

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif dilakukan terhadap sekumpulan objek yang biasanya bertujuan untuk melihat gambaran fenomena (termasuk kesehatan) yang terjadi di dalam suatu populasi tertentu (Notoatmodjo, 2012). Pada penelitian ini bertujuan untuk melihat gambaran skrining fitokimia, kapasitas antioksidan air rebusan rambut jagung ketan pada berbagai formulasi dan aktivitas antioksidan serta sifat organoleptik pada formulasi dengan kapasitas antioksidan tertinggi.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel rambut jagung dilakukan di daerah perkebunan jagung di kawasan Padang Galak, Desa Kesiman, Denpasar Timur. Pemeriksaan skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar dan Laboratorium Kimia Terapan Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar, uji kapasitas antioksidan dan uji aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Analisis Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga Juni 2018.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian atau objek yang diteliti (Notoatmodjo, 2012). Populasi pada penelitian ini adalah jagung yang terdapat pada perkebunan jagung di daerah Padang Galak, Desa Kesiman, Kecamatan Denpasar Timur.

2. Sampel penelitian

a. Unit analisis

Unit analisis pada penelitian ini adalah skrining fitokimia, kapasitas antioksidan dan aktivitas antioksidan serta sifat organoleptik, sedangkan yang menjadi sampel dalam penelitian adalah rambut jagung yang memenuhi kriteria sampel.

Adapun kriteria sampel, yaitu:

- 1) Merupakan rambut jagung dengan spesies *Zea mays var. ceratina* yang berusia 75-100 hari (*baby corn*).
- 2) Rambut jagung dari jagung yang segar dan tidak busuk.
- 3) Rambut jagung yang masih berada didalam kulit jagung, bukan yang keluar dari kulit jagung.

b. Teknik sampling

Cara pengambilan sampel yaitu dengan menggunakan teknik *purposive sampling* yang merupakan suatu teknik pengambilan sampel berdasarkan pertimbangan tertentu yang telah dibuat oleh peneliti, berdasarkan ciri atau sifat-sifat populasi yang sudah diketahui sebelumnya (Riyanto, 2011).

D. Jenis, Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah:

a. Data primer

Data primer didapatkan dari hasil skrining fitokimia, pengukuran kapasitas antioksidan pada berbagai formulasi rebusan rambut jagung dan aktivitas antioksidan serta sifat organoleptic pada formulasi dengan kapasitas antioksidan tertinggi.

b. Data sekunder

Merupakan data yang diperoleh dari berbagai referensi dalam penelitian ini.

2. Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis laboratorium mengenai skrining fitokimia, uji kapasitas antioksidan pada berbagai formulasi rebusan rambut jagung dan uji aktivitas antioksidan pada formulasi terbaik menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) pada spektrofotometer.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan dalam pengumpulan data pada penelitian ini adalah:

a. Alat-alat tulis

b. Kamera

c. Lembar kuisisioner organoleptik (Lampiran 4)

d. Alat dan bahan untuk uji skrining fitokimia, uji kapasitas dan aktivitas antioksidan

1) Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain 1 buah blender, pipet tetes, batang pengaduk, spatula, 1 buah pipet volume 1 mL, 2 mL, 5 mL (*Iwaki pyrex*), pipet

ukur 5 mL (*Iwaki pyrex*), 1 buah mikropipet 10-100 μL dan 1000 μL (*Socorex*), 5 buah gelas arloji, *ball pipet* (*Ddann ball pipet*), tabung reaksi (*Iwaki pyrex*), rak tabung, labu takar 10 mL dan 50 mL (*Iwaki pyrex*), 1 buah gelas ukur (*Iwaki pyrex*) 1000 mL, beaker glass, 1 buah kompor listrik, 1 buah termometer air raksa, 1 buah neraca analitik (*Radweg*), dan 1 buah spektrofotometer UV-Vis (*Genesys*).

2) Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel rambut jagung ketan (*Zea mays var. ceratina*), reagen mayer (*E merck*), reagen dragendorff (*Merck*), reagen wagner (*Lokal*), kloroform (*Merck*), anhidrida asetat, serbuk magnesium (*Merck*), amil alcohol (*Merck*), etanol (*Merck*), akuades (*Lokal*), asam sulfat (H_2SO_4) pekat (*Smartlab*), Besi (III) Klorida (FeCl_3) 1% (*Merck*), FeCl_3 5% (*Merck*), asam klorida (HCl) 2 N (*Smartlab*), Natrium Hidroksida (NaOH) 1 N (*Merck*), serbuk DPPH (*E merck*), asam galat (*E merck*), metanol teknis (*Merck*), *yellow tip*, kertas saring (*Whatman*) dan aluminium foil.

E. Prosedur kerja

1. Preparasi sampel

- a. Rambut jagung dicuci dengan air mengalir
- b. Rambut jagung dikeringkan dengan cara diangin-anginkan
- c. Rambut jagung dihaluskan dengan cara diblender
- d. Ditimbang rambut jagung sebanyak 2 gram, 5 gram, 10 gram, 15 gram, dan 20 gram
- e. Dibuat masing-masing formulasi air rebusan rambut jagung:

- 1) Formulasi I dibuat dengan melarutkan 2 gram rambut jagung dalam 200 mL air
 - 2) Formulasi II dibuat dengan melarutkan 5 gram rambut jagung dalam 200 mL air
 - 3) Formulasi III dibuat dengan melarutkan 10 gram rambut jagung dalam 200 mL air
 - 4) Formulasi IV dibuat dengan melarutkan 15 gram rambut jagung dalam 200 mL air
 - 5) Formulasi V dibuat dengan melarutkan 20 gram rambut jagung dalam 200 mL air
- f. Direbus masing-masing formulasi selama 5 menit, pada suhu 90-100°C
- g. Hasil rebusan disaring dengan kertas saring, dan hasil saringan siap dianalisis
- h. Masing-masing formulasi dilakukan analisis replikasi sebanyak 3 kali dan pengulangan sebanyak 3 kali

2. Uji kualitatif fitokimia pada sampel air rebusan rambut jagung

Berikut prosedur kerja uji kualitatif fitokimia menurut (Setyowati dkk., 2014)

dengan modifikasi, yaitu:

a. Pemeriksaan alkaloida

- 1) Sebanyak 3 mL sampel rebusan rambut jagung dipipet dan ditambahkan beberapa tetes asam sulfat 2 N atau asam klorida 2 N
- 2) Larutan sampel dibagi menjadi 3 bagian
- 3) Satu bagian ditambahkan dengan 1-2 tetes reagen mayer dan wagner
- 4) Bagian yang lain ditambahkan 1-2 tetes reagen dragendorff
- 5) Diamati perubahan yang terjadi
- 6) Hasil positif bila terbentuk endapan merah-jingga dengan reagen dragendorff dan terbentuk endapan putih kekuningan dengan reagen mayer dan wagner.

b. Pemeriksaan flavonoid

- 1) Sebanyak 1 mL sampel dipipet dan ditambahkan 0,1 mg serbuk Magnesium

- 2) Ditambahkan 1 mL HCl pekat
- 3) Ditambahkan 0,4 mL amil alkohol
- 4) Ditambahkan 4 mL etanol
- 5) Campuran dikocok dan diamati perubahan yang terjadi
- 6) Hasil positif jika terbentuk warna merah, kuning atau jingga

c. Pemeriksaan terpenoid/steroid

- 1) Sebanyak 1 mL sampel rebusan rambut jagung dipipet dan ditambahkan 2 mL kloroform
- 2) Ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung
- 3) Diamati perubahan yang terjadi
- 4) Hasil positif jika terbentuk cincin berwarna coklat diantara kedua lapisan yang terbentuk. Pada lapisan atas terbentuk warna hijau yang menunjukkan adanya steroid dan pada lapisan atas terbentuk warna merah pekat menunjukkan adanya terpenoid.

d. Pemeriksaan tanin

- 1) Sampel rebusan rambut jagung dipipet sebanyak 1 mL
- 2) Ditambahkan beberapa tetes pereaksi FeCl_3 1%
- 3) Diamati perubahan yang terjadi
- 4) Hasil positif jika terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman

e. Pemeriksaan saponin

- 1) Sebanyak 1 mL sampel rebusan rambut jagung dipipet dan ditambahkan 10 mL air panas
- 2) Dikocok kuat-kuat campuran selama 10 detik

- 3) Diamati busa yang muncul selama 5 menit
- 4) Ditambahkan 1 tetes HCl 2 N
- 5) Hasil positif jika busa yang terbentuk tidak hilang

f. Pemeriksaan kuinon

- 5) Dipipet 1 mL sampel rebusan rambut jagung
- 6) Ditambahkan beberapa tetes NaOH 1 N
- 7) Diamati perubahan warna yang terjadi
- 8) Hasil positif jika terbentuk warna kuning

3. Penentuan panjang gelombang maksimum

a. Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM

- 1) Ditimbang 0,00394 gram serbuk DPPH
- 2) Dilarutkan dengan metanol dan tepatkan dalam labu takar 100 mL (Indranila dan Ulfah, 2015, Molyneux, 2004).

b. Penentuan panjang gelombang maksimum

- 1) Diukur absorbansi larutan pembanding asam galat 10 ppm pada panjang gelombang 450-600 nm, dengan interval 5 nm
- 2) Dicatat absorbansi yang terukur

Keterangan: diukur absorbansi larutan blanko pada rentang panjang gelombang yang sama sebelum pengukuran panjang gelombang.

4. Pengukuran larutan pembanding asam galat

a. Pembuatan larutan induk asam galat 100 ppm

- 1) Ditimbang 0,01 gram asam galat
- 2) Dilarutkan dalam aquadest dan ditepatkan dalam labu takar 100 mL (Yoga, 2015).

b. Pengukuran seri larutan pembanding asam galat 0; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5 ppm

1) Dipipet masing-masing 0; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5 μL larutan induk asam galat

2) Dimasukkan masing-masing ke dalam kuvet

3) Diencerkan dengan metanol hingga mencapai volume 100 μL

4) Ditambahkan 700 μL larutan DPPH, kemudian kuvet divortex

5) Diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit

6) Diukur absorbansi larutan pada panjang gelombang maksimum

5. Uji kapasitas antioksidan pada berbagai formulasi

a. Pengukuran absorbansi masing-masing formulasi rebusan rambut jagung

1) Dimasukkan masing-masing formulasi air rebusan rambut jagung sebanyak 100 μL ke dalam tabung reaksi

2) Ditambahkan 400 μL aquadest ke dalam tabung reaksi

3) Ditambahkan 3500 μL larutan DPPH, kemudian tabung reaksi divortex selama 5 detik

4) Diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit

5) Diukur absorbansi sampel pada panjang gelombang maksimum

(Larutan blanko: dipipet 2 mL larutan metanol dan diinkubasi di ruang gelap selama 30 menit)

b. Penentuan nilai kapasitas antioksidan

$$\text{Kapasitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{ppm } X \times \text{total volume (l)} \times \text{FP} \times 100}{\text{mg sampel}}$$

Keterangan:

X = konsentrasi sampel dalam standar asam galat (ppm)

FP = faktor pengenceran

6. Uji aktivitas antioksidan pada formulasi dengan kapasitas antioksidan tertinggi

a. Pengukuran seri larutan air rebusan rambut jagung ketan

- 1) Dipipet larutan sampel masing-masing 0; 10; 20; 30; 40; dan 50 μL ke dalam kuvet
- 2) Diencerkan dengan aquadest hingga mencapai volume 100 μL
- 3) Ditambahkan 700 μL larutan DPPH, kemudian kuvet divortex
- 4) Diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap
- 5) Diukur absorbansi sampel pada panjang gelombang maksimum

b. Penentuan persen inhibisi dan IC50

Harga %I (persen inhibisi) ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase inhibisi} = \frac{[Ab - Aa]}{Ab} \times 100$$

Keterangan.

Ab = Absorbansi blanko (terdiri dari semua reagen kecuali senyawa uji)

Aa = Absorbansi senyawa uji (Rosiaro et al., 2014).

Menghitung nilai IC50 dengan cara memasukkan nilai persentase inhibisi ke dalam persamaan regresi linear (Rosiaro, Puspaningtyas, dan Holiday, 2014).

c. Penentuan Nilai Aktivitas Antioksidan (AAI, *Antioxidant Activity Index*)

Perhitungan nilai AAI digunakan untuk mengetahui indeks aktivitas antioksidan dengan rumus (Takao, Imatomib, dan Gualtieri, 2015):

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

Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*), dikatakan aktivitas antioksidan yang lemah saat AAI <0,5, aktivitas antioksidan sedang saat AAI antara 0,5 - 1,0, aktivitas antioksidan yang kuat saat AAI antara 1,0 - 2,0, dan sangat kuat saat AAI > 2,0 (Scherer dan Godoy, 2009).

7. Uji organoleptik (sensori)

- a. Disiapkan 1 buah formulasi air rebusan rambut jagung dengan kapasitas antioksidan tertinggi
- b. Disiapkan 25 orang panelis dengan kategori panel agak terlatih untuk melakukan pengujian sensori (panelis terdiri atas mahasiswa dan dosen yang sudah terbiasa meminum teh)
- c. Panelis diminta mengisi biodata pada formulir uji organoleptik
- d. Panelis diminta menilai formulasi rebusan rambut jagung meliputi warna, rasa, aroma dan daya terima di formulir uji organoleptik
- e. Setelah proses penilaian selesai dilakukan, hasil penilaian segera dikumpulkan
- f. Kegiatan yang sama dilanjutkan pada panelis selanjutnya hingga berjumlah 25 orang panelis.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data yang diperoleh dari hasil skrining fitokimia, uji kapasitas dan aktivitas antioksidan serta uji organoleptik pada air rebusan rambut jagung akan diolah dengan menggunakan teknik tabel pengolahan data secara tabulasi, yaitu teknik penyajian data dalam bentuk tabel. Kemudian dideskripsikan dalam bentuk narasi.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis data deskriptif yaitu menggambarkan hasil analisa skrining fitokimia, uji kapasitas dan aktivitas antioksidan serta uji organoleptik air rebusan rambut jagung.