

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Eksperimental menggunakan pendekatan Kuantitatif dengan cara mengukur Kadar Polifenol menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Rancangan yang digunakan Rancangan Acak Lengkap.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada rentang waktu bulan Februari hingga bulan Maret tahun 2021 di Laboratorium Farmasi Universitas Machung, Malang. Sampel dibeli dari Sentra Kulakan Koperasi (Senkuko) Kota Pasuruan. Kriteria sampel yang digunakan yaitu teh hijau celup kemasan.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Pipet Tetes, Neraca Analitik “Shimadzu AP225WD”, Gelas Kimia “Pyrex:” 250 ml, Labu Ukur “Pyrex’ 10 ml, Labu ukur “Pyrex” 25 ml, Tabung Reaksi, Botol Coklat, Batang Pengaduk, Mikropipet “Socorex” 1000µl, Mikropipet “Dragonlab” 20-200µl, Tip, Termometer Alkohol, Oven “Memmert”, Hot Plate “Thermo Scientific Cimarec”, Spektrofotometer UV-Vis

3.3.2 Bahan

Larutan FeCl_3 1% “EMSURE, Sigma-aldrich”, Aquades, Folin Ciocalteu “Merck”, Na_2CO_3 7% “Merck”, Asam Galat “Merck”, Sampel Teh Hijau Kemasan

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas : Suhu dan Lama Penyeduhan Teh Hijau

3.4.2 Variabel Terikat: Kadar Polifenol pada Teh Hijau

3.5 Definisi Operasional

| No | Variabel | Definisi | Cara Ukur | Hasil Ukur | Skala Data |
|----|------------------|----------------------------|---------------------------------|------------------------------------|------------|
| 1 | Suhu Penyeduhan | Menentukan Suhu Penyeduhan | Menggunakan Termometer | Suhu Penyeduhan | Interval |
| 2 | Waktu Penyeduhan | Menentukan Lama Penyeduhan | Menggunakan Stopwatch/ Timer | Waktu Penyeduhan | Rasio |
| 3 | Kadar Polifenol | Menentukan Kadar Polifenol | Uji Kuantitatif kadar Polifenol | Kadar Polifenol dinyatakan dalam % | Rasio |

3.6 Prosedur Analisis

3.6.1 Analisis Kualitatif (Harbone, 1993)

- Sampel diseduh pada temperatur 70°C, 80°C, dan 90°C selama 6 menit, 8 menit, dan 10 menit
- Dipipet sampel sebanyak 3 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi
- Ditetesi dengan pereaksi FeCl₃ 1% sebanyak 3-5 tetes
- Diamati perubahan warna yang terjadi, dinyatakan positif mengandung polifenol apabila larutan sampel menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat

3.6.2 Analisis Kuantitatif (Modifikasi dari Matera Medika Batu)

3.6.2.1 Optimasi temperatur seduh terhadap ekstraksi polifenol dari teh hijau

- Sampel diseduh pada temperatur 70°C, 80°C, dan 90°C selama 10 menit
- Dipipet sampel sebanyak 100µl dan dimasukkan dalam kedalam botol coklat

- Ditambahkan Na_2CO_3 7% sebanyak 750 μl kedalam masing-masing sampel
- Ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 750 μl kedalam masing-masing sampel
- Diinkubasi dalam oven dengan suhu 45°C selama 15 menit
- Diukur absorbansi masing-masing sampel pada panjang gelombang 735 nm dengan spektrofotometer UV-Visible

3.6.2.2 Optimasi waktu seduh terhadap ekstraksi polifenol dari teh hijau

- Sampel diseduh selama 6 menit, 8 menit, dan 10 menit dengan temperatur 80°C
- Dipipet sampel sebanyak 100 μl dan dimasukkan dalam kedalam botol coklat
- Ditambahkan Na_2CO_3 7% sebanyak 750 μl kedalam masing-masing sampel
- Ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 750 μl kedalam masing-masing sampel
- Diinkubasi dalam oven dengan suhu 45°C selama 15 menit
- Diukur absorbansi masing-masing sampel pada panjang gelombang 735 nm dengan spektrofotometer UV-Visible

3.6.2.3 Pembuatan larutan baku induk 1000 ppm

- Ditimbang baku asam galat sebanyak 25 mg menggunakan neraca analitik
- Dilarutkan dalam labu ukur 25 ml menggunakan aquades hingga tanda batas
- Dihomogenkan

3.6.2.4 Pembuatan larutan baku kerja (75 ppm, 150 ppm, 300 ppm, dan 600 ppm)

- Dari larutan standar 1000 ppm dipipet berturut-turut sebanyak 750 μl , 1500 μl , 3000 μl , dan 6000 μl ,

- Masing-masing larutan baku kerja dipipet sebanyak 100 μ l dan dimasukkan dalam kedalam botol coklat
- Ditambahkan Na₂CO₃ 7% sebanyak 750 μ l kedalam masing-masing larutan baku
- Ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 750 μ l kedalam masing-masing larutan baku
- Diinkubasi dalam oven dengan suhu 45°C selama 15 menit
- Diukur absorbansi masing-masing larutan baku pada panjang gelombang 735 nm dengan spektrofotometer UV-Visible

3.6.2.5 Penentuan kadar polifenol total

- Didapatkan nilai absorbansi dari tiap seduhan sampel
- Didapatkan nilai absorbansi dari larutan standar
- Didapatkan hasil persamaan regresi setelah pengukuran dari nilai absorbansi larutan standar
- Dimasukkan nilai absorbansi tiap seduhan sampel kedalam persamaan regresi
- Dihitung kadar polifenol total
- Didapatkan nilai polifenol total dalam %

3.7 Metode Analisis

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah nilai absorbansi larutan standar asam galat pada masing-masing konsentrasi kemudian diperoleh persamaan regresi, dari persamaan regresi tersebut dapat di masukkan absorbansi sampel sehingga konsentrasi sampel dapat diketahui dalam ppm.

Persamaan regresi :

$$Y = a x + b$$

Keterangan :

Y = absorbansi sampel

a = slope

x = konsentrasi

b = intercept

Persamaan regresi dan juga nilai x (konsentrasi) pada persamaan regresi diatas didapatkan dari perhitungan pada microsoft excel yang disajikan dalam bentuk tabel, sehingga dapat dihitung kadar polifenol total dari hasil konsentrasi yang didapat dengan menggunakan rumus :

$$\text{kadar polifenol total (\%)} = \frac{x \times fp \times V}{W} \times 100\%$$

Keterangan :

x : konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)

fp : faktor pengenceran

V : volume (ml)

W : massa (μg)

Hasil kadar polifenol total dari masing-masing variasi suhu dan lama penyeduhan kemudian diplotkan menggunakan grafik garis agar dapat mempermudah penentuan lama dan suhu penyeduhan terhadap kadar polifenol pada seduhan teh hijau.

3.8 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

Data yang didapatkan dari analisis kuantitatif berupa absorbansi larutan standar asam galat, absorbansi larutan standar seduhan teh hijau, kurva kalibrasi yang digunakan untuk menentukan kadar polifenol total dalam seduhan teh hijau. Berdasarkan data yang ada, penyajian data berupa tabel dan kurva sebagai berikut :

a. Penyajian data Seduhan Teh Hijau

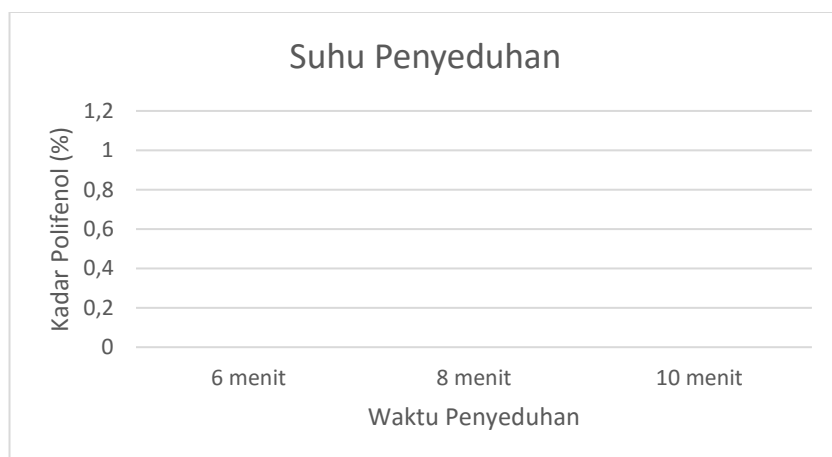
Tabel 3.1 Nilai Absorbansi Seduhan Teh Hijau

| Suhu Penyeduhan | Waktu Penyeduhan | Absorbansi |
|-----------------|------------------|------------|
| 70°C | 6 menit | |
| | 8 menit | |
| | 10 menit | |

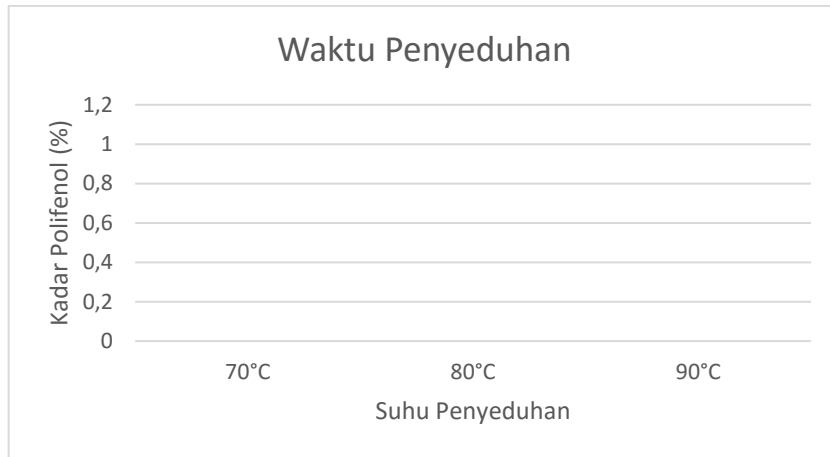
| | | |
|------|----------|--|
| 80°C | 6 menit | |
| | 8 menit | |
| | 10 menit | |
| 90°C | 6 menit | |
| | 8 menit | |
| | 10 menit | |

Tabel 3.2 Kadar Polifenol dalam Seduhan Teh Hijau

| Suhu Penyeduhan | Waktu Penyeduhan | Kadar Polifenol |
|-----------------|------------------|-----------------|
| 70°C | 6 menit | |
| | 8 menit | |
| | 10 menit | |
| 80°C | 6 menit | |
| | 8 menit | |
| | 10 menit | |
| 90°C | 6 menit | |
| | 8 menit | |
| | 10 menit | |



Gambar 3.1 Kurva Pengaruh Waktu Seduh terhadap Kadar Polifenol total dalam ekstrak seduhan teh hijau

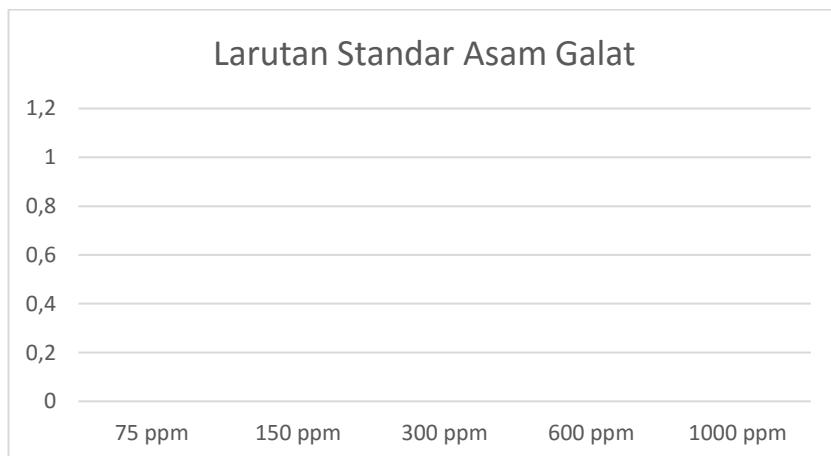


Gambar 3.2 Kurva Pengaruh Temperatur Seduh terhadap Kadar Polifenol total dalam ekstrak seduhan teh hijau

b. Penyajian data Larutan Standar Asam Galat

Tabel 3.3 Nilai Absorbansi Larutan Standar Asam Galat

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi |
|-------------------|------------|
| 75 | |
| 150 | |
| 300 | |
| 600 | |
| 1000 | |



Gambar 3.3 Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat