

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan atau metode deskriptif yang bertujuan untuk mendeskripsikan tentang pengaruh waktu sangrai kopi biji salak terhadap metabolit sekunder. Penelitian ini menggunakan dua variabel yaitu variabel bebas dan terikat. Pada variabel bebas peneliti menggunakan kopi biji salak yang sudah di sangrai dengan variasi waktu 30, 45, dan 60 menit, sedangkan variabel terikat penelitian ini adalah skrining fitokimia yang bertujuan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder kopi biji salak yang di sangrai dengan variasi waktu 30,45 dan 60 menit serta metode KLT yang bertujuan untuk mengetahui nilai atau harga RF metabolit sekunder. Tahap penelitian meliputi pengumpulan biji salak, pembuatan simplisia, ekstraksi dan uji fitokimia.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi yang dimaksud di sini adalah kopi dari biji salak.

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel yang akan di ambil untuk penelitian ini adalah kopi biji salak yang telah di sangrai dengan waktu 30, 45 dan 60 menit.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan di laksanakan di Laboratorium Farmakognosi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian akan dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2019.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel merupakan batasan ruang lingkup secara operasional tentang bagaimana cara melakukan pengukuran dari variabel yang diteliti. Variabel ini terbagi menjadi dua yaitu variabel bebas dan terikat. Variabel bebas merupakan variabel yang bisa mempengaruhi atau membuat perubahan. Sedangkan variabel terikat adalah Faktor-faktor yang nantinya akan diukur dan diamati oleh peneliti untuk menentukan ada tidaknya pengaruh dari variabel bebas.

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Sub variabel	Definisi Operasional Variabel	Indikator	Alat Ukur	Hasil
Variabel bebas: waktu sangrai kopi biji salak 30, 45 dan 60 menit	1. Kopi biji salak setelah di sangrai 30 menit	Biji salak yang sudah di potong-potong, di keringkan, di sangrai dengan menggunakan waktu 30, 45 dan 60 menit, di haluskan dan di ayak.	Waktu	Jam	Menit
	2. Kopi biji salak setelah sangrai 45 menit				
	3. Kopi biji salak setelah di sangrai 60 menit.				
Variabel Terikat: kandungan metabolit sekunder kopi biji salak yang di sangrai dengan waktu 30, 45 dan 60 menit.	1. Skrining fitokimia	Mengetahui pengaruh kandungan metabolit sekunder pada serbuk biji salak yang di sangrai	Reaksi warna	Larutan pereaksi atau reagen	Reaksi warna
	2. KLT	Mengetahui niali RF pada serbuk biji salak yang sudah di sangrai dengan waktu penyangraian yang berbeda.		Lampu UV	Nilai RF

3.5 Instrument Penelitian

Instrument penelitian merupakan alat dan bahan yang akan digunakan untuk penelitian. Berikut di bawah ini akan dijelaskan mengenai alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian.

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah kompor, oven kompor, oven listrik, alu untuk menumbuk, chamber, tabung reaksi, timbangan, ayakan, pisau, lempeng KLT, panci infundasi, corong gelas, erlemeyer, termometer infrared, pipet volum, pipet ukur.

3.5.2 Bahan

Bahan yang di pakai untuk membuat kopi biji salak tentunya adalah biji salak sebanyak 1 kg setiap proses penyangraian. Jadi total biji salak yang di butuhkan sebanyak 3 kg, larutan pereaksi, kertas saring, kain flannel, aquadest, pelarut yang di perlukan untuk eluen fase gerak KLT, reagen untuk skrining fitokimia.

3.6 Pengumpulan Data

3.6.1 Prosedur Kerja

3.6.1.1 Pembuatan Kopi Biji Salak

1. Biji salak yang sudah terkumpul kemudian di potong-potong, di cuci dan di keringkan di bawah sinar matahari sampai kering.
2. Biji salak yang sudah kering kemudian di timbang masing-masing sebanyak 1 kg.

3. Biji salak yang sudah di timbang masing-masing sebanyak 1 kg di sangrai di atas kompor dengan suhu 150°C dengan variasi waktu yang berbeda-beda yaitu dengan waktu 30, 45 dan 60 menit.
4. Biji salak kemudian di tumbuk dan di ayak hingga halus.
5. Serbuk biji salak di ekstraksi menggunakan metode ekstraksi infundasi.

3.6.2 Skrining Fitokimia

3.6.2.1 Uji Flavonoid

Sampel di ambil sebanyak 2 ml dan di panaskan kurang lebih 5 menit, setelah di panaskan sampel di beri 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Apabila terbentuk warna kuning jingga sampai merah maka sampel mengandung flavonoid (Ergina, 2014).

3.6.2.2 Uji Tanin

Sampel di ambil sebanyak 2 ml kemudian di panaskan selama 5 menit setelah itu di tetesi dengan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Apabila larutan berwarna coklat kehijauan atau biru kehitaman maka positif mengandung senyawa tanin (Ergina, 2014).

3.6.2.3 Uji Alkaloid

1. Sebanyak 5 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian di tambahkan asam sulfat 2N lalu di kocok sampai terbentuk 2 lapisan.
2. Diambil lapisan paling atas dan di bagi menjadi 3 tabung.

Tabung 1 : Di tetesi dragendrof 2-3 tetes hasil positif di tunjukkan dengan adanya endapan atau kekeruhan (hitam)

Tabung 2 : Di tetesi pereaksi mayer 2-3 tetes, hasil positif di tunjukkan dengan adanya endapan putih atau kekuningan.

Tabung 3 : Di tetesi pereaksi wagner 2-3 tetes, hasil positif di tunjukkan dengan adanya endapan coklat kemerahan (Rijayanti, 2014).

Pada uji alkaloid ekstrak di larutkan dengan klorofom dan amonia di dalam tabung reaksi, kemudian di kocok dan di saring. Kemudian di tambah 2 ml asam sulfat 2N dalam filtrate dan di kocok sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan yang terletak di bagian atas di pipet dan di masukkan ke dalam tabung reaksi yang lain dan di tambah dengan larutan pereaksi. Adanya senyawa alkaloid di tandai dengan adanya endapan putih dengan pereaksi mayer, dan adanya endapan berwarna coklat kemerahan (Abtian, 2016).

3.6.3 Prosedur KLT

3.6.3.1 Persiapan Fase Diam

Lempeng KLT yang berfungsi sebagai adsorben adalah silica gel karena dapat di pakai untuk KLT adsorpsi maupun partisi serta paling banyak di gunakan. Penyiapan fase diam digunakan silica gel G60 F254/ plat KLT dengan ukuran panjang 5cm dan lebar 2cm, dan di beri garis batas awal dan batas akhir elusi 0,5cm lalu diaktivasi dengan oven pada suhu 100°C selama 10 menit (Zaki, 2013).

3.6.3.2 Penyiapan Fase Gerak (Eluen).

1. Penyiapan fase gerak flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid yaitu menggunakan fase gerak asam asetat:butanol:air (1: 4: 5) dengan penampak noda uap amonia. Apabila setelah di uapi amonia terbentuk noda berwarna kuning coklat pada pengamatan menggunakan sinar tampak dan berwarna biru menggunakan sinar UV 366 Nm menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Yuda, 2017).

2. Penyiapan fase gerak tannin

Identifikasi senyawa tanin fase gerak yang di gunakan yaitu metanol dan air dengan perbandingan (6:4) dengan penampak noda pereaksi FeCl₃ 5%. Apabila terbentuk noda berwarna hitam menunjukkan adanya senyawa tanin (Yuda *et al.*, 2017).

3. Penyiapan fase gerak alkaloid

Identifikasi senyawa alkaloid, fase gerak yang di gunakan adalah etil asetat:metanol:air dengan perbandingan (16:1:2) dengan penyemprot dragendrof. Kemudian sampel yang terdapat pada lempeng KLT di masukkan ke dalam chamber dan di tunggu fase gerak sampai batas atas, selanjutnya di amati noda yang terbentuk dengan menggunakan sinar UV 366 Nm (Wullur, 2012).

3.7 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini adalah dengan mengambil data dari hasil uji skrining fitokimia yaitu dengan mengamati ada atau tidaknya kandungan metabolit sekunder serta perbandingan nilai RF pada masing-masing serbuk salak yang sudah di sangrai dengan waktu penyangraian 30, 45 dan 60 menit. Hasil yang di peroleh dari analisa data tersebut adalah pada skrining fitokimia flavonoid dan tanin menghasilkan hasil yang positif sedangkan pada senyawa alkaloid menghasilkan hasil yang negatif.