

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode quasi eksperimen karena pada situasi penelitian ini tidak memungkinkan untuk membentuk kelompok kontrol yang sebanding (Sugiyono, 2025). Rancangan yang digunakan adalah one-group posttest only, yaitu untuk mengevaluasi perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum*) yang diekstraksi dengan dua jenis pelarut, yaitu etanol 70% dan etanol 96%. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan setelah ekstraksi menggunakan masing-masing pelarut, sehingga memberikan gambaran tentang potensi efek pelarut terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak daun ungu. Rancangan one-group posttest only pada penelitian ini adalah:

Tabel 4. Desain Penelitian One-group Posttest Only

Perlakuan	Post-test
X ₁	O ₁
X ₂	O ₂

Sumber: Adiputra dkk. (2021)

Keterangan:

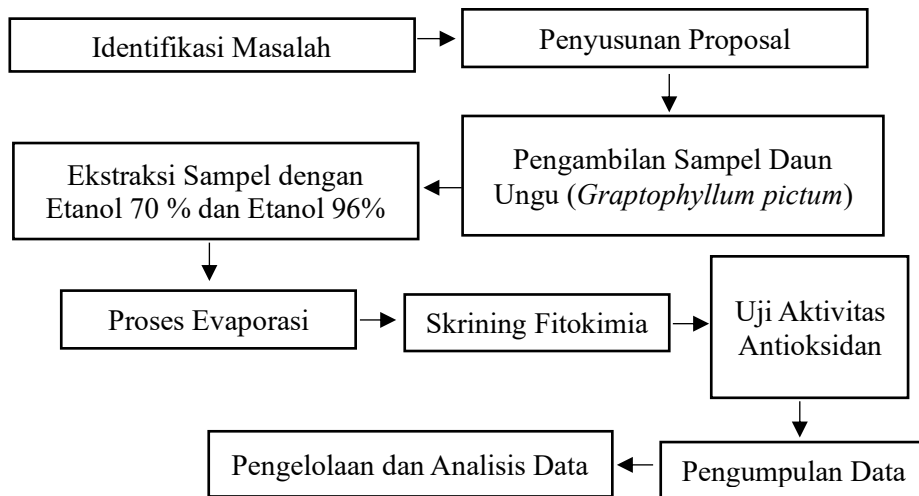
X₁ = Ekstraksi dengan etanol 70%

X₂ = Ekstraksi dengan etanol 96%

O₁ = Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan

O₂ = Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan

B. Alur Penelitian



Gambar 5 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat

Penelitian ini dilakukan di Pusat Pengolahan Pasca Panen Tanaman Obat Dinas Kesehatan Provinsi Bali untuk proses pembuatan simplisia, serta di Laboratorium Kimia Dasar dan Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar untuk proses maserasi, pengujian fitokimia, dan aktivitas antioksidan.

2. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Desember 2025 hingga April 2026, melalui berbagai tahapan yang mencakup pembuatan proposal hingga penyusunan skripsi.

D. Unit Analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari perbedaan konsentrasi pelarut etanol 70% dan etanol 96%. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% dan etanol 96% dari daun ungu (*Graptophyllum pictum*). Sampel daun ungu yang digunakan diperoleh dari Br. Batu, Desa Prerenan, Kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung, Bali..

a. Kriteria inklusi

1. Sampel daun Ungu dengan lembaran daun yang utuh
2. Daun yang digunakan merupakan daun ke-3 sampai ke-5 dari pucuk cabang
3. Warna daun ungu tua hingga keunguan segar.

b. Kriteria eksklusi

1. Daun berjamur, ditandai dengan adanya bercak putih atau abu atau hitam, dan permukaan daun berbulu
2. Berwarna kuning atau kecokelatan
3. Terdapat hama yang menempel di sekeliling daun

Daun ungu yang digunakan 6 kg sampel mentah dan digunakan sebanyak 2000 gram serbuk simplisia daun ungu yang telah kering dan diserbukkan. Kemudian, direndam dalam pelarut etanol 70% dan etanol 96% masing-masing sebanyak 400 gram serbuk simplisia.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data

Dalam pelaksanaan penelitian ini, terdapat dua jenis data yang digunakan, yaitu

data primer dan data sekunder.

- a. Data primer merupakan hasil pengukuran aktivitas antioksidan pada ekstrak daun ungu.
- b. Data sekunder adalah informasi yang diperoleh dari sumber-sumber literatur ilmiah sebelumnya, seperti laporan dinas kesehatan, riset kesehatan, jurnal penelitian dari peneliti lain, serta buku-buku terkait.

2. Teknik pengumpulan data

Dalam penelitian ini, sampel daun ungu dipilih menggunakan teknik purposive sampling, yaitu dengan memilih sampel berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Teknik purposive sampling ini digunakan untuk memastikan bahwa sampel yang dipilih sesuai dengan tujuan penelitian dan memiliki karakteristik yang relevan dengan topik yang diteliti (Sugiyono, 2025). Pengumpulan data untuk mengukur aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode Aluminium Klorida ($AlCl_3$) menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Selain itu, pengukuran aktivitas antioksidan lainnya dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), yang juga menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Teknik ini memungkinkan peneliti untuk mendapatkan sampel yang tepat dan relevan dalam mengukur aktivitas antioksidan yang diinginkan.

F. Alat, Bahan dan Prosedur Kerja

1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan duduk, gunting, keranjang buah, ayakan, blender, neraca analitik, toples, beaker glass (Pyrex),

erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), corong, pipet volume (Pyrex), pipet ukur, ball pipet, batang pengaduk, tabung reaksi dan rak tabung, hot plate, satu set alat rotary evaporator, serta seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun ungu (*Syzygium polyanthum*), etanol 70%, etanol 96%, metanol, aluminium foil, kertas saring, aquades, asam sulfat pekat (H_2SO_4), reagen Dragendorf, reagen Mayer dan Wagner, serbuk magnesium (Mg), asam klorida pekat (HCl), asam asetat anhidrat, besi (III) klorida 5% ($FeCl_3$), serta serbuk DPPH.

3. Prosedur Kerja

a. Pengambilan, Pengolahan Sampel Daun Ungu, dan Pembuatan Ekstrak

Menurut Muhammad Zulfian A. Disi, Muhammad Akhmal Usia, (2023) prosedur pembuat ekstrak daun ungu dengan pelarut etanol sebagai berikut:

- 1) Pra-analitik
 - a) Sampel daun ungu segar yang diperoleh disortasi sesuai kriteria yang telah ditentukan.
 - b) Daun ungu dibersihkan dengan mencucinya menggunakan air mengalir, kemudian ditiriskan.
 - c) Daun tersebut dicacah dan ditimbang dalam kondisi segar.
 - d) Daun ungu dikeringkan di dalam oven pada suhu $40^{\circ}C$ selama 24 jam.
 - e) Setelah kering, daun dihancurkan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.
 - f) Serbuk yang diperoleh kemudian diayak menggunakan ayakan 60 mesh untuk mendapatkan bubuk daun ungu.

g) Tempatkan hasil serbuk tersebut dalam wadah tertutup.

2) Analitik

a) Serbuk simplisia daun ungu dimasukkan ke dalam wadah sebanyak 400 gram.

b) Serbuk kemudian diekstraksi dengan pelarut (etanol 70% dan etanol 96%) sebanyak 200 ml (perbandingan serbuk simplisia dengan pelarut 1:5).

c) Tutup wadah dengan aluminium foil dan biarkan selama tiga hari, sambil dikocok setiap 8 jam sekali. Setelah itu, ekstrak disaring.

d) Ampas tersebut diremaserasi tiga kali dengan prosedur yang sama.

e) Filtrat yang dihasilkan digabungkan, lalu dipadatkan menggunakan rotary evaporator dengan vakum pada suhu 70°C hingga membentuk ekstrak yang kental.

f) Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup untuk pengujian lebih lanjut.

3) Paca-analitik

a) Interpretasi Hasil:

(1) Rendemen ekstrak dihitung dengan membandingkan massa ekstrak pekat yang diperoleh dengan massa simplisia yang digunakan, menggunakan rumus berikut:

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

b) Pengelolaan Limbah:

(1) Limbah bahan baku herbal dipisahkan, dikeringkan, dan digunakan sebagai pupuk.

(2) Limbah bahan kimia dibuang pada saluran pembuangan khusus.

b. Uji Skrining fitokimia

Menurut (Shaikh dan Patil, 2020) prosedur dalam uji skrining fitokimia sebagai berikut:

1) Uji Alkaloid:

a) Dragendroff's test:

(1) Tambahkan 1-2 mL reagen Dragendroff ke dalam 5 mL filtrat ekstrak.

(2) Hasil positif: Pembentukan endapan coklat kemerahan

b) Hager's test:

(1) Tambahkan 1-2 mL reagen Hager ke dalam 5 mL filtrat ekstrak.

(2) Hasil positif: Pembentukan endapan putih krim

2) Uji Flavonoid:

c) Reagen Alkaline:

(1) Tambahkan 2 mL NaOH 2% ke dalam 1 mL ekstrak.

(2) Hasil positif: Warna kuning intens, yang akan hilang setelah penambahan asam encer

3) Uji Saponin:

d) Uji Foam:

(1) Tambahkan 2 mL air ke dalam 0,5 g ekstrak tanaman, kemudian kocok dengan kuat selama 15 menit.

(2) Hasil positif: Pembentukan lapisan busa setebal 2 cm

4) Uji Tannin:

e) Uji Gelatin:

(1) Campurkan 5 mL ekstrak tanaman dengan 1% larutan gelatin dan 10% NaCl.

(2) Hasil positif: Pembentukan endapan putih

5) Uji Terpenoid:

f) Salkowski's test:

- (1) Campurkan 1 mL filtrat ekstrak dengan beberapa tetes H_2SO_4 pekat.
- (2) Hasil positif: Lapisan kuning di bagian bawah tabung reaksi.

c. Pembuatan Larutan Aktivitas Antioksidan

Menurut Indrawati, Baharuddin dan Kahar, (2022) prosedur dari pembuatan larutan aktivitas antioksidan sebagai berikut:

1) Pra-analitik

a) Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM:

- (1) Larutkan 10 mg DPPH dalam metanol p.a, kemudian masukkan ke dalam labu ukur 100 mL.
- (2) Cukupan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas.

b) Penentuan Panjang Gelombang

- (1) Larutan DPPH 0,1 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan metanol p.a, lalu dikocok dengan vortex.
- (2) Ukur absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

c) Pembuatan larutan blanko

- (1) Masukkan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM ke dalam tabung reaksi.
- (2) Tambahkan 2 mL metanol p.a, kemudian kocok dengan vortex hingga homogen.
- (3) Inkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit.
- (4) Setelah itu, ukur larutan pada panjang gelombang 517 nm.

d) Pembuatan larutan uji ekstrak 1000ppm

- (1) Siapkan larutan uji ekstrak dengan menimbang 100 mg ekstrak dari masing-masing pelarut (etanol 70% dan etanol 96 % daun ungu).
- (2) Larutkan ekstrak dengan metanol p.a sambil diaduk dan dihomogenkan, kemudian sesuaikan volumenya hingga mencapai 10 mL untuk mendapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm.
- (3) Lakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm dengan cara memipet sejumlah larutan induk, kemudian masukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan tambahkan metanol p.a hingga mencapai tanda batas.

2) Analitik

- a) Pengukuran serapan dengan spektrofotometer UV- Vis.

- (1) Larutan uji ekstrak daun ungu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan larutan DPPH 0,1 mM, lalu dikocok dengan vortex.
- (2) Inkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit, dan ukur absorbansi pada panjang gelombang 517 nm.
- (3) Lakukan pengukuran ini sebanyak tiga kali pengulangan.

3) Pasca-analitik

- a) Interpretasi hasil penentuan aktivitas antioksidan:

Persentase penghambatan radikal DPPH dihitung dari nilai absorbansi DPPH untuk mendapatkan % inhibisi. Setelah itu, nilai IC_{50} dihitung menggunakan % inhibisi yang diperoleh. Selanjutnya, nilai AAI (Indeks Aktivitas Antioksidan) dari setiap ekstrak dapat dihitung. Nilai AAI yang lebih tinggi menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak yang lebih kuat.

1. Penentuan persentase Inhibisi

Aktivitas Antioksidan Dinyatakan sebagai Persentase inhibisi, yang dapat dinyatakan dengan rumus sebagai berikut:

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

(2) Penentuan nilai IC₅₀

Persentase inhibisi yang telah diperoleh sebelumnya diplot pada sumbu y dan x persamaan regresi linear. Persamaan regresi linear ini ditulis sebagai $y = a + bx$, yang digunakan untuk mencari nilai IC₅₀ (Inhibitor Concentration 50%) dari masing-masing sampel dengan mensubstitusi nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh dari IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan besarnya konsentrasi larutan sampel yang diperlukan untuk menghambat radikal bebas DPPH sebesar 50% (Souhoka, Hattu dan Huliselan, 2019) .

(3) Penentuan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*)

(4) Nilai AAI dapat dihitung dengan cara membagi konsentrasi DPPH yang digunakan dalam uji (ppm) dengan nilai IC₅₀ yang diperoleh (ppm) (Sawiji dan La, 2021). Perhitungan nilai Antioxidant Activity Index (AAI) diperoleh dengan rumus :

$$AAI = \frac{Konsentrasi\ DPPH}{IC50}$$

G. Pengolahan dan Analisi Data

1. Pengolahan Data

- 1) *Editing* adalah tahap evaluasi yang bertujuan untuk memastikan bahwa data yang diperlukan untuk menjawab pertanyaan penelitian telah memenuhi standar kelengkapan, konsistensi, serta penerapan yang sesuai. Proses ini memastikan bahwa data yang dikumpulkan dapat digunakan dengan akurat dan valid dalam analisis.
- 2) *Coding* adalah proses pengkodean data yang bertujuan untuk mengubah informasi yang bersifat kualitatif menjadi format kuantitatif. Pengkodean ini penting dalam memudahkan analisis data, baik dilakukan secara manual atau dengan menggunakan bantuan perangkat lunak komputer untuk memproses data lebih efisien.
- 3) *Data entry* merujuk pada langkah memasukkan data yang telah dikodekan ke dalam program analisis statistik seperti SPSS. Pada tahap ini, data yang telah dikumpulkan dan dikodekan akan dianalisis lebih lanjut untuk mendapatkan hasil yang relevan dengan tujuan penelitian.
- 4) Tabulasi data adalah langkah untuk mengorganisir data yang telah dikumpulkan dalam bentuk tabel. Tabel ini disusun dengan cara yang sistematis dan terstruktur, sesuai dengan kebutuhan analisis yang diperlukan untuk mencapai tujuan penelitian.

2. Analisis Data

Pengolahan data dilakukan dengan menyusun data hasil penelitian ke dalam tabel menggunakan perangkat lunak komputer, kemudian dianalisis secara statistik. Untuk

mengetahui apakah data berdistribusi normal, dilakukan uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk. Penarikan kesimpulan didasarkan pada taraf signifikansi sebesar 0,05, di mana data dinyatakan berdistribusi normal apabila nilai signifikansi $> 0,05$. Apabila data memenuhi asumsi normalitas, pengujian hipotesis dilakukan menggunakan uji t atau Independent Sample T-Test untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pelarut etanol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun tanaman ungu. Jika data tidak memenuhi asumsi normalitas, analisis dilanjutkan menggunakan uji Mann-Whitney sebagai alternatif uji t pada dua kelompok independen. Kesimpulan penelitian ditentukan berdasarkan nilai signifikansi, di mana nilai signifikansi $> 0,05$ menunjukkan adanya pengaruh antara variabel yang diteliti.

H. Etika Dalam Penulisan

Etika adalah ilmu yang mempelajari aturan atau norma perilaku yang baik. Setiap penelitian harus dilaksanakan sesuai dengan prinsip-prinsip etika penelitian yang berlaku. Dalam penelitian ini, etika yang diterapkan meliputi prinsip beneficence dan non-maleficence, yang bertujuan untuk memberikan manfaat maksimal serta meminimalkan potensi risiko yang dapat merugikan pihak lain (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2021). Prinsip-prinsip ini memastikan bahwa penelitian tidak hanya bermanfaat, tetapi juga aman dan tidak merugikan pihak lain.