

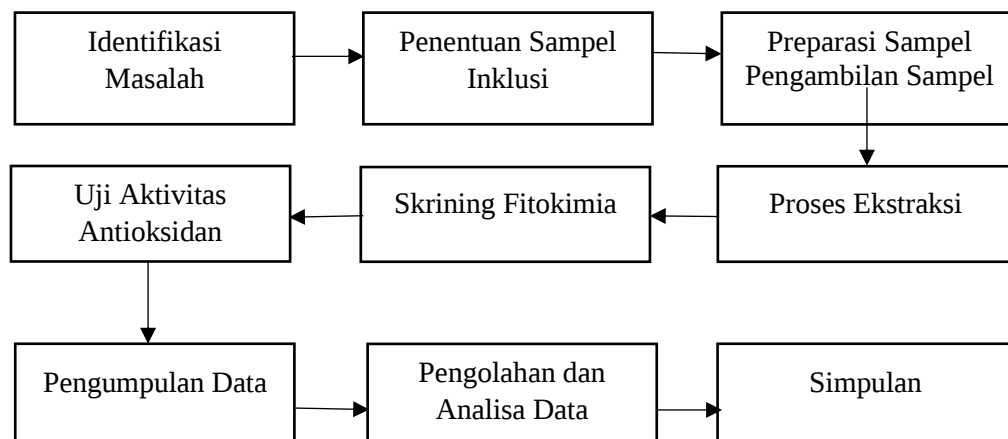
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah 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 3. Bagan Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Terapan dan Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2023 sampai bulan Mei 2024

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Sampel penelitian

Tanaman ini bisa mencapai tinggi 2 – 6 kaki, memiliki daun yang cukup lebar dan bergerigi dengan warna hijau tua yang indah dan bertekstur kasar. Bunga hortensia berbentuk globular dengan dua tipe bunga yaitu bunga steril dan bunga fertile. Bunga dapat berwarna biru, merah, merah muda atau ungu tergantung pada pH tanah. Kondisi media tanah yang asam atau pH yang rendah, bunga akan berwarna pink, sebaliknya jika kondisi media asam atau pH tinggi maka bunga akan berwarna biru. Tanaman hortensia ini tumbuh pada tinggi 2-6 kaki pada ketinggian 560 – 1.400 m dibawah permukaan laut (mdpl) dengan intensitas cahaya matahari penuh dan temperature 16 – 24°C serta dengan kelembaban udara berkisar antara 60-80% (Tang *et al.*, 2010). Sampel bunga Hortensia diperoleh dari perkebunan yang terletak di Desa adat Sogra Sebudi, Kecamatan Selat, Kabupaten Karangasem.

2. Kriteria sampel



(Sumber: dokumentasi pribadi)

Gambar 4. Sampel bunga hortensia (*Hydrangea macrophylla*)

a. Inklusi

Kriteria sampel tanaman hortensia yang digunakan yaitu sampel bunga yang sudah mekar, bunga yang segar, berwarna biru.

b. Eksklusi

Kriteria sampel yaitu bunga yang berwarna kecoklatan dan tidak ada hama yang menempel pada bunga.

F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah jenis data primer yaitu meliputi kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga hortensia (*Hydrangea macrophylla*).

2. Cara pengumpulan data

Prosedur pengumpulan data pada penelitian ini adalah dengan cara melakukan percobaan uji laboratorium dengan cara menganalisis kandungan fitokimia secara kualitatif dan uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif pada ekstrak

etanol bunga hortensia menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) pada spektrofotometer.

3. Alat dan bahan

a. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu terdiri dari timbangan duduk, neraca analitik (*Radwag*), labu takar (*Iwaki pyrex*), *ball pipet*, toples, corong, batang pengaduk, pipet ukur, tabung reaksi, *beaker glass*, *spektrofotometer UV-vis*, blender, pipet tetes, *rotary evaporator (buchi)*, blender, rak tabung.

b. Bahan

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah bunga hortensia, pereaksi dragendroff (*Merck*), asam sulfat, pereaksi mayer wagner (*Merck*), asam sulfat (H_2SO_4) pekat, serbuk magnesium (Mg), asam klorida (HCL) pekat, asam asetat anhidrida, asam klorida (HCl) 2 N, serbuk DPPH (*E merck*), Besi (III) Klorida ($FeCl_3$) 1%, kertas saring, etanol 70%, tisu dan alumunium foil.

4. Prosedur penelitian

a. Pengambilan sampel

Sampel bunga hortensia diambil dari Desa Adat Sogra, Sebudi, Kecamatan Selat, Kabupaten Karangasem. Sampel bunga segar yang digunakan sebanyak 10 kg.

b. Pembuatan serbuk simplisia

1. Bunga hortensia yang telah diterima kemudian ditimbang bunga yang masih segar sebanyak 4 kg.

2. Selanjutnya disortasi basah dengan cara mencucinya pada air yang mengalir.
3. Selanjutnya bunga hortensia dikeringkan dengan cara dioven dengan suhu 50°C selama 3 hari.
4. Kemudian setelah kering bunga hortensia disortasi kembali dengan tujuan memisahkan sampel bunga dari benda-benda yang ikut tercampur seama proses pengeringan.
5. Kemudian haluskan bunga hortensia dengan cara diblender atau ditumbuk lalu menimbang berat keringnya.

c. Ekstraksi

1. Sampel bunga hortensia dikeringkan dan dihaluskan.
2. Kemudian serbuk simplisia bunga hortensia di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi perbandingan simplisia dengan pelarut 1:5. Serbuk simplisia bunga hortensia sebanyak 583 gram direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 ml lalu ditutup dan diamkan selama 2 hari, hal ini dilakukan agar pelarut etanol mengikat metabolit sekunder dengan baik.
3. Setelah 2 hari dilakukan penyaringan filtrat kemudian ampas bunga hortensia ditambahkan 2000 ml etanol 96% lalu ditutup kembali dengan aluminium foil dan didiamkan selama 2 hari.
4. Setelah 2 hari, kemudian kembali disaring, kemudian lakukan hal yang sama lalu disimpan selama 3 hari.
5. Setelah disimpan selama 3 hari maserasi dituang dan disaring. Hasil dari maserasi kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C sehingga akan menghasilkan ekstrak kental, kemudian ekstrak ini dihitung menggunakan rumus sebagai berikut,

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

ekstrak ini digunakan pada pengujian skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan (Fitriyanti, Qalbiyah, Sayakti., 2020)

d. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia mencakup uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid (Kirana, Tri, Mursiti., 2019)

1) Uji Alkaloid

- a. Ambil sampel sebanyak 0,5
- b. Kemudian ditambah 0,5 mL HCl 1% .
- c. Tambahkan 1-2 tetes reagen *Dragendroff*.
- d. Terbentuknya endapan warna putih kekuningan pada sampel menunjukkan positif pada uji alkaloid.

2). Uji Flavonoid

- a. Aambil sampel sebanyak 5 tetes
- b. Tambahkaan 5 tetes NaOH 2%
- c. Kemudian tambahkan beberapa tetes HCl, positif jika berubah menjadi warna kuning.

3). Uji Saponin

- a. Ambil 5 tetes sampel
- b. Kemudian tambahkan 10 tetes air panas
- c. Selanjutnya kocok kuat-kuat akan membentuk busa selama 5 menit
- d. Kemudian ditambahkan 1 tetes HCl 2 N positif jika busa tidak hilang.

4). Uji Steroid/ Terpenoid

- a. Ambil 5 tetes sampel
- b. Tambahkan 5 tetes kloroform
- c. Kemudian tambahkan 10 tetes anhidra asetat
- d. kemudian tambahkan 3 tetes asam sulfat pekat, positif jika berubah menjadi biru atau hijau.

5). Uji Tanin

- a. Ambil 5 tetes sampel
- b. Kemudian tambahkan FeCl_3 5%.
- c. Positif jika berubah menjadi warna hijau atau biru.

e. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, dilakukan sebagai berikut (Damanis dkk., 2020) dengan modifikasi:

1) Pembuatan Larutan DPPH (40 ppm)

Larutan DPPH 40 ppm dibuat dengan menimbang DPPH sebanyak 4 mg kemudian dilarutkan dengan 100 ml etanol 96% didalam erlenmeyer. Kemudian simpan ditempat gelap selama 30 menit untuk meminimasilir degradasi.

2) Pembuatan larutan induk

Ekstrak kental ditimbang sebanyak 100 mg kemudian dilarutkan dalam 100 ml etanol, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

3) Pembuatan seri konsentrasi ekstrak

Seri konsentrasi ekstrak yang digunakan 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm. Rumus konsentrasi sampel yaitu $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$. Menggunakan labu ukur 10 ml dalam konsentrasi 25 ppm.

$$10 \times 25 = V_2 \times 1000$$

$$250 = V_2 \times 1000$$

$$V_2 = 0,25$$

Pipet sampel larutan yang telah dilarutkan dalam 1000 ppm sebanyak 0,25 ml ke dalam tabung dengan label konsentrasi 25 ppm kemudian tambahkan etanol hingga tanda batas, kemudian lakukan hal yang berulang hingga sampel dengan konsentrasi 150 ppm dengan jumlah sampel yang sudah dihitung menggunakan rumus yang sama.

4) Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Sejumlah 2 ml DPPH 0,1 mM dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian tambahkan 2 ml ekstrak etanol bunga hortensia dengan berbagai konsentrasi, lalu distirer 1 menit hingga homogen dan diamkan selama 30 menit ditempat gelap, baca absorbansinya pada gelombang 517 nm.

Presentase inhibisi (IC_{50}) terhadap radikal DPPH dari tiap konsentrasi larutan sampel dihitung dengan rumus :

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

Aktivitas antioksidan dinyatakan *inhibiton concentration* 50% atau IC_{50} adalah konsentrasi sampel yang bisa meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dari nilai x sesudah mengganti y dengan 50. Sesudah mendapatkan presentase inhibisi dari tiap konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan :

$$Y = A + Bx$$

X = konsentrasi (µg/mL)

Y = presentase inhibisi (%)

Kemudian untuk mengetahui nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) menggunakan rumus :

$$\text{Nilai AAI} = \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{\text{Nilai IC}_{50}}$$

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Pengolahan data penelitian skrining fitokimia dilaksanakan dengan metode analisis deskriptif yaitu memaparkan kandungan dari senyawa metabolit sekunder alkaloid, saponin, flavonoid, steroid dan tanin yang terkandung dalam ekstrak etanol bunga hortensia. Sementara itu, pengolahan data untuk membuktikan aktivitas antioksidan dari bunga hortensia dengan metode DPPH dihitung dengan rumus.

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

2. Analisis data

Analisis data hasil skrining fitokimia dianalisis dengan cara deskriptif melalui pemaparan kandungan dari senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dari ekstrak etanol bunga hortensia. Aktivitas antioksidan dianalisis dengan cara deskriptif kuantitatif yang ditampilkan dalam bentuk tabel kemudian dipaparkan hasilnya berdasarkan intensitas nilai IC₅₀.