

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental, yaitu penelitian yang berfungsi untuk menguji pengaruh suatu variabel terhadap variabel lain atau menguji bagaimana hubungan sebab akibat antara variabel yang satu dengan variabel lainnya. Sedangkan desain penelitian yang digunakan adalah komparatif, yaitu membandingkan data konsentrasi flavonoid pada air rebusan daun salam dengan variasi waktu perebusan yang berbeda.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2020 yang bertempat di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Ma Chung Malang

3.3 Alat dan Bahan

a. Alat :

- a. Alat gelas,
- b. Neraca analitik,
- c. *Hot plate*,
- d. *Waterbath*,
- e. pipet mikro.
- f. Spektrofotometri Uv-Vis,

b. Bahan :

1. Sampel (daun salam segar yang berwarna hijau tua),
2. AlCl_3 10%,
3. Kalium asetat 1 M,
4. Metanol *pa.*,
5. Akuades,
6. Standar kuersetin *pa.*

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu perebusan daun salam

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah konsentrasi flavonoid pada air rebusan daun salam.

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala
Konsentrasi Flavonoid	Jumlah konsentrasi flavonoid total setara kuersetin pada air rebusan daun salam	Spektrofotometri Uv-Vis	Rasio

3.6 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan mengadaptasi penelitian yang telah dilakukan oleh Puspitasari,dkk. 2016 tentang pengaruh waktu perebusan terhadap kadar flavonoid total daun kersen (*Muntingia calabura*). Hal ini disebabkan karena belum ada penelitian yang membahas metode untuk analisis flavonoid total pada daun salam menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Berikut adalah prosedur yang dilakukan.

a. Uji Pendahuluan

Sampel daun salam segar sebanyak 15 gram yang sudah dipotong kecil-kecil direbus dalam air mendidih selama 30 menit. Hasil air rebusan diamati perubahan warna, aroma dan volumenya. Variasi waktu perebusan dipilih dari awal timbulnya perubahan warna dan aroma pada hasil air rebusan hingga volume air tidak dapat merendam daun salam sepenuhnya karena penguapan.

b. Preparasi sampel

Sampel daun salam segar sebanyak 15 gram direbus dalam 250 ml akuades mendidih selama 5 menit, 10 menit, 15 menit, 20 menit dan 25 menit. Kemudian air rebusan disaring panas dan dikentalkan dengan waterbath pada suhu 47°C hingga diperoleh ekstrak kental dengan berat seragam. Ekstrak kental yang dihasilkan diambil 1 gram untuk dilarutkan dalam metanol dan ditanda bataskan hingga 25 ml. Larutan sampel yang sudah homogen diambil 0,4 ml dan ditambahkan 7,4 ml metanol, 0,2 ml AlCl_3 10%, 0,2 ml Kalium Asetat 1M serta ditanda bataskan dengan akuades hingga 10 ml. Preparasi sampel dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Skema preparasi sampel dapat dilihat pada Lampiran 1.

c. Pembuatan larutan standar kerja kuersetin

Pembuatan larutan standar kerja kuersetin dilakukan dengan membuat larutan baku kuersetin 50 ppm terlebih dahulu. Standar kuersetin 5 mg dilarutkan dengan metanol dan ditanda bataskan hingga 100 ml. Selanjutnya larutan baku diambil sebanyak 0,4 ml; 0,8 ml; 1,2 ml; 1,6 ml; dan 2 ml. Kemudian masing – masing diencerkan dengan metanol hingga 10 ml untuk didapatkan larutan standar kerja konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Skema pembuatan larutan standar kerja kuersetin dapat dilihat pada Lampiran 2.

d. Pembuatan kurva standar kuersetin

Panjang gelombang maksimum larutan standar 10 ppm diukur dengan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-500 nm. Lalu, absorbansi larutan standar kerja kuersetin diukur pada panjang gelombang maksimum (428 nm). Hasil absorbansi yang didapatkan dibuat persamaan linear dengan konsentrasi larutan standar kerja. Skema pembuatan kurva standar kuersetin dapat dilihat pada Lampiran 3a.

e. Penentuan konsentrasi flavonoid

Larutan sampel yang sudah dipreparasi diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang sudah ditetapkan. Kemudian, konsentrasi flavonoid pada sampel dapat ditentukan dengan memasukkan

nilai absorbansi sampel air rebusan daun salam dalam persamaan linear larutan standar kerja. Skema penentuan konsentrasi flavonoid dapat dilihat pada Lampiran 3b.

3.7 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

Data yang telah diperoleh dalam penelitian ini adalah konsentrasi flavonoid dari masing-masing waktu rebusan. Penyajian data menggunakan tabel seperti pada tabel 3.2. Data yang telah diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan metode banding nyata *One Way Anova* yaitu membandingkan konsentrasi flavonoid pada rebusan daun salam dengan variasi waktu perebusan 5 menit, 10 menit, 15 menit, 20 menit dan 25 menit.

Tabel 3.2 Contoh Penyajian Data Hasil Pengamatan

No	Waktu Perebusan (menit)	Konsentrasi Flavonoid (ppm QE)
1	5	
2	10	
3	15	
4	20	
5	25	