

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen di laboratorium dengan menggunakan rancangan sederhana, yaitu untuk menganalisis kadar flavonoid pada daun sintrong secara spektrofotometri UV-Vis.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan bulan Februari 2021 di Laboratorium Kimia kampus Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Alat dan Bahan

• Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu ukur, beaker glass, pipet ukur, spatula, pipet tetes, aluminium foil, batang pengaduk, neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis, kuvet kuarsa, corong kaca, kertas saring, panci, toples, stirrer, hot plate, bola hisap.

• Bahan

Daun sintrong, aquadest, Aluminium (III) klorida 10%, Natrium asetat 1 M, etanol 96%, etanol P, kertas saring, kuersetin, air.

3.4 Variabel Penelitian

a) Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi perlakuan terhadap daun sintrong yaitu daun sintrong mentah, daun sintrong rebus, daun sintrong tumis.

b) Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid

3.5 Definisi Operasional Variabel

No	Nama Variabel	Definisi	Metode dan Alat Pengukuran	Skala Pengukuran
1.	Ekstrak daun sintrong	Cairan kental yang didapatkan dari proses ekstraksi daun sintrong mentah, rebus, dan tumis	Mentah, direbus, dan ditumis (menumisnya tanpa minyak, sampel langsung dimasukkan wajan) Maserasi, kompor, <i>Hot Plate</i>	Nominal
4.	Kadar flavonoid total	Kandungan zat aktif flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun sintrong yang diukur sebagai kuersetin	Pembacaan serapan, Spektrofotometri UV-Vis	Ordinal

1.6 Metode Penelitian

a) Pengolahan Sampel

- Diambil daun sintrong yang masih muda dibuang batangnya, ditimbang sebanyak 100 gram dan dicuci dengan air mengalir, selanjutnya direbus dengan air secukupnya selama 20 menit atau sampai matang.

- Diambil daun sintrong yang masih muda dibuang batangnya, ditimbang sebanyak 100 gram dan dicuci dengan air mengalir, selanjutnya ditumis \pm 25 menit atau matang.

b) Ekstraksi Sampel

Pembuatan ekstrak daun sintrong dilakukan dengan cara maserasi. Maserasi dilakukan untuk setiap perlakuan daun sintrong yaitu daun sintrong mentah, daun sintrong yang direbus, dan daun sintrong yang ditumis. Berikut adalah prose maserasi yang dilakukan :

1. Sebanyak 100 gram daun sintrong mentah dimasukkan ke dalam etanol 96% sebanyak 1000 mL (1:10) dan didiamkan selama 3 x 24 jam dalam suhu kamar (Anggraeni, 2017). Ekstrak disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya, filtrat dievaporasi pada suhu 40°C sampai tidak ada pelarut yang menetes lagi sehingga didapatkan ekstrak kental. (Gress, 2018 yang dimodifikasi).
2. Sebanyak 100 gram daun sintrong rebus dimasukkan ke dalam etanol 96% sebanyak 1000 mL (1:10) dan didiamkan selama 3 x 24 jam dalam suhu kamar (Anggraeni, 2017). Ekstrak disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya, filtrat dievaporasi pada suhu 40°C sampai tidak ada pelarut yang menetes lagi sehingga didapatkan ekstrak kental. (Gress, 2018 yang dimodifikasi).
3. Sebanyak 100 gram daun sintrong tumis dimasukkan ke dalam etanol 96% sebanyak 1000 mL (1:10) dan didiamkan selama 3 x 24 jam dalam suhu kamar (Anggraeni, 2017). Ekstrak disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya, filtrat dievaporasi pada suhu 40°C sampai tidak ada pelarut yang menetes lagi sehingga didapatkan ekstrak kental. (Gress, 2018 yang dimodifikasi).

c) Pengujian Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Sintrong

Sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia metode pengujian yang digunakan untuk menguji flavonoid:

- **Larutan uji untuk ekstrak**

Larutan uji ditimbang seksama \pm 0,2 gr ekstrak, dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambahkan 25 ml etanol P, diaduk selama 30 menit dengan pengaduk magnetik. Disaring ke dalam labu ukur 25 ml, ditambahkan etanol P melalui penyaring sampai tanda batas.

- **Larutan pembanding**

Larutan standar/pembanding ditimbang saksama ± 10 mg kuersetin, dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml, dilarutkan dan ditambahkan etanol P sampai tanda batas. Dibuat seri pengenceran larutan standar/pembanding dengan kadar berturut-turut 5, 10, 15, 20, 25 $\mu\text{g/ml}$.

- **Prosedur penetapan kadar**

Dipipet secara terpisah 0,5 ml larutan uji dan masing-masing seri larutan pembanding ke dalam wadah yang sesuai, ditambahkan pada masing-masing 1,5 ml etanol P, 0,1 ml aluminium klorida P 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M dan 2,8 ml air. Dikocok dan diamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Diukur serapan pada panjang gelombang 415 nm. Dilakukan pengukuran dengan cara yang sama, tanpa penambahan aluminium klorida. Dibuat kurva kalibrasi dan hitung kadar larutan uji.

1.7 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

Data yang diperoleh merupakan data primer yang didapatkan dari absorbansi larutan pembanding kuersetin, dibuat kurva kalibrasi dan diperoleh persamaan regresi linear. Kadar total dari senyawa dihitung dengan memasukkan kedalam persamaan regresi linear $y = ax + b$, yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding dan hasil dinyatakan dalam satuan mg dalam gram.