# III METODE PENELITIAN

 Bagian metode penelitian menguraikan secara lebih eksplisit dan teknis terperinci menyangkut bagaimana metode penelitian yang digunakan, cara menganalisis data, tahapan-tahapan yang dilakukan dalam penelitian, serta metode untuk menganalisis objek penelitian beserta bahan dan alat yang digunakannya.

## 3.1. Bahan dan Alat Penelitian

### 3.1.1. Bahan-bahan yang Digunakan

Bahan yang digunakan berupa teh putih yang berasal dari 4 kebun berbeda yaitu Perkebunan Ciberem (Pengalengan), Gambung (Ciwidey), Dewata (Ciwidey), dan Pasir Saronge (Cianjur). Bahan yang digunakan untuk analisis kimia adalah *1,1-diphnyl, 2-picrylhidrazl* (DPPH), larutan *Folin-Ciocalteau* (1:1 (FeCl3 0,1 M; K3Fe(CN)6 0,008 M)), metanol 70%, asam galat, dan*aquades*t.

### 3.1.2. Alat-alat yang Digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu neraca analisis dengan kapasitas 200 gram (ketelitian 0,1 mg), gelas kimia, alumunium foil, penangas air, corong, spektrofotometer UV, tabung reaksi, labu takar 100 ml, termometer, *stop watch*.

## 3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian analisis polifenol total teh putih (*Camellia sinensis* L.O. Kuntze) dan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH *(1,1-diphnyl, 2-picrylhidrazl)* berdasarkan suhu dan lama penyeduhannya, terbagi menjadi dua tahapan yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

### 3.2.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan berupa analisis kadar polifenol total teh putih dari 4 pabrik yang berbeda. Tujuan analisis ini adalah untuk mengetahui apakah faktor ketinggian kebun mempengaruhi tingginya kandungan polifenol pada teh putih.

### 3.2.2. Penelitian Utama

 Penelitian utama dilakukan menggunakan sampel teh putih dengan kandungan polifenol total paling tinggi pada penelitian pendahuluan. Tujuan dari penelitian utama yaitu untuk mengatahui polifenol total paling tinggi dan efektifitas penangkapan radikal bebas DPPH dalam suhu dan lama penyeduhan yang berbeda-beda. Penelitian utama terdiri dari rancangan perlakuan, rancangan analisis, dan rancangan respon.

1. Rancangan Perlakuan

 Perlakuan pada penelitian utama yaitu suhu penyeduhan (t), dan lama penyeduhan (w).

a. Suhu penyeduhan ditentukan berdasarkan suhu didih dan interval yang sama ke masing-masing titik. Suhu didih yang diperoleh di tempat penelitian yaitu 95oC sehingga suhu yang digunakan pada penelitian utama yaitu :

t1 = Suhu penyeduhan 550C

t2 = Suhu penyeduhan 750C

t3 = Suhu penyeduhan 950C

b. lama penyeduhan (w) dalam penelitian utama terdiri dari 3 taraf yaitu :

 w1 = lama penyeduhan 3 menit

 w2 = lama penyeduhan 6 menit

 w3 = lama penyeduhan 9 menit

 Penentuan lama penyeduhan 3 menit dan 9 menit merujuk kepada lama penyeduhan selama 6 menit pada SNI 01-1902-2000 tentang teh..

2. Rancangan Analisis

a. Regresi Linear Berganda

 Regresi linear berganda digunakan untuk menganalisis suhu dan lama penyeduhan terhadap polifenol dalam seduhan, dan suhu dan lama penyeduhan terhadap penangkapan radikal bebas. Persamaan regresi linear berganda adalah sebagai berikut :

$$y=a+bb$$

dimana: y = Polifenol total/EC50 DPPH,

a = Koefisien penaksir regresi,

b1 = Koefisien Suhu Penyeduhan,

b2 = Kofisien lama Penyeduhan,

x1 = Suhu Penyeduhan, dan

x2 = lama Penyeduhan.

Dari persamaan tersebut akan dicari arah korelasi (r) menggunakan *SPPS 16 For Windows*. Jika positif maka pengaruh suhu dan lama penyeduhan terhadap polifenol total dan pengangkapan radikal bebas adalah searah, dan jika negatif maka berlawanan. Apabila dituliskan dalam hipotesis statistiknya untuk polifenol total yaitu:

Ho : r > 0 = Semakin tinggi suhu dan lama penyeduhan semakin tinggi polifenol total dalam seduhan tersebut.

Ha : r < 0 = Semakin tinggi suhu dan lama penyeduhan semakin rendah polifenol total dalam seduhan tersebut.

Sedangkan untuk penangkapan radikal bebas DPPH yaitu:

Ho : r > 0 = Semakin tinggi suhu dan lama penyeduhan maka penangkapan radikal bebas DPPH semakin kurang Efektif.

 Ha : r < 0 = Semakin tinggi suhu dan lama penyeduhan maka penangkapan radikal bebas DPPH semakin Efektif.

b. Regresi Linear Sederhana.

Regresi linear sederhana digunakan untuk menganalisis korelasi polifenol total pada seduhan dengan penangkapan radikal bebasanya. Regresi Linear sederhana memenuhi persamaan :

$$y=a+bx$$

y = EC50 DPPH,

*a* = Koefisien penaksir regresi,

*b* = Koefisien polifenol total, dan

x = Polifenol total.

Sama seperti pengaruh suhu dan lama penyeduhan terhadap polifenol total ataupun penangkapan radikal bebas DPPH, jika korelasi positif maka hubunganya searah tetapi jiga negatif maka berlawan. Apabila dikaitkan dalam hipotesis penelitian maka:

Ho : r > 0 = Semakin tinggi kandungan polifenol total pada seduhan maka semakin efektif aktivitas penangkapan radikal DPPH-nya.

H1 : r < 0 = Semakin tinggi kandungan polifenol total dari hasil seduhan maka semakin lemah pengkapan radikal DPPH-nya.

Korelasi dari regresi sederhana atau berganda akan dicari koefisien determinasi (R2). Persamaan regresi selanjutanya diuji kelinearitasannya dan keberartian dari koefisien-koefisien pada persamaan tersebut.

c. Uji Linearitas dan Keberartian

 Menurut Sarwono (2008), Uji lienaritas digunakan untuk menjelaskan apakah persamaan linear atau tidak linear dengan ketentuan angka probabilitas (p) ialah lebih kecil dari 0.05, atau dinyatakan dalam hipotesis statistik yaitu:

ho : p < 0.05 = Persamaan adalah linear

h1 : p > 0.05 = Persamaan Tidak Linear

Untuk menguji keberartian koefisien korelasi (r) yaitu:

ho : r hitung < r tabel = koefisien korelasi tidak signifikan

ha : r hitung > r tabel = koefisien korelasi signifikan.

3. Rancangan Respon

 Respon yang akan diuji adalah respon kimia. Respon kimia yang dilakukan meliputi analisis polifenol total dan analisis penangkapan radikal bebas terhadap semua seduhan pada penelitian utama. Analisis polifenol total dilakukan dengan metode *Follin-Ciocalteu* (Kulisic *et al.,* 2006) sedangakan analisis penangkapan radikal bebas dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (Yen dan Chen, 1995).

**3.3. Deskripsi Percobaan**

3.3.1. Penelitian Pendahuluan

 Diagram alir penelitian pendahuluan analisis polifenol total teh putih (*Camellia sinensis* L.O. Kuntze) dan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH *(1,1-diphnyl, 2-picrylhidrazl*) berdasarkan suhu dan lama penyeduhannya, seperti pada Gambar 6. Deskripis dari Gambar 6 adalah sebagai berikut­­:

1. Persiapan

Pada tahap ini dilakukan penjabaran mengenai kerangka acuan penelitian yang mencakup dasar pemikiran, teori/konsep yang digunakan dalam penelitian, penentuan metode percobaan, penentuan metode pengujian dan analisis, serta penyiapan 4 sampel teh putih dari pabrik yang berbeda.

1. Ektraksi Teh Putih

4 sampel teh putih yang telah disiapakan, dihaluskan dalam kondisi tertutup. Sampel yang telah halus kemudian diekstraksi menggunakan metanol 70% dalam suhu 60oC. Proses ektraksi dilakukan dengan menggunakan pendingin (kondensor) mengingat pelarut yang digunakan adalah metanol dan suhu yang digunakan adalah 60oC dengan lama yang cukup lama. Ekstraksi dilakukan selama 2,5 jam sampai didapat ekstrak teh putih. Kemudian, ekstrak teh putih dipipet 50 uL ke dalam tabung reaksi untuk dilakukan uji polifenol total.

1. Analisis Polifenol Total

Ke-empat sampel ekstrak teh putih, kemudian diuji kadar polifenol total. Metode yang dilakukan untuk mengukur polifenol adalah Follin Ciocalteu.

1. Penentuan Teh Putih dengan Polifenol Total paling Tinggi

Hasil dari analisis polifonol total kemudian ditentukan seduhan sampel dengan pilifenol total paling tinggi. Teh putih yang seduhannya mempunyai kandungan polifenol paling tinggi dilakukan digunakan sebagai bahan yang diuji pada penelitian utama.

|  |
| --- |
|  |

**Gambar 6. Diagram alir penelitian pendahuluan**

3.3.2. Penelitian Utama

Diagram alir penelitian utama analisis polifenol total teh putih (*Camellia sinensis* L.O. Kuntze) dan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (1,1-*diphnyl, 2-picrylhidrazl*) berdasarkan suhu dan lama penyeduhannya, seperti pada Gambar 7. Deskripsi dari Gambar 7 adalah sebagai berikut­­:

1. Penyeduhan

Sampel teh putih dengan kandungan polfenol total paling tinggi dilakukan pengujian pengaruh suhu dan lama lama penyeduhan. Jumlah sampel yang diuji ada 9 sampel yang merupakan kombinasi dari 3 suhu penyeduhan dan 3 lama penyeduha. Pengujian dilakukan secara acak untuk memberikan peluang yang sama terhadap sampel tersebut. Selanjutnya 9 sampel yang akan diuji diberi kode untuk memudahkan dalam pelaksanaanya.

Kode sampel pengujian pengaruh suhu dan lama penyeduhan teh putih terhadap kandungan polifenol total dan penangkapan radikal bebes DPPH seperti pada Tabel 4. Suhu yang digunakan pada penyeduhan dalam penelitian utama yaitu 550C, 750C, dan 950C dengan lama penyeduhan 3 menit, 6 menit dan 9 menit. Cara yang digunakan pada penyeduhan penelitian utama mengacu pada SNI 01-1902-2000 tentang teh, yaitu sebanyak 2,48 gram dalam 140 ml air.

**Tabel 4. Kode Sampel Pengujian**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Suhu (0C) | Waktu (menit) | KODE PENGUJIAN |
| 55 | **3** | t1w1 |
| 55 | **6** | t1w2 |
| 55 | **9** | t1w3 |
| 75 | **3** | t2w1 |
| 75 | **6** | t2w2 |
| 75 | **9** | t2w2 |
| 95 | **3** | t3w1 |
| 95 | **6** | t3w2 |
| 95 | **9** | t3w3 |

1. Analisis Polifenol Total dan Analisis DPPH

Seduhan-seduhan hasil penyeduhan pada tahap II kemudian diuji kandungan polifenol total dan penangkapan radikal bebas DPPH. Out put dari tahap ini yaitu suhu dan lama penyeduhan optimum teh putih dalam menghasilkan polifenol total paling tinggi dan penangkapan radikal paling efektif berdasarkan konsentrasi efektif 50% (EC50) dari seduhannya. Selanjutnya dianalisis untuk mengetahui korelasi antara suhu dan lama penyeduhan terhadap polifenol total dan penangkapan radikal bebas dengan regresi linear berganda.

1. Analisis Regresi

Hasil dari analisis polifenol total dan penangkapan radikal bebas DPPH kemudian dilakukan analisis regresi dengan polifenol total sebagai variabel bebas dan EC50DPPH sebagai variabel respon. Metode regresi linear yang digunakan, diolah menggunakan tools data statistik yaitu SPPS *for windows* versi 16. Tujuan dari analisis regresi yaitu untuk mengetahui sejauh mana korelasi atau hubungan antara polifenol total dengan penangkapan radikal bebas DPPH.

|  |
| --- |
|  |

**Gambar 7. Diagram alir penelitian utama**