

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan pengujian deskriptif tentang uji kemurnian madu berdasarkan parameter aktivitas enzim diastase dan kadar air. Penelitian ini terdiri dari 2 parameter uji yakni uji aktifitas enzim diastase dan kadar air pada madu. Data pada penelitian ini diperoleh dari hasil PKL (Praktik Kerja Lapangan) di Balai Riset dan Standardisasi Industri Surabaya. Sampel madu yang diuji berupa cairan kental berwarna kuning kecoklatan dan dikemas pada botol plastik 250 ml. Sampel madu tersebut berasal dari produsen rumahan maupun dari produk industri.

3.2 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

3.2.1 Waktu

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada bulan Februari- Mei2020

3.2.2 Tempat Pelaksanaan penelitian

Pelaksanaan pengujian aktifitas enzim diastase dan kadari air pada madu di Laboratorium Kimia Balai Riset dan Standardisasi Industri Surabaya.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Beker glass, batang pengaduk, kaca arloji, spatula, labu ukur, botol semprot, gelas ukur, hotplate, waterbath, penangas air, corong, neraca analitik, spektrofotometer UV-VIS A114550 , refraktometer ATAGO RX-7000x

3.3.2 Bahan

Larutan stock iod, larutan iod 0,0007N, larutan dapar asetat pH 5,3 (1,59M), Larutan natrium klorida (NaCl) 0,5 M, larutan amilum, akuades, sampel madu

3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diteliti dalam penelitian ini meliputi :

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah madu

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas enzim diastase dan kadar air

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Tabel Definisi Operasional Penelitian

Variabel	Definisi Operasional	Cara ukur	Alat ukur	Skala Ukur
Enzim diastase	Enzim diastase merupakan enzim yang ditambahkan oleh lebah saat pematangan madu	Direaksikan dengan bahan kimia dan dianalisis menggunakan instrument	Spektrofotometer UV-VIS	Rasio
Kadar air	Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen (%).	Pembacaan indeks bias madu pada suhu suhu 20°C, atau suhu pembacaan yang telah dikoreksi 20°C, menunjukkan besarnya kadar air	Refractometer	Rasio

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Pembuatan larutan stock iod 0,07 N

Ditimbang iod 8,80 gram dan ditambahkan dengan 22 gram KI kemudian dilarutkan dengan akuades hingga homogen. Larutan tersebut diencerkan dalam labu ukur 1000 ml.

3.6.2 Pembuatan larutan iod 0,0007 N

Ditimbang 20 gram KI dan dilarutkan dalam 5 ml larutan stock iod dalam labu ukur 500 ml. kemudian diencerkan dan ditandabatkan dengan menggunakan akuades

3.6.3 Pembuatan larutan dapar asetat pH 5,3 (1,59 M)

Ditimbang 87 gram $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dan dilarutkan dalam 400 ml air, lalu ditambahkan dengan 10,5 ml larutan asam asetat dalam air dan ditandabatkan hingga 500 ml dalam labu ukur dengan akuades. Mengatur larutan sampai pH 5,3 dengan penambahan air, natrium asetat atau asam asetat.

3.6.4 Pembuatan larutan natrium klorida (NaCl) 0,5 M

Ditimbang 14,5 gram natrium klorida dan dilarutkan dalam 500 ml akuades yang telah dididihkan.

3.6.5 Pembuatan larutan amilum 0,02%

Menimbang 2 gram amilum dan dilarutkan dengan 90 ml akuades. Kemudian dididihkan sambil diaduk sampai larutan amilum berubah menjadi bening. Larutan amilum bening didinginkan hingga suhu ruang lalu ditandabatkan dengan akuades dalam labu ukur 100 ml.

3.6.6 Standarisasi Iodine (I_2)

Larutan amilum dipipet 5 ml dan ditambahkan 10 ml akuades lalu dilarutkan hingga homogen. Larutan campuran tersebut dipipet 1 ml ke dalam erlenmeyer 50 ml yang sudah berisi 10 ml larutan iod 0,0007 N. Kemudian kocok hingga homogen dan analisis dengan spektrofotomer UV-VIS hingga memperoleh nilai

absorban $0,760 \pm 0,02$. Ditambahkan akuades apabila larutan tersebut kurang encer.

3.6.7 Preparasi sampel

Madu ditimbang 5 gram menggunakan timbangan neraca analitik dalam gelas beker. Ditambahkan 10 ml akuades dan 2,5 larutan dapar asetat pH 5,3 (1,59 M). Larutan sampel tersebut diaduk hingga homogen. Kemudian larutan tersebut dipindahkan dalam labu ukur 25 ml yang berisi 1,5 ml larutan NaCl dan ditandabatakskan dengan akuades.

3.6.8 Penetapan absorbansi

Larutan sampel dipipet sebanyak 10 ml dan dimasukkan dalam erlenmeyer 50 ml. Kemudian ditambahkan 5 ml larutan amilum melalui dinding erlenmeyer, larutan dikocok hingga homogen dan dimasukkan dalam waterbath dengan suhu $40^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit. Setiap interval waktu 5 menit ditambahkan 1 ml larutan campuran sampel ke dalam gelas ukur berisi 10 ml larutan iod. Kemudian diencerkan dengan akuades sampai volume sama dengan saat standarisasi dan dicampurkan hingga homogen. Larutan tersebut ditetapkan nilai absorbansinya pada panjang gelombang 660 nm. Dicatat waktu, sejak pencampuran amilum dengan madu sampai penambahan larutan iodine, sebagai waktu reaksi. Pengambilan larutan dilanjutkan dalam selang waktu tertentu sampai diperoleh nilai $A < 0,235$. Kemudian dibuat kurva hubungan waktu inkubasi pemanasan madu dengan absorbansi dari kompleks amilum-iodine. Dengan menggunakan persamaan regresi dari kurva hubungan tersebut sehingga dapat dihitung nilai nomor diastase (DN).

3.7 Penetapan kadar air

Plat cahaya pada refractometer dibuka. Kemudian madu ditetaskan beberapa tetes hingga madu menutupi seluruh area biru. Lalu data indeks bias muncul pada *view finder*. Hasil indeks bias tersebut dicatat dan dibandingkan dengan tabel hubungan indeks bias dengan kadar air madu pada SNI 3545:2013.

3.8 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

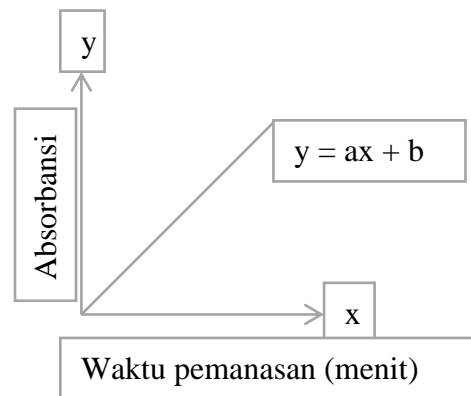
3.8.1. Uji aktivitas enzim diastase

Data diperoleh dari pengujian sampel di laboratorium dengan menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis. Data disajikan dalam bentuk table berdasarkan waktu pemanasan dan nilai absorbansi :

Tabel 3. Pengolahan data hasil pengujian aktivitas enzim diastase dengan spektrofotometer UV-Vis

No sampel	Waktu Pemanasan	Absorbansi
A	5	
	10	
	15	

Nilai nomor diastase (DN) dapat dihitung dengan membuat kurva hubungan waktu pemanasan madu dengan absorbansi dari kompleks amilum-iodine.



Gambar 2. Kurva hubungan waktu pemanasan madu dengan absorbansi dari kompleks amilum-iodine

Dari kurva tersebut dapat diketahui persamaan linear yang digunakan untuk mengetahui waktu yang ditempuh saat mencapai absorbansi ($A < 0,235$) sehingga dapat diketahui nilai nomor diastase (DN) dengan rumus sebagai berikut :

$$DN = \frac{300}{t}$$

Keterangan :

DN : aktivitas enzim diastase

t : waktu yang digunakan untuk mencapai nilai absorbansi ($A=0,235$)

3.8.2 Uji kadar air

Data indeks bias pada madu disajikan dalam bentuk tabel. Nilai indeks bias tersebut dibandingkan dengan table nilai kadar air, sesuai dengan SNI-3545:2013.