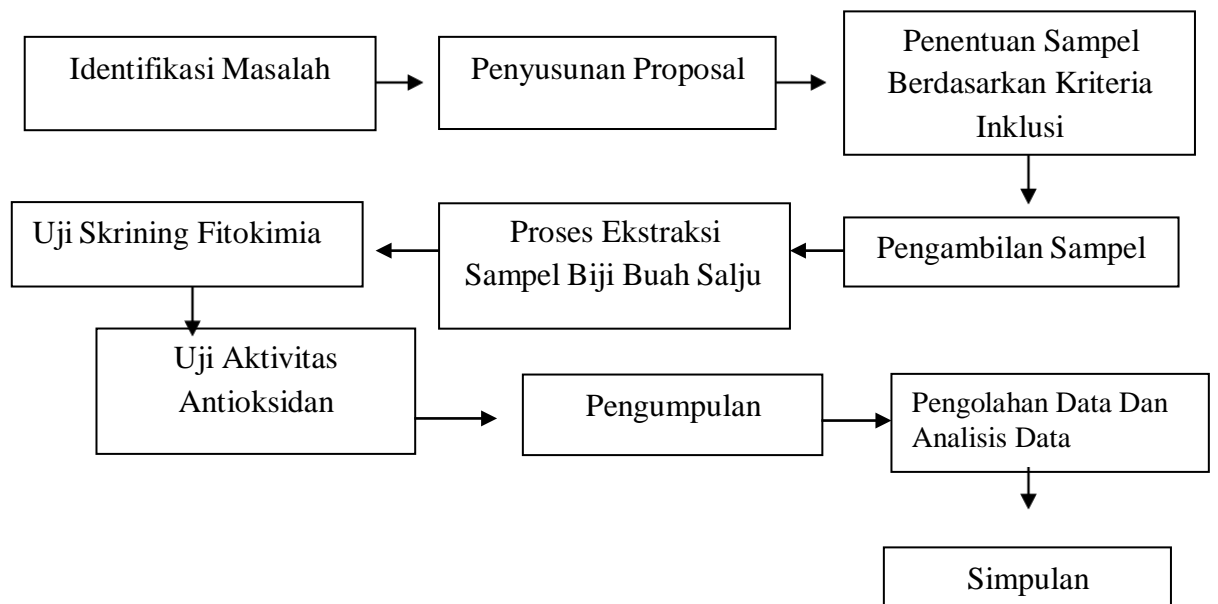


BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif. penelitian deskriptif adalah penelitian yang dilakukan untuk mengetahui nilai variabel mandiri, baik satu variabel atau lebih (independen) tanpa membuat perbandingan, atau menghubungkan dengan variabel yang lain (Sugiyono, 2018).

B. Alur Penelitian



Gambar 3. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu penelitian

1. Tempat penelitian

Ekstrak Etanol, skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dilakukan di laboratorium Kimia Dasar dan laboratorium Kimia Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 hingga April 2023.

D. Sampel

Pada penelitian ini bahan yang digunakan yaitu biji buah salju yang tumbuh di Desa Candi Kuning, Dusun Bukit Catu, Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan.



Sumber : Dokumentasi pribadi

Gambar 4. Biji Buah Salju

1. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi Biji buah salju yang akan digunakan adalah buah yang matang, biji buah berwarna hitam, segar dan tidak berlubang.

2. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi Biji buah salju yang yaitu biji buah yang layu atau kering, dan berlubang. Sehingga dalam penelitian ini menggunakan sampel yang memenuhi kriteria inklusi.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Neraca analitik (Radwag), beaker glass, labu erlenmeyer, labu ukur (Iwaki), pipet ukur 5 ml (Iwaki pyrex), ball pipet (Ddan ball pipet), tabung reaksi (Iwaki), batang pengaduk, corong kaca penyaring, kertas saring, kompor listrik, beaker glass, labu takar 10 ml dan 5 ml (Iwaki pyrex), blender, penguap vacum putar (*vacum ratory evaporator*), spektrofotometer UV-Vis.

2. Bahan

Biji buah salju, etanol 96%, aquades, HCl pekat, serbuk magnesium, pereaksi wagner, pereaksi mayer, pereaksi dragendorff, FeCl₃ 1%, HCL 2 N, 1,1- difenil-2-pikrilhidraszil (DPPH), metanol.

F. Prosedur Kerja

1. Pengambilan bahan

Buah salju diambil dari pedagang di Desa Candi Kuning, Dusun Bukit Catu, Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan. Buah yang diambil yaitu buah yang matang, segar dan tidak berlubang.

2. Pembuatan simplisia

- a. Buah salju yang telah didapat, dikupas dan diambil bijinya lalu disortasi.
- b. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan ditimbang berat biji.
- c. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering biji kembali disortasi untuk dipisahkan dari bahan-bahan yang ikut tercampur dalam proses pengeringan.
- d. Langkah terakhir diserbukkan dengan cara diblender atau ditumbuk dan ditimbang berat keringnya.

3. Ekstraksi

- a. Sampel buah biji salju dikeringkan dan dihaluskan.
- b. Selanjutnya diekstraksi dengan metode maserasi dengan perbandingan 1:5, ditimbang serbuk simplisia biji buah salju sebanyak 600 gram dan direndam dengan 3000 ml etanol 96%, lalu ditutup dan dibiarkan selama 2 hari.
- c. Setelah 2 hari etanol disaring kemudian ampas buah biji salju ditambahkan 3000 ml etanol 96% lalu ditutup kembali dan dibiarkan selama 2 hari.
- d. Setelah 2 hari, etanol dan ampas biji buah salju kembali disaring, dan diberi perlakuan yang sama, kemudian simpan selama 3 hari.
- e. Setelah disimpan selama 3 hari maserat dituang dan disaring. Hasil maserat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C, hingga dihasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut ditimbang dan dihitung randemen ekstrak kentalnya (Depkes RI, 2000).

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

Randemen adalah perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Yuniarifin dkk, 2006). Nurhayati, (2009) menyatakan bahwa nilai randemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya. Menurut Dewi (2018), nilai randemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada tumbuhan. Budiyanto (2015) menyatakan bahwa semakin tinggi randemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik ada pada suatu bahan baku.

4. Skrining fitokimia

a. Flavanoid

Ekstrak biji buah salju ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan ditambahkan serbuk Mg. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna kuning.

b. Alkaloid

Pereaksi wagner adalah ekstrak biji buah salju ditambah beberapa tetes pereaksi wagner, reaksi positif jika terbentuk endapan coklat dan negatif jika terjadi perubahan warna. Pereaksi mayer: ekstrak biji buah salju ditambahkan beberapa tetes larutan mayer, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Pereaksi dragendorff: Timbang sampel kemudian ekstraksi dengan kloroform ampniakal. Saring dengan kapas lalu pindahkan ke tabung dan ditambahkan pereaksi dragendorff. Jika positif mengandung alkaloid akan terdapat endapan berwarna kemerahan.

c. Saponin

Sampel dididihkan dengan beberapa ml air dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selam 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin.

d. Steroid

Sejumlah sampel ditambahkan H₂SO₄ lalu dikocok. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan kuning keemasan.

e. Tanin

Sampe dididihkan dengan beberapa ml air lalu disaring, ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1% apabila terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin.

5. Uji aktivitas antioksidan metode DPPH

a. Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM (40 ppm)

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

b. 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.

c. Pembuatan larutan blanko

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.

d. Uji aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan mengambil sebanyak 2 mL ekstrak etanol buah biji salju (*Inga edulis*), dengan konsentrasi 125 µg/mL, 100 µg/mL, 75 µg/mL, 50 µg/mL dan 25 µg/mL ditambahkan masing-masing 2 mL larutan DPPH dalam etanol dan divorteks selama 5 detik. Berubahnya warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan adanya efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya ukur

absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, setelah diinkubasi selama 30 menit (Damanis dkk, 2020).

e. Perhitungan Presentase Inhibisi dan Nilai IC₅₀

Perhitungan presentase inhibisi dilakukan dengan rumus:

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

Sedangkan perhitungan nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi dimana ekstrak dapat menangkal radikal bebas sebesar 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan linier $y = a + bx$. Grafik dibuat dengan konsentrasi sampel uji (ppm) sebagai absis (sumbu x) terhadap persen inhibisi sebagai ordinat (sumbu y) (Rumagit et al, 2015). Berikut merupakan kriteria nilai IC₅₀ berdasarkan nilai AAI:

Table 3

Kriteria Nilai IC₅₀ Berdasarkan Nilai AAI (Antioxidant Activity Index)

Nilai IC ₅₀ (ppm)	Kategori
>2,0	Sangat kuat
1,0-2,0	Kuat
0,5-1,0	Sedang
<0,5	Lemah

Sumber: Scherer Dan Godoy (2009)

G. Pengolahan Data dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Pengolahan data penelitian ini dilakukan dengan cara analisis kualitatif yaitu menjelaskan tanin, flavonoid, alkaloid, steroid, tanin dan saponin dalam biji buah salju. 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 $y=ax + b$ 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.