

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen untuk mengetahui kondisi optimal ekstrak amilum biji durian dalam upaya pembuatan prototype reagen untuk penentuan kadar vitamin C dengan melakukan optimasi pH dan optimasi konsentrasi amilum.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Maret 2022 di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, telenan, baskom, timbangan analitik *Ohaus*, grinder *Fomac ZT-300*, mesh no 10, sendok, kain, oven *Memmert UN30*, loyang, botol semprot, erlenmeyer *Pyrex* 250 ml, beaker glass *Iwaki* 100 ml, labu ukur *Iwaki* 25 ml, labu ukur *Pyrex* 250 ml, labu ukur *Iwaki* 500 ml, labu ukur *Iwaki* 1000 ml, pipet volume *HBG Germany* 10 ml, pipet volume *Silber Brand* 20 ml, pipet ukur *Pyrex* 1 ml, pipet tetes, tabung reaksi, kaca arloji, botol gelap, bola hisap, spatula, batang pengaduk, corong gelas *Herma*, mortar, alu, klem, pH meter *Eutech* pH 700, buret *Pyrex* 25 ml, dan statif.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak amilum biji durian (5%, 7,5%, dan 10%), asam askorbat *Merck*, padatan iodin, padatan kalium iodida (KI), asam sulfat (H_2SO_4) *Merck*, natrium metabisulfit ($Na_2S_2O_5$), dan aquadest.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Independen

Variabel independen pada penelitian ini adalah optimasi pH untuk reaksi yaitu pada pH 1,5 ; 2 ; dan 2,5 serta optimasi konsentrasi amilum biji durian yaitu pada konsentrasi 5%, 7,5% dan 10%

3.4.2 Variabel Dependen

Variabel dependen pada penelitian ini adalah konsentrasi asam askorbat.

3.5 Definisi Operasional Variabel

| NO | Variabel | Definisi Operasional | Metode | Alat Ukur | Skala Ukur |
|----|---|--|---|-------------|------------|
| 1. | Ekstrak amilum biji durian | Untuk memastikan ada atau tidaknya kandungan amilum pada biji durian | Melakukan uji kualitatif dengan cara direaksikan dengan reagen iodin 0,1 N | Panca indra | Nominal |
| 2. | Optimasi konsentrasi amilum biji durian | Untuk mencari konsentrasi optimal dari amilum biji durian | Melakukan uji kuantitatif titrasi dengan rentang konsentrasi amilum yang di gunakan yaitu 5%, 7,5% dan 10% | Buret | Nominal |
| 3. | Optimasi pH untuk reaksi | Untuk mencari pH optimal yang digunakan untuk reaksi | Melakukan uji kuantitatif titrasi dengan rentang pH yang digunakan untuk reaksi yaitu pada pH 1,5 ; 2 ; dan 2,5 | Buret | Nominal |

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Pembuatan Larutan Natrium Metabisulfit 2500 ppm (Darmawan dkk., 2019)

Serbuk $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ditimbang sebanyak 5,05 gram dan dimasukkan ke dalam beaker glass. Ditambahkan aquades dan di aduk hingga homogen menggunakan batang pengaduk. Setelah itu, dimasukkan ke dalam baskom dan ditambahkan aquades hingga 2000 ml dan di kocok hingga homogen.

3.6.2 Preparasi Biji Durian

Langkah pertama yang dilakukan adalah mengumpulkan biji durian. Kemudian mengupas kulit biji durian hingga bersih. Selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan dari pengotor dan di cuci hingga bersih dengan menggunakan air mengalir.

Biji durian yang sudah bersih ditimbang sebanyak 503,45 gram. Kemudian direndam dengan natrium metabisulfit selama 24 jam. Setelah direndam menggunakan natrium metabisulfit selama 24 jam kemudian dibilas menggunakan air mengalir untuk membersihkan dari pengotor yang masih menempel dan ditiriskan.

Selanjutnya dipotong menjadi ukuran kecil-kecil untuk memudahkan dalam proses pengeringan. Biji durian yang sudah dipotong menjadi ukuran kecil-kecil dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 65°C selama 8 jam. Kemudian biji durian yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan grinder dan diayak menggunakan mesh ukuran 10. Setelah itu ditimbang menggunakan neraca analitik.

3.6.3 Ekstraksi Amilum Biji Durian

Ekstraksi amilum biji durian dilakukan dengan menimbang serbuk biji durian sebanyak 120,12 gram, kemudian ditambahkan aquades sebagai pelarut. Setelah itu diaduk hingga tercampur rata. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kain. Filtrat cair yang didapat selanjutnya ditampung dalam wadah tertutup dan didiamkan selama 24 jam untuk memisahkan fase air dan amilum.

Setelah didiamkan 24 jam maka akan terbentuk 2 fasa. Bagian bawah berwarna putih susu (amilum) dan bagian atas berwarna putih kekuningan (air). Amilum diambil dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C

selama 10 jam. Ekstrak yang sudah kering kemudian di haluskan kembali menggunakan mortar dan alu. Setelah itu ditimbang kembali untuk mengetahui bobot akhir yang diperoleh. Serbuk disimpan dalam wadah tertutup.

3.6.4 Uji Kualitatif Ekstrak Amilum Biji Durian

Serbuk amilum ekstrak biji durian ditimbang sebanyak 0,25 gram kemudian ditambahkan aquades sebanyak 25 ml. Diaduk hingga tercampur sempurna dan dipipet sebanyak 5 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 1 tetes iodine 0,1 N dan diamati perubahan warna yang terjadi.

3.6.5 Uji Pendahuluan

a) Optimasi Konsentrasi Amilum Ekstrak Biji Durian 1% dan pH Larutan Tanpa Penambahan Asam Sulfat

Disiapkan larutan asam askorbat 500 ppm kemudian di pipet sebanyak 20 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Selanjutnya ditambahkan ekstrak amilum biji durian 1% sebanyak 1 ml dan dilakukan pengukuran menggunakan pH meter. Kemudian dititrasi dengan larutan iodine 0,1 N. Diamati perubahan warna yang terjadi.

b) Optimasi Konsentrasi Amilum Ekstrak Biji Durian 3% dan pH Larutan Tanpa Penambahan Asam Sulfat

Disiapkan larutan asam askorbat 500 ppm kemudian di pipet sebanyak 20 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Selanjutnya ditambahkan ekstrak amilum biji durian 3% sebanyak 1 ml dan dilakukan pengukuran menggunakan pH meter. Kemudian dititrasi dengan larutan iodine 0,1 N. Diamati perubahan warna yang terjadi.

3.6.6 Pembuatan reagen amilum ekstrak biji durian dengan variasi konsentrasi

Serbuk ekstrak biji durian masing-masing di timbang sebanyak 1,25 gram, 1,87 gram, dan 2,5 gram. Setelah itu dimasukkan ke dalam beaker glass yang telah diisi sedikit aquades dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar 25 ml dan di tambahkan aquades hingga tanda batas. Kemudian di kocok lagi hingga homogen. Setelah itu dipindahkan ke dalam botol gelap.

3.6.7 Uji Optimasi Konsentrasi Amilum Ekstrak Biji Durian dan pH Larutan

Disiapkan larutan asam askorbat 500 ppm kemudian di pipet masing-masing sebanyak 20 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Selanjutnya ditambahkan ekstrak amilum biji durian dengan berbagai variasi konsentrasi masing-masing dipipet sebanyak 1 ml dan dilakukan penambahan asam sulfat hingga pH 1,5 ; 2 ; 2,5 serta dilakukan juga uji optimasi pH tanpa penambahan asam sulfat. Kemudian dititrasi dengan larutan iodin 0,1 N untuk mengetahui konsentrasi amilum dan pH reaksi yang paling optimal.

3.7 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

3.7.1 Uji Kualitatif Ekstrak Amilum Biji Durian

Ekstrak biji durian di uji secara kualitatif. Hasil positif (+) amilum ditunjukkan dengan perubahan warna dari putih menjadi biru gelap keunguan dan hasil negatif (-) ditunjukkan dengan tidak terjadi perubahan warna.

3.7.2 Uji Optimasi Konsentrasi Amilum Ekstrak Biji Durian dan pH Larutan

Data uji optimasi konsentrasi amilum ekstrak biji durian dan pH untuk reaksi yang di uji secara kuantitatif dengan titrasi iodimetri disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Kemudian dianalisis dan diambil hasil pengujian yang paling optimal dengan melihat %kadar asam askorbat setelah dititrasi yang mempunyai hasil paling mendekati atau sama dengan %kadar asam askorbat awal itu merupakan hasil yang paling optimal.