

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif kuantitatif dengan menentukan kadar kafein, tanin, dan total fenol yang terdapat dalam daun teh Perkebunan Sirah Kencong Blitar.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada Bulan April 2021. Pengambilan sampel dilakukan di Perkebunan Teh Sirah Kencong Blitar. Sedangkan penelitian laboratorium dilakukan di Laboratorium Farmasi Machung.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-750), neraca analitik (Shimadzu ATY224), vortex (IKA Vortex 3), corong pisah (Iwaki), rotary evaporator (IKA RV 10), waterbath (Memmer), pipet ukur (Pyrex), beaker glass (Iwaki), gelas ukur (Pyrex) corong kaca (Herma), labu ukur (Iwaki), batang pengaduk kaca (Pyrex), pipet tetes (Pyrex), tabung reaksi (Iwaki), hot plate (Thermo Scientific Cimarec), spatula, kertas saring.

2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun teh (Perkebunan Sirah Kencong), standar kafein (Merck), standar asam tanat (Merck), standar asam galat (Merck), kloroform (Merck), CaCO₃ (Merck), etanol 96% (Merck), pereaksi *Follin-Denis* (Nitra Kimia), pereaksi *Follin-Ciocalteu* (Nitra Kimia), dan Na₂CO₃ (Merck), aquadest.

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah daun teh bagian pucuk. Daun teh diperoleh langsung dari Perkebunan Sirah Kencong Blitar.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar kafein, tanin dan total fenol.

3.5 Definisi Operasional Variabel

NO	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
1.	Kadar Kafein, Tanin, dan Total Fenol	Menentukan kadar kafein, tanin, dan total fenol dalam daun teh Perkebunan Sirah Kencong Blitar yang dinyatakan dalam satuan (% $\frac{b}{b}$)	Uji kuantitatif menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis	Kadar kafein, tanin, dan total fenol (% $\frac{b}{b}$)	Rasio

3.6 Metode Analisis

A. Preparasi Sampel (Ramlah, 2017 dan Ardila, 2020)

Daun teh bagian pucuk dipetik dan dimasukkan ke dalam kantong plastik. Kemudian disortasi dan dikukus dalam panci pada suhu 90°C selama 2 menit untuk menonaktifkan enzim polifenol oksidase. Selanjutnya dikeringkan pada suhu ruang selama 5x24 jam. Sampel daun teh yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender. Serbuk daun teh ditimbang sebanyak 50 gram kemudian direndam dalam 500 mL etanol 96% dan diaduk hingga homogen. Proses maserasi dilaksanakan selama 3x24 jam. Selanjutnya disaring ekstrak menggunakan kertas saring untuk

memperoleh filtratnya. Kemudian filtrat diuapkan dalam rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak etanol teh.

B. Penentuan Tanin (Irianty dan Yenti, 2014)

Sebanyak 1 mg ekstrak etanol daun teh ditimbang dan dilarutkan dengan aquadest sampai 10 ml (100 ppm). Dipipet sebanyak 9 mL dan dilarutkan dengan aquadest sampai 10 mL (90 ppm). Ditambahkan 1 mL pereaksi *Follin Denis*, didiamkan selama 3 menit, ditambahkan 1,0 ml larutan Na_2CO_3 jenuh dan diinkubasi selama 40 menit, kemudian dibaca serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 649,9 nm.

C. Penentuan Total Fenol (Kusmiyati et al, 2015)

Ekstrak etanol daun teh ditimbang sebanyak 10 mg dilarutkan dengan aquades hingga 10 mL (konsentrasi 1000 ppm). Dipipet sebanyak 0,5 mL larutan tersebut dan ditambahkan aquadest hingga 5 mL (konsentrasi 100 ppm). Dibuat larutan dengan faktor pengenceran 20 kali dengan dipipet 1,25 mL larutan uji 100 ppm dan dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 25 mL. Selanjutnya dipipet larutan uji sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mL pereaksi *Follin-Ciocalteu* dan didiamkan selama 8 menit sambil dikocok. Ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 7,5% dan divortex selama 1 menit. Diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis 794 nm.

D. Penentuan Kafein (Syah Fitri, 2008)

Serbuk daun teh ditimbang sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian ditambahkan 150 mL aquadest panas, selanjutnya diseduh selama 2 menit sambil diaduk. Larutan teh panas disaring melalui corong kaca ke dalam erlenmeyer menggunakan kertas saring. Filtrat dari larutan teh ditambahkan dengan 1,5 gram CaCO_3 dan diekstraksi dengan kloroform sebanyak 4 kali dengan penambahan 25 mL kloroform pada masing-masing ekstraksi.

Diambil lapisan bawah (lapisan kloroform). Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan rotary evaporator hingga pelarut kloroform menguap seluruhnya. Ekstrak kafein yang diperoleh ditandabatkan dengan aquadest dalam labu ukur 100 mL. Diencerkan 100 kali dalam labu ukur 10 mL. Larutan uji tersebut dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 273,5 nm.

E. Preparasi Standar Asam Tanat (Irianty dan Yenti, 2014)

Sebanyak 10 mg asam tanat ditimbang dan dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 10 mL. Dari tersebut dibuat larutan standar dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30, 35 ppm. Masing-masing larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL dan dicampur dengan 1 mL reagen *Follin Denis*. Campuran dibiarkan selama 3 menit kemudian ditambah dengan Na_2CO_3 jenuh sebanyak 1 mL dan diletakkan di tempat yang tidak terkena cahaya selama 40 menit untuk proses homogenisasi.

F. Preparasi Standar Asam Galat (Kusmiyati et al, 2015)

Ditimbang sebanyak 10 mg asam galat dan dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 10 mL. Dari larutan tersebut dibuat larutan standar dengan konsentrasi 12,5 ; 15 ; 17,5 ; 20; dan 22,5 ppm. Masing-masing larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mL pereaksi *Follin-Ciocalteu* dan didiamkan selama 8 menit sambil dikocok. Ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 7,5% dan divortex selama 1 menit.

G. Preparasi Standar Kafein (Syah Fitri, 2008)

Ditimbang sebanyak 10 mg padatan kafein dan dilarutkan dalam 10 ml aquadest pada labu ukur 10 ml. Ditandabatkan dan dikocok hingga homogen. Dibuat larutan baku antara kafein 100 ppm. Kemudian dibuat larutan standar kafein 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 ppm dengan memipet larutan baku induk kafein 100 ppm masing-masing sebanyak 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml; 0,7 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Ditandabatkan dengan aquadest dan dikocok hingga homogen.

H. Penentuan Kadar Kafein, Tanin, dan Total Fenol dalam Sampel Daun Teh menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Dimasukkan blanko ke dalam kuvet untuk proses baseline. Dilakukan penentuan absorbansi larutan standar kafein, larutan standar asam tanat, dan larutan standar asam galat dengan memasukkan larutan ke dalam kuvet secara bergantian dari konsentrasi terendah ke tertinggi. Kemudian dilakukan analisis pada Spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang maksimum. Setelah itu, dilakukan penentuan absorbansi sampel dengan memasukkan larutan sampel ke dalam kuvet secara bergantian. Kemudian dilakukan analisis pada Spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang maksimum. Data absorbansi

larutan standar kafein, larutan standar asam tanat, dan larutan standar asam galat yang didapatkan kemudian diolah sehingga didapatkan kurva standar. Persamaan kurva standar digunakan untuk menentukan kadar dari sampel.

3.7 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah absorbansi dan konsentrasi sampel. Data tersebut disajikan dalam bentuk tabel dan kurva sebagai berikut :

No	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	Standar 1	2	
2	Standar 2	3	
3	Standar 3	4	
4	Standar 4	5	
5	Standar 5	6	
6	Standar 6	7	

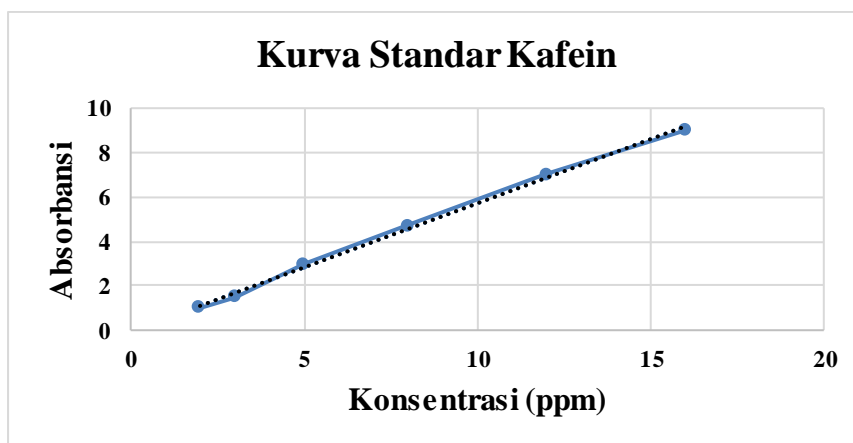
Tabel 3.1 Tabel Penyajian Data Standar Kafein

No	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	Standar 1	10	
2	Standar 2	15	
3	Standar 3	20	
4	Standar 4	25	
5	Standar 5	30	
6	Standar 6	35	

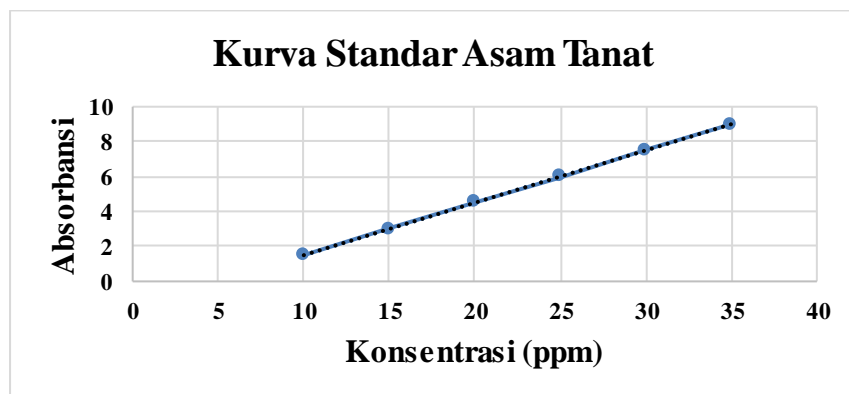
Tabel 3.2 Tabel Penyajian Data Standar Asam Tanat

No	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	Standar 1	12,5	
2	Standar 2	15	
3	Standar 3	17,5	
4	Standar 4	20	
5	Standar 5	22,5	

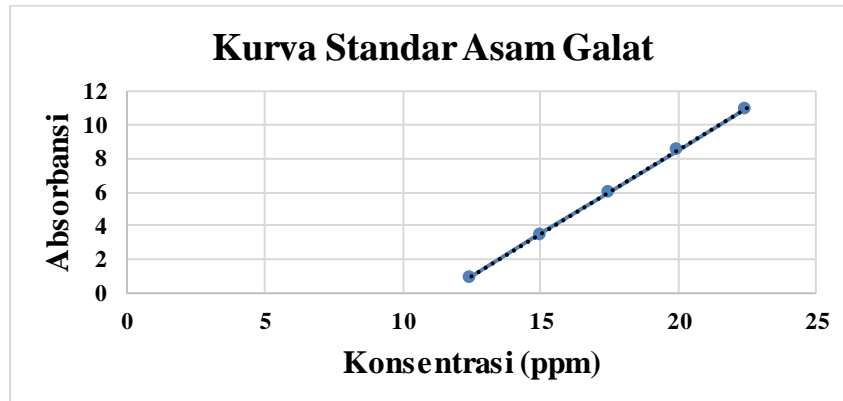
Tabel 3.3 Tabel Penyajian Data Standar Asam Galat



Gambar 3.1 Kurva Standar Kafein



Gambar 3.2 Kurva Standar Asam Tanat



Gambar 3.3 Kurva Standar Asam Galat

No	Sampel	Rata-Rata Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	Kafein		R ₁ = R ₂ = R ₃ =
2	Tanin		R ₁ = R ₂ = R ₃ =
3	Total Fenol		R ₁ = R ₂ = R ₃ =

Tabel 3.4 Tabel Penyajian Konsentrasi Kafein, Tanin, dan Total Fenol dalam Daun Teh

Analisis data dilakukan dengan memplotkan data konsentrasi standar kafein, standar asam tanat, dan standar asam galat dengan hasil absorbansi ke dalam kurva standar sehingga diperoleh persamaan regresi linier ($y=ax+b$). Dari persamaan regresi linier tersebut dapat diperoleh konsentrasi rata-rata dari sampel berdasarkan hasil absorbansi sampel dan kemudian dihitung kadar ($\% \frac{b}{b}$) kafein, tanin, dan total fenol dalam sampel.