

Bab III

Metodologi Penelitian

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu pengeringan terhadap aktivitas antioksidan pada daun ubi jalar (*Ipomoea batatas*) menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) secara Spektrofotometer Uv-vis.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 24 Januari hingga 10 Februari 2022 di Laboratorium Farmasi Ma Chung University.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas beaker (pyrex), labu takar (pyrex), kaca arloji, batang pengaduk, spatula, timbangan analitik (OHAUS Pioneer PX224), pipet tetes, pipet volume, pipet ukur, bola hisap, botol gelap, botol vial, label, kuvet, water bath (Memmert), dan spektrofotometri Uv-Vis (Shimadzu UV-1800).

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun ubi jalar (*Ipomoea batatas*), metanol p.a (Smart Lab), aquades, dan larutan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) (HIMedia).

3.4 Populasi dan Sampling

1) Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ubi jalar (*Ipomoea batatas*) dari wilayah desa Brambang, Kec. Gondangwetan, Kab. Pasuruan yang didapatkan melalui petani dan di ekstraksi di laboratorium Kimia, Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

2) Sampel Penelitian

Sampel yang diambil pada penelitian ini adalah daun ubi jalar (*Ipomoea batatas*) dengan kriteria yang dipilih adalah daun bagian pucuk atau daun yang masih muda kemudian di keringkan di dalam oven dengan perbedan suhu pengeringan sebagai variasi percobaan, sebesar 40⁰C, 50⁰C, dan 60⁰C di ekstraksi menggunakan pelarut metanol.

3.5 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas, merupakan variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel dependen (Sugiono, 2017). Adapun variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi suhu pengeringan pada daun ubi jalar (*Ipomoea batatas*).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Sugiono, 2017). Adapun variabel terikat dalam penelitian ini adalah antioksidan yang berada di dalam daun ubi jalar (*Ipomoea batatas*).

3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3 .1 Definisi Oprasional

No.	Variabel	Definisi	Metode Ukur	Skala ukur
1.	Suhu Pengeringan	Daun ubi jalar (<i>Ipomoea batatas</i>) yang dikeringkan dengan variasi suhu pengeringan masing-masing 40 ⁰ C, 50 ⁰ C, dan 60 ⁰ C	-	Celcius
2.	Aktivitas antioksidan	Merupakan kemampuan suatu senyawa untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan % inhibisi (persentase kemampuan sampel dalam menangkap radikal DPPH) yang dilakukan pengukuran menggunakan instrumen Spektrofotometri UV-Vis	Uji DPPH	Rasio (Persentase)

3.7 Metode Penelitian

1) Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dilakukan berdasarkan prosedur menurut Depkes (1985), yaitu :

Daun ubi jalar (*Ipomoea Batatas*) dipetik pada bagian pucuk daun dari tumbuhan ubi jalar, selanjutnya dilakukan sortasi basah. Sortasi basah dilakukan dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak diperlukan sehingga diperoleh daun ubi jalar (*Ipomoea Batatas*) yang sesuai untuk dilakukan pengujian. Kemudian dilakukan pencucian guna menghilangkan tanah atau pengotor lainnya yang masih melekat pada daun ubi jalar (*Ipomoea Batatas*). kemudian dilakukan perajangan pada daun ubi jalar (*Ipomea Batatas*) yang telah dilakukan pencucian untuk mempercepat proses pengeringan dan diperoleh hasil pengeringan yang merata, proses pengeringan sendiri dilakukan secara langsung dibawah sinar matahari agar kadar air yang terdapat pada daun ubi jalar (*Ipomea Batatas*) berkurang. Lalu dilakukan sortasi kering yang bertujuan untuk memisahkan benda lain seperti bagian simplisia yang tidak diinginkan dan pengotor lainnya yang mungkin terbawa ketika proses pengeringan. Setelah dilakukan pengeringan secara langsung dengan sinar matahari, dilakukan pengeringan ulang menggunakan oven dengan suhu yang berbeda sebagai variasi penelitian aktivitas antioksidan yang terdapat didalam daun ubi jalar (*Ipomoea Batas*), suhu yang digunakan mulai dari 40⁰C, 50 ⁰C, dan 60⁰C kemudian dilakukan pemanasan dengan waktu 1 jam menggunakan oven sesuai dengan suhu yang ditetapkan. Pada tahap terakhir dilakukan pemhancuran yang bertujuan untuk memperluas permukaan partikel simplisia sehingga semakin besar kontak pada permukaan partikel simplisia. Simplisia dihaluskan hingga mencapai ukuran 100 mesh.

2) Pembuatan Ekstrak daun Ubi Jalar

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi berdasarkan prosedur menurut Materia Medika (1979), yaitu :

Simplisia daun ubi jalar (*Ipomoea Batatas*) masing-masing ditimbang sebanyak 50gr setelah itu dilarutkan dengan pelarut methanol 70% sebanyak 500ml dan diletakkan didalam wadah tertutup, dilakukan

proses perendaman selama 3 x 24 jam dengan dilakukan pengadukan setiap harinya. Lalu dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring kemudian filtrat yang diperoleh diletakkan pada cawan porselin dan endapan yang diperoleh dilakukan pembilasan dengan 100ml pelarut methanol dan diletakkan kedalam cawan porselin yang sama. Dilanjutkan dengan proses berikutnya yaitu menguapkan pelarut dengan menggunakan instrument waterbath, pada suhu 60⁰C, Dalam proses penguapan berlangsung selama 3 hari dan didapati ekstrak methanol daun ubi jalar (*Ipomoea Batatas*) mengental dari yang awal wujudnya cair, kemudian ekstrak yang diperoleh dilakukan penghitungan randemen ekstrak.

3) Pembuatan larutan DPPH 0,4 μ M

Larutan DPPH 0,4 μ m dibuat dengan cara, menimbang DPPH sebanyak 0,0157 g dilarutkan dengan 100 ml methanol p.a didalam labu ukur.

4) Pengujian Aktivitas Antioksidan Secara Spektrofotometri UV-Vis

a. Pada Sampel

Ekstrak methanol daun ubi jalar yang diperoleh ditimbang sebanyak 50mg, kemudian dilarutkan dengan 50ml pelarut methanol p.a, setelah diperoleh larutan baku, dilakukan pengenceran dengan konsentrasi yang berbeda. Sebagai variasi konsentrasi didalam penelitian, dengan konsentrasi yang digunakan 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, dan 50ppm. Masing masing larutan ditambahkan 1ml larutan DPPH, kemudian dilakukan inkubasi selama 30 menit dengan keadaan minim penerangan, selanjutnya dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 516nm.

b. Larutan Blanko

Pelarut methanol p.a dipepet sebanyak 8ml, kemudian ditambahkan 2ml pelarut DPPH kedalam labu ukur 10ml. Dan dilakukan inkubasi selama 30menit dengan keadaan yang minim pencahayaan, selanjutnya dilakukan pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang, 516nm.

3.8 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

Aktivitas antoksidan daun Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) dari suhu pengeringan 40⁰C, 50⁰C, 60⁰C, dengan masing masing konsentrasi yang berbeda dilakukan pengujian terhadap radikal bebas DPPH (*1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil*) menggunakan instrumen spektrofotometri Uv-Vis. Data absorbansi yang diperoleh akan dilakukan perhitungan % inhibisi sebagai nilai konsentrasi perhitungan IC₅₀. Kemudian data-data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel guna mempermudah menentukan ekstrak methanol daun ubi jalar (*Ipomoea batatas*) yang memiliki nilai aktivitas antioksidan terbaik dalam bentuk IC₅₀. Data yang diperoleh juga dibandingkan nilai statistiknya dengan pembanding antioksidan vitamin C, menggunakan aplikasi statistik SPSS guna memastikan nilai data yang diperoleh pada penelitian.