

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Studi ini ialah jenis penelitian eksperimental

3.2 Sampel

Sampel yang dimanfaatkan berupa tanaman daun saga (*A.precatoris* L) dari desa Medankarya Kecamatan Tirtajaya, Kabupaten Karawang.

3.3 Bahan dan Alat

3.3.1 Bahan

Bahan yang dimanfaatkan tanama daun saga (*A.precatoris* L) yang dipetik dari Kecamatan Tirtajaya Kabupaten Karawang yang kemudian di rebus menggunakan air dilakukan di Laboratorium Universitas Buana Perjuangan Karawang, *Aquadest* (PT. Bratacho), Asetonitril, asam format, hispidalin (Baicalin), DPPH (Sigma Aldrich), methanol PA (emsure), dan vitamin C sebagai pembanding.

3.3.2 Alat

Alat yang dimanfaatkan bersama studi ialah : timbangan analitik (Kern), penangas air (favorit), spektrofotometer UV-VIS (evolution 201), labu ukur (iwaki), mikro pipet (dragonlab), tip blue (onemed), thermometer (tlab), gelas ukur 10 ml (pyrex), gelas ukur 100 (pyrex), gelas kimia 50 ml (pyrex), cawan petri, tabung reaksi (pyrex), *Freeze Dry* (Buchi), *Freezer Deep*, batang pengaduk (pyrex), saringan, dan UPLC-MS (ACQUITY UPLC H-Class System XEVO-TOD MS).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variable bebas yang terikat pada studi ini yaitu proses infusa serta pengeringan *freeze dry*, uji antioksidan pada tanaman, dan uji profil metabolit pada tanaman.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada studi ini yakni tempat waktu pemanenan, tumbuh tanaman, umur tanaman, serta cara panen.

3.4.3 Definisi Operasional



N O	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil ukur
Variabel Bebas					
1	Uji antioksidan ekstrak daun saga 2 ml larutan standar ditambahkan dengan 2 ml DPPH	Larutan sampel diperoleh bersama strategi melarutkan 10 mg ekstrak daun saga dengan 10 ml methanol PA, kemudian larutan diencerkan sebagai 20,	Spektrofotometri UV-Vis	Nominal	Panjang frekuensi 517,00 nm dan diulang total tiga kali

		30, 40, 50, dan 60 µg/ mL.			
--	--	----------------------------------	--	--	--

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman saga (*A.precatorius* L) dilakukan di Laboratorium Herbal Material Medica Batu untuk mengetahui kebenaran dari identitas tanaman.

3.5.2 Pembuatan Simplisia

Tanaman saga (*A.precatorius* L) diperoleh dari Kecamatan Tirtajaya Desa Medankarya. Bahan yang sudah terkumpul di cuci sortasi basah, lalu dikeringkan dengan oven sortasi kering. Bahan yang sudah kering dihaluskan dengan blander, simpan diwadiah yang tertutup.

3.5.3 Pembuatan Ekstrak *A.precatorius* L Metode Infusa

Dibuat larutan infus sebanyak 500 ml, dibutuhkan 50 gram bahan untuk membuat sari infus 500 ml. Daun saga (*A.precatorius* L) sebanyak 50 gram masuk bersama gelas kimia 500 ml selanjutnya ditambahkan 500 ml aquades. Lalu dipanaskan diatas hot plat selama 15 menit dijumlahka mulai suhu sampai 90°C sambil sekali kali diaduk. Hasil rebusan disaring memanfaatkan saringan, apabila volume kurang dari 500 ml maka ditambahkan air hangat melalui residu infusa maka volumenya sebayak 500 ml. kemudian infusa tersebut dikeringkan menggunakan alat *freeze dry*.

3.6 Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH

Larutan sampel diperoleh dengan cara melakukan 10 mg ekstrak daun saga dengan 10 ml methanol pa, kemudian larutan diencerkan sebagai

20, 30, 40, 50, dan 60 $\mu\text{g/mL}$. Setelah itu, tiap-tiap larutan total 2 mL dicampur dengan 2 mL larutan DPPH hingga homogen serta diinkubasi selama 30 menit, pembanding yang dimanfaatkan yakni vitamin C. Aktivitas antioksidan dibaca memanfaatkan spektrofotometri UV-VIS pada panjang frekuensi 517,00 nm serta diulang total tiga kali. Sempel blanko berupa 2 mL larutan DPPH ditambah 2 ml methanol.

3.7 Analisis Menggunakan UPLC-MS

Sampel ekstrak air daun saga (*A.precatoriul* L) diidentifikasi menggunakan UPLC-MS instrument ACQUITY UPLC H-Sistem XEVO-TQD MS kolom Acquity UPLC BEH C18 $1,7\mu\text{m}$ (2,1 x 100mm) pada suhu kolom 40°C . Sistem pelarut terdiri dari A dan B, A ialah asam format 0,1% bersama air. B ialah larutan campuran asetonotril serta asam format 0,1%, volume injeksi $3\mu\text{l}$, serta fase gerak dengan sistem gradien 5-100%.

3.8 Analisis Data

Perhitungan nilai %inhibisi dari hasil absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

3.9 Diagram Alir Penelitian

Tabel 3.1 Diagram Alir Penelitian

