

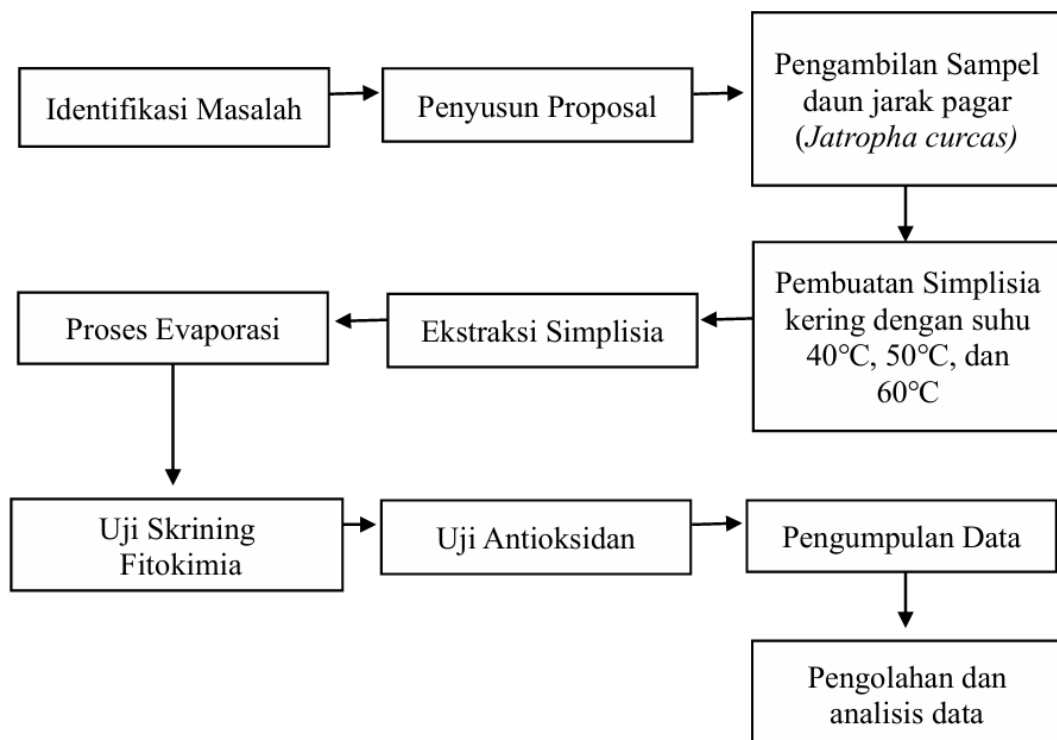
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian kuantitatif *Quasi Eksperimental*. Metode *Quasi Eksperimental* adalah metode yang digunakan untuk menguji perbedaan perlakuan tertentu dalam kondisi terkendali, dimana pemilihan subjek sampel tidak dilakukan secara acak. Peneliti memilih desain ini karena dalam penelitian ini memiliki kelompok kontrol, tetapi tidak dapat berfungsi sepenuhnya untuk mengontrol variabel-variabel luar yang mempengaruhi pelaksanaan eksperimen.

B. Alur Penelitian



Gambar 4 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Sampel daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) didapat dari desa Penarungan Mengwi, Badung, Bali. Uji Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan dilakukan di laboratorium pertanian fakultas Pertanian, Sains, dan Teknologi Universitas Warmadewa.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2024 sampai dengan Mei 2025.

D. Unit dan Sampel Penelitian

1. Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) berasal dari desa Penarungan Mengwi, Badung, Bali

2. Unit analisa

Unit Analisa dalam penelitian ini yaitu skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan.

3. Teknik pengambilan sampel

Purposive sampling yaitu strategi pengambilan sampel berdasarkan kriteria yang telah ditentukan, adalah metode yang digunakan dalam penyelidikan ini. Adapun kriteria yang digunakan pada penelitian ini yaitu:

a. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi merupakan karakteristik umum dari unit sasaran terjangkau yang akan diteliti (Nursalam, 2016). Kriteria inklusi yang termasuk dalam penelitian ini antara lain:

- 1) Daun jarak yang diambil dari pucuk daun keempat sampai daun keduabelas

- 2) Daun jarak berwarna hijau segar
- 3) Daun jarak yang tidak berlubang dan berjamur

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi merupakan menghilangkan atau mengeluarkan subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi (Nursalam, 2016)

- 1) Daun jarak yang kering
- 2) Daun jarak yang sudah jatuh
- 3) Daun jarak yang berwarna kuning

4. Jumlah dan besaran sampel

Besar sampel daun jarak yang digunakan 3 kg sampel mentah yang dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 40°C, 50°C, dan 60°C lalu dihaluskan. Kemudian dimaserasi dengan pelarut tertentu dan digunakan hasil pengeringan serbuk simplisia daun jarak pagar yang telah kering atau diserbuka. Kemudian, direndam dalam pelarut etanol 70%.

Pada penelitian ini menggunakan perlakuan yaitu suhu pengeringan 40°C, 50°C, dan 60°C ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*). Sehingga jumlah total perlakuan yang dilakukan adalah tiga perlakuan. Menurut (Hanafiah, 2022) pada masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan yang ditentukan oleh rumus sebagai berikut :

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

Keterangan:

r = Jumlah pengulangan

t = Jumlah perlakuan

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

$$(3-1)(r-1) \geq 15$$

$$2(r-1) \geq 15$$

$$2r - 2 \geq 15$$

$$2r \geq 15 + 2$$

$$r \geq \frac{17}{2}$$

$$r \geq 8.5$$

Berdasarkan perhitungan diatas, pengulangan yang dilakukan terhadap setiap perlakuan sampel sebanyak 8.5 kali pengulangan. Sehingga jumlah total pengulangan yang dilakukan adalah 9 kali pengulangan.

5. Alat dan Bahan

a. Alat

Perlalatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Timbangan duduk, gunting, keranjang buah, ayakan, mixer, neraca analitik, toples, Beaker glass (Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), corong, pipet volume (Pyrex), pipet ukur, pipet bola, batang pengaduk, tabung reaksi dan rak tabung, hot plate, Rotary Evaporator, Spektrofotomoeter UV-Vis.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu daun jarak pagar (*Jatropha curcas*), etanol 70%, alumunium foil, kertas saring, aquadest, asam sulfat (H_2SO_4) pekat, dragendrof, klorofom, asam klorida (HCl) pekat, , ($FeCl_3$) 5%, serbuk DPPH.

6. Prosedur Kerja

a. Pra-analitik

1) Pengambilan sampel

Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) berasal dari desa Penarungan Mengwi, Badung, Bali yang segar diambil sebanyak 3kg.

2) Pembuatan simplisia kering

Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) yang sudah didapatkan, kemudian dipilah sesuai dengan kriteria inklusi yang akan digunakan. Selanjutnya dicuci, tiriskan, potong menjadi kecil-kecil, lalu timbang berat daun yang baru di potong segar, dipisahkan menjadi 3 dengan masing-masing berat 1kg. Setelah itu dikeringkan masing-masing dengan suhu 40°C, 50°C, dan 60°C.

3) Cara menggunakan oven

Hubungkan dyping oven dengan sumber listrik, hidupkan oven dengan menekan tombol ON, lampu penanda akan berkedip. Atur suhu pengeringan dengan suhu 40°C, 50°C, dan 60°C. Kemudian sampel daun jarak pagar yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan belender selanjutnya ditimbang kembali berat keringnya, lalu didapatkan hasil pengeringan simplisia dengan kadar air dibawah 10%. Serta dilakukan proses pengayakan untuk mendapatkan simplisia kering.

4) Pengukuran kadar air

Uji kadar air dilakukan dengan menggunakan cara cawan porselin yang dikeringkan selama satu jam pada suhu 105°C di dalam oven, didinginkan selama lima belas menit di dalam desikator, dan cangkir porselen kosong ditimbang sebagai bagian dari kriteria uji kandungan air yang digunakan dalam studi ini. Pada piring porselen yang telah diketahui beratnya, sampel teh ditimbang antara 1-3 g. Setelah itu, sampel dikeringkan selama tiga jam pada suhu 105°C di dalam oven. Setelah

itu, desikator digunakan untuk mendinginkannya. Sampel kemudian ditimbang hingga diperoleh berat konstan (Ida & Atika Aqila, 2023).

Menurut (Syafrika, Darmayanti, dkk., 2018) pengukuran kadar Air diukur dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : Berat sampel belum dikeringkan

B : Berat sampel setelah dikeringkan

5) Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan tiga hasil serbuk simplisia kering, dengan masing-masing jumlah serbuk simplisia yang sama dengan melalui proses maserasi. Masukkan 150gram serbuk simplisia kering ke dalam toples, kemudian rendam dalam 600 ml etanol 70% atau hingga serbuk simplisia terendam seluruhnya, tutup dan biarkan selama dua hari. Setelah filtrat disaring selama 2 hari, residu yang diperoleh diekstraksi kembali dengan cara maserasi lebih lanjut dengan cara yang sama dan didiamkan selama 2 hari. Daun jarak sisa dan etanol disaring setelah dua hari. Setelah tiga hari, ulangi prosedur yang sama. Sisa dicampur dan disaring setelah tiga hari penyimpanan, filtratnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50-55°C dan penangas air pada suhu 50°C hingga menghasilkan ekstrak kental. Hasil ekstrak kental dihitung setelah ditimbang.

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

Ethanol 70% digunakan sebagai pelarut dalam proses remeserasi. Pelarut Ethanol 70% dapat mengekstrak lebih banyak bahan kimia aktif dibandingkan

pelarut organik lainnya, maka dipilih sebagai pelarut. Ethanol membutuhkan lebih sedikit panas selama proses konsentrasi karena titik didihnya yang rendah yaitu 79°C. Selain itu, etanol merupakan pelarut yang aman dikonsumsi karena toksisitasnya lebih rendah dibandingkan pelarut lain sehingga tidak beracun (Hasanah dan Novian, 2020).

b. Analitik

1) Uji skrining fitokimia

a. Preparasi sampel

Ditimbang masing-masing 0.01 gram ekstrak etanol kental daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) lalu tambahkan dengan etanol 70% di labu ukur 10 ml homogenkan, setelah itu letakan di tabung reaksi. Sehingga diperoleh sampel yang siap digunakan.

b. Pembuatan blanko

Prosedur pengujian blanko memiliki perlakuan sama pada saat pengujian sampel hanya saja pada pengujian blanko sampel digantikan dengan etanol 70%. Pengujian ini berfungsi sebagai pebanding sehingga memberikan gambaran hasil positif dan negatif yang jelas.

c. Flavonoid

Ekstrak kental daun jarak pagar dipipet 1 ml, kemudian tambahkan NaOH 2% dan beberapa tetes HCl pekat, homogenkan dan amati perubahan warna yang terjadi. Jika hasilnya positif maka akan terbentuk warna kuning atau jingga (Ayuni, 2020).

d. Fenol

Ekstrak kental daun jarak pagar dipipet 1 ml, kemudian tambahkan 3-4 tetes larutan FeCl_3 5%, kocok campuran dan perubahan yang terjadi diamati. Jika hasilnya positif maka akan terbentuk warna biru kehijauan (Manongko dkk., 2020).

e. Steroid

Ekstrak kental daun jarak pagar dipipet 1 ml, kemudian tambahkan 5 tetes asam asetat, amati perubahan warna jika sampel mengandung senyawa steroid menghasilkan warna kehijauan.

f. Tanin

Ekstrak kental daun jarak pagar dipipet 1 ml, 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 (Mailuhu dkk., 2017).

g. Terpenoid

Ekstrak kental daun jarak pagar dipipet 2 ml, kemudian tambahkan 2 ml kloroform dan 5 tetes H_2SO_4 . melalui dinding tabung, amati perubahan yang terjadi, jika terjadi pembentukan warna coklat kemerah, ini menandakan hasil positif. (Kusumo dkk., 2022).

h. Alkaloid

Pipet 3 tetes filtrat, kemudian tambah 3-5 tetes pereaksi dragendroff pada dinding tabung. Amati perubahan yang terjadi akan terbentuk endapan merah jingga yang menunjukkan hasil positif (Izzah dkk., 2023).

i. Saponin

Ekstrak kental daun jarak pagar pipet masing-masing sebanyak 1 ml, kemudian tambahkan 10 ml air panas dan kocok dengan kuat selama 10 detik. Amati busa yang muncul selama 5 menit, lalu tambahkan 1 tetes HCl 2N dan amati perubahan yang terjadi. Keberadaan saponin dapat dilihat dari stabilitas busa yang terbentuk selama 30 detik dengan ketinggian antara 1 cm hingga 3 cm (Khafid dkk., 2023).

2) Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioskidan dilakukan pada tiga sampel pada suhu 40°C, 50°C, dan 60°C daun tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan menggunakan pelarut etanol 70%, dengan prosedur serta perlakuan yang sama.

a) Pembuatan larutan DPPH

Timbang sebanyak 0.004 gram serubh DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 100 ml, lalu ditambahkan dengan metanol p.a hingga mencapai tanda batas. Sehingga diperoleh konsentrasi 40 ppm (Tikulembang dkk., 2023).

b) Penentuan panjang gelombang maksimum

Sebanyak 2 mL larutan DPPH 0,1 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 mL metanol p.a. Tabung ditutup dengan aluminium foil, dihomogenkan, dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Setelah itu, serapan larutan blanko diukur pada panjang gelombang maksimum 517 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

c) Pengukuran sampel ekstrak bahan alam

Berat sampel ditimbang hingga 0.01 gram, kemudian ditempatkan dalam labu takar 10 ml dan kemudian ditambahkan etanol pa sampai tanda batas sehingga

didapatkan larutan induk 1000 ppm. Larutan induk yang dihasilkan kemudian dilakukan pengenceran bertingkat untuk memperoleh konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, dan 150 ppm. Setiap larutan yang dipipet sebanyak 2 mL dipindahkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH dan diinkubasi dalam tempat gelap selama 30 menit. Serapan dari sampel diukur pada panjang gelombang maksimum dengan mengulangi proses ini sebanyak tiga kali untuk setiap sampel. Untuk blanko, lakukan pengukuran dengan prosedur dan perlakuan yang serupa, tetapi ganti penambahan larutan sampel dengan larutan DPPH.

c. Pasca Analitik

a) Perhitungan persen inhibisi

Menurut (Moniung dkk., 2022) Pengujian antioksidan dilakukan dengan menghitung persentase penghambatan radikal bebas yang dikenal sebagai persen inhibisi. Perhitungan nilai inhibisi dilakukan berdasarkan data absorbansi dengan rumus yaitu:

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

b) Penentuan IC₅₀

Setelah diperoleh data persentase aktivitas antioksidan, maka dihitung nilai IC₅₀ menggunakan persamaan regresi. Nilai IC₅₀ dapat ditentukan secara grafis dengan memplotkan konsentrasi ekstrak terhadap persen inhibisi pada kurva inhibisi. Dimana nilai y digantikan dengan 50. Secara khusus, suatu senyawa diklasifikasikan sebagai antioksidan sangat kuat jika memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat jika berada pada kisaran 50 sampai dengan 100 ppm, sedang jika IC₅₀

berada pada kisaran 100 sampai dengan 150 ppm, dan lemah jika nilai IC_{50} berada di kisaran 150 sampai dengan 200 ppm.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data yang diperoleh langsung dari peneliti disebut sebagai data primer. Proses pengumpulan data dilakukan melalui uji kuantitatif dan kualitatif, yang bertujuan untuk mengevaluasi skrining fitokimia serta aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun jarak pagar.

b. Data skunder

Data sekunder diperoleh dari hasil penelitian yang dilakukan pihak lain. Data tersebut dapat berupa laporan pelayanan kesehatan orang lain, penelitian kesehatan atau jurnal penelitian

2. Teknik pengumpulan data

Metode pengumpulan data dalam penelitian ini meliputi observasi dan analisis laboratorium. Observasi dilakukan melalui pengamatan langsung dan pencatatan yang cermat mengenai bahan alam yang akan diteliti. Di sisi lain, analisis laboratorium diterapkan untuk mendapatkan data dari uji skrining fitokimia serta pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun jarak pagar.

3. Instrument pengumpulan data

Alat atau instrumen yaitu suatu alat yang digunakan peneliti dalam membantu proses pengumpulan data. Pendekatan penelitian dan kualitas alat ukur memiliki hubungan erat, di mana hasil penelitian sangat bergantung pada ketepatan

instrumen yang digunakan. Data yang dikumpulkan menjadi elemen kunci yang mempengaruhi kualitas keseluruhan penelitian. Instrumen pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Alat tulis
- b. Kamera
- c. Alat-alat laboratorium yang digunakan pengujian

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Teknik pengolahan data pada skripsi ini dilakukan melalui Langkah-langkah pencatatan, diolah, dan disajikan dalam bentuk narasi serta table. Pengolahan data dari skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan analisis deskriptif untuk menjelaskan kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun jarak pagar. Hasil tersebut disajikan dalam bentuk table untuk memberikan Gambaran yang jelas.

Pada pengolahan data aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH melibatkan perhitungan persentase inhibisi (% inhibisi) dalam menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan persamaan regresi linier $y = bx + a$, dimana $y = 50$ yang menunjukkan 50% daya hambat, dan x merupakan konsentrasi larutan uji yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Selanjutnya, hasil nilai IC_{50} digunakan untuk menggolongkan sifat antioksidan.

2. Analisis data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan bantuan software computer, data yang dikumpulkan kemudian dianalisis. Untuk memastikan data berdistribusi normalitas dilakukan menggunakan metode Shapiro-Wilk Test. Selanjutnya, uji

hipotesis dilakukan untuk data yang berdistribusi normal dilakukan menggunakan uji *ANOVA*. Bila data berdistribusi tidak normal dilakukan dengan uji Kruskal Wallis.

Uji Shapiro-Wilk Test digunakan untuk mengetahui sebaran data acak dari suatu sampel yang digunakan dalam penelitian, dengan jumlah yang tidak melebihi 50 sampel. Penentuan distribusi data didasarkan pada tingkat signifikansi 0,05, di mana data dianggap berdistribusi normal jika nilai signifikansi lebih besar dari 0,05. Uji ANOVA digunakan untuk membandingkan rata-rata dua atau lebih sampel bebas. Uji ini hanya berlaku jika data berdistribusi normal. Metode ini digunakan untuk menilai perbedaan dalam aktivitas antioksidan yang dipengaruhi oleh suhu pengeringan ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*). Bila jika data tidak berdistribusi normal, analisis dapat dilakukan dengan menggunakan uji Kruskal Wallis. Uji Kruskal Wallis merupakan metode yang tepat untuk membandingkan lebih dari tiga kelompok dengan distribusi yang tidak normal.

G. Etika Penelitian

Secara etimologis, kata “etika” berasal dari kata Yunani “ethos” yang berarti kebiasaan, adat istiadat, watak, atau cara berpikir. Dalam bentuk jamak, Ta Etha mengacu pada adat istiadat. Istilah ini kemudian digunakan oleh Aristoteles, filsuf besar Yunani, untuk menyebut filsafat moral. Oleh karena itu, etika diartikan sebagai ilmu tentang kebiasaan atau adat istiadat yang lazim dilakukan. Etika penelitian yang diterapkan dalam penelitian ini berlandaskan pada prinsip kebajikan dan tidak merugikan. Prinsip ini mengharuskan peneliti untuk berbuat baik, memberikan manfaat yang maksimal bagi masyarakat, serta meminimalisir risiko yang mungkin timbul (Haryani & Setyobroto, 2022).