

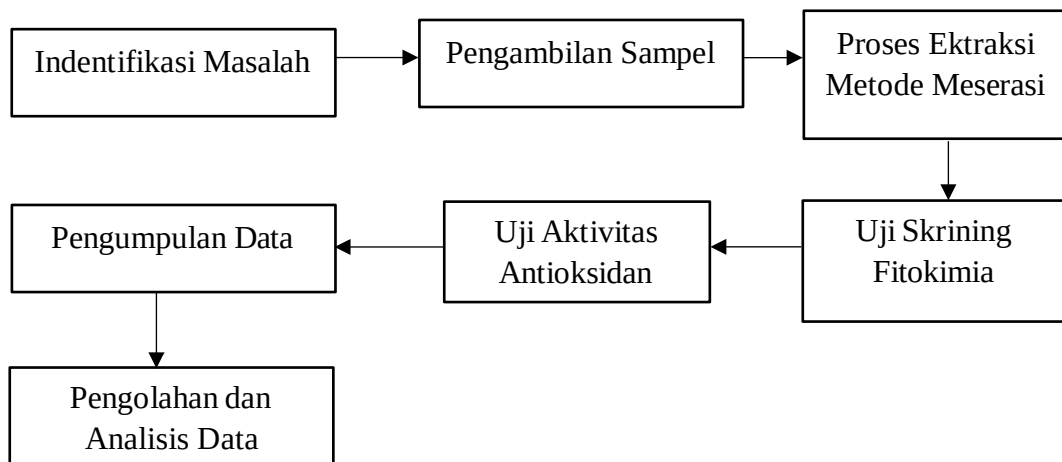
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif. Pengujian skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol ranting jeruk nipis dilakukan menggunakan metode DPPH. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data mengenai kandungan metabolit sekunder serta aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol ranting jeruk nipis.

B. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat pengambilan sampel di Desa Leping, Kecamatan Banjarangkan, Kabupaten Klungkung, Provinsi Bali. Pemeriksaan Sampel dilakukan di Laboratorium Kimia Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2026 sampai bulan April 2026

D. Sampel Penelitian

1. Sampel

Sampel dalam penelitian ini diperoleh ranting tanaman jeruk nipis, tempat pengambilan sampel di Desa Lapang, Kecamatan Banjarangkan, Kabupaten Klungkung, Provinsi Bali. Ranting yang digunakan memiliki panjang 30 cm dengan diameter ± 1 cm.



Sumber : (dokumentasi pribadi)

2. Kriteria sampel

Ranting yang segar, tidak busuk, tidak ada hama menempel di sekitar bagian ranting, tidak kering, dan tidak berlubang.

3. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan nilai AAI dari ekstrak etanol ranting jeruk nipis

4. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan proses untuk mendapatkan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah proses ekstraksi dengan metode maserasi.

E. Teknik dan Jenis Data yang Dikumpulkan

1. Data primer

Data primer adalah salah satu dari berbagai jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini. Data primer meliputi kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol ranting jeruk nipis.

2. Teknik Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data penelitian ini adalah dengan cara melakukan percobaan uji laboratorium. Data dikumpulkan dengan melakukan analisis kandungan fitokimia secara kualitatif dan uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif pada ekstrak ranting jeruk nipis menggunakan metode (1,1 diphenyl-2picrylhydrazil) (DPPH).

F. Prosedur Penelitian

1. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat-alat yang diperlukan pada percobaan ini adalah pipet ukur 50 mL pipet volume 1 mL, 2 mL, 5 mL, pipet tetes, bulb pipet, gelas ukur 50 mL, batang pengaduk, spatula, 2 magnetic stirrer, ayakan 40 mesh, nampan, beaker gelas 250 mL, erlenmayer 250 mL, tabung reaksi, vortex mixer, blender, hot plate, rak tabung reaksi labu takar, evaporator, neraca analitik, oven, kuvet, dan spektrofotometer Uv-Vis, botol kaca gelap.

b. Bahan

Bahan yang dipakai saat penelitian yaitu ranting jeruk nipis, pereaksi dragendroff, NaOH 10%, etanol 96%, bubuk kitosan, serbuk DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil), kertas saring, tisu dan aluminium foil, akuades, bubuk Na-TPP, H₂SO₄ pekat, FeCl₃ 5%, dan asam asetat glasial 1%.

2. Ekstraksi

- a. Ranting jeruk nipis dicuci dengan air mengalir hingga bersih, kemudian dipotong kecil-kecil untuk memperluas permukaan.
- b. Potongan ranting dilayukan di tempat teduh tanpa terkena sinar matahari langsung untuk mencegah kerusakan senyawa aktif.
- c. Ranting yang telah dilayukan dihaluskan menggunakan blander yang sebelumnya sudah disterilkan.
- d. Serbuk disaring (diayak) untuk memperoleh serbuk yang lebih halus dan homogen.
- e. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah tertutup rapat yang kedap udara pada suhu ruang hingga siap digunakan.
- f. Sebanyak 100 gram serbuk simplisia direndam dalam 800 mL etanol 96% dalam wadah tertutup, kemudian dibiarkan selama 24 jam sambil sesekali diaduk.
- g. Selang 5 hari sambil setiap pagi dan sore diaduk, kemudian disaring dan dimasukkan ke dalam toples kaca yang telah steril.
- h. Seluruh maserat digabungkan kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak kental.
- i. Ekstrak pekat ditimbang untuk menghitung rendemen ekstraksi.
- j. Menghitung persentase rendemen hasil ekstraksi dengan persamaan :

$$Rendemen = \frac{\text{massa ekstrak pekat (g)}}{\text{massa serbuk simplisia (g)}} \times 100\%$$

3. Skrining fitokimia

Dalam skrining fitokimia pada penelitian ini merujuk pada (Shaikh & Patil, 2020)

a. Uji alkaloid

Pipet 1mL sampel ekstrak etanol ranting jeruk nipis, tambahkan 1mL Reagen

Dragendroff's, homogenkan hasil positif jika terbentuk endapan merah-coklat

b. Uji flavonoid

1mL sampel ekstrak etanol ranting jeruk nipis, tambahkan 3-5 tetes H₂SO₄ pekat.

Hasil positif akan terbentuk warna jingga

c. Uji saponin

Tambahkan 0,5 mL sampel ekstrak etanol ranting jeruk nipis dengan 2 ml akuades,

kocok hingga terbentuk busa hasil positif jika terbentuk busa yang stabil selama 10 menit.

d. Uji tannin

Dimasukkan 0,5 mL ekstrak etanol ranting jeruk nipis, kemudian ditambahkan 5mL

larutan NaOH 10%. Hasil positif jika terbentuk emulsi

e. Uji fenol

Dimasukkan 1 mL ekstrak etanol ranting jeruk nipis, kemudian ditambahkan 3-5 tetes

larutan *FeCl*₃ 5%. Hasil positif jika berwarna hijau kehitaman

4. Uji aktivitas antioksidan

Dalam uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini merujuk pada (Militia Monangin et al., 2024) :

a. Pembuatan Larutan Induk

Pembuatan larutan induk 500 ppm dilakukan dengan melarutkan 0,5 mL ekstrak etanol ranting jeruk nipis kedalam 10 mL akuades dalam labu ukur lalu divortex hingga homogen, kemudian dilakukan pengenceran menjadi 5 seri konsentrasi yakni 25 ppm, 75 ppm, 125 ppm, 175 ppm, dan 225 ppm dihitung menggunakan rumus pengenceran : $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$,

masing-masing konsentrasi dimasukan ke dalam labu takar 10 ml.

b. Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm

Timbang 4 mg DPPH digunakan untuk membuat larutan DPPH, yang kemudian dilarutkan dalam 100 mL metanol dalam tabung reaksi dan kemudian divortex. Larutan didiamkan selama 30 menit dan kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat dan ditutup dengan alumunium foil.

c. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Menguji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan mencampur 2 ml larutan DPPH dengan 2 ml larutan sampel ekstrak etanol ranting jeruk nipis yang terdiri dari 5 seri konsentrasi, yaitu 25 ppm, 75 ppm, 125 ppm, 175 ppm, dan 225 ppm. Larutan kemudian diputar dan diinkubasi selama 30 menit di suhu ruangan 37° C pada masing-masing konsentrasi sampel pengujian aktivitas antioksidan dilakukan 3 kali pengulangan pada masing-masing konsentrasi sampel.

5. Analisis data

Setelah masing-masing sampel di inkubasi bersama larutan DPPH, perubahan warna diamati untuk menilai aktivitas antioksidan. Ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm untuk mengukur absorbansi larutan.

6. Perhitungan persentase inhibisi dan nilai IC50

Nilai (Inhibitory Concetration) IC50 adalah parameter yang biasa digunakan untuk menggambarkan hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Nilai IC50 adalah konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH. Nilai IC50 dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

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

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 IC50. Rumus untuk menghitung nilai IC50 adalah $50 = a + bx$

7. Antioxidant Activity Index (AAI)

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

$$AAI = \frac{\text{Konsentrasi DPPH (ppm)}}{\text{Konsentrasi IC50 (ppm)}}$$

8. Pengolahan dan Analisis Data

a. Pengolahan data

Hasil skrining fitokimia diproses menggunakan metode analisis deskriptif, kualitatif yang menguraikan senyawa metabolit seperti alkaloid, saponin, flavonoid, fenol, dan tanin yang dapat ditemukan dalam ekstrak etanol ranting jeruk nipis. Sementara itu, pengolahan data untuk mengukur aktivitas antioksidan ekstrak etanol ranting jeruk nipis dengan metode DPPH dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

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

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 IC50. Rumus untuk menghitung nilai IC50 adalah $50 = a + bx$. Untuk mengetahui nilai AAI (Antioxidant Activity Index) menggunakan rumus :

$$AAI = \frac{\text{konsentrasi DPPH (ppm)}}{\text{konsentrasi IC50 (ppm)}}$$

b. Analisis data

Analisis data pada hasil skrining fitokimia dianalisis secara deskriptif kualitatif dengan menjelaskan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol ranting jeruk nipis. Sedangkan kandungan aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak etanol ranting jeruk nipis disajikan dalam bentuk deskriptif kuantitatif dan penentuan aktivitas antioksidan yang diperoleh dihitung menggunakan rumus persamaan linier.