

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium, dengan rancangan untuk mengetahui pengaruh perbandingan konsentrasi etanol terhadap aktivitas antioksidan pada daun kari (*Murraya koenigii L. Spreng*) menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) secara Spektrofotometer Uv-vis.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 05 sampai dengan 21 April 2021 di Laboratorium Prodi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Ma Chung 65151.

#### **3.3 Alat dan Bahan Penelitian**

##### 1. Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas beaker, labu takar, kaca arloji, batang pengaduk, spatula, timbangan analitik, pipet tetes, pipet volume, pipet ukur, bola hisap, botol gelap, botol vial, label, kuvet, water bath, dan spektrofotometri Uv-Vis.

##### 2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kari (*Murraya koenigii L. Spreng*), etanol p.a, aquades, vitamin C, dan larutan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*).

#### **3.4 Populasi dan Sampling**

##### 1. Populasi Penelitian

Populasi yg digunakan dalam penelitian ini adalah daun kari (*Murraya koenigii L. Spreng*) dari wilayah Aceh yang didapatkan melalui *online shop* dan di ekstraksi di laboratorium Prodi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Ma Chung 65151.

##### 2. Sampel Penelitian

Sampel yang diambil pada penelitian ini adalah daun kari (*Murraya koenigii L. Spreng*) yang di keringkan dibawah sinar matahari kemudian di ekstraksi menggunakan pelarut etanol dengan variasi konsentrasi masing-masing etanol 30 %, etanol 50 %, dan etanol 70 %.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 1. Variabel Bebas (*Independent Variabel*)

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya dependen (terikat) (Sugiono, 2017). Adapun variabel bebas penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstraksi pada daun kari (*Murraya koenigii L. Spreng*).

#### 2. Variabel Terikat (*Dependent Variabel*)

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

### 3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Operasional Variabel

No.	Variabel	Definisi	Metode Ukur	Skala Ukur
1.	Ekstraksi dan variasi Konsentrasi	Daun kari yang diekstraksi dengan variasi konsentrasi masing-masing etanol 30 %, etanol 50 %, dan etanol 70 %.	-	Skala
2.	Aktivitas antioksidan	Kemampuan suatu senyawa yang menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan % inhibisi (persentase kemampuan sampel	Uji DPPH	Rasio

		dalam menangkap radikal DPPH) yang diukur menggunakan alat spektrofotometer Uv-vis.		
--	--	---	--	--

### 3.7 Metode Penelitian

#### 1. Proses Pembuatan Simplisia

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

- Pengumpulan bahan basah sebagai bahan baku simplisia
- Bahan baku simplisia disortasi basah untuk memisahkan kotoran dari bahan
- Bahan kemudian dicuci dan ditiriskan
- Bahan dirajang menggunakan pisau sampai ukuran yang diinginkan
- Bahan ditempatkan dalam wadah/ tampah untuk kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari
- Pengumpulan bahan kering
- Dilakukan sortasi kering untuk memisahkan kotoran dari bahan
- Simplisia diblender menggunakan grinder atau alat penyerbuk lainnya
- Dilakukan pengayakan dengan ukuran ayakan 80 mesh.

#### 2. Pembuatan Ekstrak Daun Kari

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

- Timbang serbuk simplisia sebanyak 50 gram
- Masukkan ke dalam wadah tertutup
- Tambahkan pelarut etanol dengan variasi konsentrasi masing-masing etanol 30 %, etanol 50 %, dan etanol 70 % sebanyak 500 mL.
- Aduk perlahan dan biarkan selama 3 hari dengan melakukan pengadukan setiap harinya
- Saring menggunakan kertas saring dengan ukuran standar 0,45  $\mu\text{m}$

- Filtrat diletakkan dalam cawan porselin 500 mL
- Bilas endapan menggunakan 100 mL etanol dengan variasi konsentrasi masing-masing etanol 30 %, etanol 50 %, dan etanol 70 % dan filtratnya ditampung dalam wadah yang sama
- Letakkan cawan berisi filtrat di atas waterbath
- Biarkan hingga mengental

### 3. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara ditimbang, DPPH sebanyak 0,0157 g dilarutkan dengan 100 ml etanol absolut dalam labu tentukur.

### 4. Pengujian Aktivitas Antioksidan Secara Spektrofotometer Uv-vis

Ekstrak ditimbang 50 mg dan dilarutkan dalam 50 ml etanol p.a (1000 ppm) pada labu ukur 50 ml. dipipet masing-masing sebanyak 200  $\mu$ L, 400  $\mu$ L, 600  $\mu$ L, 800  $\mu$ L, dan 1000  $\mu$ L sehingga didapat konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm sebanyak masing-masing 10 ml. Kedalam masing-masing larutan ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0,4 mM dan diinkubasi pada selama 30 menit selanjutnya diukur pada panjang gelombang 515 nm. Sebagai blanko digunakan etanol p.a dan DPPH 0,4 mM dengan memipet 2 ml larutan DPPH 0,4 mM dilarutkan kedalam etanol p.a 8 ml kedalam labu ukur 10 ml dan diinkubasi pada selama 30 menit selanjutnya diukur pada panjang gelombang 515 nm. Untuk pembanding digunakan Vitamin C murni dibuat larutan baku 1000 ppm dengan cara menimbang vitamin murni 50 mg dan dilarutkan pada etanol p.a kedalam labu ukur 50 ml kemudian dipipet 20  $\mu$ L, 35  $\mu$ L, 40  $\mu$ L, 50  $\mu$ L, dan 60  $\mu$ L kedalam labu ukur 10 ml dan ditandabatkan menggunakan etanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm. Perhitungan persen aktivitas antioksidan DPPH digunakan rumus sebagai berikut Aktivitas antioksidan (%) =

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

A blanko = serapan radikal DPPH 0,4 mM

A sampel = serapan radikal DPPH 0,4 mM setelah diberi perlakuan sampel.

Aktivitas antioksidan peredaman radikal bebas DPPH ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii*) serta vitamin C dianalisis dan masing-masing dihitung harga IC50nya melalui analisis probit. Selanjutnya, hasil analisis probit dibandingkan dengan tingkat kekuatan antioksidan (Jun al, 2003).

### **3.8 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data**

Aktivitas antioksidan daun kari (*Murraya koenigii L. Spreng*) dari etanol 30 %, 50 %, dan 70% 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 IC 50. Data-data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel untuk mempermudah menentukan ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii L. Spreng*) yang memiliki nilai aktivitas terbaik dalam bentuk IC50.