

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen merupakan penelitian yang dilakukan untuk mengetahui akibat yang ditimbulkan dari suatu perlakuan yang di sengaja.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah daun jinten (*Coleus amboinicus* Lour) yang diperoleh dari Desa Sumber Kedawung Kecamatan Leces Kabupaten Probolinggo.

3.2.2 Sampel

Sampel daun jinten (*Coleus amboinicus* Lour) yang digunakan adalah daun berbentuk bulat telur, ujung dan pangkalnya runcing, tepi daun bergerigi sampai beringgit kecuali pada bagian pangkalnya, panjang daun 5-7 cm dengan lebar 4-6 cm, dan jika daun diremas akan berbau harum. Metode pemilihan sampel adalah *purposive sampling* yaitu teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu. Teknik ini dapat diartikan sebagai suatu proses pengambilan sampel yang hendak diambil dan pemilihan sampel dilakukan dengan berdasarkan tujuan tertentu asalkan tidak menyimpang dari ciri-ciri sampel yang telah ditetapkan. Sampel daun yang digunakan adalah campuran daun muda dan daun tua.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada April 2022. Pengambilan sampel dilakukan di Desa Sumber Kedawung Kecamatan Leces Kabupaten Probolinggo. Sedangkan penelitian laboratorium dilakukan di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang yang berada di Jl. Besar Ijen No.77 di Kota Malang.

3.4 Bahan dan Alat

3.4.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun jinten (*Coleus amboinicus* Lour), aquadest, etanol 70%, etanol p.a (Merck), Alumunium(III)

klorida 10% (Sigma aldrich), natrium asetat 1M, air, dan standart kuersetin (Sigma aldrich)

3.4.2 Alat

Alat-alat yang dibutuhkan yaitu bejana maserasi, gelas beaker 100 ml (Pyrex), grinder (GETRA IC-06B), ayakan no.50 mesh, labu ukur 10 ml (Pyrex), labu ukur 25 ml (Pyrex), labu ukur 100 ml (Pyrex), pipet ukur 1 ml (Pyrex), pipet ukur 2 ml (Pyrex), neraca analitik (Ohaus), pisau, kertas saring whatman, gelas arloji, tampa, cawan porselen, spatula, bola hisap, oven (Memmert Oven U055), gelas ukur 100 ml (Iwaki), corong gelas, batang pengaduk, waterbath (Memmert), vial, kuvet, dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu)

3.5 Variabel

3.5.1 Variabel Independen (Bebas)

Variabel independen atau variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi metode pengeringan, yaitu pengeringan di bawah sinar matahari langsung, diangin-anginkan, dan di oven

3.5.2 Variabel Dependen (Terikat)

Variabel dependen atau variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid total

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
1	Pengeringan di bawah sinar matahari langsung	Metode pengeringan dengan sinar matahari langsung pada daun jinten	Mengamati simplisia daun jinten secara makroskopik	Simplisia berwarna hijau kecoklatan, memiliki bau yang khas	Nominal
2	Pengeringan dengan diangin-anginkan	Metode pengeringan dengan diangin-anginkan pada daun jinten	Mengamati simplisia daun jinten secara makroskopik	Simplisia berwarna hijau kecoklatan, memiliki bau yang khas	Nominal

3	Pengeringan dengan di oven	Metode pengeringan oven dengan suhu 50°C pada daun jinten	Mengamati simplisia daun jinten secara makroskopik	Simplisia berwarna hijau kecoklatan, memiliki bau yang khas	Nominal
4	Kadar Flavonoid Total	Menentukan kadar flavonoid total pada ekstrak daun jinten	Uji kuantitatif kadar flavonoid total dengan metode Spektrofotometri UV-Vis	Kadar flavonoid dinyatakan mgQE/g	Rasio

3.7 Metode Analisis

3.7.1 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dilakukan dengan membersihkan dan mencuci daun jinten dengan air mengalir. Daun jinten dirajang atau dipotong kecil-kecil untuk memudahkan proses pengeringan (Depkes RI, 195). Pengeringan dilakukan dengan tiga metode yaitu, pengeringan di bawah sinar matahari langsung, diangin-anginkan, dan di oven dengan suhu 50°C. Lalu simplisia dihaluskan dengan grinder dan diayak pada ayakan no.50 mesh.

3.7.2 Penetapan Kadar Air

Sampel ditimbang sebanyak 10 gram dan dimasukkan ke dalam wadah yang telah ditara. Kemudian dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang pada selang waktu 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (FHI, 2017).

3.7.3 Pembuatan Ekstrak

Serbuk kering simplisia sebanyak 23 gram dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Pelarut etanol 70% sebanyak 230 ml ditambahkan sambil diaduk hingga seluruh simplisia terbasahi merata dengan pelarut. Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam sambil sesekali diaduk. Ekstrak disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh dimasukkan dalam *waterbath* pada suhu 50°C sehingga didapat ekstrak kental (FHI, 2017).

3.7.4 Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II (2017).

- **Pembuatan Larutan Uji Ekstrak**

Ekstrak ditimbang $\pm 0,2$ gram dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer lalu ditambahkan 25 ml etanol p.a. Etanol p.a ditambahkan ke dalam labu ukur hingga tanda batas serta dilakukan replikasi hingga 3 kali.

- **Pembuatan Larutan Kuersetin**

Membuat larutan kuersetin induk dengan menimbang ± 10 mg standart kuersetin kemudian dilarutkan dengan 100 ml etanol p.a dalam labu takar. Membuat larutan standart dengan kadar berturut-turut 20, 40, 60, 80 mg/L.

- **Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Larutan kuersetin 100 mg/L dipipet sebanyak 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam wadah yang sesuai. Kemudian ditambahkan 1,5 ml etanol p.a, 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml natrium asetat 1M, dan 2,8 ml air. Larutan dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Larutan dimasukkan ke dalam kuvet secukupnya kemudian dilakukan analisis dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 350-450 nm untuk melihat absorbansi maksimum.

- **Penetapan Kadar Flavonoid Total**

Larutan uji dan masing-masing seri larutan kuersetin dipipet sebanyak 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam wadah yang sesuai. Masing-masing larutan ditambahkan 1,5 ml etanol p.a, 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml natrium asetat 1M, dan 2,8 ml air. Masing-masing larutan dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian dilakukan pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum.

3.8 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

3.8.1 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini didapatkan dari absorbansi larutan pembanding kuersetin, dibuat kurva kalibrasi, dan didapatkan persamaan regresi linier. Kadar total yang dihitung dengan memasukkan absorbansi ke dalam persamaan regresi linier $y = bx + a$ dan hasil dinyatakan dalam satuan mg/L. Selanjutnya untuk memperoleh kadar total flavonoid berdasarkan rumus:

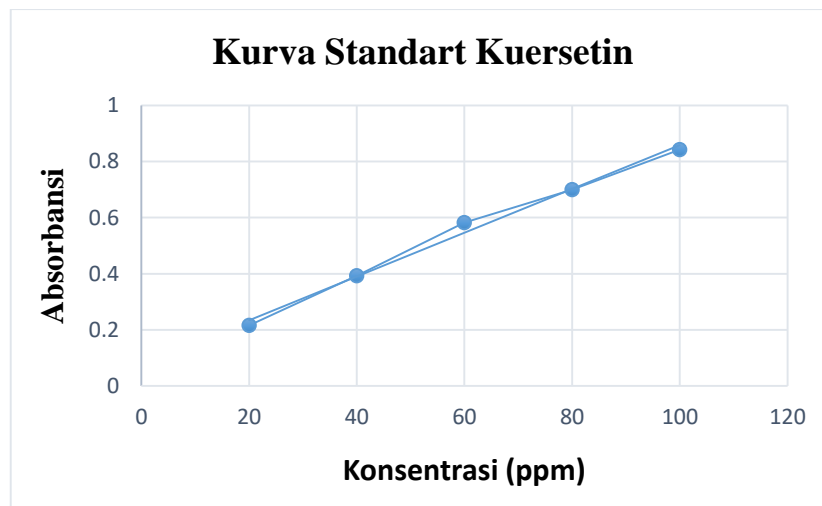
$$\text{Kadar Flavonoid Total} = \frac{\text{Konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times \text{Vol.sampel (L)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times \text{fp}$$

3.8.2 Penyajian Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan kurva sebagai berikut,

Tabel 3.2 Penyajian Data Absorbansi Standart Kuersetin

No.	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	Standart 1	20	
2	Standart 2	40	
3	Standart 3	60	
4	Standart 4	80	
5	Standart 5	100	



Gambar 3.1 Penyajian Kurva

Tabel 3.3 Penyajian Data Rata-Rata Kadar Flavonoid

Sampel	Replikasi	Konsentrasi (mg/L)	Kadar (mg QE / g ekstrak)	Rata-rata Kadar (mg QE / g ekstrak)
Daun jinten pengeringan matahari	1			
	2			
	3			
Daun jinten pengeringan angin-angin	1			
	2			
	3			

Daun jinten	1
pengeringan	2
oven	3

3.8.3 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan metode analisis deskriptif.