

BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

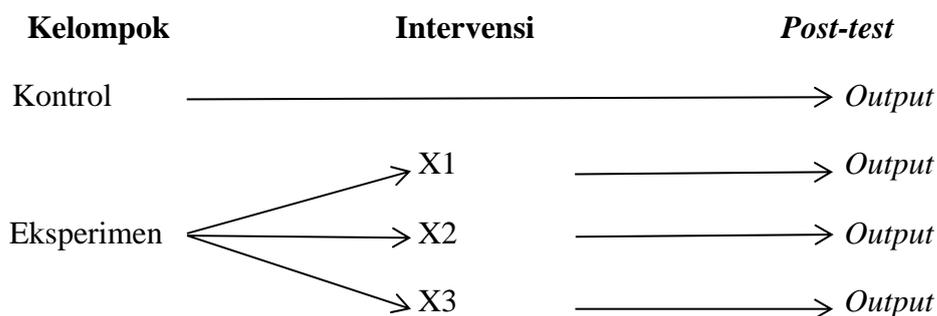
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratorium yang mengadakan percobaan pada ekstrak daun dan bunga kopi.

3.1.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah eksperimental murni (*True-Experimental Research*) dengan bentuk desain *Post-test Only Control Group*. Dalam desain ini kelompok eksperimen dan kelompok kontrol tidak dipilih secara random. Kelompok eksperimen adalah kelompok yang mendapatkan perlakuan dan kelompok kontrol tidak mendapat perlakuan. Setelah melakukan intervensi atau perlakuan pada kelompok eksperimen, maka dilakukan observasi dan membandingkan kelompok eksperimen dan kontrol. Berikut skema dari *Post-test Only Control Group* :



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

Keterangan :

Kontrol : Standart kafein

X1 : Sampel daun dan bunga kopi dengan suhu pengeringan 60°C

X2 : Sampel daun dan bunga kopi dengan suhu pengeringan 80°C

X3 : Sampel daun dan bunga kopi dengan suhu pengeringan 100°C

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun dan bunga kopi.

3.2.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel daun kopi arabika segar berwarna hijau tua, yang utuh, tidak ada serangga, tidak robek dan bunga kopi segar, berwarna putih dan mekar. Pengambilan sampel dilakukan pada awal bulan Juni 2024 waktu pagi hari.

3.2.3 Kriteria Inklusi

Kriteria sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kopi arabika di daerah Tirtoyudo Kabupaten Malang, daun kopi arabika berwarna hijau tua, yang utuh dan bunga kopi berwarna putih dan mekar.

3.2.4 Kriteria Eksklusi

Adapun kriteria eksklusi dari penelitian ini adalah kopi robusta, daun banyak serangga, berdebu, kotor serta untuk bunga kopi yang rontok, tidak mempunyai kelopak, yang telah gugur dan berwarna kecoklatan .

3.1 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang dipilih dalam penelitian ini adalah pengeringan suhu 60°C, 80°C dan 100°C.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan adalah kadar *coffein*.

3.3.3 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala
Daun kopi	Daun kopi yang digunakan yaitu daun kopi arabika berwarna hijau tua, utuh, tidak berlubang	Organoleptis (warna & bentuk)	Ordinal
Bunga kopi	Bunga kopi yang digunakan pada penelitian ini bunga kopi berwarna putih, utuh dan mekar.	Organoleptis (warna & bentuk)	Ordinal

Aquadest	Aquadest merupakan hasil air sulingan yang mempunyai pH netral.	Kuantitatif	Ordinal
<i>Coffein</i>	<i>Coffein</i> berbentuk anhidrat atau hidrat yang mengandung satu molekul air. Mengandung tidak kurang 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% $C_8H_{10}N_4O_2$, dihitung terdapat zat anhidrat.	Spektrofotometer UV - Vis	Rasio
Spektrofotometer UV - Vis	Spektrofotometer UV-Vis bekerja dengan cara mengirimkan cahaya dari sumber cahaya melalui sampel cairan dan kemudian mendeteksi cahaya yang muncul di sisi lain.	Sampel	Rasio

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat spektrofotometer Ultraviolet, alat ekstraksi soxhlet, timbangan analitik, corong, oven, alat penyerbukan, labu ukur 100 mL, erlemeyer 200 mL, mesh ukuran 100, pipet tetes, corong pisah 250 mL, beaker glass (500 mL, 250 mL, 50 mL), pinset, kertas saring, kapas, batang pengaduk, corong kaca, botol timbang, hot plate, termometer, mikro pipet, botol vial dan cawan penguap.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu standart *coffein*, kloroform, $CaCO_3$, aquadest, sampel daun kopi arabika berwarna hijau tua dan bunga kopi mekar.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengelolaan Sampel

a. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun dan bunga kopi arabika yang akan diambil dari daerah Tirtoyudo Kabupaten Malang pada awal bulan Juni 2024 waktu pagi hari. Sampel daun yang telah dipetik dimasukkan ke dalam plastik sampel dan dipisahkan sesuai dengan daun kopi arabika berwarna hijau tua. Sampel bunga yang telah dipetik dimasukkan juga ke dalam plastik sampel dan dipisahkan sesuai dengan bunga mekar. Sampel dilakukan sortasi sesuai kriteria yang sudah ditentukan (LatunraA dkk, 2021).

b. Pengeringan Sampel

Sampel daun kopi arabika berwarna hijau tua dan bunga kopi mekar masing-masing sampel kisaran 1kg dibersihkan. Selanjutnya masing-masing sampel ditimbang sebelum dikeringkan. Masing-masing sampel dibagi dalam tiga suhu pengeringan yaitu 60°C, 80°C dan 100°C sampai kering sekitar 4 – 6 jam. Setelah masing-masing sampel kering ditimbang dulu sebelum dilakukan proses penghalusan (LatunraA dkk, 2021).

c. Penghalusan Sampel

Setelah masing-masing sampel kering dilakukan proses penghalusan sampel. Proses ini masing-masing sampel diolah menjadi serbuk menggunakan alat penghalusan dan disaring menggunakan mesh ukuran 100 (LatunraA dkk, 2021).

d. Ekstraksi

Proses ekstraksi pertama memasukkan 25 gram sampel serbuk (daun dan bunga kopi) pada pengeringan suhu 60°C, 80°C dan 100°C yang telah dibungkus kertas saring dan dilapisi kapas pada bagian bawah dan atas untuk menghindari kebocoran pada saat proses ekstraksi berlangsung, kemudian dimasukkan ke dalam tabung alat soxhlet. Setelah itu pelarut dimasukkan ke dalam dan mulai dilakukan pemanasan sesuai dengan titik didih pelarut yaitu air 100°C sehingga pelarut akan menguap ke atas dan pada saat uap pelarut sampai ke ruang pendingin, pelarut tersebut akan menjadi cair dan menetes ke biomassa serbuk yang berada dibawahnya. Proses tersebut akan berlangsung selama 4 jam dan berulang-ulang sehingga senyawa bioaktif pada biomassa akan terlarut dengan sempurna. Ekstrak yang didapatkan kemudian disimpan

selama 24 jam pada suhu ruang dan dibungkus dengan aluminium foil sebelum dilakukan pengujian (LatunraA dkk, 2021).

e. Preparasi Sampel

Penentuan kadar *coffein* dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel daun dan bunga kopi dengan cara ekstraksi. Proses ekstraksi menggunakan alat ekstraksi soxhlet untuk mendapatkan filtrat sampel, setelah itu filtrat ditambahkan kalsium karbonat (CaCO_3). Filtrat dipekatkan dengan cara dipanaskan sampai setengah dan didinginkan. Selanjutnya dilakukan ekstraksi cair - cair dengan menggunakan 25 ml pelarut kloroform sebanyak empat kali replikasi agar *coffein* dalam sampel daun dan bunga kopi telah terekstraksi optimal dalam corong pisah, pemilihan pelarut kloroform karena *coffein* mudah larut dalam kloroform dan *coffein* larut dalam 6 bagian kloroform. Sebanyak 25 ml kloroform dimasukkan ke dalam corong pisah, lalu digojok dan mengalami 2 fase yaitu fase atas dan fase bawah. Fase bawah merupakan lapisan kloroform yang mengandung *coffein* dikeluarkan dan diuapkan hingga pelarutnya sampai terbentuk serbuk yang disebut fraksi kloroform. Setelah menjadi fraksi kloroform dapat ditimbang, lalu fraksi kloroform tersebut dilarutkan dengan aquadest sebanyak 100 ml untuk digunakan pada penetapan kadar *coffein* menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan 100 ml tersebut dilakukan identifikasi adanya *coffein* pada sampel daun dan bunga kopi yang akan diujikan (Putri M & Dellima B, 2023).

3.4.2 Uji Kuantitatif

a. Pembuatan Larutan Baku *Coffein* 1000 ppm

Ditimbang sebanyak 25 mg *coffein*, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, dilarutkan dengan aquadest panas secukupnya. Kemudian tambahkan dengan akuades hingga garis tanda dan dihomogenkan (larutan 1000 ppm). Larutan tersebut memiliki konsentrasi sebesar 1 mg/mL (Latunra A dkk, 2021)..

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dipipet larutan baku *coffein* 1000 ppm sebanyak 10 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL (konsentrasi 100 ppm). Lalu tambahkan aquadest sampai garis tanda batas dan homogenkan. Diukur serapan maksimum pada rentang panjang gelombang 200-300 nm dengan menggunakan blanko aquadest. (Putri M dkk, 2023).

c. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Kurva kalibrasi dilakukan dengan membuat serangkaian larutan dengan baku standar dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Dengan cara dipipet masing-masing sejumlah 5, 10, 15, 20, dan 25 ml ke dalam labu ukur 100 ml, lalu dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum dan sebagai blanko digunakan aquadest (Wahid W, 2020).

d. Penetapan Kadar *Coffein*

Larutan sampel akan diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum, kemudian serapan dicatat. Konsentrasi *coffein* akan ditentukan berdasarkan persamaan regresi dari kurva kalibrasi standar (Latunra A dkk, 2021). Kadar *coffein* dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\%b/b = \frac{\text{Konsentrasi } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times \text{Volume (L)} \times \text{FP}}{\text{Berat Sampel (mg)}} \times 100$$

Gambar 3.2 Rumus Kadar Coffein

e. Analisis Data Secara Statistik

Semua data yang terkumpul disajikan dalam bentuk analisis data secara kuantitatif dengan menggunakan Spektrotometri UV-Vis dengan menggunakan hukum persamaan regresi : $y = bx + a$ (Latunra A dkk, 2021).

3.5 Tempat dan Waktu Penelitian

3.5.1 Tempat Penelitian

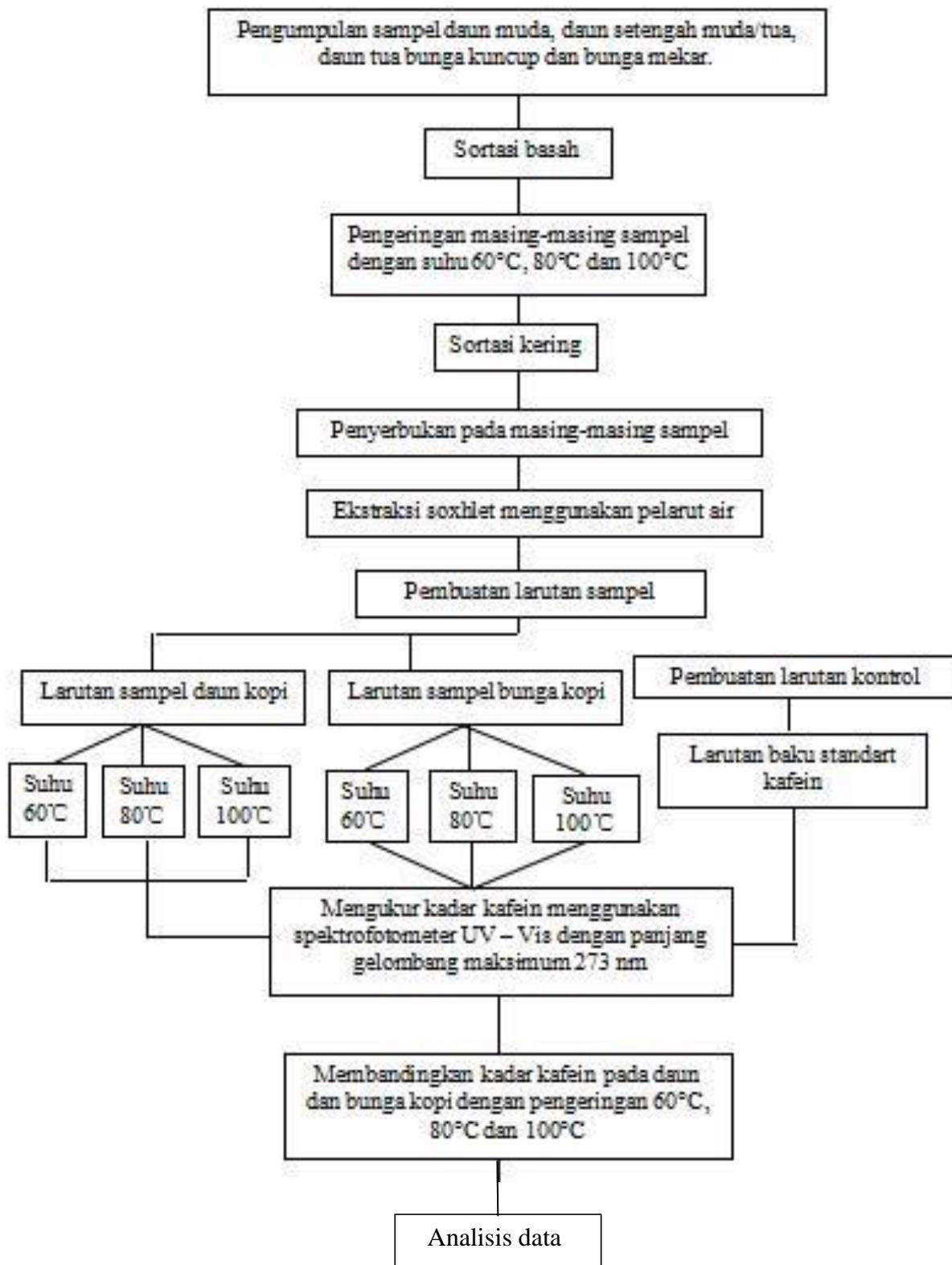
Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Terpadu Prodi S1 Farmasi Stikes Panti Waluya Malang.

3.5.2 Waktu Penelitian

Tabel 3.2 Waktu Penelitian

KEGIATAN	BULAN KE											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Penyusunan konsep dan pencarian literatur												
Penentuan judul dan penyusunan Bab I												
Penentuan judul dan penyusunan Bab II												
Penentuan judul dan penyusunan Bab III												
Penyusunan naskah proposal												
Seminar Proposal												
Penelitian												
Penyusunan Bab IV												
Penyusunan Bab V												
Seminar Hasil dan Laporan Hasil												

3.6 Kerangka Kerja



Gambar 3.3 Kerangka Kerja