

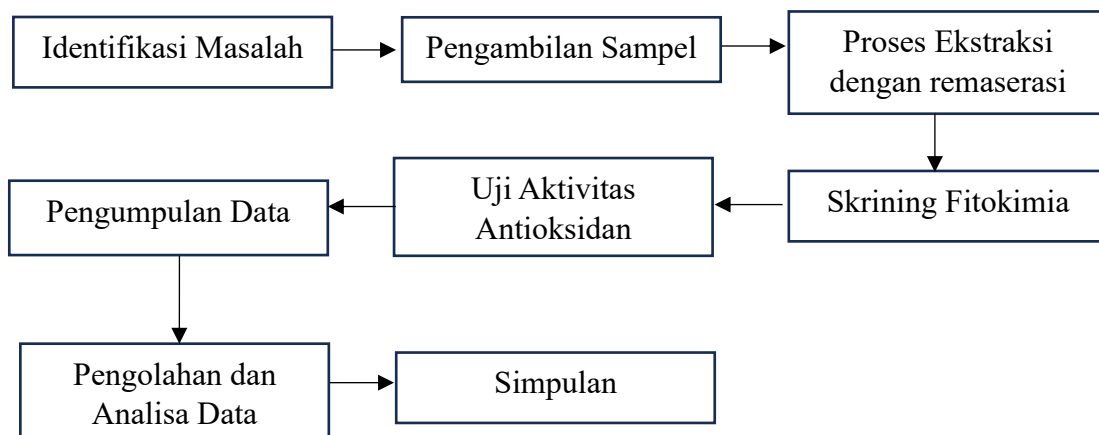
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu penelitian deskriptif. Pengujian skrining fitokimia pada ekstrak etanol batang bunga kertas menggunakan metode kualitatif dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol batang bunga kertas menggunakan metode kuantitatif. Penelitian deskriptif merupakan penelitian yang digunakan untuk memaparkan fakta yang akurat mengenai sifat-sifat tertentu. Penelitian ini yaitu penggambaran yang dirancang untuk memperoleh informasi mengenai skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang bunga kertas.

B. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat pengambilan sampel di kelurahan Keroboka Kaja kabupaten Badung provinsi Bali. Pemeriksaan Sampel dilakukan di Laboratorium Kimia Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2023 sampai bulan April 2024.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tumbuhan bunga kertas di Kelurahan Kerobokan Kaja Kabupaten Badung Provinsi Bali.

2. Sampel penelitian

Sampel dalam penelitian ini diperoleh batang bunga kertas, tempat pengambilan sampel di Kelurahan Kerobokan Kaja kabupaten Badung provinsi Bali.

3. Kriteria sampel

Kriteria inklusi dari batang bunga kertas yang akan digunakan adalah bagian batang yang segar dengan panjang 30 cm, tidak berlubang. Kriteria eksklusi dari batang bunga kertas adalah tidak terdapat hama menempel di sekeliling batang.



(sumber : Dokumentasi Pribadi)

Gambar 5. Sampel Batang Bunga Kertas dengan Panjang 30 cm

4. Besar Sampel

Sampel batang bunga kertas (*Bougainvillea glabra*) segar yang digunakan sebanyak 2-3kg, penimbangan batang dilakukan setelah sortasi sampel.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Pada penelitian ini, berbagai jenis data dikumpulkan, data yang dikumpulkan yaitu data primer yang dimana data primer meliputi kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang bunga kertas.

b. Data sekunder

Data sekunder yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data yang berasal dari jurnal dan penelitian sebelumnya serta data-data pendukung lainnya.

2. Teknik pengumpulan data

Metode pengumpulan data penelitian ini yaitu dengan menggunakan analisis secara kualitatif kandungan fitokimia dan analisis kuantitatif uji aktivitas

antioksidan pada ekstrak etanol batang bunga kertas menggunakan metode metode (*I,I- diphenyl 1-2 picrylhydrazil*) (DPPH).

Analisis kualitatif merupakan cara untuk mengetahui ada atau tidaknya suatu analit yang dicari dalam suatu sampel. Penelitian kualitatif memiliki sifat terbuka terhadap kemungkinan melakukan perancangan ulang (*redesigning*) (Sari, 2022). Penelitian kuantitatif adalah penelitian ilmiah dengan mengembangkan dan menggunakan model matematis. Hal ini akan memberikan gambaran atau jawaban akan hubungan yang fundamental dari hubungan kuantitatif (Sari, 2022).

a. Observasi

Observasi yang dilakukan yaitu pengamatan langsung yang dilakukan oleh penulis sendiri dengan melihat tanaman bunga kertas di kelurahan Keroboka Kaja kabupaten Badung provinsi Bali, yang akan digunakan sebagai kriteria sampel.

b. Dokumentasi

Dokumentasi merupakan salah satu teknik pengumpulan data dimana data yang dikumpulkan berasal dari berbagai jurnal, penelitian-penelitian sebelumnya serta data pendukung lainnya.

3. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari alat timbang, blender, toples, saringan, pipet tetes, pipet ukur, kompor listrik, ball pipet, beaker glass, tabung reaksi, rak tabung, labu ukur, rotary evaporator, spektrofotometer UV-vis.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang bunga kertas, etanol 96 %, asam sulfat, pereaksi dragendorff, pereaksi mayer wagner, serbuk

magnesium, H_2SO_4 , dan serbuk DPPH (*1,1-diphenyl 1-2 picrylhydrazil*) pereaksi besi (III) klorida 1%, asam klorida 2N.

4. Prosedur penelitian

a. Pengambilan sampel

Tempat pengambilan sampel batang bunga kertas segar di kabupaten Badung provinsi Bali, batang yang diambil yaitu batang yang segar, tidak berlubang, tidak terdapat hama yang menempel di sekeliling batang, Panjang batang yang digunakan sekitar 30 cm.

b. Pembuatan serbuk simplisia

Batang bunga kertas yang sudah didapatkan disortasi, kemudian dicuci dengan air mengalir dan ditimbang berat batang yang masih segar, batang yang digunakan sebanyak 2-3 kg, lalu dirajang dan dikeringkan dengan cara dioven dengan suhu 50°C . Setelah kering batang yang sudah kering diserbukkan dengan cara diblender dan ditimbang berat keringnya.

c. Ekstraksi

Metode remasurrasi digunakan untuk menghilangkan bubuk dari batang bunga kertas. Etanol 96% dituangkan ke bubuk simplisia batang bunga kertas dalam perbandingan 1: 5, ditutup, dan didiamkan selama dua hari. Setelah dua hari, saring simplisia yang mengandung etanol untuk membuat filtrat. Selanjutnya, tambahkan lebih banyak etanol 96% ke bubur batang bunga kertas dalam jumlah yang sama seperti sebelumnya, tutup campuran sekali lagi, dan diamkan selama dua hari lagi. Dua hari kemudian, pulp dari batang bunga kertas dan etanol disaring sekali lagi untuk membuat filtrat. Kemudian, jumlah etanol 96% yang sama ditambahkan, dan campuran disimpan selama tiga hari. Filtrat diperoleh setelah tiga hari hasil

penyaringan dan maserasi. Filtrat kemudian diuapkan pada suhu 50° C menggunakan *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental. Hasil ekstrak kental ditentukan dengan menimbang ekstrak kental.

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

Remaserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Alasan menggunakan pelarut etanol 96% yaitu untuk mendapatkan ekstrak yang kental sehingga mempermudah untuk tahap identifikasi, etanol lebih mudah menguap, murah, mudah didapatkan, dan cukup aman dari pada pelarut yang lain. Karena etanol memiliki polaritas yang kuat dan dapat mengekstraksi lebih banyak sampel daripada etanol konsentrasi rendah, 96% sampel digunakan (Amini, 2019). Selain fakta bahwa etanol merupakan satu-satunya pelarut yang aman dikonsumsi karena toksisitasnya yang rendah jika dibandingkan dengan pelarut lainnya, titik didihnya yang lebih rendah yaitu 79°C berarti membutuhkan lebih sedikit panas selama proses pengentalan (Hasanah, 2020).

d. Skrining fitokimia

Pada prosedur pemeriksaan skrining fitokimia ekstrak etanol batang bunga kertas yang diadaptasi dari penelitian Reiza (2019) dengan judul Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus (L.) Merr*).

1) *Alkaloid*

Pipet sampel ekstrak bahan alam sebanyak 3 ml kemudian ditambahkan 3 tetes asam klorida 2N. filtrat yang diperoleh dibagi menjadi 2 tabung untuk test *alkaloid* sebagai berikut:

- a) Filtrat ditambahkan 2 tetes reagen Mayer, dan amati perubahan yang terjadi akan terbentuk endapan putih kekuningan jika menunjukkan hasil positif.

b) Filtrat ditambahkan 2 tetes reagen Wagner, dan amati perubahan yang terjadi akan terbentuk endapan putih kekuningan jika menunjukkan hasil positif.

c) Filtrat ditambahkan 2 tetes reagen Dragendorf, dan amati perubahan yang terjadi akan terbentuk endapan jingga jika menunjukkan hasil positif.

2) *Flavonoid*

Pipet 1 ml sampel ekstrak bahan alam, lalu tambahkan NaOH 2%, dan beberapa tetes HCl pekat, lalu kocok campuran dan amati perubahan yang terjadi, akan terbentuk warna kuning atau jingga jika menunjukkan hasil positif.

3) *Saponin*

Pipet 1 ml sampel ekstrak bahan alam, lalu tambahkan 10 ml air panas, dan kocok kuat-kuat campuran selama 10 detik, amati busa yang muncul selama 5 menit, kemudian tambahkan 1 tetes HCl 2N, amati perubahan yang terjadi, jika busa yang terbentuk tidak hilang maka hasil menunjukkan positif.

4) *Terpenoid*

Pipet 1 ml sampel ekstrak bahan alam, kemudian tambahkan 2 ml kloroform, dan tambahkan 10 tetes anhidrida asetat, lalu tambahkan 3 tetes asam sulfat pekat melalui dinding tabung, amati perubahan yang terjadi, akan terbentuk warna biru atau hijau menunjukkan hasil positif.

5) *Steroid*

Pipet 1 ml sampel ekstrak bahan alam, kemudian tambahkan 2 ml kloroform, dan tambahkan 10 tetes anhidrida asetat, lalu tambahkan 3 tetes asam sulfat pekat melalui dinding tabung, amati perubahan pada hasil, akan berubah warna biru atau hijau menunjukkan hasil positif.

6) *Tannin*

Pipet 1 ml sampel ekstrak bahan alam, kemudian tambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5%, amati perubahan yang terjadi, perubahan yang terjadi akan membentuk warna hijau atau hijau biru jika menunjukkan hasil positif.

e. Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Adapun prosedur uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang bunga kertas yang diadaptasi dari penelitian sebelumnya oleh (Haveni 2019) yaitu sebagai berikut.

1) Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM

Serbuk *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH) sebanyak 4 mg dilarutkan dengan 100 ml metanol dan dimasukkan ke dalam labu ukur. Volume ditambahkan dengan metanol hingga tanda batas, kemudian diletakkan pada botol gelap (Haveni, 2019).

2) Pembuatan absorbansi kontrol

Ambil 1 ml larutan DPPH dan tambahkan 3 ml etanol pada tabung reaksi, selanjutnya tabung reaksi ditutup menggunakan aluminium foil supaya tidak terkontaminasi dengan udara luar, selanjutnya tabung reaksi di inkubasi pada suhu ruang selama 60 menit. Kemudian tabung reaksi yang sudah diinkubasi tersebut dimasukkan kedalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer.

3) Pembuatan larutan stok

Berat sampel ditimbang 100 mg dimasukkan pada labu ukur 100 mL kemudian ditambah menggunakan metanol hingga tanda batas sebagai diperoleh konsentrasi sampel 1000 ppm (Larutan induk), Dari larutan induk dilakukan pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, dan 150

ppm didapatkan menggunakan rumus pengenceran yaitu, $M_1.V_1 = M_2.V_2$. Pada keenam konsentrasi, masing-masing hasil yang didapatkan dari hasil V_1 dipipet lalu ditambahkan etanol hingga tanda batas, kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml (Haveni, 2019).

4) Uji aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengambil sampel larutan stok sebanyak 2 ml dan ditambahkan masing-masing 2 ml larutan DPPH, lakukan inkubasi selama 60 menit pada ruang tertutup. Selanjutnya ukur absorbansi dengan spektrofotometer pada Panjang gelombang 517 nm (Haveni, 2019).

5) Perhitungan persentase inhibisi dan nilai IC_{50}

Penentuan Nilai (*Inhibitory Concentration*) IC_{50} . Nilai *efficient concentration* (EC_{50}), juga dikenal sebagai nilai IC_{50} , adalah parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Nilai IC_{50} adalah konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH. Nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blangko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blangko}} \times 100\%$$

Selanjutnya hasil dari perhitungan dimasukkan pada persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai koordinatnya (sumbu Y). Nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50% $y = a + bx$.

Tabel 4
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 : (Paraeng et al., 2016)

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Analisis data deskriptif digunakan untuk memproses data penelitian skrining fitokimia. Analisis ini menjelaskan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan tanin yang ditemukan dalam ekstrak etanol dari batang bunga kertas, yang disajikan dalam tabel. Dengan metode DPPH, nilai inhibisi persen (IC50) dihitung untuk mengetahui aktivitas antioksidan.

Nilai (*Inhibitory Concetration*) IC50 diperoleh dari garis 50% daya hambat dengan sumbu konsentrasi, dengan persamaan $y = bx + a$ di mana $y = 50$ dan x adalah konsentrasi larutan uji yang mampu menghambat 50% larutan radikal bebas. Nilai AAI juga menunjukkan sifat antioksidan ekstrak degan.

2. Analisis data

Analisis data hasil uji skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan dengan menampilkan nilai aktivitas antioksidan dari sampel, kemudian dilanjutkan degan penggolongan hasil untuk memperoleh nilai regresi linear dan disesuaikan dengan kriteria *Antioxidant Activity Index* (AAI), yang disajikan dalam bentuk tabel serta di deskripsikan.