

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis Penelitian yang digunakan adalah deskripsi 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.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2022 yang bertempat di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Populasi dan Sampel

a. Populasi

Bunga telang (*Clitoria ternatae*) yang berada di desa Tiris, Kabupaten Probolinggo, Jawa Timur.

b. Sampel

Bunga telang (*Clitoria ternatae*) yang digunakan adalah bunga telang mekar yang berwarna ungu terang dengan warna putih kekuningan ditengahnya.

3.4 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, timbangan analitik, kaca arloji, spatula, corong gelas, beaker glass 50 ml merk iwaki, beaker glass 100 ml merk iwaki, batang pengaduk, gelas ukur 100 ml merk iwaki pyrex, labu ukur 100 ml merk pyrex, labu ukur 25 ml merk pyrex, labu ukur 10 ml merk pyrex, pipet ukur 1 ml merk pyrex, pipet tetes, hot plate merk thermo, bola hisap, grinder, ayakan 100 mesh, panci infusa, vial 10 ml, kertas saring, spektrofotometer UV-Vis.

b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu, ekstrak bunga telang, serbuk kuersetin, serbuk aluminium klorida 10%, serbuk natrium asetat p.a, etanol p.a 10%, aquadest.

3.5 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbedaan waktu perebusan pada ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) yang meliputi 5 menit, 10 menit, dan 15 menit dengan masing-masing suhu yang digunakan adalah 45°.

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid pada ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*).

3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 1 Definisi operasional variabel

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala
Flavonoid ekstrak bunga telang	Jumlah flavonoid setara dengan kuersetin pada air rebusan ekstrak bunga telang dengan perbedaan waktu perebusan	Spektrofotometri UV-Vis	Rasio
Perbedaan waktu perebusan pada ekstrak bunga telang	Ekstrak bunga telang yang direbus dengan kondisi suhu 45° dan perbedaan lama waktu perebusan, yaitu 5 menit, 10 menit, dan 15 menit	Termometer dan stopwatch	Nominal

3.7 Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun bunga telang (*Clitoria ternatae*) yang diperoleh dari desa Tiris, Kabupaten Probolinggo.

2. Preparasi Sampel

Daun bunga telang dipetik dan dipilih dari tingkat kesegaran dan warna serta disortasi dengan memisahkan daun telang yang layak dijadikan bahan baku sehingga menghasilkan bahan yang berkualitas. Setelah itu, dicuci dengan air bersih dan dilakukan pemotongan dengan cara merajang kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama 7 hari. Setelah kering dilakukan sortasi kering, ditandai dengan rapuhnya daun ketika diremas. Kemudian dihaluskan dengan menggunakan grinder lalu diayak (Hapsari, 2020).

3. Pembuatan Ekstrak Bunga Telang

Sebanyak 2 gram serbuk bunga telang direbus dengan 100 ml air, dengan waktu perebusan 5 menit, 10 menit, dan 15 menit pada masing-masing suhu 45°. Kemudian disaring dan didinginkan (Hapsari, 2020).

4. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin 400 ppm

Ditimbang sebanyak 10 mg baku standar kuersetin dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml. Kemudian dilarutkan dengan etanol hingga tanda batas (Farmakope Herbal II, 2017).

5. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Larutan baku induk dibuat larutan standar dengan dipipet sebanyak 0,3 ml, 0,625 ml, 1,25 ml, 1,875 ml, dan 2,5 ml untuk dilarutkan dalam labu ukur 10 ml dengan etanol untuk mendapat konsentrasi 15 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm (Farmakope Herbal II, 2017).

6. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutan induk kuersetin dipipet sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam vial lalu ditambahkan 1,5 ml etanol p.a, 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M, dan 2,8 ml aquadest. Larutan dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian dilakukan analisis dengan

spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang 400-500 nm untuk melihat absorbansi maksimum (Farmakope Herbal II, 2017).

7. Penentuan Absorbansi Larutan Standar Kuersetin

Dipipet tiap-tiap larutan standar kuersetin sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam vial lalu ditambahkan 1,5 ml etanol p.a, 0,1 ml AlCl₃ 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M, dan 2,8 ml aquadest. Larutan dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum (Farmakope Herbal II, 2017).

8. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*)

Larutan uji dipipet sebanyak 0,5 ml dan ditambahkan dengan 1,5 ml etanol, 0,1 ml AlCl₃ 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M dan aquadest 2,8 ml. Larutan dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang lalu diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (Farmakope Herbal II, 2017).

3.8 Pengolahan dan Penyajian Data

Kadar flavonoid dihitung dari nilai absorbansi yang diperoleh dari 5 konsentrasi kuersetin dengan persamaan regresi linier : $y = ax + b$ dan hasil dinyatakan dalam satuan mg/L

Dimana : y = luas kurva

x = konsentrasi sampel

a = intercept (perpotongan garis)

b = slope (kemiringan)

Kadar flavonoid dalam sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar flavonoid } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right) = \frac{\text{Konsentrasi } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times \text{Volume sampel (L)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times \text{fp}$$

Sehingga dihasilkan kadar flavonoid total pada masing-masing tingkat perebusan ekstrak bunga telang dengan tiga replikasi. Penyajian data seperti pada tabel 3.2.

Tabel 3. 2 Contoh penyajian data hasil penelitian

No	Waktu Perebusan Ekstrak Bunga Telang	Replikasi	Konsentrasi Flavonoid (mg/L)	Rata-rata Kadar Flavonoid (mg QE/g ekstrak)
1.	5 menit	1		
		2		
		3		
2.	10 menit	1		
		2		
		3		
3.	15 menit	1		
		2		
		3		