

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan gambaran tentang senyawa flavonoid beserta kadar total flavonoid dalam madu (*Apis sp.*) dari Amfoang.

B. Tempat dan waktu penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium kimia dan Instrumentasi Prodi Farmasi Politeknik Kesehatan Kupang, serta dilakukan Pengujian menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis di Laboratorium Prodi D-III Farmasi Poltekes Kemenkkes Kupang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga bulan Mei 2025.

C. Populasi dan sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah madu (*Apis sp.*) yang berasal dari Kecamatan Amfoang, Kabupaten Kupang.

2. Sampel

Sampel penelitian terdiri dari madu (*Apis sp.*) yang diperoleh dari wilayah Amfoang Timur, Amfoang Tengah, dan Amfoang Selatan.

D. Defenisi Operasional

Tabel 1. Defenisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasioanl	Skala
1	Madu amfoang	Madu yang berasal dari wilayah amfoang yang diambil dari Amfoang Timur : Wilayah I Amfoang Tengah : Wilayah II Amfoang Selatan : Wilayah III kabupaten kupang NTT.	Nominal
2	Kadar flavonoid	Jumlah flavonoid yang terkandung dalam madu.	Rasio

E. Alat dan bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometri Uv-Vis, Neraca analitik, Beaker gelas (*pyrex*) berbagai ukuran, Gelas ukuran (*pyrex*) berbagai ukuran, Labu ukur (*pyrex*) berbagai ukuran, Elenmeyer (*pyrex*), Batang pengaduk, stirer, mikropipet, pipet tetes, pipet ukur, kaca arloji, sendok tanduk, kertas perkamen, Kertas saring, kain flanel, Tissue, Aluminium foil.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa madu. (*Apis sp.*) dari Amfoang Timur, Tengah dan Selatan, aluminium klorida, natrium asetat, air suling, serbuk kuersetin, etanol 95%, magnesium, dan HCL pekat.

F. Prosedur Penelitian

1. Proses pengambilan madu hutan amfoang

Proses Pengambilan madu hutan Amfoang diawali dengan penentuan lokasi sarang lebah oleh pemburu madu yang memiliki pengetahuan

khusus. Setelah menyiapkan peralatan dan melaksanakan ritual adat, pemburu madu memanjat pohon dengan membawa asap untuk menghalau lebah, setelah lebah pergi dari sarangnya, pemburu lebah mengambil sarang madu dengan hati-hati, dan hanya menyisakan bagian yang berisi larva. Sarang yang telah diambil kemudian diturunkan dan madu dikumpulkan. Setelah panen, lokasi sarang dijaga kelestariannya dan hasil panen dibagi secara adil.

2. Identifikasi flavonoid

Uji Flavonoid, Sebanyak 1 gram sampel madu dilarutkan dalam 1 mL etanol, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, diambil 1 mL larutan tersebut dan dipanaskan selama lima menit di dalam tabung reaksi. Setelah itu, ditambahkan 10 tetes HCl pekat, diikuti dengan penambahan 0,025 g magnesium (Mg). Adanya flavonoid ditandai dengan perubahan warna menjadi merah tua (magenta) dalam waktu kurang lebih 3 menit (Zahra et al., 2021).

3. Pengujian kadar total flavonoid

a. Penyiapan larutan uji

Timbang dengan cermat sekitar 1 g madu, masukkan ke dalam Erlenmeyer, lalu tambahkan 25 mL etanol P. Ekstraksi dilakukan selama 1 jam menggunakan pengaduk magnetik. Saring larutan tersebut ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian tambahkan etanol P melalui penyaring hingga mencapai tanda batas.

b. Penyiapan larutan pembanding

Timbang dengan tepat kurang lebih 10 mg serbuk kuersetin, masukkan ke dalam labu ukur 25 mL, larutkan, dan tambahkan etanol P hingga tanda batas. Jika diperlukan, lakukan pengenceran secara bertahap hingga diperoleh konsentrasi 25, 50, 75, dan 100 µg/mL.

c. Pengukuran

Pipet secara terpisah 0,5 mL larutan uji dan larutan pembanding kuersetin (yang telah diencerkan) secara terpisah, lalu tambahkan masing-masing dengan 1,5 mL etanol P, 0,1 mL aluminium klorida P 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL air suling. Kocok larutan dan diamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Ukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran blangko dilakukan dengan prosedur yang sama, tetapi tanpa penambahan aluminium klorida. Selanjutnya, buat kurva kalibrasi dan hitung kadar larutan uji (Kesehatan, 2013).

G. Analisis Data

Kadar flavonoid ditentukan menggunakan kurva kalibrasi yang diperoleh dari hasil pembacaan spektrofotometer UV-Vis, dengan perhitungan berdasarkan persamaan regresi linear sesuai hukum Lambert-Beer sebagai berikut:

$$y = bx - a$$

Keterangan:

y = nilai absorbansi

x = konsentrasi (C)

b = slope (kemiringan garis)

a = intersep

Data hasil pengujian di laboratorium kemudian diolah dan dianalisis secara deskriptif, lalu disajikan dalam bentuk tabel.