

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 yang lainnya. Sedangkan desain penelitian yang digunakan adalah komparatif, yaitu membandingkan data kadar flavonoid pada air perasan jeruk nipis dengan variasi tingkat kematangan yang berbeda.

1.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 13 - 24 Januari 2022 yang bertempat di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

1.3 Populasi dan Sampel

a. Populasi

Buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*) yang berada di desa Bendungrejo Kecamatan Brebek-Nganjuk, Kabupaten Nganjuk Jawa Timur.

b. Sampel

Air perasan buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*) yang merupakan hasil perasan dari buah jeruk nipis dengan tiga tingkat kematangan yang berbeda, yaitu buah jeruk nipis muda berwarna hijau sempurna, buah jeruk nipis setengah matang berwarna hijau kekuningan, dan buah jeruk nipis matang berwarna kuning sempurna.

1.4 Alat dan Bahan

a. Alat:

1. Timbangan analitik,
2. Alat perasan jeruk,
3. Kaca arloji,

4. Spatula,
5. Corong gelas,
6. Beaker glass,
7. Botol kaca gelap,
8. Batang pengaduk,
9. Labu ukur 100 mL,
10. Labu ukur 10 mL,
11. Pipet volume,
12. Mikropipet,
13. Pipet tetes,
14. Vial 10 ml,
15. Spektrofotometri UV-Vis.

b. Bahan:

1. Sampel (buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*) dengan tiga tingkat kematangan berbeda),
2. Kuersetin,
3. AlCl_3 10%,
4. Natrium asetat 1 M,
5. Etanol 96%,
6. Aquadest p.a.

1.5 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah tingkat kematangan pada buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*).

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid pada air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*).

1.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi operasional variabel

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala
Kadar Flavonoid pada air perasan buah jeruk nipis.	Jumlah flavonoid total setara dengan kuersetin pada air perasan jeruk nipis dengan tingkat kematangan yang berbeda.	Spektrofotometri UV-Vis	Rasio
Tingkat kematangan buah jeruk nipis.	Buah jeruk nipis dengan tiga tingkat kematangan yang berbeda, yaitu jeruk nipis muda, setengah matang, dan matang.	Diukur dengan melihat perbedaan warna pada kulit buah jeruk nipis.	Ordinal

1.7 Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*) dengan tiga tingkat kematangan berbeda yang akan diambil dari Kabupaten Nganjuk tepatnya di Desa Bendungrejo Kecamatan Brebek. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara memetik secara langsung dari pohonnya saat buah masih segar lalu dikumpulkan dan sudah dilakukan determinasi tanaman (Ramadhani, 2020).

2. Preparasi Sampel

Buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*) dengan tingkat kematangan berbeda yang telah dikumpulkan diambil sarinya dengan cara diperas menggunakan alat perasan. Sebelum sari buah jeruk nipis diambil, buah jeruk nipis dibersihkan terlebih dahulu dengan air mengalir, lalu didiamkan

beberapa saat dan menunggu hingga kulit permukaannya kering. Setelah itu, dibelah buah jeruk nipis menjadi 2 bagian sama besar dan diperas menggunakan alat perasan yang telah disiapkan. Sari buah jeruk nipis yang telah diambil kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat dan berwarna gelap agar mutu sari buah terjaga (Ramadhani, 2020).

3. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Sebanyak 10 mg kuersetin ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml pelarut etanol 96% sampai tanda batas sebagai larutan standar kuersetin 100 ppm (Syamsul dkk, 2019). Larutan induk kemudian dibuat larutan standar dengan deret konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Masing-masing larutan diencerkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 10 ml dan dihomogenkan (Ramadhani, 2020). Sebanyak 0,5 ml larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi diambil dan direaksikan dengan 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml larutan natrium asetat 1 M dan 2,8 ml air kemudian dikocok. Pembacaan absorbansi kurva baku menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dilakukan setelah larutan didiamkan selama 30 menit (Depkes RI, 2017).

4. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan AlCl_3 10% dipipet sebanyak 0,1 ml ditambahkan sebanyak 0,1 ml larutan natrium asetat 1 M dan 2,8 ml air pada labu ukur 10 ml dan dibataskan dengan pelarut etanol 96%.

5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan dengan 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M, dan 2,8 ml air kemudian dikocok. Dilakukan pembacaan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 350-450 nm (Das, dkk. 2014).

6. Penetapan Kadar Flavonoid Total Sari Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia s*)

Larutan uji air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*) dengan tiga tingkat kematangan yang berbeda masing-masing diambil sebanyak 5 ml atau yang setara dengan 5000 mg diencerkan dengan etanol 96% sampai 10 ml. Diambil masing-masing sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan dengan 0,1 ml AlCl₃ 10% dan 0,1 ml natrium asetat 1 M serta 2,8 air kemudian dikocok. Didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit. Dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Pembacaan absorbansi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pada tiap-tiap sampel (Depkes RI, 2017).

1.8 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini merupakan data primer dari absorbansi larutan pembanding kuersetin, dibuat kurva kalibrasi dan diperoleh persamaan regresi linear. Konsentrasi dari senyawa dihitung dengan memasukkan kedalam persamaan regresi linear $y = ax + b$ yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding dan hasil dinyatakan dalam satuan mg/L. Kemudian untuk memperoleh kadar total flavonoid dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Flavonoid (\%)} = \frac{C \times V \times Fp \times 10^{-3}}{m} \times 100$$

Dimana:

C = Kesetaraan kuersetin (mg/L)

V = Volume total ekstrak etanol (mL)

Fp = Faktor pengenceran

m = Berat sampel (mg)

Sehingga dihasilkan kadar flavonoid total pada masing-masing tingkat kematangan buah jeruk nipis dengan tiga replikasi. Penyajian data menggunakan tabel seperti pada tabel 3.2.

Tabel 3.2 Contoh penyajian data hasil penelitian

No.	Tingkat Kematangan Buah Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i> s)	Replikasi	Konsentrasi Flavonoid (mg/L)	Rata-rata Kadar Flavonoid (%)
1.	Jeruk nipis muda (hijau sempurna)	1		
		2		
		3		
2.	Jeruk nipis setengah matang (hijau kekuningan)	1		
		2		
		3		
3.	Jeruk nipis matang (kuning sempurna)	1		
		2		
		3		