

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian eksperimental karena untuk mengetahui akibat yang ditimbulkan dari suatu perlakuan yang diberikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar flavonoid antara jus seledri dan air rebusan seledri. Tahap penelitian meliputi persiapan alat dan bahan yang akan digunakan, pembuatan jus seledri dan air rebusan seledri, identifikasi flavonoid secara kualitatif menggunakan metode *Wilstater* yaitu Mg dan HCl, identifikasi flavonoid secara kuantitatif pada jus seledri dan air rebusan seledri menggunakan baku standar kuersetin dan reagen  $AlCl_3$ . Alat yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid adalah spektrofotometri UV-Vis, data yang diperoleh selanjutnya diolah menggunakan Uji *Mann Whitney* dan dibuat kesimpulan dari data yang diperoleh.

#### **3.2 Populasi dan Sampel**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah jus seledri dan air rebusan seledri, sedangkan sampel dalam penelitian ini adalah sebagian jus seledri dan air rebusan seledri.

#### **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Instrumentasi di Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Waktu penelitian pada bulan November 2020 - Mei 2021.

### 3.4 Definisi Operasional Variabel

Variabel penelitian terdiri atas :

**Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel**

Variabel	Sub Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Bebas : jus seledri dan air rebusan seledri	-	Mengukur jumlah cairan yang didapat dari proses pemblenderan dan perebusan	Gelas ukur	-	Nominal
Terikat Kadar Flavonoid	Identifikasi flavonoid	Mengetahui jus seledri dan air rebusan seledri mengandung flavonoid	Larutan pereaksi atau reagen	Reaksi Warna	Nominal
	Kadar Flavonoid pada jus seledri dan air rebusan seledri	Mengukur banyaknya kadar flavonoid pada air rebusan seledri menggunakan spektrofotometer UV-Vis	Spektrofotometer UV-Vis	Kadar flavonoid dalam sampel yang dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin atau <i>QE</i> (quercetin equivalent) dengan satuan mg <i>QE/g</i> .	Nominal

### **3.5 Alat dan Bahan**

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

#### **3.5.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, telenan, blender, pipet tetes, beaker glass 100 mL, gelas ukur 10 mL, erlenmeyer 250 mL, batang pengaduk, tabung reaksi, labu takar 100 mL, spektrofotometri UV-Vis, kuvet, pipet volume, pipet tetes, bola hisap, botol sampel.

#### **3.5.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba seledri, aquades, air mineral, etanol 70%, serbuk Mg, HCl<sub>pekat</sub>, asam asetat, kuersetin, AlCl<sub>3</sub>.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Pembuatan jus seledri (Dwinanda et al., 2019)**

1. Ditimbang seledri segar, dengan berat 50 gram daun dan 50 gram batang seledri
2. Dicuci seledri segar, kemudian ditiriskan
3. Dipotong seledri hingga berukuran kecil
4. Diblender potongan seledri dan ditambahkan air sebanyak 400 mL
5. Disaring seledri yang sudah diblender menggunakan kertas saring
6. Didapatkan jus seledri

#### **3.6.2 Prosedur pembuatan air rebusan seledri (Mariyona, 2020)**

1. Ditimbang seledri segar, dengan berat 50 gram daun dan 50 gram batang seledri

2. Dipotong seledri hingga berukuran kecil
3. Direbus dalam 400 mL air sampai tersisa 200 mL  $\pm$  15 menit
4. Disaring ketika air rebusan seledri sudah dingin
5. Didapatkan air rebusan seledri

### 3.6.3 Uji Analisis Kualitatif

#### 3.6.3.1 Uji Warna (Ergina et al., 2014)

1. Dimasukkan masing-masing 2 mL air rebusan dan jus seledri ke dalam 2 tabung reaksi yang berbeda.
2. Dipanaskan selama kurang lebih 5 menit
3. Ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCl<sub>pekat</sub>
4. Ditandai warna kuning hingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid yang menunjukkan adanya flavonoid

### 3.6.4 Uji Analisis Kuantitatif

#### 3.6.4.1 Penentuan Panjang Gelombang

1. Diambil 20 mg kuersetin dan 100 mL metanol p.a
2. Didapatkan larutan kuersetin 200 ppm
3. Diambil sebanyak 2,5 mL larutan kuersetin
4. Ditambahkan dengan 2,5 mL AlCl<sub>3</sub> 10% dan 20 mL asam asetat 5%.
5. Dilakukan pembacaan dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 350-450 nm (Das *et al.*, 2013).

#### 3.6.4.2 Penentuan *Operating Time*

1. Diambil 20 mg kuersetin dan 100 mL metanol p.a
2. Didapatkan larutan kuersetin 200 ppm
3. Diambil sebanyak 2,5 mL larutan kuersetin

4. Diambil sebanyak 2,5 mL larutan kuersetin ditambahkan dengan 2,5 mL  $\text{AlCl}_3$  10% dan 20 mL asam asetat 5%.
5. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh dengan interval pada waktu 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil

#### 3.6.4.3 Penentuan Kurva Baku Kuersetin

1. Diambil 20 mg kuersetin dan 100 mL metanol p.a
2. Didapatkan larutan kuersetin 200 ppm
3. Dibuat larutan kuersetin dengan seri kadar sebesar 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm dan 140 ppm (7,5 mL, 10 mL, 12,5 mL, 15 mL, 17,5 mL).
4. Diambil sebanyak 2,5 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi
5. Dimasukkan, direaksikan dengan 2,5 mL  $\text{AlCl}_3$  10% dan 20 mL asam asetat 5%.
6. Didiamkan selama 16 menit pembacaan absorbansi seri kadar dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis

#### 3.6.4.4 Penetapan kadar flavonoid pada sampel dengan spektrofotometri UV-Vis

1. Dimasukkan 50 mg jus seledri ke dalam labu ukur.
2. Dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%.
3. Dipipet 2,5 mL dan ditambahkan 2,5 mL  $\text{AlCl}_3$  10%, 20 mL asam asetat 5%
4. Didiamkan selama *operating time*
5. Dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum.
6. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali

7. Dimasukkan 50 mg air rebusan seledri ke dalam labu ukur 50 mL.
8. Ditambahkan etanol 96% hingga tanda batas.
9. Dipipet 2,5 mL dan ditambahkan 2,5 mL  $\text{AlCl}_3$  10%, 20 mL asam asetat 5%
10. Didiamkan selama operating time
11. Dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum.
12. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali

### 3.7 Analisis Data

Dilakukan uji analisis kualitatif menggunakan metode uji warna untuk membuktikan bahwa jus dan air rebusan seledri yang diperoleh mengandung flavonoid. Kemudian dianalisis secara kuantitatif menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis untuk menentukan kadar flavonoid, data deret konsentrasi yang dibuat dari baku kuersetin untuk flavonoid kemudian dibuat persamaan kurva baku. Persamaan kurva baku  $y = bx + a$  dengan  $y =$  hasil absorbansi,  $x =$  konsentrasi dalam ppm (mg/L). Konsentrasi jus dan air rebusan seledri kemudian dimasukkan ke dalam rumus penentuan kadar flavonoid  $\frac{x \cdot V \cdot FP}{BS}$  dan diperoleh hasil kadar flavonoid satuan mg *QE/g*. Data kadar flavonoid jus dan air rebusan seledri kemudian dianalisis secara statistik non parametrik menggunakan Uji *Mann Whitney*.