

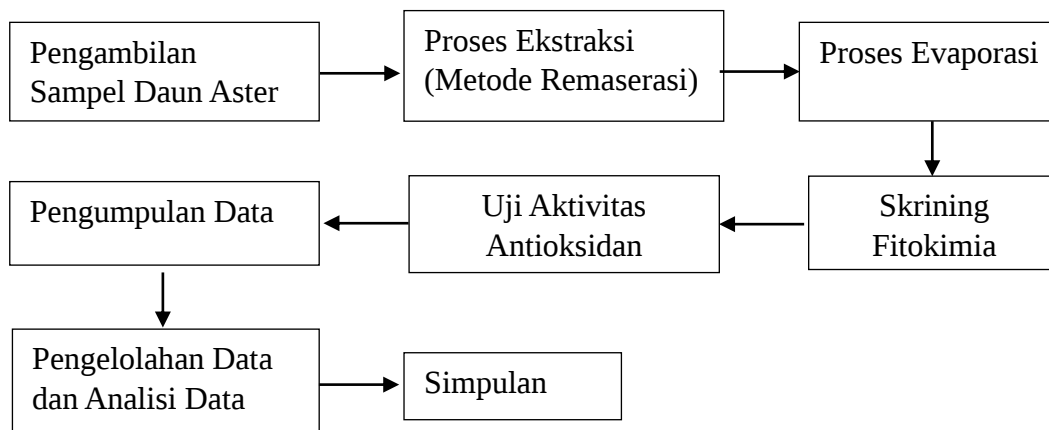
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan penelitian deskriptif yaitu penelitian yang menentukan nilai satu atau lebih variabel independen, tanpa perbandingan atau tanpa menghubungkan dengan variabel yang lain. Data dianalisis dengan cara mendeskripsikan atau menggambarkan kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan.

B. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel dari daun aster (*Montanoa hibiscifolia*) di Desa Batur, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Provinsi Bali, sedangkan pemeriksaan skrining fitokimia serta uji antioksidan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Terapan Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2024.

D. Sampel Penelitian

1. Sampel penelitian

Sampel yang digunakan adalah daun aster (*Montanoa hibiscifolia*) yang tumbuh di Desa Batur, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli.

2. Kriteria sampel



Gambar 5. daun aster (*Montanoa hibiscifolia*)

Sumber :Dokumentasi Pribadi

a. Inklusi

Kriteria inklusi daun aster yang berwarna hijau, tidak berlubang dan daun segar.

b. Eksklusi

Kriteria eksklusi yang digunakan yaitu daun yang layu, berwarna kuning dan berlubang. Sehingga dalam penelitian menggunakan sampel yang memenuhi kriteria inklusi.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Adapun jenis data yang dikumpulkan yaitu jenis data primer dimana terdapat kandungan fitokimia serta aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun aster (*Montanoa hibiscifolia*).

2. Cara pengumpulan data

Data dikumpulkan melalui serangkaian uji laboratorium yang melibatkan analisis kualitatif kandungan fitokimia dan pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif pada ekstrak etanol daun aster menggunakan metode DPPH dengan menggunakan alat spektrofotometer.

3. Alat dan bahan

a. Alat

Alat yang digunakan yaitu timbangan, neraca analitik (*Radwag*), labu ukur (*Iwaki pyrex*), ball pipet, pipet tetes, pipet ukur, toples, corong, batang pengaduk, beaker glass, spektrofotometer UV-Vis, blender, rak tabung, *rotary evaporator* (*buchi*), tabung rekasi,

b. Bahan

Bahan terdiri dari daun aster (*Montanoa hibiscifolia*), etanol 96%, pereaksi dragendroff, NaOH 2% ,serbuk magnesium (Mg), asam klorida (HCL) pekat, anhidrat asetat, asam sulfat pekat, klorida (FeCl_3), serbuk DPPH (*1,1-diphenyl 1-2 picrylhydrazil*), kertas saring, tisu dan alumunium foil, akuades.

4. Prosedur penelitian

Prosedur penelitian yang dilaksanakan yaitu:

a. Pengambilan sampel

Sampel daun aster (*Montanoa hibiscifolia*) yang ditemukan di Desa Batur, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, yang memiliki daun berwarna hijau, tidak berlubang dan daun segar. Sampel daun segar yang digunakan sebanyak 4 kg.

b. Pembuatan serbuk simplisia

Setelah mendapatkan daun aster yang sudah disortasi, kemudian dicuci dengan air mengalir, lalu ditiriskan dan ditimbang berat daun yang masih segar, daun yang digunakan sebanyak 4kg, lalu dikeringkan dengan menggunakan suhu ruang tanpa penyinaran sinar matahari, kemudian daun aster dihaluskan dengan menggunakan blender, dan ditimbang kembali untuk mendapatkan berat kering sampel.

c. Ekstraksi

Daun aster yang telah keringkan dan dihaluskan menjadi serbuk simplisia, kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk simplisia ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:5 lalu ditutup dan dibiarkan selama 2 hari. Setelah 2 hari saring simplisia yang berisi etanol, kemudian ampas daun aster ditambahkan etanol 96% dengan jumlah yang sama seperti etanol sebelumnya, dan tutup lalu biarkan selama 2 hari. Setelah 2 hari, etanol dan ampas daun aster disaring kembali, dan lakukan penambahan etanol 96% dengan jumlah yang sama seperti sebelumnya, kemudian simpan selama 3 hari. Setelah 3 hari lalu disaring dan hasil maserasi diuapkan dengan menggunakan alat *rotary*

evaporator dengan suhu 50°C, untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut kemudian ditimbang dan dihitung untuk mengetahui rendemennya

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

Hasanah dan Novia (2020) menjelaskan bahwa pemilihan etanol 96% sebagai pelarut di latar belakangnya oleh kemampuannya untuk menarik lebih banyak senyawa aktif dibandingkan dengan pelarut organik lainnya selain itu, etanol memiliki titik didih yang rendah, yaitu 79°C, sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan.

d. Skrining fitokimia

1) Pemeriksaan alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan sampel 3 tetes, kemudian ditambahkan pereaksi dragendroff sebanyak 3 tetes. Hasil uji positif diperoleh bisa terbentuk warna endapan kuning (Lestari dkk., 2021).

2) Pemeriksaan flavonoid

Uji flavonoid ini dilakukan dengan menggunakan satu tabung, dimana 5 tetes sampel ditambahkan 5 tetes pereaksi NaOH 2 % dan ditambahkan beberapa tetes HCl bila positif akan berubah menjadi warna kuning (Lestari dkk, 2021).

3) Pemeriksaan steroid / terpenoid

Sampel sebanyak 5 tetes ditambahkan 5 tetes kloroform ditambah 10 tetes anhidrat asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif dengan perubahan warna hijau adanya terpenoid jika perubahan warna biru positif Steroid (Lestari dkk, 2021).

4) Pemeriksaan saponin

Sampel sebanyak 5 tetes ditambahkan 10 tetes air panas, Setelah itu, campuran dikocok secara energik selama 10 detik, Jika terbentuk busa dan tetap bertahan selama 5 menit tanpa hilang setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2N, hal ini menunjukkan keberadaan saponin (Lestari dkk, 2021).

5) Pemeriksaan tanin

Uji tanin ini dilakukan dengan menggunakan satu tabung, sampel sebanyak 5 tetes ditambahkan 5 tetes FeCl_3 terbentuknya warna hijau (Lestari dkk, 2021).

d. Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

1) Pembuatan larutan DPPH (40 ppm)

Larutan DPPH dibuat dengan menimbang serbuk DPPH sebanyak 4 mg (0,004 g), kemudian ditambahkan 100 ml etanol 96% kedalam erlenmayer, kemudian disimpan diruang gelap 30 menit untuk meminimalisir degradasi (Damanis dkk., 2020).

2) Pembuatan konsentrasi sampel

Sampel digunakan 100 mg diubah ke gram menjadi (0,1 g) dan ditambah 100 ml etanol akan menjadi 1000 ppm, kemudian dihomogenkan.

3) Pembuatan seri konsentrasi

Menggunakan 6 konsentrasi yaitu terdiri dari 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm. Kemudian didapatkan rumus konsentrasi sampel tergantung dengan labu yang digunakan

Rumus : $V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$

- 4) Kemudian dipipet sampel sebanyak 2,5 ml kedalam konsentrasi 25 ppm dan lakukan hal yang berulang hingga 150 ppm kemudian ditambahkan etanol hingga tanda batas (Damanis dkk., 2020).
- 5) Ambil sampel dan DPPH dengan perbandingan 2 : 2 (2ml sampel + 2 ml DPPH) ditempatkan dalam tabung reaksi diinkubasi pada suhu ruang yang gelap sekitar 30 menit hingga 1 jam (Damanis et al., 2020).
- 6) Setelah 30 menit kemudian diukur menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm, dan hasilnya diamati pada perangkat yang digunakan (Damanis dkk., 2020). Kemudian dilakukan perhitungan persentase inhibisi dan nilai IC₅₀
- 7) Perhitungan persentase inhibisi dan nilai IC₅₀

Penentuan Nilai (*Inhibitory Concentration*) IC₅₀. Parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah dengan nilai *efficient concentration* (IC₅₀) atau sering disebut nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH, untuk menghitung nilai IC₅₀ diperlukan data persen inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Selanjutnya hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai koordinatnya (sumbu Y). Nilai IC₅₀ dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50% $y = a + bx$. (Rahmatullah dkk., 2019).

Tabel 3
Sifat Antioksidan Berdasarkan *Antioxidant Activity Index* (AAI)

Nilai AAI	Kategori
>2,0	Sangat kuat
1,0-2,0	Kuat
0,5-1,0	Sedang
<0,5	Lemah

Sumber: (Tunmuni dkk., 2021)

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Hasil skrining fitokimia diproses menggunakan metode analisis deskriptif, yang menguraikan senyawa metabolit seperti alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, dan tanin yang dapat dalam ekstrak etanol daun aster. Sementara itu, pengolahan data untuk menentukan aktivitas antioksidan daun aster dengan metode DPPH dihitung menggunakan rumus :

$$inhibisi = \frac{Absorbansi\ kontrol - Absorbansi\ sampel}{Absorbansi\ kontrol} \times 100$$

2. Analisis data

Uji fitokimia dilakukan secara deskriptif, dengan mengeksplorasi aktivitas antioksidan secara kualitatif melalui pemaparan kandungan senyawa metabolit sekunder diperoleh dari ekstrak etanol daun aster. Sementara itu, uji aktivitas antioksidan dianalisis secara kuantitatif, akan disajikan dalam bentuk tabel serta hasil berdasarkan IC₅₀.