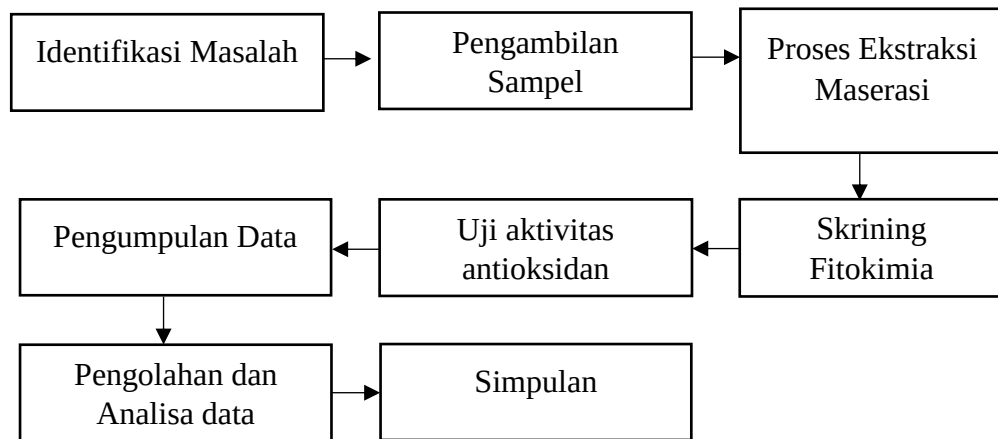


BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif. Pengujian fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang kenop dilakukan dengan metode kualitatif dan kuantitatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengumpulkan data tentang skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang kenop (Widodo, 2021).



Gambar 3 Alur Penelitian

B. Tempat dan Waktu penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kimia Terapan dan Laboratorium Kimia Dasar, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Denpasar yang berlokasi di Jl. Sanitasi No. 1, Sidakarya, Denpasar

2. Waktu penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Desember 2025 hingga bulan Mei 2026.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari batang *Gomphrena globosa* L. yang berlokasi di Jl.Tukad Nyali Gg. Carik, Sanur Kaja, Denpasar Selatan, Bali.

2. Kriteria Sampel

a. Inklusi

Kriteria inklusi dari batang kenop yang akan digunakan yaitu batang kenop mencakup batang utama mulai dari pangkal batang setelah akar hingga bagian sebelum munculnya daun dan bunga, serta cabang-cabang batang yang terhubung dengan batang utama yang segar, berwarna hijau atau ungu, serta tidak mengalami pembusukan.



Sumber : (dokumentasi pribadi)

Gambar 4 Sampel batang Kenop (*Gomphrena globosa* L.)

b. Eksklusi

Kriteria eksklusi yaitu batang kenop yang berisi hama. Pada penelitian ini menggunakan sampel yang memenuhi kriteria inklusi.

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini merupakan data primer, yang terdiri dari kandungan senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol batang *Gomphrena globosa* L.

2. Cara pengumpulan data

Pada penelitian ini, pengumpulan data dilakukan melalui serangkaian uji laboratorium. Analisis kualitatif digunakan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak batang kenop (*Gomphrena globosa* L.), sedangkan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol batang kenop diukur secara kuantitatif menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan bantuan spektrofotometer UV-vis.

3. Instrumen pengumpulan data

Dalam proses menggumpulkan data penelitian yang dilakukan dengan menggunakan instrumen yaitu:

a. Alat

Adapun alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi alat tulis, kamera, pisau, neraca analitik (*Radwag*), rotary evaporator (*buchi*), spektrofotometer UV-vis (*analytikjena*), labu ukur 10ml, 25ml, dan 50 ml (*Iwaki pyrex ± 0.025*), rak tabung, beaker glass, batang pengaduk, toples, tabung reaksi, (*Iwaki*), corong, pipet tetes, pipet ukur, ball pipet (*Iwaki pyrex ± 0.025*), blender (*getra*).

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi serbuk batang *Gomphrena globosa* L, ekstrak kental, metanol, etanol 96%, label, kertas saring (*Whatman*), tisu, aluminium foil, reagen *Dragendorff*, *mayer*, *wagner*, NaOH, HCl, FeCl₃, H₂SO₄, serbuk Mg, metanol, aquadest, ekstrak kental dan serbuk DPPH.

4. Prosedur Penelitian

a. Pengambilan Sampel

Sampel yang diambil yaitu berupa batang kenop (*Gomphrena globosa* L.) yang berada di Jl.Tukad Nyali Gg. Carik, Sanur Kaja, Denpasar Selatan, Bali. Dimana batang kenop (*Gomphrena globosa* L.) yang dipilih yaitu batang kenop yang berwarna ungu atau hijau, serta tidak mengalami pembusukan. Batang kenop yang dimaksud yaitu bagian utama dari batang. Pada penelitian ini menggunakan bahan sampel batang kenop sebanyak 2 kg.

b. Pengolahan sampel

Sampel batang *Gomphrena globosa* L. yang sudah dikumpulkan ditimbang batang segar dengan sejumlah 2 kg. Sampel tersebut terlebih dahulu dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, kemudian bagian batang dipisahkan dari bagian yang tidak diperlukan. Selanjutnya, sampel dikeringkan pada suhu ruang selama beberapa hari hingga mencapai kondisi kering yang optimal. Setelah proses pengeringan, dilakukan sortasi ulang untuk memastikan tidak terdapat benda asing atau material lain yang mungkin tercampur selama tahap pengeringan. Tahap akhir, mencakup proses penghalusan batang menggunakan blender menjadi serbuk halus, kemudian sampel ditimbang kembali untuk memperoleh berat kering yang akan digunakan pada proses penelitian selanjutnya.

c. Ekstraksi

Batang *Gomphrena globosa* L. yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan menjadi serbuk sebagai bahan dasar ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan perbandingan serbuk batang dan pelarut etanol 96%. Langkah pertama yaitu ambil sebanyak 200 g serbuk batang direndam ke dalam 2000 ml etanol 96%, kemudian wadah ditutup rapat menggunakan aluminium foil dan dibiarkan selama beberapa hari dan sesekali di aduk agar pelarut mampu menarik metabolit sekunder secara optimal. Setelah masa penyimpanan selesai, seluruh hasil maserasi disaring untuk memperoleh filtrat, yang selanjutnya diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak pekat. Setelah diperoleh masing-masing ekstrak kental, ditimbang untuk mengetahui nilai rendemennya dan disimpan dalam lemari es hingga dijalankan pemeriksaan lebih lanjut. Adapun Rumus persamaan diterapkan untuk menghitung hasil ekstrak.

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

Pelarut etanol di pilih karena mempunyai sifat selektif, dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan, ekonomis, mampu mengekstrak dan menyaring sebagian besar kandungan senyawa yang ada dalam simplisia. Kemudian etanol 96% digunakan karena pelarut ini bisa melarutkan semua senyawa organik, baik polar atau non polar (Muthmainnah, 2019).

d. Skrining Fitokimia

Pada prosedur pemeriksaan skrining fitokimia ekstrak etanol meliputi uji alkaloid, flavanoid, tanin, saponin, dan steroid dengan modifikasi (Mangiwa & Maryuni, 2019).

1) Uji alkaloid

a. Uji dragendroff

Masukkan sampel sebanyak 2 ml ke dalam tabung kemudian tambahkan 1-2 tetes reagen Dragendroff melalui dinding tabung. Terbentuknya endapan warna merah hingga coklat pada sampel menunjukkan positif pada uji alkaloid.

b. Uji Mayer

Pipet 2 ml sampel kedalam tabung kemudian tambahkan 1-2 tetes reagen mayer melalui dinding tabung. Hasil positif jika terbentuk endapan putih-kuning.

c. Uji Wagner

Pipet 2 ml ekstrak kedalam tabung kemudian tambahkan 1-2 tetes reagen wagner melalui dinding tabung reaksi. Hasil positif jika terbentuk endapan coklat – kemerahan.

2) Uji flavonoid

Masukkan sampel sebanyak 2 ml kedalam tabung, lalu tambahkan beberapa tetes H_2SO_4 dan seujung Mg, setelah itu tambahkan beberapa tetes HCl, terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada larutan sampel maka hasilnya positif.

3) Uji tanin

Masukkan sampel 2 ml kedalam tabung, kemudian tambahkan 3-4 tetes $FeCl_3$ 10%. Jika hasilnya berubah menjadi warna hijau atau biru maka positif.

4) Uji saponin

Masukkan sebanyak 2 ml sampel kedalam tabung, kemudian tambahkan 5 ml aquades mendidih selanjutnya tabung dikocok selama 1-2 menit. Amati terbentuknya busa yang muncul selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 1 tetes

HCl 2N, amati perubahan yang terjadi, positif jika busa tidak hilang menunjukkan adanya saponin.

5) Uji steroid

Masukkan sebanyak 2 ml sampel kedalam tabung, tambahkan kloroform kemudian tambahkan 2 tetes H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Hasil positif steroid ditunjukkan dengan warna hijau kebiruan.

6. Uji aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, dilakukan sebagai berikut (Islamiyati dkk., 2024).

a. Pembuatan larutan DPPH 0,4 Mm

Timbang 8 mg serbuk DPPH kemudian larutkan ke dalam 50 ml metanol p.a menggunakan labu takar hingga tanda batas. Agar larutan tidak terkena cahaya langsung, larutan DPPH ditutup dengan aluminium foil dan disimpan pada tempat gelap selama 30 menit.

b. Pembuatan larutan induk

Ekstrak pekat *Gomphrena globosa* L. ditimbang hingga mencapai 50 mg kemudian dilarutkan dalam metanol dan tepatkan dalam labu takar 25 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

c. Pembuatan larutan blanko

Pipet 2 ml larutan DPPH masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 2 ml metanol dan inkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit.

d. Pembuatan larutan sampel uji aktivitas antioksidan

Dalam penelitian ini, larutan induk dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 100,150,200,250, dan 300 ppm. Langkah pertama yaitu, larutan induk dipipet

masing-masing 1 mL, 1,5mL, 2mL, 2,5mL, dan 3mL, masukkan dalam labu ukur 10 ml. Kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,4 mM ke dalam labu ukur tersebut, dicukupkan volumenya sampe tanda batas dengan metanol dan dihomogenkan. Maka diperoleh larutan konsentrasi 100;150;200;250 dan 300 ppm. Larutan uji dari masing-masing konsentrasi didiamkan selama 30 menit pada tempat gelap kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

7. Perhitungan persentase inhibisi dan nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi sampel yang diperlukan untuk mengurangi 50% radikal DPPH. Nilai IC₅₀ diperoleh menggunakan persamaan regresi linear yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi sampel uji dan persentase penangkapan radikal DPPH oleh sampel uji (% konsentrasi penghambatan). Persentase kemampuan sampel dalam menetralkan radikal DPPH (IC₅₀) dihitung menggunakan rumus berikut.

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

Persamaan regresi antara konsentrasi ekstrak batang *Gomphrena globosa* L. dan % penghambatan konsentrasi DPPH. Setelah persentase inhibisi untuk setiap konsentrasi dihitung, dilakukan analisis regresi linier menggunakan persamaan yang sesuai (Mahfur, 2023).

Penilaian AAI digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan untuk mengetahui nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) menggunakan rumus :

$$Nilai\ AAI = \frac{Konsentrasi\ DPPH(ppm)}{Nilai\ IC^{50}(ppm)}$$

E. Pengolahan Data dan Analisa Data

1. Pengolahan Data

Data dianalisis secara deskriptif untuk memaparkan kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak etanol batang *Gomphrena globosa* L. termasuk alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, dan tanin. Sedangkan untuk menilai aktivitas antioksidan batang tersebut menggunakan metode DPPH, pengolahan data dilakukan dengan perhitungan berdasarkan rumus yang telah ditetapkan.

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

Setelah diperoleh % inhibisi masing-masing konsentrasi sampel hasil perhitungan dibuat dalam suatu persamaan linier $y = a + bx$, hasil dari persamaan linier digunakan untuk memperoleh nilai IC_{50} . Rumus untuk menghitung nilai IC_{50} adalah $50 = a + bx$.

Perhitungan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) digunakan untuk menghitung index aktivitas antioksidan dengan rumus:

$$Nilai\ AAI = \frac{Konsentrasi\ DPPH(ppm)}{Nilai\ IC_{50}(ppm)}$$

2. Analisa Data

Metabolit sekunder pada ekstrak etanol batang *Gomphrena globosa* L. dianalisis melalui data skrining fitokimia secara deskriptif kualitatif. Sedangkan Aktivitas antioksidan akan dianalisis secara kuantitatif dan hasilnya disajikan dalam bentuk tabel, dengan interpretasi hasil berdasarkan nilai yang ditentukan oleh *Antioxidant Activity Index* (AAI).