

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan jenis penelitian kuantitatif eksperimental Laboratorium. Penelitian yang dilakukan berupa analisis senyawa antioksidan dan flavonoid dalam ekstrak etanol 96% buah dan daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1. Populasi Penelitian

Pada penelitian ini populasi yang digunakan adalah tanaman ciplukan pada buah dan daun ciplukan (*Physalis Angulata L.*) dari Desa Bulu, Kelurahan Kalipang, Kecamatan Sutojayan, Kabupaten Blitar.

3.2.2. Sampel Penelitian

Sampel yang akan digunakan adalah bagian buah dan daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) yang masih segar, tidak busuk atau tidak berlubang, tidak keriput.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel Bebas

Penelitian ini, variabel bebasnya adalah perbandingan suhu pada saat pengeringan buah dan daun ciplukan pada suhu yaitu 60°C, 80°C, 100°C

3.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikatnya adalah antioksidan dan flavonoid pada tanaman ciplukan (*Physalis angulata L.*) yang terikat pada kadar antioksidan dan flavonoid.

3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.4.1. Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian ini di Laboratorium Kimia Terpadu STIKes Panti Waluya Malang

3.4.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada pada bulan Februari – April 2024

3.5 Alat dan Bahan

3.51. Alat :

- a. Elenmeyer
- b. Beaker glass
- c. Oven
- d. Kertas saring
- e. Alumunium foil
- f. Botol gelap
- g. Botol timbang
- h. Corong
- i. Pipet tetes
- j. Mikro pipet
- k. Bluetip
- l. Gelas ukur
- m. Labu ukur
- n. Batang pengaduk
- o. Kuvet
- p. Mikro pipet
- q. Spektrofotometri UV-Vis

3.52. Bahan :

- a. Ciplukan
(*Physalis
angulata L.*)
- b. DPPH (2,2-
*Diphenyl-1-
picrylhydrazyl*)

- c. Etanol 96%
- d. Asam Askorbat
- e. Kuersetin
- f. AlCl_3
- g. Aquadest

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1. Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian dari buah dan daun ciplukan (*Physalis angulata L.*), pembuatan simplisia dimulai dari buah serta daun ciplukan yang sudah dipisahkan lalu disortasi dilanjutkan dengan pembersihan, pencucian, penirisan, serta pengeringan menggunakan suhu oven 60°C, 80°C, 100°C. Proses pengeringan yang telah selesai menghasilkan simplisia kasar. Langkah berikutnya adalah menghaluskan simplisia kasar dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.

3.6.2. Pembuatan Buah dan Daun Ciplukan (*Physalis angulata L.*)

Metode pembuatan ekstrak pada penelitian ini menggunakan yaitu metode ekstraksi secara dingin maserasi. Metode ini pada dasarnya metode yang sederhana dengan cara merendam serbuk simplisia yang akan digunakan dengan menggunakan pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar. Serbuk simplisia kering 100 gram dimaserasi selama 3x24 jam pada oven dengan suhu 60°C, 80°C, dan 100°C menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 mL dengan perbandingan 1:10 (b/v), setelah itu dilakukan pengadukan sesekali. Penyaringan dilakukan dengan menggunakan corong yang sudah diberi kertas saring. (Wahdaningsih, dkk., 2017).

3.6.3. Penentuan Kandungan Kadar Flavonoid

3.6.3.1 Pembuatan Larutan Standar Kuarsetin

Ditimbang sebanyak 50 mg baku standar kuarsetin dan dilarutkan dalam 50 mL pelarut etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm kemudian dibuat deret konsentrasi 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm sebagai konsentrasi pembanding sebanyak 50 mL.

Dari masing-masing konsentrasi larutan standar kuarsetin dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 3 mL etanol 96%, 0,2 mL AlCl₃ 10%, 0,2 mL natriumasetat 1 M dan di cukupkan dengan aquadest sampai 10 mL. Inkubasi dilakukan selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 431 (Ahmad et al., 2014)."

3.6.3.2 Penentuan Kadar Flavonoid Pada Ekstrak Sampel

Sebanyak 100 mg sampel dilarutkan dalam 50mL etanol 96%, sehingga diperoleh konsentrasi 2000 ppm. Dipipet sebanyak 1 mL ditambahkan 3 mL etanol 96%, 0,2 mL AlCl₃ 10%, 0,2 mL natrium asetat 1 M dan dicukupkan dengan aquadest sampai 10 mL. Inkubasi dilakukan selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 431 nm. Larutan sampel disiapkan dalam tiga kali replikasi untuk memperoleh kadar flavonoid yang dinyatakan sebagai ekuivalen kuarsetin (Wahdaningsih, 2017)."

3.6.4. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah dan Daun Ciplukan

3.6.4.1 Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan dengan menggunakan 100 mL pelarut etanol 96 % sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 500 ppm dan diencerkan untuk membuat 50 ppm, dengan cara mengambil 10mL larutan 500 ppm, dimasukkan ke labu ukur 10 mL dan di cukupkan kan dengan etanol 96% (Alfila, 2023)

3.6.4.2 Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan stok DPPH konsentrasi 50 ppm sebanyak 3 mL ditambahkan etanol 96% 0,5 mL. dan ditutup dengan menggunakan alumunium foil kemudian dihomogenkan menggunakan vortex, setelah itu diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Lalu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. (Wahdaningsih, dkk., 2017)

3.6.4.3 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Buah dan Daun Ciplukan (*Physalis angulata L.*)

Ditimbang ekstrak buah dan daun ciplukan sebanyak 50 mg dilarutkan sampai tanda batas 50 mL etanol 96% pada labu ukur dan homogenkan, lalu dibuat seri konsentrasi 30 ppm, 35 ppm, 40 ppm, 45 ppm, dan 50 ppm. (Wahdaningsih, dkk., 2017)

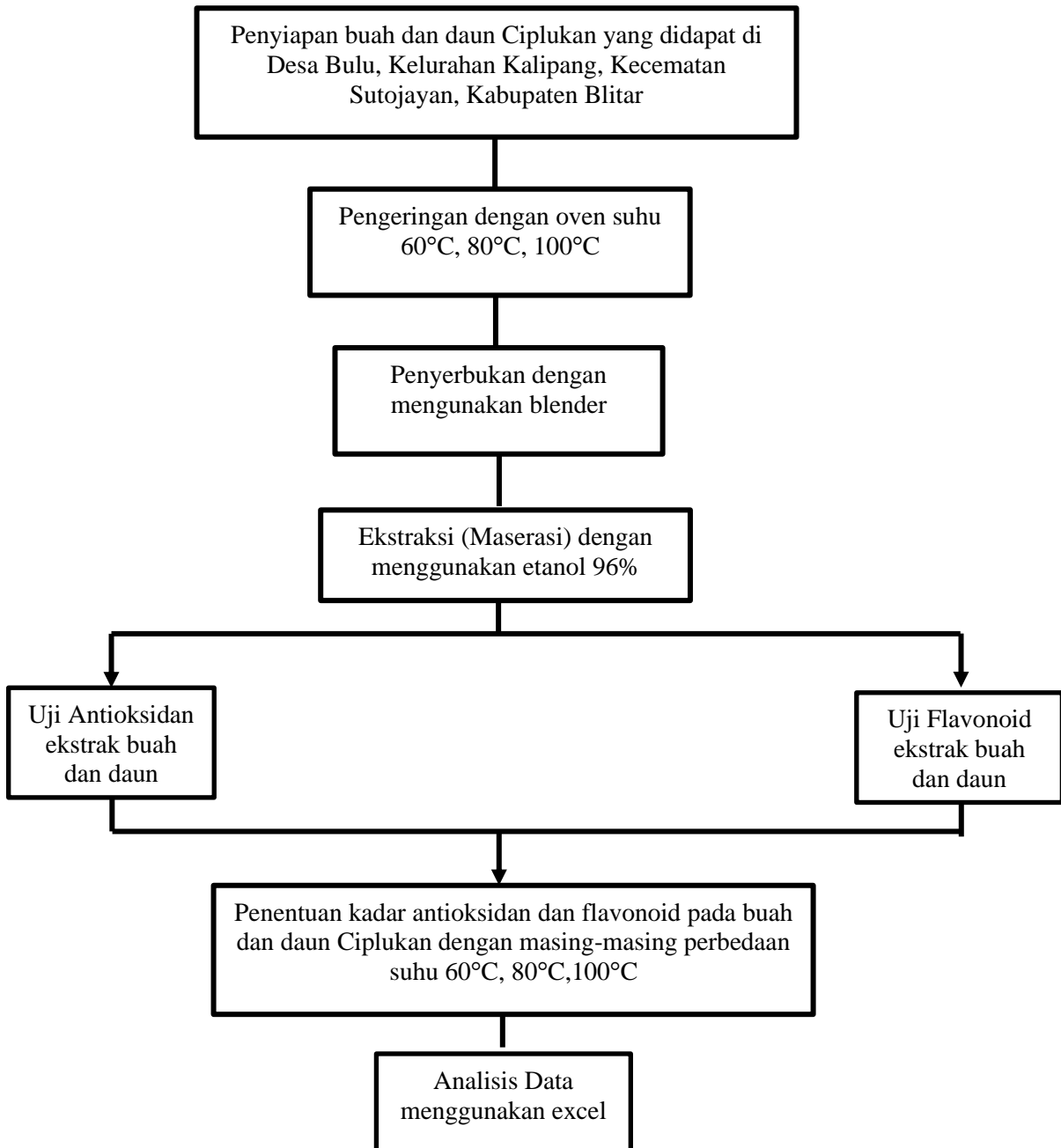
3.6.4.4 Pembuatan Larutan Asam Askorbat Sebagai Kontrol Positif

Larutan 1000 ppm disiapkan dengan menimbang bahan 50 mg dan di larutkan dengan pelarut etanol 96% sampai tanda batas 50 mL pada labu ukur dan homogenkan, lalu dibuat seri konsentrasi 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, 2,5 ppm, dan 3ppm.

3.6.4.5 Pengukuran Absorbansi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Semua larutan yaitu larutan sampel, dan larutan pembanding yang masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 6 mL dimasukkan tabung reaksi, ditambahkan 2 mL DPPH dan 1 mL pelarut etanol 96% lalu homogenkan menggunakan vortex diinkubasi dalam oven selama 30 menit dengan suhu 37°C lalu di ukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, dilakukan replikasi 3 kali.

3.7 Kerangka Alur Prosedur Kerja Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Alur Prosedur Kerja Penelitian