

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 JENIS PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang tertinggi pada formulasi teh kombinasi daun kelor (*Moringa oleifera* L) dengan daun murbei (*Morus alba* L) menggunakan metode DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil) secara spektrofotometer UV- Vis.

3.2 WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2022 di Laboratorium Prodi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Ma Chung 65151.

3.3 ALAT DAN BAHAN PENELITIAN

3.3.1 Alat

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass, kaca arloji, labu ukur, spatula, batang pengaduk, pipet tetes, botol gelap, vial, oven, cawan kursibel, desikator, mikropipet, pipet ukur, shaker, Erlenmeyer, pipet volume, dan spektrofotometer UV- Vis.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L), daun murbei (*Morus alba* L), larutan DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil), Metanolp.a, kantong teh celup kosong, kertas saring, akuades, dan Vitamin C (Asam Askorbat).

3.4 POPULASI DAN SAMPLING

3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L) dan daun murbei (*Morus alba* L) dari wilayah

Kecamatan Turen, Kabupaten Malang yang didapatkan dengan memetik disekitar rumah.

3.4.2 Sampling Penelitian

Sampel yang diambil pada penelitian ini adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L) dan daun murbei (*Morus alba* L) yang sudah melewati tahap pengolahan, kemudian dihaluskan dan dibuat menjadi 3 formulasi dan dikemas dalam bentuk teh celup.

3.5 VARIABEL PENELITIAN

3.5.1 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya dependen (terikat) (Sugiono, 2017). Adapun variable bebas penelitian ini adalah variasi formulasi pada teh kombinasi daun kelor (*Moringa oleifera* L) dan daun murbei (*Morus alba* L).

3.5.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Variabel dependen merupakan variable konsekuen, kriteria, dan output. Variabel dependen juga disebut sebagai variable terikat. Adanya variable terikat dapat menjadi akibat dan pengaruh bagi variabel tersebut (Sugiono, 2013). Adapun variabel terikat dari penelitian ini adalah aktivitas antioksidan, dan organoleptik.

3.5.3 Variabel Antara (*Intervening*)

Faktor yang secara teoretik mempunyai pengaruh terhadap variabel terikat, aka tetapi tidak dapat dilihat (pada saat eksperimen) sehingga tidak dapat diukur atau dimanipulasi. Adapun variabel antara dari penelitian ini adalah kadar air

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Metode Ukur	Skala Ukur
1	Variasi Formulasi	Daun kelor dan daun murbei diolah menjadi bentuk teh celup dengan 3 formulasi	-	Nominal
2	Aktivitas Antioksidan	Kemampuan suatu senyawa yang menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan % inhibisi (persentase kemampuan sampel dalam menangkap radikal DPPH) yang diukur menggunakan alat spektrofotometer Uv-vis.	Uji DPPH	Rasio

3.7 PROSEDUR PENELITIAN

3.7.1 Pembuatan Bubuk Daun Kelor

Sortasi terlebih dahulu daun kelor, lalu cuci dengan air mengalir. Setelah dicuci kemudian tiriskan dan keringkan. Setelah itu dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 60 menit. Kemudian daun kelor yang sudah kering dihancurkan menjadi bubuk dengan menggunakan grinder. Dilakukan pengayakan dengan ayakan 40 mesh sampai didapatkan bubuk daun kelor.

3.7.2 Pembuatan Bubuk Daun Murbei

Sortasi terlebih dahulu daun murbei, lalu cuci dengan air mengalir. Setelah dicuci kemudian tiriskan dan keringkan. Setelah itu dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 60 menit. Kemudian daun murbei yang sudah kering dihancurkan menjadi bubuk dengan menggunakan grinder. Dilakukan pengayakan dengan ayakan 40 mesh sampai didapatkan bubuk daun murbei.

3.7.3 Pembuatan Formulasi Bubuk Teh Celup Kombinasi Daun Kelor dan Daun Murbei

Bubuk daun kelor dan daun murbei dicampurkan dengan banyak campuran F1 (1 : 1) yaitu 1 gr daun kelor dan 1 gr daun murbei, F2 (2 : 1) 2 gr daun kelor dan 1 gr daun murbei, dan F3 (1 : 2) 1 gr daun kelor dan 2 gram daun murbei. Sehingga diperoleh sebanyak 3 gram bubuk kombinasi daun kelor dan daun murbei, lalu dimasukkan ke dalam kantong teh celup. Kantong teh merupakan kantong berpori yang digunakan sebagai sarana tempat teh saat penyeduhan.

Kantong teh yang akan digunakan harus kuat, tidak mudah robek, dalam keadaan baik, bersih, dan memiliki standar food grade sehingga aman bagi kesehatan konsumen (Badan Standardisasi Nasional, 1996). Pada penelitian ini digunakan kantong teh yang khusus untuk pembuatan teh celup dan hasil yang diperoleh adalah baik dan aman bagi kesehatan sesuai dengan standar SNI dan tidak robek saat diseduh (terkena air panas) dan terbuat dari bahan polistiren.

Tabel 3. 2 Formulasi Bubuk Teh Celup Kombinasi Daun Kelor dan Daun Murbei

Sampel	Keterangan
F1	1 : 1 dengan 1 gr bubuk daun kelor : 1 gr daun murbei
F2	2 : 1 dengan 2 gr bubuk daun kelor : 1 gr daun murbei
F3	1 : 2 dengan 1 gr bubuk daun kelor : 2 gr daun murbei

3.7.4 Pengukuran Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri. Cawan yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100- 105°C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 3 g dalam cawan yang sudah dikeringkan (B) kemudian dioven pada suhu 100-105°C selama 3 jam lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang (C). Tahap ini diulang hingga dicapai bobot yang konstan. Kadar air dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : berat cawan kosong dalam gram

B : berat cawan + sampel awal dinyatakan dalam gram

C : berat cawan + sampel kering dinyatakan dalam gram

3.7.5 Pengukuran Kadar Antioksidan Metode DPPH (Fitriyanti, 2014)

A. Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 4 mg DPPH ditimbang, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur dan dimasukkan 100 ml methanol p.a larutan dihomogenkan. Labu ukur ditutup dengan aluminium foil agar terhindar dari cahaya.

B. Pembuatan Larutan Sampel

Sebanyak 50 mg bahan ditimbang kemudian ditambahkan 50 ml methanol p.a aduk menggunakan shaker selama 2,5 jam.

C. Pembuatan Larutan Standar Vitamin C

Vitamin C murni ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan pada methanol p.a kedalam labu ukur 50 ml kemudian dipipet sebanyak 10 µl, 15 µl, 20 µl, 25 µl, dan 30 µl kedalam labu ukur 5 ml dan ditanda bataskan menggunakan methanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm.

D. Pengukuran Kadar Antioksidan Kontrol Negatif

Larutan DPPH dipipet sebanyak 1 ml kemudian dicukupkan dengan methanol hingga 5 ml. Larutan ini kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit. Selanjutnya serapan diukur dengan panjang gelombang 517 nm.

E. Pengukuran Kadar Antioksidan Sampel

Pengujian dilakukan dengan cara memipet 100, 200, 300, 400 dan 500 µl dari larutan stok sampel. Sampel ditambahkan 1 ml dpph dan dicukupkan dengan methanol p.a hingga 5 ml. Selanjutnya dihomogenkan dan dibiarkan hingga 30 menit. Lalu diukur dengan panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihitung dengan rumus :

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}}$$

Keterangan :

A blanko = Absorbansi DPPH + methanol

A sampel = Absorbansi DPPH + sampel

Setelah didapatkan % aktivitas antioksidan, kemudian dicari nilai IC₅₀ sampel dengan cara membuat grafik linear, hubungan antara konsentrasi sampel (x) dengan % aktivitas antioksidan sampel (y), sehingga didapatkan persamaan regresi linearnya (y=ax+b). Nilai IC₅₀ didapatkan dengan mengganti nilai y dengan angka 50.

3.8 UJI ORGANOLEPTIK

Penentuan uji organoleptik dilakukan dengan uji kesukaan. Panelis merupakan manusia atau instrument yang dipakai untuk mengukur rangsangan didalam indera, baik bersifat objektif atau subjektif (Farid, 2010). Uji organoleptik dilaksanakan pada tanggal 23 Maret 2022 ini dilakukan oleh 15 panelis yang sehat jasmani dan rohani, panelis memiliki indera penciuman, perasa, dan penglihatan yang baik agar dihasilkan penilaian yang akurat tentang teh kombinasi daun kelor

dan daun murbei yang dihasilkan. Uji organoleptik ini untuk memperoleh penilaian produk teh kombinasi daun kelor dan daun mrbei yang meliputi rasa, warna, aroma, dan daya terima.

Tahapannya :

- 1) Ditentukan panelis, panelis yang berperan sebagai instrument penelitian diambil 15 orang.
- 2) Dibagikan formulir kepada panelis. Peneliti menerangkan kepada panelis untuk cara pengisian formlir.
- 3) Panelis meminta untuk mengamati, merasakan, mencium aroma, dan memberikan penilaiannya terhadap produk.
- 4) Diisi formulir mengenai data penilaian haru diisi panelis dengan menggunakan panca indera dalam pengamatannya. (Sari, 2015).

FORMAT PENILAIAN SIFAT ORGANOLEPTIK

Nama :

Pekerjaan :

Berilah tanda (√) untuk mengisi data dibawah ini!

Tabel 3. 3 Hasil Kualitas Organoleptik Teh Kombinasi daun kelor dan daun murbei

Sampel	Penilaian															
	Warna				Aroma				Rasa				Daya Terima			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
F1																
F2																
F3																

Keterangan :

A. Warna

C. Rasa

1 = Coklat

2 = Coklat Gelap

3 = Kuning

4 = Kuning Tua

B. Aroma

1 = Tidak Harum

2 = Kurang Harum

3 = Harum

4 = Sangat Harum

1 = Tidak Segar

2 = Kurang Segar

3 = Segar

4 = Sangat Segar

D. DayaTerima

1 = Tidak Suka

2 = Kurang Suka

3 = Suka

4 = Sangat Suka

3.9 PENGOLAHAN, PENYAJIAN, DAN ANALISIS DATA

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif kuantitatif dan kualitatif yaitu dengan cara menganalisis data hasil uji aktivitas antioksidan dan uji organoleptik teh kombinasi daun kelor dan daun murbei. Aktivitas antioksidan teh kombinasi daun kelor dan daun murbei dari Formulasi 1,2, dan 3 dengan masing-masing konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm diuji terhadap radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) menggunakan metode spektrofotometer uv-vis.

Data absorbansi yang diperoleh dilakukan perhitungan % inhibisi sebagai nilai konsentrasi perhitungan nilai IC₅₀. Data- data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel untuk mempermudah menentukan formulasi teh daun kelor dan daun murbei yang memiliki nilai aktivitas terbaik dalam bentuk IC₅₀.