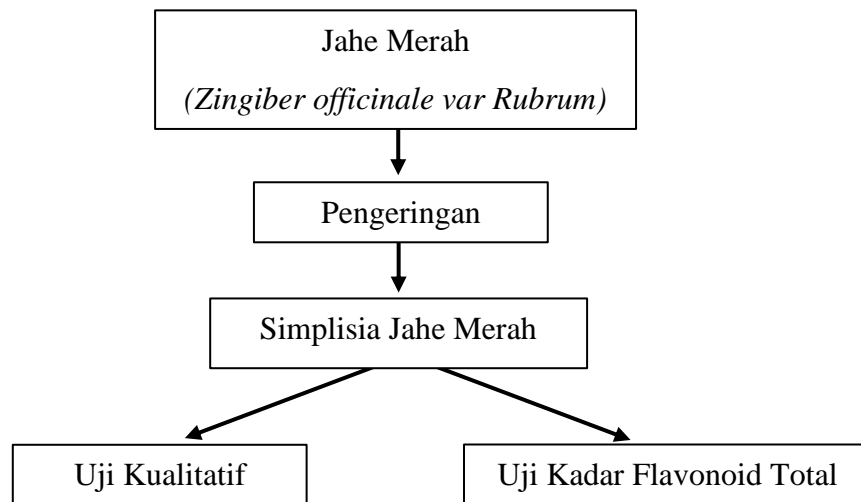


## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Desain Penelitian



Gambar 3.1. Desain Penelitian

#### B. Lokasi Penelitian

- a. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.
- b. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang.

#### C. Subjek Penelitian

##### 1. Populasi

Pada penelitian ini populasi secara keseluruhan yang dipakai adalah rimpang jahe dengan varietas jahe merah yang berusia kisaran 10 bulan dan sudah dipanen.

## **2. Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yakni rimpang jahe merah yang sudah dipanen dan berusia 10 bulan yang diperoleh dari petani daerah Suruh, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah.

Adapun kriteria sampel yang digunakan yaitu:

### **a. Kriteria Inklusi**

Sampel jahe merah yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang jahe merah yang berusia 10 bulan dan diperoleh dari petani.

### **b. Kriteria Eksklusi**

Rimpang jahe merah yang termasuk dalam kriteria eksklusi yaitu yang diperoleh dari penjual di pasar, berjamur dan busuk.

## **D. Variabel Penelitian**

### **1. Variabel Bebas**

Pada penelitian ini variabel bebas yang digunakan berupa metode pengeringan simplisia yaitu dengan empat metode, pengeringan dengan sinar matahari secara langsung, pengeringan dengan sinar matahari tidak langsung atau ditutup kain hitam, pengeringan dengan dianginkan dan pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C.

### **2. Variabel Terikat**

Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini berupa kadar flavonoid total dari ekstrak jahe merah.

### 3. Variabel Terkendali

Pada penelitian ini variabel lain yang dimaksud adalah suhu pada tiap proses penelitian, lamanya proses pengeringan dan ekstraksi dan volume pelarut yang digunakan pada ekstraksi, kecepatan putaran (rpm) dan suhu saat *rotary evaporator* serta suhu *waterbath*.

### E. Definisi Operasional

Penelitian ini menggunakan definisi operasional sebagai berikut:

1. Sampel jahe yang digunakan yaitu rimpang jahe merah.
2. Rimpang jahe merah yang digunakan berasal dari daerah Suruh, Kabupaten Semarang.
3. Ekstrak jahe merah merupakan ekstrak yang diperoleh melalui proses ekstraksi menggunakan metode maserasi selama 3x24 jam kemudian dilanjutkan remaserasi 1x24 jam dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10.
4. Penentuan kadar flavonoid total pada ekstrak jahe merah menggunakan pembanding kuersetin.
5. Metode pengeringan menggunakan cara matahari secara langsung (**PL**), matahari tidak langsung dengan ditutup kain hitam (**PH**), diangin-anginkan (**PA**), dan menggunakan oven suhu 50°C (**PO**).
6. Penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak jahe merah dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

## **F. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Alat yang dibutuhkan pada penelitian ini antara lain toples kaca, cawan porselen, blender, ayakan no 40, *rotary evaporator* (RE-2000E), *water bath*, *Moisture Analyzer* (OHAUS), *Muffle furnace* (Thermo), Erlenmeyer (IWAKI), batang pengaduk (IWAKI), oven (BINDER), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1900I), bekgelas (IWAKI), gelas ukur (IWAKI), pipet ukur (IWAKI), pipet tetes, neraca analitik (OHAUS), loyang, kuvet, tabung reaksi (IWAKI).

### **2. Bahan**

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain rimpang jahe merah segar, kuersetin, etanol 96% teknis, etanol p.a, asam klorida, aluminium klorida, kalium dikromat, asam asetat, aquadest, asam sulfat, magnesium.

## **G. Prosedur Kerja**

### **1. Pengambilan Sampel**

Sampel rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari daerah Suruh, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah.

### **2. Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman jahe merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*) dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang.

### 3. Pembuatan Simplisia Rimpang Jahe Merah

Rimpang jahe berusia kisaran 10 bulan dan sudah dipanen kemudian dilakukan proses selanjutnya berupa sortasi basah. Proses setelah sortasi basah, rimpang dicuci di air mengalir setelah itu dilakukan perajangan. Perajangan dilakukan untuk memudahkan proses pengeringan, setelah dilakukan perajangan kemudian tahap selanjutnya adalah pengeringan. Proses pengeringan dilakukan dengan empat metode yaitu dikeringkan dibawah sinar matahari secara langsung (**PL**), dikeringkan dibawah sinar matahari secara tidak langsung dengan ditutup kain hitam (**PH**), di angin-anginkan (**PA**) dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C (**PO**). Sortasi kering dilakukan ketika pengeringan telah selesai (Ningsih, 2016) kemudian dilakukan penghalusan dengan bantuan blender sampai halus dan diayak menggunakan ayakan no 40, serbuk hasil ayakan kemudian ditimbang untuk dilanjutkan ke proses selanjutnya.

### 4. Pembuatan Ekstrak Jahe Merah

Simplisia jahe merah di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Pada proses maserasi digunakan perbandingan sampel dengan pelarut 1:10 dan dilakukan pengadukan setiap 6 jam sekali, proses ekstraksi berlangsung selama 4 hari dengan 3x24 jam maserasi dan dilanjutkan 1x24 jam remaserasi, kemudian ekstrak diuapkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* dengan suhu 50°C (Sari *et al.*, 2021).

## 5. Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air simplisia dilakukan dengan menyiapkan kurang lebih 3 gram simplisia kering kemudian diletakkan pada alat *Moisture Analyzer* yang sebelumnya sudah ditara secara otomatis, setelah itu simplisia dimasukkan ke dalam *pan* yang sudah disiapkan dan ditunggu selama kurang lebih 5-10 menit sampai hasil kadar air terbaca secara otomatis (Permadi *et al.*, 2015).

## 6. Uji Kadar Abu

Uji kadar abu dilakukan dengan menggunakan metode *gravimetri* dengan menetapkan sebanyak 2 gram sampel dimasukkan kedalam krus dipanaskan dan dipijarkan pada suhu  $\pm 600^{\circ}\text{C}$  didalam *Muffle furnace* selama kurang lebih 3 jam hingga arang habis, kemudian diangin anginkan dan ditimbang (Permadi *et al.*, 2015).

Perhitungan kadar abu dilakukan dengan rumus perhitungan sebagai berikut (Permadi *et al.*, 2015),

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{(\text{bobot krus} + \text{bobot abu}) - \text{bobot krus kosong}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

## 7. Uji Kualitatif Simplisia

Sebanyak 500 mg serbuk simplisia ditambahkan dengan 2 mL etanol 70% kemudian dilakukan penambahan serbuk magnesium 0,5 gram dan ditambahkan 3 tetes HCl pekat, keterangan hasil positif flavonoid akan menunjukkan munculnya warna kuning sampai merah (Rahmadani *et al.*, 2018).

## 8. Uji Bebas Etanol

Ekstrak direaksikan dengan 2 mL kalium dikromat pada suasana asam dengan penambahan 3 tetes asam sulfat pekat. Larutan dianggap mengandung etanol jika terbentuk warna biru pada saat direaksikan (Vifta *et al.*, 2021).

## 9. Penetapan Kadar Flavonoid

### a. Pembuatan Larutan

#### 1) Pembuatan Larutan Kuersetin 1000 ppm (Larutan Induk)

Ditimbang 10 mg kuersetin dilarutkan dengan etanol p.a.

Larutan tersebut dimasukkan dalam labu takar 10 mL, kemudian dicukupkan dengan etanol p.a sampai tanda batas atas.

#### 2) Pembuatan Larutan $\text{AlCl}_3$ 10%

Pembuatan larutan  $\text{AlCl}_3$  10% dengan cara melarutkan 1 gram  $\text{AlCl}_3$  ke dalam aquades sebanyak 10 ml.

#### 3) Pembuatan Larutan Asam Asetat 5%

Pembuatan larutan asam asetat 5% dengan cara melarutkan 5 gram asam asetat dalam aquades sebanyak 100 ml.

### b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan induk kuersetin dibuat dalam konsentrasi 100 ppm kemudian diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan 1 ml  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 ml asam asetat 5%. Dilakukan pembacaan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 360-450 nm (Arina *et al.*, 2021).

**c. Penentuan *Operating Time***

Larutan induk kuersetin dibuat menjadi konsentrasi 100 ppm kemudian diambil sebanyak 1 ml ditambahkan dengan 1 ml  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 ml asam asetat 5%. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh dengan interval pada waktu 30 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil (Arina *et al.*, 2021).

**d. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin**

Larutan seri kadar dibuat menggunakan kuersetin 1000 ppm sebagai baku standar. Dibuat seri kadar sebesar 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm dan 100 ppm. Dipipet sebanyak 1 ml larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi kemudian ditambahkan dengan 1 ml  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 ml asam asetat 5%. Didiamkan selama 11 sampai 20 menit kemudian absorbansi seri kadar dibaca menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Arina *et al.*, 2021).

**e. Penentuan Flavonoid Total**

Ekstrak etanol sampel jahe merah dibuat menjadi konsentrasi 1000 ppm, diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan dengan 1 ml  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 ml asam asetat 5% didiamkan selama 11 sampai 20 menit kemudian absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum (Arina *et al.*, 2021). Pengukuran dapat dilakukan replikasi sebanyak 3x (Kumalasari *et al.*, 2018).



## H. Analisis Hasil

Analisis data dilakukan dengan metode statistika menggunakan uji ANOVA untuk mengetahui pengaruh metode pengeringan terhadap kadar flavonoid pada tiap-tiap sampel rimpang jahe merah. Penentuan kadar flavonoid total rimpang jahe merah ditentukan menggunakan persamaan kurva baku kuersetin  $y = bx + a$ , dimana  $y$  merupakan absorbansi dan  $x$  merupakan konsentrasi dalam ppm, kemudian dinyatakan dalam satuan mg QE/g.