

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium untuk mengetahui kandungan alkaloid dari ekstrak teh selada romaine metode Spektrofotometer Uv-vis.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Dilakukan pada tanggal 14 Februari 2022 di Laboratorium Prodi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Ma Chung 65151.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Timbangan analitik, seperangkat alat maserasi, rotary evaporator, gelas ukur, gelas kimia, labu ukur, kertas saring, cawan porselen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, mikro pipet tetes, dan spektrofotometer UV-Vis.

2. Bahan

Selada Romaine, Etanol p.a, Etanol teknis, Akuades, Bromocresol Green (BCG), Dapar posfat (pH 4,7), kafein, dan kloroform.

3.4 Populasi dan Sampling

1. Populasi Penelitian

Selada Romaine (*lactuca Sativa*) dari wilayah kec. Batu, Kota Batu yang didapatkan melalui petani dan di ekstraksi di Laboratorium Prodi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Ma Chung 65151.

2. Sampel Penelitian

Selada Romaine (*lactuca Sativa*) yang dikeringkan selama 16-18 jam dan dimaserasi dengan etanol 50%, 70% dan 96% selama 3 hari.

3.5 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas, merupakan variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel dependen (Sugiono, 2017). Dalam penelitian ini variasi bebasnya adalah kadar ekstrak etanol pada Selada Romaine (*lactuca Sativa*).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Sugiono, 2017). Dalam penelitian ini variasi terikatnya adalah alkaloid pada ekstrak teh Selada Romaine (*lactuca Sativa*).

3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 1. Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Metode Ukur	Skala Ukur
1.	Kadar ekstrak etanol	Selada romaine (<i>Lactuca Sativa</i>) yang di maserasi pada cairan penyari etanol 50%, 70% dan 96% dan diuapkan dengan rotary evaporator suhu 40 C.	Rendemen	Rasio
2.	Alkaloid	Salah satu jenis senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam jaringan tumbuhan dan hewan yang bersifat alkali yang mengandung atom nitrogen (N) dengan struktur lingkaran yang heterosiklik atau aromatis	Spektrofotometri UV-Vis	Nominal

3.7 Metode Penelitian

1. Persiapan Bahan Selada Romaine.

Daun selada romaine yang telah dipanen disortasi basah, selanjutnya dicuci bersih dengan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel.

2. Pelayuan

Waktu untuk melayukan harus cukup lama, sehingga reaksi-reaksi kimia dapat berlangsung dengan leluasa yaitu antara 16-18 jam dalam keadaan normal. Selama proses pelayuan berlangsung dilakukan pembalikan terhadap daun selada romaine sebanyak 2 hingga 3 kali agar pelayuan terjadi secara merata antara permukaan atas dan permukaan bawah daun (Hamdani dkk, 2009). Proses pelayuan daun selada romaine dilakukan selama 18 jam pada suhu ruang.

3. Penghalusan Bahan

Simplisia kering ditimbang dan dihaluskan menggunakan milling blender untuk memperkecil ukuran daun agar tercapai ukuran yang sesuai dengan ukuran grade-grade teh bubuk komersial (Setiawan, 2012). Teh Herbal dibuat serbuk dengan cara diblender kemudian diayak dengan ayakan ukuran 40 mesh. Masing-masing sebanyak 50 g simplisia diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 50%, 70% dan 96% selama 3 hari dengan pengadukan tiga kali sehari. Kemudian disaring dan diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 40 C dan dihitung rendemen masing-masing konsentrasi ekstrak etanol (Marpaung & Romelan, 2017).

4. Pembuatan Larutan Baku Kafein.

250 mg kafein dilarutkan dengan akuades panas dan dimasukkan ke dalam labu ukur 250 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dipipet sebanyak 2,5 mL dan ditambahkan akuades ke dalam labu ukur 25 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm (Arwangga dkk, 2016).

5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kafein.

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan kafein menggunakan spektrofotometer UV Vis pada efektif panjang gelombang 200-400 nm. Hasil panjang gelombang maksimum standar baku kafein berada pada 273 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol selada romaine.

6. Pembuatan Kurva Standart Kafein.

Mengambil 0,1; 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; dan 1,5 mL dari larutan standar kafein 100 ppm dan diencerkan sampai 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar berturut-turut adalah 1; 3; 6; 9; 12; dan 15 ppm. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 273 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV Vis (Arwangga dkk, 2016).

7. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Selada Romaine 100 ppm.

Ditimbang 10 mg ekstrak selada romaine dan dilarutkan sampai 10 mL masing-masing konsentrasi etanol, kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Lalu dipipet sebanyak 1 mL dan ditambah masing-masing etanol sampai dengan 10 mL. lalu dikocok sampai homogen sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm.

8. Pembuatan Larutan Ekstrak Selada Romaine.

Dipipet 0,1; 0,3; 0,6; 0,9; 1,2 dan 1,5 mL larutan induk ekstrak masing-masing ke labu ukur ukuran 10 mL. Lalu ditambahkan dengan etanol konsentrasi 50%, 70% dan 96% masing-masing hingga tanda batas untuk membuat masing-masing konsentrasi ekstrak 1; 3; 6; 9; 12; dan 15 ppm.

9. Penentuan Kadar Alkaloid Total Selada Romaine.

Mengambil 2 mL ekstrak selada romaine dari masing-masing konsentrasi ekstrak. Lalu ditambahkan dapar posfat dan larutan BCG. Kemudian diekstraksi dengan kloroform sebanyak tiga kali menggunakan vortex. Diambil fase kloroform dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan kloroform sampai batas volume. Lalu diukur absorbansi pada panjang gelombang 273 nm.

10. Analisa Data.

Penentuan kadar alkaloid total dilakukan dengan mencari nilai regresi dan perhitungan koefisien variasi regresi linier. Setelah itu dilakukan perhitungan kadar alkaloid total ekstrak etanol selada romaine dengan menggunakan rumus $y = bx + a$. Dari rumus tersebut maka akan diperoleh kadar alkaloid total dan nilai Standar Deviasi (SD).