

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Rancangan penelitian**

Penelitian ini bersifat deskriptif di laboratorium menggunakan ekstrak daun jambu biji lalu dititrasi dengan larutan  $\text{KMnO}_4$ . Variabel penelitian diantaranya varietas senyawa tanin, ekstrak daun jambu biji putih dan merah, serta penetapan kadar tanin.

#### **B. Subjek penelitian**

Subjek dari penelitian ini yaitu varietas ekstrak daun jambu biji putih dan daun jambu biji merah (*Psidium guajava*) yang diperoleh di Natar, Lampung.

#### **C. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Lokasi penelitian ini di Laboratorium Kimia Farmasi Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang dan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Universitas Lampung. Waktu penelitian ini yaitu pada bulan Februari-Juni 2024

#### **D. Pengumpulan Data**

##### 1. Alat dan bahan

##### a. Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu statif dan klem, labu ukur, beaker glass, pengayak, erlenmeyer, waterbath, spatula, pipet tetes, batang pengaduk, oven, corong gelas, pipet ukur, corong pisah, neraca analitik, ayakan no. 44, pipet volume, kertas saring, oven, cawan penguap, blender, gelas ukur, tabung reaksi, buret, kompor listrik, termometer, dan kain hitam.

##### b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun jambu biji putih, daun jambu biji merah,  $\text{FeCl}$  3%, alkohol 70%, aquadest,  $\text{HCl}$  2N, Dragendroff, Mayer, kloroform, asam asetat anhidrat, gelatin 10%,  $\text{NaCl}$ , asam

sulfat P, aseton P, serbuk Mg Stearat, amil alkohol, asam indigo sulfonat LP, dan kalium permanganat.

1. Prosedur kerja penelitian

a. Identifikasi Tanaman Jambu biji

Dilakukan untuk mengetahui keaslian tanaman jambu biji. Bagian tanaman berikut digunakan untuk mengidentifikasi

- 1) Bentuk daun
- 2) Warna bunga
- 3) Bentuk buah
- 4) Warna daging buah

b. Pembuatan simplisia daun jambu biji

- 1) Diambil dan dikumpulkan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang kondisinya segar.
- 2) Dilakukan sortasi basah untuk membedakan daun jambu biji segar dari benda asing maupun kotoran.
- 3) Dicuci daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) menggunakan air mengalir.
- 4) Dirajang daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) untuk memperkecil ukuran daun.
- 5) Diletakkan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang telah dirajang di atas nampan kemudian dijemur di bawah sinar matahari secara langsung sampai kering dan ditutup dengan kain hitam.
- 6) Dilakukan sortasi kering daun jambu biji untuk membedakan simplisia dengan benda asing maupun kotoran.
- 7) Diblender simplisia daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) untuk memperhalus ukurannya.
- 8) Diayak simplisia kering yang telah menjadi serbuk dengan ayakan mesh No. 40.

c. Ekstraksi pada daun jambu biji (Marjoni, 2016).

Ekstraksi menggunakan metode maserasi yaitu dengan cara:

- 1) Memasukkan 700 gram serbuk simplisia kering kedalam wadah (maserator)
- 2) Lalu tambahkan 4,9 L alkohol 70% ke dalam maserator sampai simplisia terendam, kemudian maserator ditutup hingga rapat.
- 3) Rendam selama 3 hari dan diaduk 3 kali sehari
- 4) Kemudian pisahkan maserat dengan memakai kertas saring,
- 5) Kemudian dilakukan remaserasi atau pengulangan maserasi dengan 2,1 L etanol 70% selama 2 hari dan diaduk 3 kali sehari. Lalu saring kembali menggunakan kertas saring
- 6) Maserat yang didapatkan kemudian dipekatkan memakai *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga kental.
- 7) Ekstrak kental kemudian dikeringkan dalam waterbath pada suhu 40°C untuk menghilangkan sisa pelarut agar didapatkan ekstrak kental yang bebas etanol

d. Skrining fitokimia dengan metode reaksi warna:

- 1) Skrining fitokimia golongan tanin (Marjoni, 2016)
  - a) Sebesar 0,5 gram ekstrak dilarutkan dengan aquadest hingga tidak berwarna
  - b) Diambil larutan sebanyak 2 mL larutan uji, lalu dimasukkan ke tiga tabung reaksi, tabung pertama tambahkan larutan gelatin 10% maka timbul endapan berwarna putih
  - c) Tabung kedua tambahkan NaCl-gelatin (larutan 1% gelatin dalam 10% NaCl dengan perbandingan 1:1) maka timbul endapan berwarna putih
  - d) Tabung ketiga tambahkan larutan FeCl 3% maka terbentuk larutan berwarna hijau biru hingga hitam
- 2) Skrining fitokimia golongan alkaloid (Marjoni, 2016).
  - a) Diambil ekstrak sebesar 0,5 gram lalu tambahkan asam klorida 2 N sebanyak 1 mL dan 9 mL aquadest
  - b) Dipanaskan menggunakan penangas air hingga 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Larutan uji dipakai untuk percobaan:
  - c) Diambil 3 tetes larutan uji, kemudian ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 2 tetes akan timbul endapan putih atau kuning.

- d) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan pereaksi Bouchardat sebanyak 2 tetes akan timbul endapan coklat hingga hitam.
  - e) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan pereaksi Dragendrof sebanyak 2 tetes akan timbul endapan merah bata.
  - f) Jika terdapat endapan putih 2 atau 3 dari pengujian diatas, artinya positif alkaloida
- 3) Skrining fitokimia golongan triterpenoid/steroid (Marjoni, 2016:12).
- a) Sebesar 1 gram ekstrak direndam dengan menggunakan n-heksan sebanyak 20 mL hingga 2 jam, kemudian saring dengan kertas saring.
  - b) Uapkan larutan uji menggunakan cawan.
  - c) Ditambahkan asam asetat anhidrat sebanyak 2 tetes dan asam sulfat pekat sebanyak 1 tetes.
  - d) Menghasilkan warna merah atau ungu lalu berubah menjadi hijau hingga biru artinya positif steroida/triterpenoida
- 4) Skrining fitokimia golongan saponin (Marjoni, 2016:12).
- a) Sebesar 0,5 gram ekstrak dimasukan ke tabung reaksi lalu tambahkan aquadest panas sebanyak 10 mL
  - b) Didinginkan dan kocok kuat hingga 10 detik, maka akan berbusa atau berbuih tidak kurang dari 10 menit dengan tinggi 1 hingga 10 cm
  - c) Lalu ditambahkan larutan asam klorida 2 N sebanyak 1 tetes, jika buih atau busa tidak hilang maka positif saponin
- 5) Skrining fitokimia golongan flavanoid (Marjoni, 2016:10).
- a) Sebesar 10 gram ekstrak ditambahkan aquadest panas sebanyak 100 mL
  - b) Lalu dipanaskan hingga mendidih sampai 5 menit, lalu saring menggunakan kertas saring ketika panas
  - c) Sebanyak 5 mL larutan uji yang didapatkan ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,1 gram, HCl pekat sebanyak 1 mL dan amil alkohol sebanyak 2 mL.
  - d) Lalu kocok dan biarkan hingga memisah. Terjadi warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol artinya positif flavonoid.

e. Prosedur Titrasi Volumetri (Depkes, 1977).

1) Standarisasi larutan  $\text{KMnO}_4$  0,1N dengan larutan asam oksalat 0,1 N

- a) Disiapkan alat dan bahan
- b) Dibersihkan buret dengan cara dibilas dengan aquadest, lalu dibilas kembali dengan larutan  $\text{KMnO}_4$  0,1N
- c) Dipasang buret pada statif dan klem dengan benar pada posisi tegak lurus
- d) Dimasukkan  $\text{KMnO}_4$  0,1N ke dalam buret dengan bantuan corong dan beaker glass hingga mencapai miniskus atas
- e) Dimasukkan asam oksalat ( $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ ) 0,1 N sebanyak 10,0 ml masukan ke dalam erlenmeyer menggunakan pipet volume dan bulb
- f) Ditambahkan asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 4N sebanyak 10 ml kedalam erlenmeyer
- g) Dipanaskan menggunakan penangas air sampai suhu  $70^\circ\text{C}$  (tidak mendidih)
- h) Kemudian dititrasi dengan larutan  $\text{KMnO}_4$  0,1N sampai TAT terbentuk warna merah muda
- i) Dicatat volume  $\text{KMnO}_4$  untuk menghitung normalitas, dengan rumus sebagai berikut:

$$N(\text{KMnO}_4) = \frac{V(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4) \times N(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4)}{V(\text{KMnO}_4)}$$

2) Penetapan blanko

- a) Diisi kembali buret dengan larutan  $\text{KMnO}_4$  0,1N dengan menggunakan beaker glass dan corong glass hingga mencapai miniskus atas
- b) Diukur aquadest sebanyak 31 ml menggunakan gelas ukur, masukan kedalam erlenmeyer
- c) Ditambahkan 1,0 ml asam indigo kedalam erlenmeyer
- d) Kemudia dititrasi dengan larutan  $\text{KMnO}_4$  0,1N hingga TAT terbentuk warna kuning keemasan
- e) Dicatat volume  $\text{KMnO}_4$

## 3) Penetapan Kadar Tanin Dalam Ekstrak Daun Jambu Biji

- a) Diisi kembali buret dengan larutan  $\text{KMnO}_4$  0,1N dengan menggunakan beaker glass dan corong glass hingga mencapai miniskus atas
- b) Ditimbang ekstrak sebanyak 2 gram
- c) Dipanaskan dengan 50 ml air mendidih selama 30 menit, sambil diaduk
- d) Diamkan beberapa menit, endapkan, kemudian saring kedalam labu ukur 250 ml
- e) Dibilas ampasnya dengan air mendidih, saring larutan kedalam labu ukur yang sama
- f) Ulangi beberapa kali hingga larutan bila direaksikan dengan  $\text{FeCl}_3$  tidak menunjukkan adanya tanin
- g) Didinginkan, lalu ditambahkan dengan aquadest ad 250 ml
- h) Dipipet 1,0 ml filtrat menggunakan pipet volume masukan kedalam erlenmeyer
- i) Ditambahkan dengan aquadest sebanyak 30 ml menggunakan gelas ukur
- j) Ditambahkan 1,0 ml asam indigo sulfonate LP menggunakan pipet volume masukan kedalam erlenmeyer
- k) Dititrasi dengan  $\text{KMnO}_4$  0,1N hingga larutan berwarna kuning emas
- l) Dicatat volume  $\text{KMnO}_4$  untuk menghitung kadar, dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{Tanin} = \frac{250(A-B) \times N \times @}{W \times 0,1 N} \times 100\%$$

**Keterangan:**

10 : faktor pengenceran

A : volume  $\text{KMnO}_4$  sampel

B : volume  $\text{KMnO}_4$  blanko

N : normalitas  $\text{KMnO}_4$

@ : kesetaraan

W : berat sampel

### **E. Pengolahan dan Analisis Data**

Data hasil pengujian ditampilkan dalam bentuk tabel, hasil penelitian berupa angka untuk mengetahui apakah daun jambu biji positif mengandung tanin dan mengetahui kadar tanin. Kemudian, data diolah dengan cara deskriptif kuantitatif (Dewi, dkk., 2018).