

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan desain penelitian yaitu quasi eksperimen desain, untuk mengetahui optimasi pH dan perbandingan volume reagen optimum terhadap nilai absorbansi pada kompleks Pb(II)-asam tanat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan dari bulan Januari sampai dengan Maret 2020 di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang. Untuk analisis secara spektrofotometri UV-Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Ma Chung.

3.3. Bahan dan Alat

3.3.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun belimbing wuluh, aquadest, aseton, kloroform, serbuk $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, padatan NaOH, serbuk standart asam tanat, asam askorbat, larutan FeCl_3 1%, serbuk Na_2CO_3 , reagen *Folin Ciocalteu*, kertas saring Whatman, pH universal.

3.3.2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain oven, *vacum rotary evaporator*, waterbath, spektrofotometer UV-Vis, neraca analitik, corong pisah, beaker glass 1000 mL, beaker glass 100 ml, erlenmeyer 1000 ml, labu takar 50 mL, labu takar 100 mL, pipet ukur 10 ml, kaca arloji, spatula, batang pengaduk, pipet tetes, botol vial, bola hisap, corong gelas.

3.4. Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pH kompleks Pb(II)-asam tanat dan volume perbandingan reagen pada kompleks Pb(II)-asam tanat. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai absorbansi.

3.5. Definisi Operasional Variabel

Nama Variabel	Definisi	Metode	Alat Ukur	Hasil Pengukuran	Skala
pH Kompleks Pb(II)-asam tanat	Kondisi optimum keasamaan yang dimiliki suatu larutan kompleks dapat stabil	Spektrofotometri UV-Vis	Spektrofotometer UV-Vis	-	Rasio
Volume perbandingan reagen kompleks Pb(II)-asam tanat	Perbandingan volume reagen yang diberikan pada larutan agar kompleks dapat stabil	Spektrofotometri UV-Vis	Spektrofotometer UV-Vis	-	Rasio
Nilai Absorbansi	Nilai yang diperoleh dari respon alat spektrofotometer UV-Vis terhadap larutan	Spektrofotometri UV-Vis	Spektrofotometer UV-Vis	Nilai yang diperoleh dari pembacaan dengan spektrofotometri UV-Vis adalah jumlah sinar yang diserap pada larutan	Rasio

3.6. Metode Penelitian

3.6.1. Preparasi Daun Belimbing Wuluh

Sebanyak 800 gram daun belimbing wuluh yang muda yaitu daun ketiga sampai daun kelima dari pucuk tangkai pohon belimbing wuluh disortasi basah dan dicuci bersih dengan air untuk menghilangkan kotoran yang terdapat didalam daun tersebut. Kemudian dipotong dengan diameter 2 cm agar pada saat proses pengeringan lebih cepat. Selanjutnya diangin-anginkan dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 36,7°C hingga menjadi simplisia dan diblender sampai diperoleh serbuk. Hasil yang diperoleh dilakukan proses ekstraksi.

3.6.2. Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh

Serbuk simplisia daun belimbing wuluh ditimbang sebanyak 200 gram dari 800 gram serbuk simplisia daun belimbing wuluh yang diperoleh kemudian direndam dengan 1600 mL pelarut aseton : air (7:3) dengan penambahan 12 mL asam askorbat 0,01 M. Ekstrak tanin dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator*. pada suhu 50°C. Cairan hasil ekstrak kemudian diekstraksi dengan kloroform (4x25 mL) menggunakan corong pisah sehingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan kloroform (bawah) dipisahkan dan lapisan air 1 (atas) dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 60°C.

3.6.3. Uji Kualitatif Tanin pada Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Ekstrak daun belimbing wuluh sebanyak 3 mL direaksikan dengan 3 tetes larutan FeCl₃ 1% didalam tabung reaksi. Jika ekstrak mengandung senyawa tanin akan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua.

3.6.4. Uji Kuantitatif Tanin Daun Belimbing Wuluh dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

A. Pembuatan larutan Na₂CO₃ 10 %

Pembuatan larutan Na₂CO₃ 10% dengan cara menimbang 10 gram Na₂CO₃ yang dilarutkan dalam labu takar 100 mL lalu ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan

B. Pembuatan kurva baku

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan membuat larutan standart asam tanat dengan kadar 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm dengan memipet larutan induk asam tanat 100 ppm masing-masing sebanyak 1 ml; 1,5 ml; 2 ml; 2,5 ml; 3 ml; dan 4 ml kemudian diencerkan menggunakan pelarut aquadest. Masing-masing larutan standart asam tanat dipipet sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam botol vial. Masing- masing larutan standart ditambahkan reagen *Folin Ciocalteu* sebanyak 0,5 ml kemudian didiamkan selama 5 menit. Kemudian masing-masing larutan standart ditambahkan 2 ml Na₂CO₃ 10% dan didiamkan selama 10 menit sebelum diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 770 nm.

C. Preparasi Sampel

Preparasi sampel ekstrak daun belimbing wuluh dalam penentuan kadar tanin dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,02 gram ekstrak daun belimbing wuluh ditambahkan 100 ml aquadest. Larutan sampel kemudian dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam botol vial. Larutan sampel ditambahkan reagen folin ciocalteu sebanyak 0,5 ml dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian larutan sampel ditambahkan 2 ml Na₂CO₃ 10% dan didiamkan selama 10 menit sebelum diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 770 nm.

3.6.5. Pembuatan Larutan Asam Tanat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Pembuatan larutan asam tanat ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 0,1% dibuat dengan cara menimbang 0,011 gram ekstrak daun belimbing wuluh

dam dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL lalu ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

3.6.6. Pembuatan larutan NaOH 0,1 M

Membuat larutan NaOH 0,1 M dengan cara menimbang 0,4 gram NaOH yang dilarutkan dalam labu takar 100 mL lalu ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

3.6.7. Pembuatan larutan Pb(NO₃)₂ 0,1 %

Menimbang serbuk Pb(NO₃)₂ sebanyak 0,1 gram dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL lalu ditambahkan aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan

3.6.8. Penentuan Variasi pH Optimum Kompleks Pb(II)-Asam Tanat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Penentuan variasi pH dilakukan dengan cara mereaksikan Pb(II)-ekstrak daun belimbing wuluh yang mengandung asam tanat dengan kondisi pH larutan sampel 8, 9, 10, 11, 12, 13, dan 14. Kondisi ini dipilih karena pada kondisi basa, senyawa kompleks yang terbentuk akan stabil karena pada suasana basa ligan akan lebih mudah mendonorkan pasangan elektron bebas yang dimilikinya pada logam sebagai atom pusat (Supriyanto, 2011). Variasi pH dibuat dengan menambahkan NaOH 0,1 M ke dalam larutan sampel sampai mencapai kondisi pH yang diinginkan. Setelah itu larutan sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 303,5 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.6.9. Penentuan Variasi Perbandingan Volume Reagen Optimum Kompleks Pb(II)-Asam Tanat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Penentuan variasi perbandingan volume reagen optimum dilakukan dengan memvariasikan volume masing-masing larutan asam tanat konsentrasi 0,1% dan larutan Pb(NO₃)₂ konsentrasi 0,1% pada kondisi pH optimum. Penentuan variasi perbandingan volume reagen optimum dilakukan dengan dua

perlakuan yaitu perlakuan pertama dilakukan dengan volume Pb(II) tetap dan volume asam tanat bervariasi dilanjutkan perlakuan kedua dengan volume Pb(II) bervariasi dan volume asam tanat tetap. Perbandingan yang digunakan dalam penentuan variasi perbandingan volume reagen optimum adalah 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5 dengan dua perlakuan yaitu perlakuan pertama dilakukan dengan volume Pb(II) tetap dan volume asam tanat bervariasi dilanjutkan perlakuan kedua dengan volume Pb(II) bervariasi dan volume asam tanat tetap. Hal ini berdasarkan perbandingan mol logam : mol ligan dalam pelarut (Sariyanto, 2010). Kemudian larutan sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 303,5 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.7. Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

3.7.1. Penentuan Kadar Tanin Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Penentuan Kadar Tanin Ekstrak Daun Belimbing Wuluh dilakukan dengan menghitung konsentrasi tanin sampel dengan menggunakan persamaan regresi kurva baku sebagai berikut

$$y = ax + b$$

Kemudian menghitung kadar tanin dengan rumus :

$$Kadar\ tanin\ (\%) = \frac{X(ppm) \times Fp}{10000}$$

Keterangan :

X : Konsentrasi tanin sampel (ppm)

Fp : Faktor pengenceran

a : Kemiringan (slope)

b : Intersep