

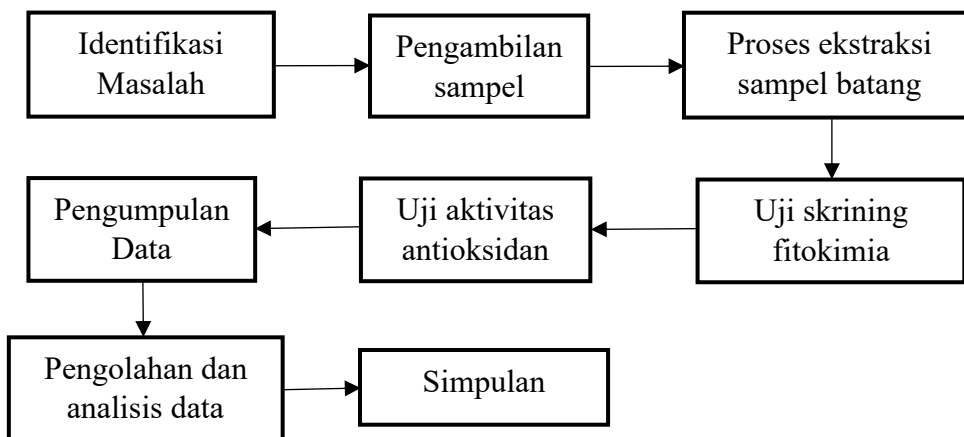
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif yang bertujuan untuk menggambarkan nilai dari satu atau lebih variabel tanpa membandingkan ataupun mengaitkannya dengan variabel lainnya. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif untuk memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa fitokimia serta aktivitas antioksidan pada sampel yang diteliti.

B. Alur Penelitian



Gambar 3 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Dasar dan Laboratorium Kimia Terapan, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April 2026 sampai bulan Mei 2026.

D. Sampel

1. Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pare yang diperoleh dari Desa Payangan, Kabupaten Gianyar.

2. Kriteria sampel

Berdasarkan kriteria inklusi, sampel batang pare yang digunakan sebanyak 1 kg, yaitu batang yang masih dalam kondisi segar, tidak membusuk, berwarna hijau, serta tidak menunjukkan tanda-tanda serangan hama. Sementara itu, kriteria eksklusi meliputi batang yang sudah layu, berubah warna menjadi kuning hingga coklat, serta terkontaminasi jamur.



Sumber: (Dokumentasi pribadi)

Gambar 4 Batang pare

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer, yang mencakup informasi mengenai kandungan fitokimia serta aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol batang pare (*Momordica charantia* L.).

2. Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan melalui percobaan di laboratorium. Pengumpulan data diperoleh dari analisis kualitatif kandungan fitokimia serta pengujian kuantitatif aktivitas antioksidan pada ekstrak batang pare menggunakan metode DPPH dengan bantuan alat spektrofotometer UV-Vis.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan dalam proses pengumpulan data dalam penelitian ini meliputi:

- a. Alat tulis
- b. Kamera
- c. Alat serta bahan yang diperlukan dalam pembuatan ekstrak, uji skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan

4. Alat dan bahan

- a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat tulis, kamera, pisau, neraca analitik (*Radwag*), timbangan duduk, blender (*Getra*), batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur, ball pipet, tabung reaksi (*Iwaki*), labu takar (*Iwaki Pyrex*), beaker glass, rak tabung, rotary evaporator (*Buchi*), toples, corong, serta *spektrofotometer UV-Vis*.

- b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi batang pare (*Momordica charantia L.*), etanol 96%, kertas saring (Whatman), tissue, aluminium foil, reagen Dragendorff, Mayer, Wagner, NaOH, HCl 2N, FeCl₃ 10%, H₂SO₄, kloroform, magnesium (mg), akuades, serbuk DPPH.

5. Prosedur kerja

a. Proses ekstraksi

Prosedur kerja tersebut mengacu pada (Habibah dkk, 2023) dengan modifikasi.

➤ Tahap pra-analitik :

1) Pengambilan sampel batang pare

Sampel batang pare yang digunakan dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Pengambilan sampel dilakukan di Desa Payangan, Kabupaten Gianyar. Sampel yang diambil sebanyak 1 kg, dengan kondisi batang yang masih segar, berwarna hijau, tidak berlubang, serta tidak mengalami pembusukan. Waktu pengambilan dilakukan pada siang hari pada jam 12.00 WITA

2) Pembuatan serbuk simplisia

- a) Tahap awal dilakukan dengan memilih sampel batang pare yang telah memenuhi kriteria yang ditentukan. Sampel yang digunakan berupa batang pare segar dengan berat awal sebesar 1 kg.
- b) Sampel dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel.
- c) Batang pare kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang selama ± 3 hari hingga benar-benar kering.
- d) Setelah proses pengeringan, dilakukan pemisahan sampel dari bahan asing yang mungkin masih tercampur selama pengeringan.
- e) Selanjutnya, batang pare dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk berserat.

- f) Serbuk yang telah diperoleh kemudian ditimbang kembali untuk mengetahui berat keringnya, lalu disimpan dalam wadah tertutup rapat sebelum digunakan pada tahap selanjutnya.

➤ Tahap analitik:

- 1) Serbuk simplisia batang pare ditimbang sebanyak 100 gram.
- 2) Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan merendam 100 gram serbuk simplisia dalam 1000 ml etanol 96% pada wadah tertutup, kemudian dibiarkan selama 3 hari.
- 3) Hasil perendaman selanjutnya disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat.
- 4) Proses maserasi pada langkah 2 dan 3 dilakukan pengulangan sebanyak dua kali, dan seluruh filtrat yang diperoleh kemudian digabungkan.
- 5) Selanjutnya dilakukan pemekatan hasil filtrat dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga mendapatkan ekstrak kental.

➤ Tahap pasca analitik:

- 1) Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang, dilanjutkan dengan perhitungan rendemen dari hasil ekstraksi tersebut

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

- 2) Limbah hasil proses ekstraksi kemudian dibuang, dan seluruh peralatan yang digunakan dibersihkan dengan baik setelah proses selesai.
- 3) Sisa bahan seperti serbuk simplisia batang pare serta reagen yang digunakan disimpan dalam wadah tertutup yang aman.

b. Skrining fitokimia

➤ Tahap pra-analitik:

Pembuatan larutan uji :

- 1) Siapkan alat dan bahan
- 2) Timbang 0,5 mg sampel ekstrak, larutkan dengan etanol
- 3) Kemudian masukkan kedalam labu ukur 25 mL
- 4) Larutan uji siap digunakan

➤ Tahap analitik:

1) Uji alkaloid

- a) Mayer: masukkan 2 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2-3 tetes pereaksi mayer, kemudian tambahkan 2-3 tetes HCl 2N. Dihomogenkan dan didiamkan selama 5 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih.
- b) Dragendroff: masukkan 2 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2-3 tetes pereaksi dragendroff, kemudian tambahkan 2-3 tetes HCl 2N. Dihomogenkan dan didiamkan selama 5 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna coklat atau merah.
- c) Wagner: masukkan 2 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2-3 tetes pereaksi wagner, kemudian tambahkan 2-3 tetes HCl 2N. Dihomogenkan dan didiamkan selama 5 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna coklat atau merah.

2) Uji flavonoid

Masukkan 2 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2-3 tetes H_2SO_4 , kemudian tambahkan 2-3 tetes HCl 2N. Dihomogenkan dan didiamkan selama 5 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna hijau ke warna merah.

3) Uji tanin

Masukkan 2 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 10%. Dihomogenkan dan didiamkan selama 5 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya perubahan warna menjadi hijau atau biru kehitaman.

4) Uji saponin

Masukkan 2 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL akuades mendidih. Dihomogenkan selama 5 menit dan diamkan selama 10 menit. Hasil positif jika terbentuk busa stabil selama 10 menit.

5) Uji steroid

Masukkan 2 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL klorofom, kemudian tambahkan 2-3 tetes H_2SO_4 secara perlahan melalui dinding tabung dan dihomogenkan. Hasil positif terbentuknya warna hijau kebiruan.

F. Uji Aktivitas Antioksidan

➤ Tahap pre-analitik:

1) Pembuatan larutan DPPH 0,4 mM

Timbang bubuk DPPH sebanyak 8 mg, kemudian larutkan dengan metanol. Masukkan larutan DPPH kedalam labu ukur 50 ml, tambahkan metanol sampai tanda batas. larutan tersebut kemudian didiamkan dan disimpan di tempat yang gelap selama 30 menit.

2) Pembuatan larutan induk

Timbang ekstrak kental batang pare sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol, masukkan kedalam labu ukur 50 mL. Tambahkan metanol sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm.

➤ Tahap Analitik

1) Pembuatan larutan seri konsentrasi

- a) Larutan ekstrak etanol batang pare sebanyak 6 konsentrasi (500, 600, 700, 800, 900, 1000,)
- b) Dipipet larutan induk dengan rumus $M_1.V_1 = M_2.V_2$ masing-masing konsentrasi 500, 600, 700, 800, 900, 1000, masukkan seluruh konsentrasi dalam lima labu ukur 10 ml sesuai pada tabel 4.

Contoh pembuatan konsentrasi larutan 1000 ppm, dihitung dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 1000 \times 10$$

$$V_1 = 1000 \times 10 : 1000$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

Tabel 4
Konsentrasi Volume Larutan

No	Konsentrasi (ppm)	Volume larutan induk 1000 ppm (mL)	Volume akhir (mL)
1	500 ppm	5 ml	10
2	600 ppm	6 ml	10
3	700 ppm	7 ml	10
4	800 ppm	8 ml	10
5	900 ppm	9 ml	10
6	1000 ppm	10 ml	10

- c) Ke dalam masing-masing konsentrasi ditambahkan 2 mL larutan DPPH.
- d) Volume larutan dalam labu kemudian ditambahkan metanol hingga mencapai tanda batas.
- e) Campuran selanjutnya dihomogenkan.
- f) Setelah itu, larutan diinkubasi selama 30 menit pada kondisi ruang gelap.
- 2) Nilai absorbansi diukur menggunakan *spektrofotometer UV-Vis* pada panjang gelombang 517 nm.
- 3) Pengukuran dilakukan dengan menggunakan reff dan blanko metanol, dimulai dari sampel dengan konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi.
- Tahap pasca analitik:
 - 1) Mengamati hasil absorbansi yang dihasilkan oleh alat dan dihitung nilai IC50
 - 2) Analisis data hasil

G. Pengolahan Data dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Pengolahan data pada penelitian skrining fitokimia dilakukan secara deskriptif, yaitu dengan menjelaskan keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid,

flavonoid, saponin, steroid, dan tanin yang terdapat dalam ekstrak etanol batang pare. Sementara itu, pengolahan data pada uji aktivitas antioksidan metode DPPH dilakukan melalui perhitungan sesuai rumus yang telah ditentukan sebelumnya.

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

2. Analisis data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan secara deskriptif. Hasil skrining fitokimia dianalisis menggunakan pendekatan deskriptif kualitatif, sedangkan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol batang pare dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Hasil pengujian kemudian disajikan dalam bentuk tabel, dengan interpretasi berdasarkan nilai yang mengacu pada Antioxidant Activity Index (AAI).

H. Etika Penelitian

Penelitian yang menggunakan bahan alam harus memperhatikan prinsip pencernaan, keamanan hayati (biosafety), dan legalitas. Pengambilan sampel dilakukan secara bijaksana agar tidak mengganggu kelestarian sumber daya hayati, memperhatikan aspek keselamatan peneliti dan lingkungan, serta memenuhi seluruh persyaratan perizinan dan etika penelitian sesuai Pedoman dan Standar Etik Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Nasional Kementerian Kesehatan RI (2021).