

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratories. Pada penelitian ini, peneliti menganalisis kandungan senyawa tanin dalam ekstrak pelepah daun pisang susu dengan variasi 3 jenis pelarut ekstraksi yang berbeda yaitu aquadest, metanol 80%, dan etanol 80%.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan 15 Maret - 12 April 2021. Pengambilan sampel dilakukan di Dusun Bahudan, Desa Wuluh, Kecamatan Kesamben, Kabupaten Jombang. Sedangkan penelitian laboratorium dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Negeri Malang untuk proses maserasi dan Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk preparasi sampel dan uji kualitatif tanin.

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain : pelepah daun pisang susu (sampel), etanol 80%, metanol 80%, kertas saring, reagen folin denis/folin ciocalteus (Merck), padatan asam tanat (RDH (Riedel-de Haen) Chemical), aquadest, padatan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Merck), padatan gelatin, label, aluminium foil, tisu, masker, dan handscoon.

##### **3.3.2 Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain : tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass 100mL, beaker glass 50 mL, labu ukur 10 mL, labu ukur 100mL, pipet tetes, pipet ukur 10mL, pipet ukur 1mL, bola hisap, pisau, talenan, neraca analitik, neraca triple beam, timbangan, wadah tertutup (botol kaca

gelap), batang pengaduk, corong gelas, rotary evaporator, statip dan pegangan, penangas air (*hot plate*), spatula, grinder, dan ayakan 100 mesh.

### **3.4 Populasi dan Sampling**

#### **a) Populasi Penelitian**

Populasi pada penelitian ini adalah sampel pelepah tanaman pisang susu yang ditanam di pekarangan rumah di dusun bahudan, desa wuluh, kecamatan kesamben, kabupaten jombang. Lokasi pengambilan sampel pelepah tanaman pisang susu berada di pekarangan rumah di dusun bahudan, desa wuluh, kecamatan kesamben, kabupaten jombang.

#### **b) Sampel Penelitian**

Sampel pada penelitian ini adalah pelepah daun pisang susu yang memiliki ciri-ciri batang semu yang berupa lembaran daun yang saling tumpang tindih dengan daun baru dan bunga muncul dari bagian tengah. Sampel diambil di 3 dari 6 tanaman pisang susu yang ditanam di pekarangan rumah. Hal ini dikarenakan peneliti mengambil sampel yang masih segar dan baik dari 3 tanaman pisang tersebut, sedangkan 3 tanaman pisang susu lainnya memiliki keadaan yang tidak baik (sedikit layu). Metode sampling pada penelitian menggunakan *purposive sampling*, dimana peneliti melakukan pengambilan sampel berdasarkan ciri-ciri yang telah ditetapkan yang sesuai dengan tujuan penelitian.

### **3.5 Variabel Penelitian**

#### **a) Variabel Independen**

Variabel independen yang terkait dalam penelitian ini adalah variasi pelarut yang digunakan dalam proses maserasi.

#### **b) Variabel Terikat**

Variabel terikat dari penelitian ini adalah kandungan senyawa tanin pelepah daun pisang susu.

### 3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

NO	VARIABEL	DEFINISI	CARA UKUR	HASIL UKUR	SKALA DATA
1	Uji tanin	Uji tanin dalam pelepah daun pisang susu.	Identifikasi zat tanin menggunakan : (1) Uji tanin dengan larutan gelatin 1% (2) Uji tanin dengan reagen folin denis.	Dikatakan positif tanin jika : (1) Menghasilkan endapan putih jika ditambahkan larutan gelatin 1% (2) Terjadi perubahan warna menjadi biru kehitaman jika ditambahkan reagen folin denis	Ordinal

### 3.7 Metode Penelitian

#### 3.7.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelepah daun pisang susu. Sampel diambil di pekarangan rumah di Dusun Bahudan, Desa Wuluh, Kecamatan Kesamben, Kabupaten Jombang. Sampel dibersihkan dari kotoran-kotoran terikut, kemudian dirajang kecil-kecil. Setelah itu, dikeringkan di udara terbuka dan tidak terkena sinar matahari langsung selama beberapa hari hingga diperoleh berat kering pelepah daun pisang.

#### 3.7.2 Pembuatan Simplisia Pelepah Daun Pisang

Proses pembuatan simplisia pelepah daun pisang dilakukan dengan cara mengumpulkan bahan kering (simplisia). Kemudian, melakukan sortasi kering untuk memisahkan kotoran dari bahan. Lalu, menimbang simplisia menggunakan timbangan. Setelah diketahui bobot simplisia, dihaluskan simplisia menggunakan grinder.

Selanjutnya, melakukan proses pengayakan dengan menggunakan ayakan ukuran 100 mesh. Didapatkan serbuk simplisia pelepah daun pisang. Setelah itu, menimbang serbuk untuk mengetahui bobot serbuk simplisia yang dihasilkan. Serbuk simplisia pelepah daun pisang siap dilakukan proses ekstraksi maserasi.

(Materia Media Jilid III, 1979)

### **3.7.3 Ekstraksi Maserasi**

Proses ekstraksi simplisia pelepah daun pisang dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi padat-cair (maserasi). Ekstraksi maserasi dilakukan dengan menggunakan 3 jenis pelarut yang berbeda yaitu metanol 80%, etanol 80%, dan aquadest. Langkah-langkah proses maserasi pelepah daun pisang susu, sebagai berikut :

a) Aquadest

Serbuk pelepah daun pisang susu masing-masing sebanyak 50gr direndam dengan 200mL aquadest selama 3 x 24jam dengan beberapa kali pengadukan. Kemudian, larutan ekstrak pelepah daun pisang susu disaring. Filtrat ekstrak pelepah daun pisang susu dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator dan ditimbang. Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk identifikasi senyawa tanin.

b) Etanol 80%

Serbuk pelepah daun pisang susu masing-masing sebanyak 50gr direndam dengan 200mL etanol 80% selama 3 x 24jam dengan beberapa kali pengadukan. Kemudian, larutan ekstrak pelepah daun pisang susu disaring. Filtrat ekstrak pelepah daun pisang susu dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator dan ditimbang. Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk identifikasi senyawa tanin.

c) Metanol 80%

Serbuk pelepah daun pisang susu masing-masing sebanyak 50gr direndam dengan 200mL metanol 80% selama 3 x 24jam dengan beberapa kali pengadukan.

Kemudian, larutan ekstrak pelepah daun pisang susu disaring. Filtrat ekstrak pelepah daun pisang susu dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator dan ditimbang. Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk identifikasi senyawa tanin.

(Lathifah, 2008)

### 3.7.4 Identifikasi Senyawa Tanin dalam Ekstrak Pelepah Daun Pisang

#### ❖ Preparasi Larutan

##### (1) Pembuatan Larutan Gelatin 1%

Menimbang padatan gelatin sebanyak 1gr dengan menggunakan neraca analitik. Kemudian, memasukkan padatan ke dalam beaker glass 50mL dan menambahkan 10mL aquadest. Setelah itu, melarutkan padatan gelatin dengan cara memanaskannya di atas *hot plate*.

(Depkes RI, 1995)

##### (2) Pembuatan Larutan Standar Asam Tanat

Menimbang padatan asam tanat sebanyak 10mg menggunakan neraca analitik. Selanjutnya, melarutkan padatan asam tanat dengan aquadest di dalam beaker glass 50mL. Lalu, memindahkan larutan asam tanat ke dalam labu ukur 10mL dan ditandabatkan.

(Irianty dan Yenti 2014).

##### (3) Pembuatan Larutan $\text{Na}_2\text{CO}_3$

Menimbang padatan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebanyak 7,5gr dengan menggunakan neraca analitik. Kemudian, melarutkan padatan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dengan aquadest di dalam beaker glass 50mL. Setelah itu, memanaskannya pada suhu  $60^\circ\text{C}$  di atas *hot plate*. Lalu, memasukkan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ke dalam labu ukur 100mL.

(Andriyani dkk, 2010)

### ❖ Uji Kualitatif Senyawa Tanin

#### (1) Uji Kualitatif dengan Gelatin 1%

Memipet 1mL ekstrak pelepah daun pisang susu. Lalu, memasukkan ekstrak ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, menambahkan 5mL larutan gelatin 1%. Kemudian, mengamati perubahan yang terjadi. Terbentuknya endapan pada larutan menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa tanin.

(Wila, dkk., 2018)

#### (2) Uji Kualitatif dengan Reagen Folin Denis

Menyiapkan tabung reaksi yang bersih dan kering sebanyak 2 buah dimana satu untuk larutan standar dan satu untuk larutan sampel. Setelah itu, masukkan 300 $\mu$ L larutan standar tanin dan tabung kedua diisi 300  $\mu$ L larutan sampel. Lalu, menambahkan 1,5mL reagen folin denis ke dalam masing-masing tabung dan dihomogenkan. Kemudian, didiamkan selama 3menit.

Selanjutnya, menambahkan 1,2mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ke dalam masing-masing tabung dan dihomogenkan. Lalu, didiamkan. Setelah itu, mengamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif tanin akan terbentuk warna biru.

(Wahid, 2020)

### 3.8 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa perubahan warna yang terjadi dan persentase kadar masing-masing pelarut. Dimana, hasil positif pada uji tanin akan menghasilkan endapan jika ditambahkan gelatin dan akan mengalami perubahan warna menjadi biru kehitaman jika ditambahkan dengan reagen folin denish . Sehingga, data tersebut dapat disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut :

a) Tabel pengamatan uji kualitatif menggunakan gelatin 1%

NO	VARIASI PELARUT	GAMBAR		HASIL	KONTROL POSITIF	KET
		Sebelum	Sesudah			
1	Aquadest					
2	Etanol					
3	Metanol					

b) Tabel pengamatan uji kualitatif menggunakan reagen folin denis

NO	VARIASI PELARUT	GAMBAR		HASIL	KONTROL POSITIF	KET
		Sebelum	Sesudah			
1	Aquadest					
2	Etanol					
3	Metanol					