

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental, yang berfungsi untuk mengetahui pengaruh suatu variabel independen terhadap variabel dependen. Konsentrasi etanol yang digunakan dalam penelitian ini terdapat 3 konsentrasi etanol yang masing-masing akan diulang sebanyak 3 kali saat menentukan kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis, sehingga terdapat 9 unit percobaan.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April hingga Mei 2022 di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan adalah ayakan no.mesh 50, toples maserasi, bola hisap, pipet tetes, corong gelas, pipet ukur 1 mL, 2 mL, 10 mL, gelas ukur 100 mL, gelas Bekker 100 mL. gelas arloji, cawan porselen, batang pengaduk, spatula, labu ukur 10 mL, 25 mL, 250 mL. botol semprot, neraca analitik, waterbath, grinder, dan pektrofotometri UV-Vis.

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah bunga telang kering yang diperoleh dari salah satu penjual bunga telang kering, alumunium foil, kertas saring, etanol teknis 96%, etanol teknis 70%, baku kuersetin, AlCl₃ 10%, natrium asetat 1 M, dan aquades.

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi pelarut etanol pada ekstrak bunga telang.

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid total pada ekstrak bunga telang.

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala
Kadar Flavonoid Total	Kadar flavonoid dalam sampel yang dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin. Didapatkan dari perhitungan menggunakan rumus total flavonoid dengan memasukkan absorbansi sampel ke dalam sumbu y pada persamaan regresi linier kuersetin. (Desmiaty,2009).	Spektrofotometri UV-Vis	Rasio
Pelarut Etanol 50%, 60%, dan 70%	Digunakan etanol dengan konsentrasi 50%, 70%, dan 96% untuk membuat ekstrak bunga telang. Pelarut etanol mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman. Etanol juga tidak beracun dan berbahaya, selain itu etanol	Gelas ukur untuk mengencerkan etanol menurut rumus $M1 \times V1 = M2 \times V2$	Rasio

	juga mempunyai kepolaran tinggi sehingga mudah untuk melarutkan senyawa resin, lemak, minyak, asam lemak, karbohidrat dan senyawa organik lainnya (Munawarah & Handayani 2010).		
--	---	--	--

3.6 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan mengacu pada Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017. Berikut ini adalah perlakuan yang diuji cobakan:

P1 : Analisis flavonoid total ekstrak dengan pelarut etanol 50 %

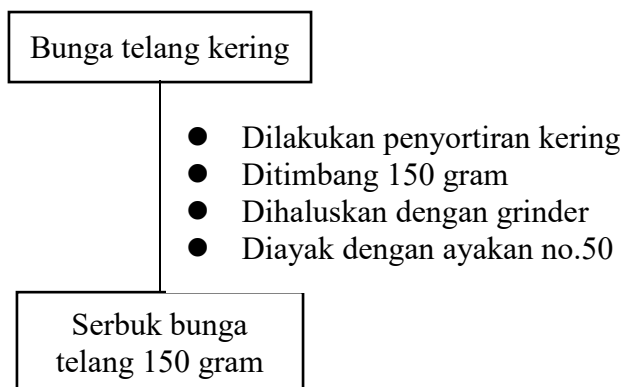
P2 : Analisis flavonoid total ekstrak dengan pelarut etanol 70 %

P3 : Analisis flavonoid total ekstrak dengan pelarut etanol 96 %

a. Preparasi Sampel

Sampel bunga telang kering yang diperoleh dari salah satu penjual bunga telang kering dalam kemasan dilakukan penyortiran kering. Lalu dihaluskan dengan grinder kemudian diayak dengan ayakan no. 50, hingga menghasilkan serbuk.

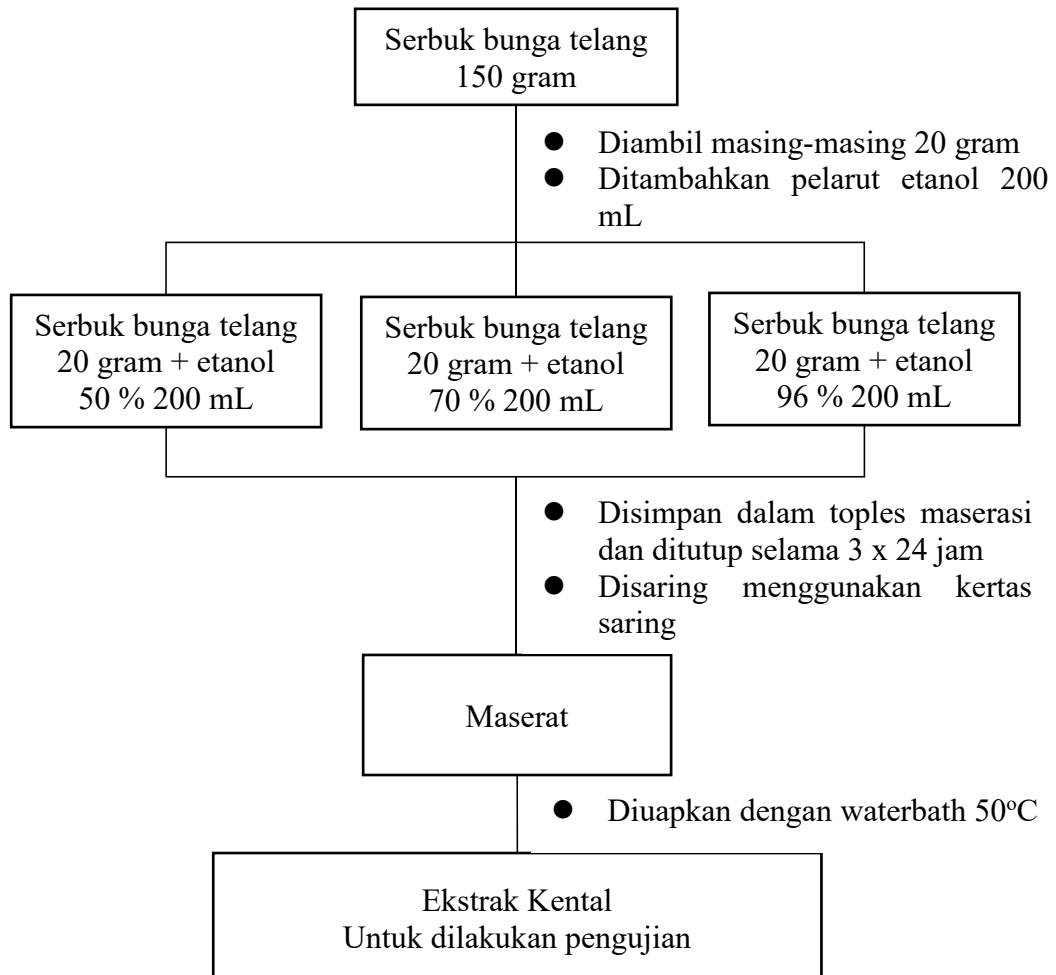
Skema Preparasi Sampel



b. Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea*) dilakukan dengan cara maserasi, yaitu mengambil serbuk bunga telang masing-masing sebanyak 20 gram ditambahkan dengan masing-masing pelarut etanol 50%, 70%, dan 96% sebanyak 200 mL. Kemudian disimpan dalam toples maserasi yang dilapisis alumunium foil dan ditutup selama 3 x 24 jam. Larutan tersebut disaring menggunakan kain flanel. Ekstrak cair yang didapat diuap dengan waterbath. Dengan suhu 50°C diperoleh ekstrak kental yang optimal (Wahyuni, Novita. 2019).

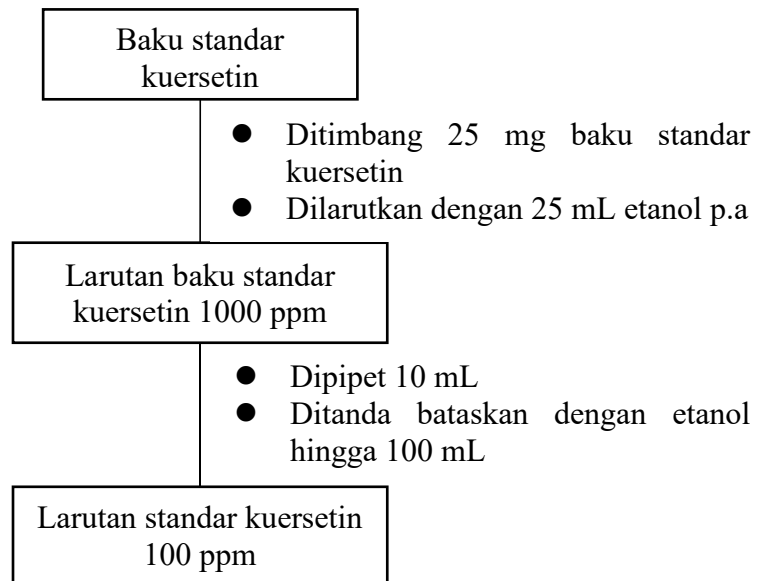
Skema Pembuatan Ekstrak



c. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Sebanyak 25 mg baku standar kuersetin ditimbang dan dilarutkan dengan 25 mL etanol p.a (1000 ppm). 10 mL larutan baku standar kuersetin (1000 ppm) dipipet dan dilarutkan dengan etanol hingga volumenya 100 mL agar didapat konsentrasi 100 ppm.

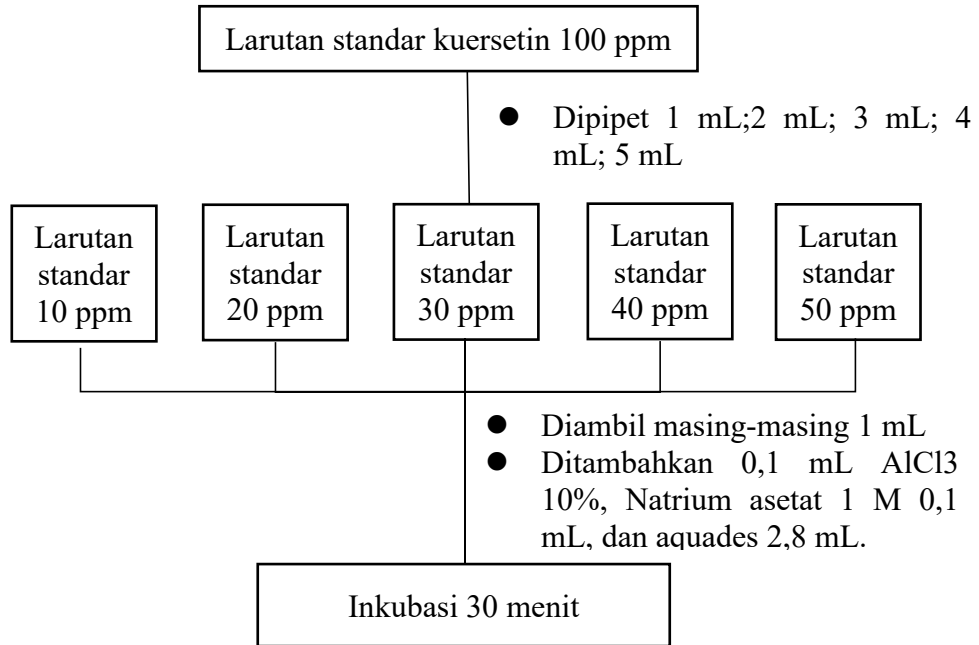
Skema Pembuatan Larutan Standar Kuersetin



d. Pembuatan Kurva Standar Kuersetin

Larutan standar kuersetin konsentrasi 100 ppm di pipet 1 mL, 2 mL, 3, mL, 4 mL, dan 5 mL untuk membuat larutan 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm. 1 mL dari masing-masing 5 konsentrasi larutan tersebut dipipet dan ditambahkan 0,1 mL AlCl₃ 10%, Natrium Asetat 1 M 0,1 mL serta aquades 2,8 mL. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar.

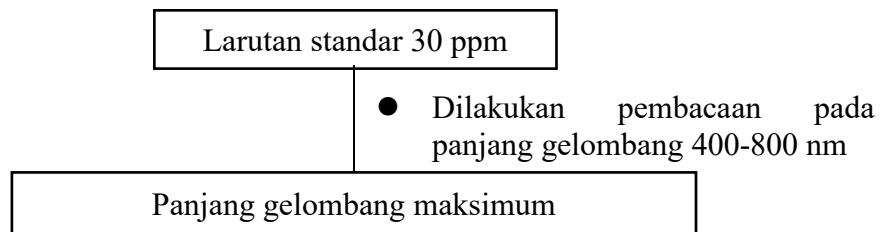
Skema Pembuatan Kurva Standar Kuersetin



e. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan larutan standar 30 ppm di lakukan pembacaan pada range panjang gelombang 400-800 nm. Hasil running tersebut menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea*).

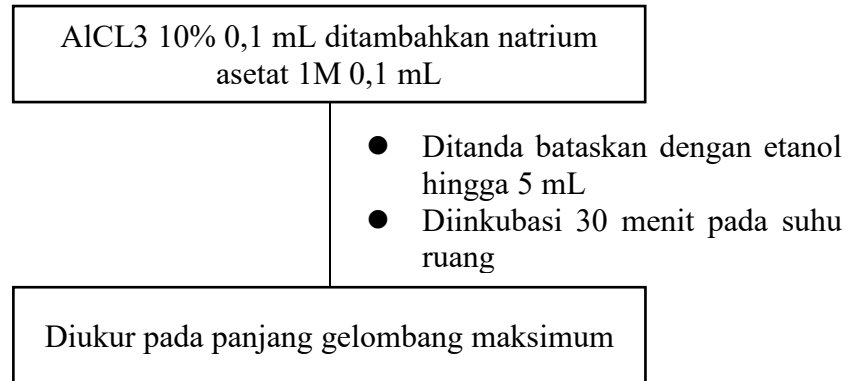
Skema Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin



f. Pengukuran Serapan Blanko

Dipipet AlCl_3 10% sebanyak 0,1 mL ditambahkan natrium asetat 1M 0,1 mL, lalu ditanda bataskan dengan etanol hingga 5 mL. diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang maksimum.

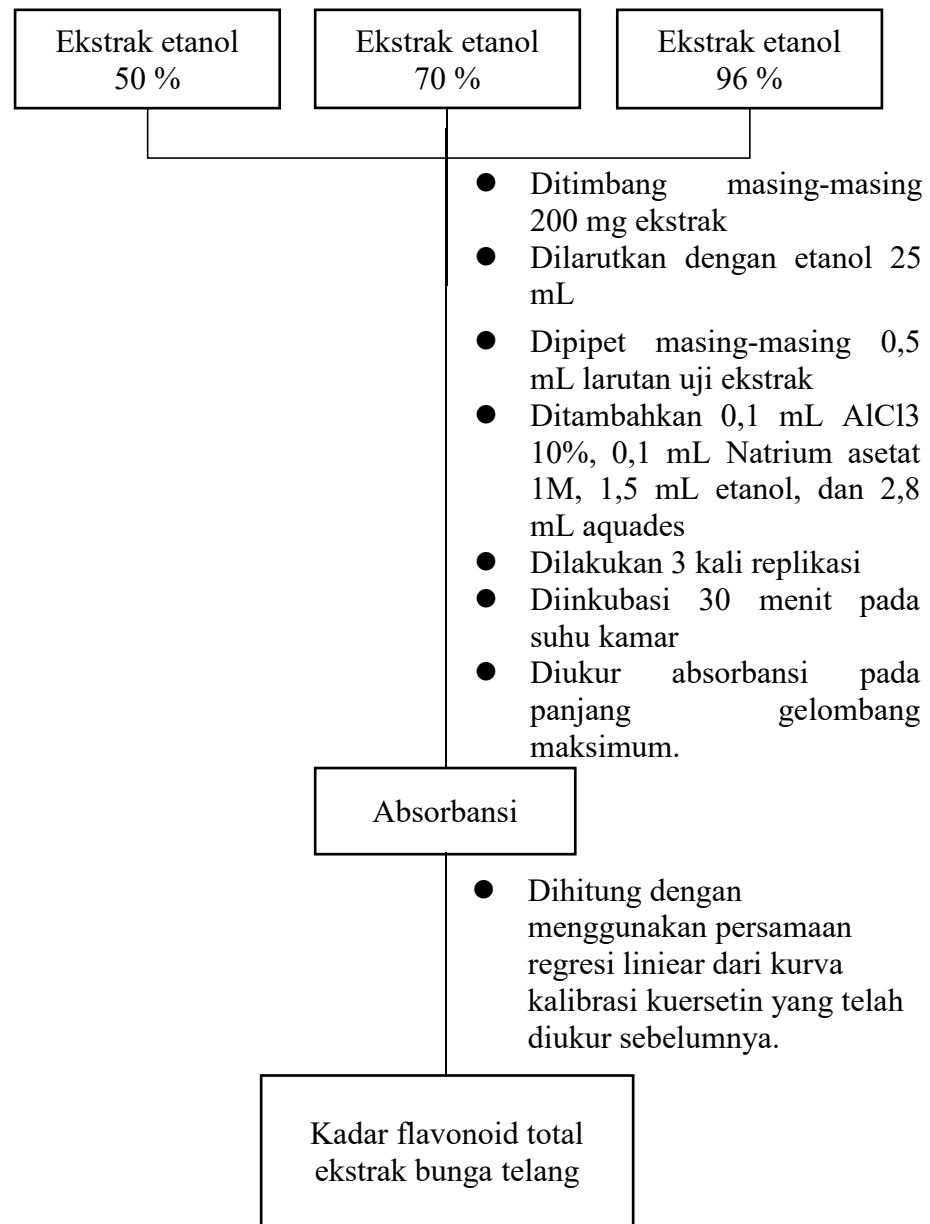
Skema Pengukuran Serapan Blanko



g. Penentuan Kadar Flavonoid Total

Ditimbang masing-masing 200 mg ekstrak etanol 50%, 70%, dan 96%, dilarutkan dalam 25 mL etanol. Dari larutan tersebut dipipet masing-masing sebanyak 0,5 mL larutan uji ekstrak etanol 50%, 70%, dan 96%. Ditambahkan 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL Natrium Asetat 1 M, 1,5 mL etanol, dan 2,8 mL aquades. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansinya ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Sampel dibuat dalam tiga replikasi untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi. Nilai pengukuran absorbansi dari ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% bunga telang, dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi kuersetin yang telah diukur sebelumnya.

Skema Penentuan Kadar Flavonoid Total



3.7 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

Data yang diperoleh adalah kadar flavonoid total ekstrak bunga telang dengan masing-masing konsentrasi pelarut etanol. Data dianalisis menggunakan metode statistika Uji *One Way Anova* yang dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh variasi konsentrasi pelarut terhadap kadar flavonoid total ekstrak bunga telang dengan membandingkan kadar flavonoid dengan konsentrasi

pelarut yang digunakan. Dikatakan terdapat pengaruh konsentrasi pelarut terhadap kadar flavonoid total apabila menunjukkan nilai signifikan pada $P < 0,05$.