

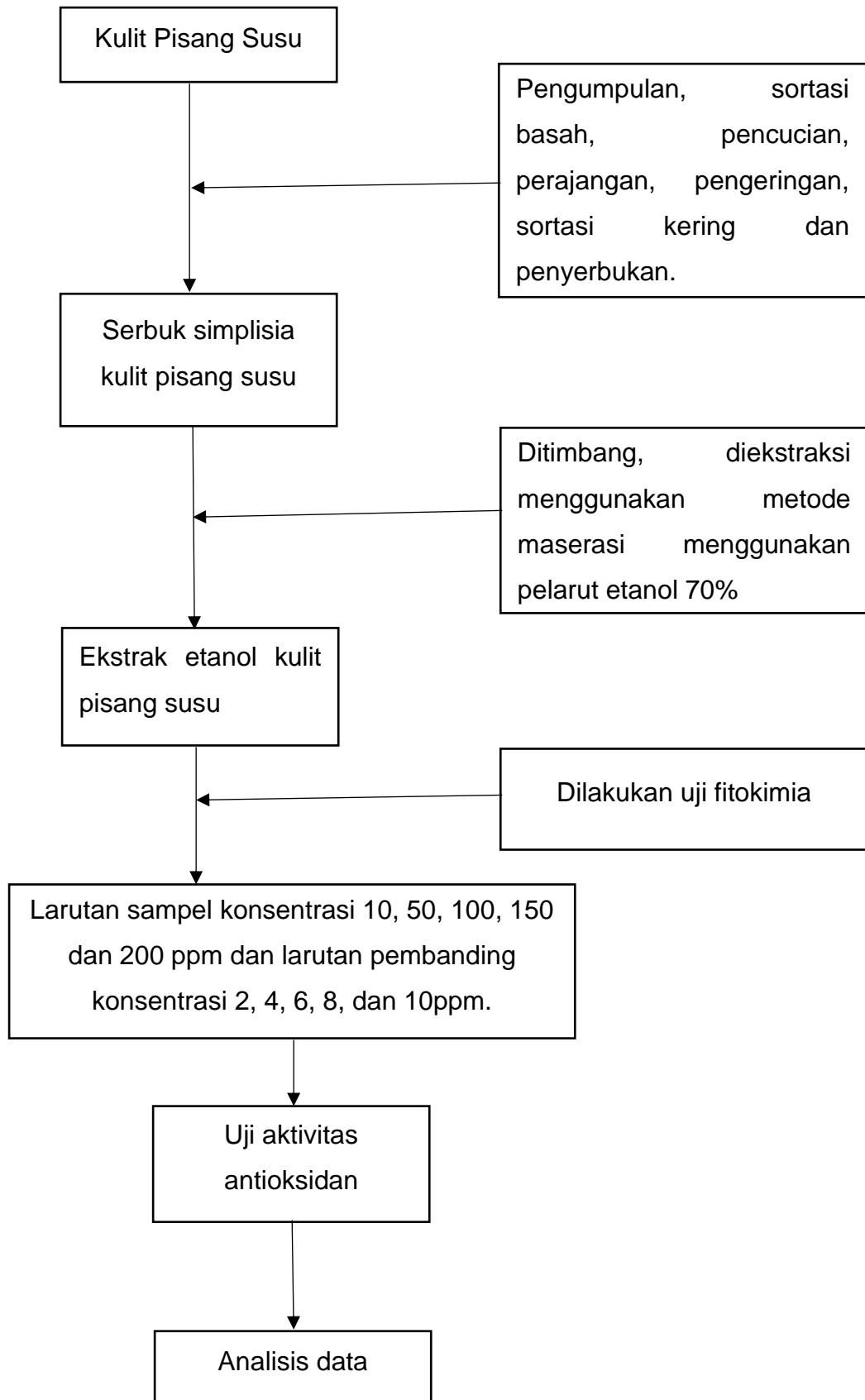
BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental dilaboratorium. Perlakuan dalam penelitian ini adalah pemberian berbagai konsentrasi ekstrak kulit pisang susu. Tahapan penelitian yang pertama adalah preparasi sampel kemudian sampel diserbukkan. Kulit pisang susu yang telah diserbukkan diambil sebanyak 250 gram untuk diekstraksi secara maserasi. Maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5 selama 5 hari. Kemudian hasil maserasi disaring dan kemudian hasil filtratnya diuapkan menggunakan rotary vakum evaporator hingga didapatkan ekstrak yang kental. Kemudian dilakukan uji fitokimia pada ekstrak tersebut untuk mengidentifikasi kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak tersebut. Setelah dilakukan uji fitokimia kemudian dilakukan pembagian ekstrak menjadi beberapa konsentrasi, konsentrasi yang digunakan adalah 10, 50, 100, 150, dan 200 ppm. Selanjutnya dilakukan uji antioksidan menggunakan larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis.

3.2 Kerangka Kerja



3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi ialah wilayah generalisasi yang terdiri dari obyek/subyek yang memiliki kuantitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan selanjutnya ditarik kesimpulannya. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit pisang susu yang sudah matang (Siyoto & Sodik, 2017).

3.3.2 Sampel

Sampel adalah sebagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut, ataupun bagian kecil dari anggota populasi yang diambil menurut prosedur tertentu sehingga dapat mewakili populasinya. Jika populasi besar, dan peneliti tidak mungkin mempelajari seluruh yang ada di populasi, hal seperti ini dikarenakan adanya keterbatasan dana atau biaya, tenaga dan waktu, maka oleh sebab itu peneliti dapat memakai sampel yang diambil dari populasi. Sampel yang akan diambil dari populasi tersebut harus betul-betul representatif atau dapat mewakili (Siyoto & Sodik, 2017).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit pisang susu yang sudah diekstrak, yang sudah dibuat konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm.

3.3.3 Sampling

Teknik Sampling yaitu merupakan teknik pengambilan sampel (Siyoto & Sodik, 2017). Teknik pengambilan yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik purposive sampling, dengan sampel yang memenuhi kriteria inklusi.

Kriteria Inklusi meliputi :

1. Sampel kulit pisang susu yang sudah matang.
2. Sampel kulit pisang susu yang tidak busuk.

Kriteria Eksklusi meliputi :

1. Kulit pisang susu yang sudah busuk.
2. Kulit pisang jenis lain yang bukan merupakan jenis kulit pisang susu.

3.4 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

3.4.1 Identifikasi Variabel

Variabel adalah sesuatu yang menjadi objek pengamatan penelitian, variable sering disebut sebagai faktor yang berperan dalam penelitian atau gejala yang akan diteliti (Siyoto & Sodik, 2017). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

Variable bebas : Konsentrasi ekstrak kulit pisang susu.

Variable terikat : Aktivitas antioksidan ekstrak kulit pisang susu.

3.4.2 Definisi Operasional

Berdasarkan definisi konsep yang dijelaskan pada BAB II, peneliti membuat definisi operasional sebagai berikut:

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

| No | Variabel | Definisi Operasional | Alat Ukur | Hasil Ukur | Skala |
|----|---------------------------------------|---|-------------------------|--|---------|
| 1. | Konsentrasi ekstrak Kulit Pisang Susu | Konsentrasi ekstrak kulit pisang susu adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari kulit pisang susu menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan dibuat seri konsentrasi (Depkes RI, 2000a). | | Konsentrasi 1 10 ppm Konsentrasi 2 50 ppm Konsentrasi 3 100 ppm Konsentrasi 4 150 ppm Konsentrasi 5 200 ppm | Numerik |
| 1. | Aktivitas Antioksidan | Aktivitas antioksidan adalah zat yang menghambat atau mencegah kerusakan sel akibat oksidasi radikal bebas (Antarti & Lisnasari, 2018) . | Spektrofotometri Uv-Vis | Nilai IC ₅₀ < 50 memiliki kategori sangat kuat, 50-100 memiliki kategori kuat, 100-150 memiliki kategori sedang, 150-200 memiliki kategori lemah, >200 memiliki kategori sangat lemah | Ordinal |

3.5 Prosedur Pengumpulan Data

3.5.1 Proses Perizinan

Proses perizinan yang dilakukan adalah proses

perizinan penggunaan Laboratorium Kimia dan Farmakognosi di Institut Teknologi Sains dan Kesehatan Rs. Dr. Soepraoen. Hal pertama yang dilakukan adalah meminta perizinan kepada laboran dan mengisi jurnal penggunaan dan peminjaman alat yang akan digunakan.

3.5.2 Proses Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kaca, batang pengaduk, ayakan, kertas saring, timbangan analitik, tabung reaksi, cawan porselen, waterbath, rotary evaporator, alumunium foil, beaker glass, spektrofotometer UV-Vis, pipet tetes, sendok tanduk, tissue, vial, labu ukur, pipet, pipet ukur.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit pisang susu, etanol 70%, DPPH, ammonia encer, aquades, asam askorbat, Hcl pekat, reagen mayer, bouchardat dan dragendorff, H_2SO_4 pekat, kloroform, dan $FeCl_3$ 1%.

2. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

a. Preparasi sampel.

- b. Ekstraksi sampel.
- c. Uji fitokimia sampel.
- d. Uji antioksidan pada sampel.
- e. Analisis data.

3. Pelaksanaan Penelitian

a. Pembuatan Simplisia

1) Pengumpulan bahan baku

Bahan baku simplisia harus mementingkan kualitas untuk menghasilkan khasiat yang terbaik dan menghindari terbentuknya zat beracun.

2) Sortasi basah

Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan bahan-bahan asing yang tidak berguna dan berbahaya saat pembuatan simplisia.

3) Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran dan mengurangi mikroorganisme yang menempel pada bahan.

4) Perajangan

Perajangan dilakukan untuk memperluas permukaan sehingga lebih cepat kering tanpa pemanasan yang berlebihan.

5) Pengeringan

Faktor yang mempengaruhi pengeringan adalah suhu, kelembapan udara, aliran udara, dan luas permukaan bahan.

6) Sortasi kering

Tujuan sortasi kering adalah memisahkan benda asing seperti bagian yang tidak diinginkan dan kotoran lain yang masih ada dan tertinggal.

7) Pengemasan dan penyimpanan

Simplisia dapat disimpan ditempat yang kering, tidak lembab dan terhindar dari sinar matahari secara langsung. Pengemasan dan penyimpanan yang tepat dapat menghindari simplisia dari kontaminasi jamur.

b. Preparasi Sampel

Sampel sebanyak 1 kg dicuci bersih, dipotong kecil-kecil, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sampai sampel kering. Sampel yang telah kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga didapatkan bentuk serbuk. Hasil yang diperoleh berupa serbuk yang digunakan sebagai sampel penelitian.

c. Ekstraksi Sampel

Serbuk kulit pisang susu ditimbang sebanyak 250 gr dan dimasukkan kedalam botol kaca lalu

dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5 selama 5 hari, lalu dikocok sampai homogen. Selanjutnya disaring hingga didapatkan hasil filtrat dan residu. Hasil filtrat lalu diuapkan menggunakan rotary vakum evaporator pada suhu 70°C sehingga menghasilkan ekstrak kental.

d. Uji Fitokimia

1) Uji flavonoid

Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambah 1-2 ml air panas, dididihkan dan disaring. Filtrat ditambahkan ammonia encer dan asam sulfat pekat. Diamati perubahan warnanya jika terbentuk larutan berwarna merah atau jingga kekuningan, maka ekstrak mengandung flavonoid.

2) Uji alkaloid

Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambah 1ml kloroform dan ammonia lalu disaring. Filtrat ditambahkan 3-5 tetes H_2SO_4 pekat lalu dikocok sampai terbentuk 2 lapisan, lapisan asam yang tak berwarna diuji dengan menambahkan reagen Mayer, Bouchardat dan Dragendorff. Hasil positif alkaloid jika terdapat endapan coklat perreaksi Bouchardat, endapan

putih untuk pereaksi mayer dan jingga untuk pereaksi dragendorff.

3) Uji tannin

Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1ml FeCl_3 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warhna biru tua atau biru kehitam.

4) Uji saponin

Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, dan ditambahkan 10ml aquades yang telah mendidih kemudian dikocok kuat selama 30 detik hingga terbentuknya busa. Jika busa stabil maka terdapat kandungan saponon.

e. Uji Antioksidan

1) Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak etanol kulit pisang susu dibuat larutan stok 1000 ppm dengan cara menimbang ekstrak kulit pisang susu sebanyak 50 mg dicukupkan volumenya menggunakan etanol hingga 50 ml. Dari larutan induk dibuat konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm sebanyak 10 mL.

2) Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan menimbang 5 mg bubuk DPPH. Kemudian dilarutkan dengan etanol hingga 100 mL, kemudian kocok hingga homogen dan dicukupkan pelarut etanol sampai tanda batas.

3) Pembuatan Larutan Perbandingan

Dibuat larutan stok 100 ppm dengan cara menimbang 1 mg asam askorbat, kemudian dilarutkan dengan etanol hingga homogen dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml. kemudian dibuat variasi konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm.

4) Penentuan Panjang Gelombang

Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml blanko yaitu etanol dimasukkan ke dalam vial dan diukur pada panjang gelombang 500-540 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

5) Pengujian Aktivitas Antioksidan

Masing-masing konsentrasi larutan uji diambil sebanyak 0,5 mL, dimasukkan ke dalam vial. Kemudian ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL lalu dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada ruangan gelap

selama 30 menit dan kemudian dibaca serapannya pada Panjang gelombang maksimum.

3.6 Pengolahan dan Analisis Data

3.6.1 Pengolahan Data

Pengolahan (*processing*) merupakan proses data yang diolah melalui suatu model menjadi informasi, penerima kemudian menerima informasi tersebut, membuat suatu keputusan dan melakukan tindakan, yang berarti menghasilkan suatu tindakan yang lain yang akan membuat sejumlah data kembali. Data tersebut akan ditangkap sebagai input, diproses kembali lewat suatu model dan seterusnya membentuk suatu siklus. Siklus ini disebut juga dengan siklus pengolahan data (Arman, 2016). Metode data yang digunakan dalam penelitian ini adalah *tabulating*, dimana hasil yang didapatkan akan ditabulasi.

3.6.2 Analisis Data

Parameter yang digunakan untuk hasil dari uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH adalah dengan menghitung presentase peredaman radikal bebas DPPH. Persen peredaman (%) peredaman radikal bebas DPPH dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ peredaman} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}) \times 100\%}{\text{Abs blanko}}$$

Data aktivitas tersebut dianalisis dan dihitung nilai IC_{50} menggunakan Microsoft excel untuk menentukan persamaan regresi linear dengan sumbu x adalah nilai konsentrasi larutan uji maupun pembanding sedangkan sumbu y adalah % peredaman aktivitas antioksidan.

Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dan dinyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang diperoleh merupakan nilai IC_{50} , kemudian ditentukan nilai tingkat kekuatan antioksidannya, penentuan kekuatan antioksidan didasarkan pada tabel 3.2.

Tabel 3.2 Klasifikasi Antioksidan menurut Molyneaux (Salim, 2018).

| No | Nilai IC_{50} (ppm) | Antioksidan |
|----|-----------------------|--------------|
| 1 | < 50 | Sangat Kuat |
| 2 | 50 -100 | Kuat |
| 3 | 100 – 150 | Sedang |
| 4 | 150 – 200 | Lemah |
| 5. | >200 | Sangat Lemah |

3.7 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2021 di Laboratorium Kimia dan Farmakognosi ITSK Rs dr Soepraoen Malang.