BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium untuk mengetahui pengaruh suhu pengeringan terhadap kadar antioksidan tertinggi pada kombinasi formulasi teh daun kelor (*Moringa oleifera* L) dan daun mangga (*Mangifera indica L)* dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-pycrillhydrazil) secara spektrofotometer Uv-Vis

3.2 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2025 di Laboratorium Kimia dan Farmakognosi dan Fitokimia Prodi D3 Analisis Farmasi Dan Makanan Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang

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 mangga (*mangifera indica L)*, larutan, (2,2-diphenyl-1-pycrillhydrazil) Metanol p.a, kantong teh celup kosong, kertas saring, akuades, dan Vitamin C (Asam Askorbat).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas adalah variabel yang memengaruhi atau menyebabkan perubahan pada variabel lain (Marliana Susianti, 2024)Adapun variable bebas

penelitian ini adalah variasi formulasi pada teh daun kelor (*Moringa oleifera* L) dan daun mangga (*mangifera indica L)*

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Adapun variabel terikat (Marliana Susianti, 2024) dari penelitian ini adalah aktivitas antioksidan, dan organoleptik

3.5 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Metode Ukur	Slaka Ukur
1	Variasi formulasi	Daun kelor dan daun mangga 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

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pembuatan Serbuk 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 60℃ selama 3 jam. Kemudian daun kelor yang sudah kering dihancurkan menjadi bubuk dengan menggunakan grinder.

Dilakukan pengayakan dengan ayakan 50 mesh sampai didapatkan bubuk daun kelor.

3.6.2 Pembuatan Serbuk Daun Mangga

Sortasi terlebih dahulu daun mangga muda, lalu cuci dengan air mengalir. Setelah itu dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50℃ selama 5 jam. Kemudian daun kelor yang sudah kering dihancurkan menjadi bubuk dengan menggunakan grinder. Dilakukan pengayakan dengan ayakan 50 mesh sampai didapatkan bubuk daun mangga.

3.6.3 Pembuatan Formulasi Bubuk Daun Kelor dan Daun Mangga

Bubuk daun kelor dan daun mangga dicampurkan dengan banyak campuran K1 (1 : 1) yaitu 1,5 gr daun kelor dan 1,5 gr daun mangga , K2 (2 : 1) 2 gr daun kelor dan 1 gr daun mangga, dan K3 (1 : 2) 1 gr daun kelor dan 2 gram daun mangga. Sehingga diperoleh sebanyak 3 gram bubuk kombinasi daun kelor dan daun mangga, lalu dimasukkan kedalam kantong teh celup. Kantong teh merupakan kantong berpori yang digunakan sebagai sarana tempat teh saat penyeduhan.

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*, 2016)

3.6.5 Formulasi Teh Celup Kombinasi Daun Kelor dan Daun Mangga

Tabel 3. 2 Tabel formulasi daun kelor dan daun mangga

Sampel	Keterangan
K1	1 : 1 dengan 1,5 gr bubuk daun kelor : 1,5 gr daun mangga
K2	2 : 1 dengan 2 gr bubuk daun kelor : 1 gr daun mangga
K3	1: 2 dengan 1 gr bubuk daun kelor : 2 gr daun mangga

3.6.6 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). Lanjutkan pengeringan dan timbang pada selang waktu 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturutturut tidak lebih dari 0,25%. (FHI, 2017)

Kadar air dihitung dengan rumus :

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

Keterangan :

A : berat cawan kosong dalam gram

B : berat cawan + sampel awal dinyatakan dalam gram

C : berat cawan + sampel kering dinyatakan dalam gram

3.6.7 Pembuatan Ekstrak

Proses pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode penelitian dari (Erikania et al., 2020) menggunakan metode maserasi, maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia paling sederhana menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruang. Pelarut yang digunakan yaitu air dengan lama perendaman 3 hari. Penggunaan air sebagai pelarut polar memiliki kemampuan dalam mengikat senyawa senyawa polar seperti senyawa fenol dan saponin(Plaskova & Mlcek, 2023).Serbuk simplisia daun kelor dan daun mangga ditimbang sesuai dengan formulasi K1, K2 ,K3 dengan berat total 30 gram atau 10 kali lipat dari berat dalam kantong teh. Perbandingan simplisia:pelarut yaitu 1:5 dengan 150 ml pelarut air. Setelah proses maserasi dilakukan proses evaporasi pada ekstrak dengan tujuan untuk memperoleh larutan yang lebih tinggi konsentrasinya melalui penguapan pelarut. Suhu penguapan yang optimum yaitu 60℃, agar tidak terjadi kerusakan pada senyawa metabolit sekunder. Proses evaporasi dilakukan hingga ekstrak tersisa sebanyak 50 ml dan dilanjutkan proses penguapan dengan menggunakan waterbath pada suhu 60℃ hingga diperoleh rendemen ekstrak

3.6.8 Pengukuran Kadar Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan menggunakan metode dari penelitian (Dwipayana, 2018). Persen perendaman ditentukan dengan menghitung persentase penurunan absorbansi DPPH. IC_{50} (*Inhibitory concentratio*n 50%) perendaman DPPH dapat dihitung dengan menggunakan kurva kalibrasi.

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 25 mg bahan ditimbang kemudian ditambahkan 25 ml methanol p.a aduk menggunakan shaker selama 2,5 jam.

C. Pembuatan Larutan Standar Vitamin C

Vitamin C murni ditimbang sebanyak 25 mg dan dilarutkan pada methanol p.a kedalam labu ukur 25 ml kemudian dipipet sebanyak 10 µl, 15 µl, 20 µl, 25 µl, dan 30 µl kedalam labu ukur 5 ml dan ditanda bataskan menggunkan 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 (Blanko)

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. Dilakukan sebanyak 3 replikasi. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihitung dengan rumus :

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

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.

3.7 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilaksanakan pada 30 Januari 2025 ini dilakukan oleh 30 panelis non standart 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 mangga yang dihasilkan. Uji organoleptik ini untuk memperoleh penilaian produk teh kombinasi daun kelor dan daun mangga yang meliputi rasa, warna, aroma

FORMAT PENILAIAN SIFAT ORGANOLEPTIK

Nama Panelis :

Hari/Tanggal :

Petunjuk :

(1) Diminum air putih yang sudah disediakan sebelum mencoba sampel teh
(2) Diminum berbagai macam vaariasi sampel teh yang tersedia
(3) Dipilih tingkat skala penilaian berdasarkan warna, aroma, rasa dan tingkat kesukaan

Berilah tanda (√) untuk mengisi data dibawah ini!

Karakteristik	Sampel	Skala Penilaian				
		1	2	3	4	5
Warna	A					
	B					
	C					
Aroma	A					
	B					
	C					
Rasa	A					
	B					
	C					

Ket

1. Tidak Suka
2. Kurang Suka
3. Netral
4. Suka
5. Sangat Suka

3.8 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 mangga. Aktivitas antioksidan teh kombinasi daun kelor dan daun mangga dari Formulasi 1,2, dan 3 dengan masing-masing konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm diuji terhadap radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-pycrilhydrazil) 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 suhu optimum formulasi teh daun kelor dan daun mangga yang memiliki nilai aktivitas terbaik dalam bentuk IC50. Hasil yang diperoleh dianalisis dalam statistik dengan menggunakan one-way anova dilakukan uji lanjut dengan Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.