

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juni-Agustus 2013 di Laboratorium FMIPA UMRI dan Laboratorium FAPERTAPET UIN SUSKA RIAU.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas seperti: beaker gelas 500 mL, 250 mL, 100 mL dan 50 mL, erlenmeyer 250 mL; gelas ukur 100 mL dan 10 mL, labu ukur 100 mL dan 10 mL, pipet mikro, pipet volume, alat destilasi, termometer, corong pisah, desikator, pipet tetes, corong, *hot plate stirrer*, *magnetic stirrer*, neraca analitik, spatula, kertas saring, alat *rotary evaporatory*, oven, botol gelap, blender, portal dan alu, serta beberapa alat dapur (memasak).

2. Bahan

Bahan utama dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*), antioksidan BHT, dan minyak kelapa. Reagen yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan pati, KI (p.a); $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N (p.a); CH_3Cl (p.a), akuades, Etanol netral; HCl 6 N (p.a); CH_3COOH (p.a); $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,1N (p.a) dan Na_2CO_3 (p.a).

C. Prosedur Penelitian

1. Prosedur Pembuatan Larutan

a. Larutan pati 1%

Menimbang pati sebanyak 0,5 gram lalu melarutkannya dalam akuades dingin hingga berbentuk pasta. Kemudian pasta tersebut ditambahkan ke dalamnya akuades yang sedang mendidih kuat hingga tanda tera 50 mL pada gelas lalu diaduk dengan cepat-cepat dan dinginkan. Pembuatan larutan pati dilakukan setiap kali melakukan titrasi.

b. Larutan HCl 2 N

Diambil 1,66 mL HCl pekat, lalu dimasukkan kedalam labu 10 mL. Ditambahkan aquades sampai tanda tera, dan dikocok.

c. Larutan KI 10 %

Menimbang sebanyak 10 gram KI dan melarutkannya dalam labu 100 mL dengan aquades sampai tanda batas.¹ Larutan tersebut dikocok dan disimpan dalam botol gelap.

d. Larutan KI 0,1 N

Menimbang 1,66 gram KI, kemudian dimasukkan kedalam labu 100 mL, ditambahkan aquades yang sudah dididihkan (dingin) sampai tanda tera. Larutan digoyang-goyang labunya. Larutan disimpan dalam botol gelap.

¹ Sintong Parsaoran Sihombing, *Op.Cit.* hlm.23

e. Larutan KI jenuh

Diambil 15 gram KI, lalu dimasukkan dalam botol gelap. Ditambahkan 10 mL aquades kemudian dikocok sampai jenuh tidak larut semua.

f. Larutan asam asetat : kloroform (3:2)

Diambil 600 mL asam asetat glacial dicampur dengan 400 mL kloroform lalu dikocok. Larutan disimpan didalam lemari asam.

g. Larutan $K_2Cr_2O_7$ 0,01N

Menimbang sebanyak 0,5 gram kristal orange $K_2Cr_2O_7$ dan melarutkannya dalam beaker gelas dengan akuades 1000 mL dan diaduk hingga homogen menggunakan magnetic stirrer .²

h. Larutan $Na_2S_2O_3$ 0,01 N

Menimbang sebanyak 0,26 gram $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ dan 0,02 gram Na_2CO_3 kemudian dilarutkan dalam akuades yang telah dididihkan dan sudah didinginkan terlebih dahulu. Setelah tercampur sempurna, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades mendidih yang telah dingin hingga tepat tanda tera, diaduk dan disimpan dalam botol gelap. Larutan ini harus dibiarkan selama dua hari sebelum digunakan.³

2. Prosedur Pembuatan ekstrak kulit jengkol

Sampel kulit jengkol sebanyak 1 kg dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dalam oven dengan suhu $50^{\circ}C$ selama 4 hari. Lakukan penimbangan dengan timbangan teknis hingga berat konstan. Kemudian sampel kering diblender sampai halus, lalu diayak setelah itu diambil sebanyak

² L.Pasaribu, *Op.Cit*, hlm. 78

³ Badan Standarisasi Nasional, 2005, dikutip dalam skripsi Sintong Parsaoran Sihombing, *Loc. Cit.*

100 gram. Serbuk kulit jengkol sebanyak 100 gram tersebut dilarutkan dengan 0,4 L etanol yang sudah di destilasi selama 4 x 24 jam.⁴ Larutan tersebut disaring dengan kertas saring dan diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak pekat.⁵

3. Uji Flavanoid ekstrak kental kulit jengkol

Diambil ekstrak kental kulit jengkol 20 mg lalu dimasukkan dalam Erlenmeyer dan tutup. Masukkan serbuk Mg dan tambahkan 2 mL HCl 2 N. Terjadi perubahan warna merah sebagai tanda adanya flavanoid.

4. Prosedur pembuatan Minyak Kelapa tradisional (cara basah)

Pertama sekali diambil 25 buah kelapa tua lalu disiapkan. Pilihlah kelapa yang masih dalam keadaan baik / tidak busuk. Parutlah daging kelapa untuk mendapatkan ampas daging kelapa. Kemudian ditambahkan air hangat secukupnya pada ampas daging kelapa tadi, diremas-remas dan diperas. Hasil perasan disaring dengan penyaring santan biasa, sehingga didapatkan santan dan ampas kering. Santan didiamkan kurang lebih 1 malam hingga terlihat batas sari santan dan air. Sari santan tersebut dimasak atau dipanasi 4-5 jam hingga minyak tampak dipermukaan blondo. Diamkan sejenak lalu pisahkan minyak dan blondo tersebut. Minyak disaring dengan menggunakan kertas saring. Lakukan penyaringan maksimal 2 kali. Simpan minyak di botol gelap.⁶

⁴ Yayang Maliana, dkk, *Aktifitas Antibakteri Kulit Garcinia mangostana Linn. Terhadap Pertumbuhan Flavobacterium dan Enterobacter dari Captotermes Curvignathus Holmgren*, Biologi FMIPA, Universitas Tanjungpura, Pontianak, 2013, vol: 2-1

⁵ Sintong Parsaoran Sihombing, *Loc Cit.*

⁶ M.Qazuini, *Proses Pembentukan Bau pada Minyak Kelapa Lombok*, Liberty, Yogyakarta, 1993, hlm. 17

5. Penentuan kadar air dalam minyak kelapa

Wadah tahan panas (gelas beker) dioven pada suhu 105⁰C–110⁰C selama 30 menit kemudian ditempatkan pada desikator. Setelah dingin wadah ditimbang sehingga diperoleh berat wadah kosong. Ke dalam wadah ditambahkan dengan 5 gram minyak kelapa kemudian dioven pada suhu 105 – 110⁰C selama 30 menit. Wadah yang berisi minyak kelapa tadi, di dinginkan dalam desikator kemudian ditimbang sampai berat konstan. Pekerjaan ini diulang sebanyak tiga kali.⁷

Perhitungan :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{berat minyak awal} - \text{berat minyak akhir}}{\text{berat minyak awal}} \times 100\%$$

6. Larutan Induk (ekstrak kulit jengkol 1000 ppm dalam minyak kelapa)

Ditimbang dengan tepat 100 mg ekstrak kulit jengkol, dicatat hasil penimbangan. Kemudian ekstrak kulit jengkol tersebut dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan minyak kelapa sampai tanda tera. Larutan ini dipindahkan dan disimpan kedalam botol gelap.

7. Larutan Ekstrak kulit jengkol 0, 75, 150, 225, dan 300 ppm dalam minyak kelapa

Dipipet 0; 0,75 ; 1,5 ; 2,25 ; dan 3 mL larutan induk ekstrak kulit jengkol kedalam labu ukur 10 mL. Tiap-tiap larutan tersebut kemudian diencerkan menggunakan minyak kelapa sampai tanda tera. Tiap-tiap larutan tersebut

⁷ Dwi Adhi Suastuti, *Kadar Air dan Bilangan Asam dari Minyak Kelapa yang Dibuat dengan cara Tradisional dan Fermentasi*, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bali, 2009, Vol: 3. No.7

mengandung 0, 75, 150, 225, dan 300 ppm ekstrak kulit jengkol. Kemudian larutan tadi dipindahkan kedalam botol gelap dan ditutup rapat. Simpan pada suhu kamar.

8. Larutan Induk BHT 1000 ppm dalam minyak kelapa

Ditimbang dengan tepat 100 mg BHT, dicatat hasil penimbangan. Kemudian BHT tersebut dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dilarutkan dengan minyak kelapa sampai tanda tera. Larutan ini dipindahkan dan disimpan kedalam botol gelap.

9. Larutan BHT 0, 75, 150, 225, dan 300 ppm dalam minyak Kelapa

Dipipet 0; 0,75 ; 1,5 ; 2,25 ; dan 3 mL larutan induk BHT kedalam labu ukur 10 mL. Tiap-tiap larutan tersebut kemudian diencerkan menggunakan minyak kelapa sampai tanda tera. Tiap-tiap larutan tersebut mengandung 0, 75, 150, 225, dan 300 ppm BHT. Kemudian larutan tadi dipindahkan kedalam botol gelap dan ditutup rapat. Simpan pada suhu kamar.⁸

10. Standarisasi Normalitas larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N.

Pipet 10 mL larutan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,01 N, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL, , tambahkan 3 mL HCl pekat, kemudian tambahkan 10 mL KI 0,1 N. Lakukan prosedur diatas untuk larutan blanko, yaitu dengan memipet air suling 10 mL. Setelah tercampur, larutan dalam labu erlenmeyer dibiarkan selama 10 menit dalam ruang tertutup (gelap). Kemudian titar dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N tersebut. Ketika larutan berubah warna dari coklat menjadi kuning terang. tambahkan beberapa tetes larutan pati segar lalu

⁸ S.Pasaribu, dkk, *Pengaruh penambahan ekstrak heksan biji kepayang (pangium edulle R) terhadap bilangan peroksida minyak kelapa (cocos nucera L) yang diolah secara tradisional*, FMIPA Universitas Mulawarman, jurnal, 2011

titar kembali. Titik akhir titrasi untuk larutan contoh adalah jika warna berubah menjadi hijau terang, sedangkan larutan blanko menjadi tidak berwarna. Catat mL larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N yang terpakai hingga titik akhir titrasi. Lakukan tiga kali pengulangan. Lalu gunakan rumus berikut untuk menentukan normalitas sebenarnya larutan Natrium Tiosulfat tersebut.⁹

$$\text{Normalitas Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = \frac{\text{Normalitas K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \times 10}{(A-B)}$$

Keterangan:

10 adalah mL $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

A : volume titran $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ untuk larutan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (mL)

B : volume titran untuk larutan blanko (mL) (Badan Standarisasi Nasional, 2005)

11. Prosedur Penentuan Bilangan Peroksida pada Campuran Larutan Ekstrak Kulit Jengkol dalam Minyak Kelapa

Sebanyak 1 gram sampel 0, 75, 150, 225, dan 300 ppm pada 0 hari ditimbang masing-masingnya lalu dimasukkan ke dalam lima erlenmeyer 250 mL bertutup. Selanjutnya ditambahkan campuran asam asetat-kloroform (3:2) sebanyak 6 mL, kemudian dikocok dengan sempurna. Menambahkan 0,2 mL larutan KI jenuh menggunakan pipet mikro, lalu erlenmeyer ditutup dan dikocok perlahan-lahan selama 1 menit. Selanjutnya ditambahkan 6 mL akuades dan digoyang-goyang, diamkan kira-kira selama 30 menit. Campuran

⁹ Badan Standarisasi Nasional, *Op. Cit*, hlm.65

kemudian dititrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N hingga warna kuning hilang, lalu ditambahkan larutan pati 1% sebanyak 0,2 mL. Dititrasi kembali sampai warna biru hilang dan dicatat volume terpakai. Dengan cara yang sama dibuat juga penentuan blanko. Lakukan hal yang sama (titrasi) pada minggu ke-1, ke-2, ke-3, dan ke-4.

12. Prosedur Penentuan Bilangan Peroksida Campuran Antioksidan Sintetis BHT dalam Minyak Kelapa

Sebanyak 1 gram sampel 0, 75, 150, 225, dan 300 ppm pada 0 hari ditimbang masing-masingnya lalu dimasukkan ke dalam lima erlenmeyer 250 mL bertutup. Selanjutnya ditambahkan campuran asam asetat-kloroform (3:2) sebanyak 6 mL, kemudian dikocok dengan sempurna. Menambahkan 1 mL larutan KI jenuh, lalu erlenmeyer ditutup dan dikocok perlahan-lahan selama 1 menit. Selanjutnya ditambahkan 6 mL akuades dan digoyang-goyang. Campuran kemudian dititrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N hingga warna kuning hilang, lalu ditambahkan larutan pati 1% sebanyak 0,2 mL. Dititrasi kembali sampai warna biru hilang dan dicatat volume terpakai. Titrasi diulangi sampai tiga kali perulangan untuk setiap perlakuan. Lakukan hal yang sama (titrasi) pada minggu ke-1, ke-2, ke-3, dan ke-4.

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{a-b \times N \times 8 \times 100}{G}$$

Dimana:

a= Jumlah mL Larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang terpakai pada sampel

b= Jumlah mL Larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang terpakai pada blanko

N= Normalitas Larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

G= Berat contoh minyak dalam gram

$8 = \frac{1}{2}$ dari berat atom oksigen

D. Teknik Pengumpulan Data

Buah kelapa yang digunakan dalam penelitian yang akan dilaksanakan berasal dari Kampung Tiku Pariaman, Sumatera Barat dan Kulit jengkol diperoleh dari Pasar Pagi Panam Pekanbaru, Riau.

Dalam penelitian ini akan digunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF), dengan dua faktor perlakuan yaitu faktor lama penyimpanan campuran ekstrak kulit jengkol dengan minyak goreng dan faktor konsentrasi ekstrak kulit jengkol. Faktor lama penyimpanan campuran ekstrak kulit jengkol dengan minyak goreng ada lima taraf perlakuan yaitu 0, 1, 2, 3, dan 4 minggu. Sedangkan faktor konsentrasi ekstrak kulit jengkol yang dicampur dengan minyak ada lima taraf perlakuan yaitu, 0 ppm ekstrak kulit jengkol; 75 ppm ekstrak kulit jengkol; 150 ppm ekstrak kulit jengkol; 225 ppm ekstrak kulit jengkol dan 300 ppm ekstrak kulit jengkol (kontrol BHT 0, 75, 150, 225, dan 300 ppm). Untuk masing-masing perlakuan akan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Data yang diperoleh ditabulasi dengan model tabel pengamatan dibawah ini:

Lama Penyimpanan,B (Minggu)	Konsentrasi ekstrak kulit jengkol / BHT dalam minyak kelapa A (ppm)				
	0 (A ₁)	75 (A ₂)	150 (A ₃)	225 (A ₄)	300 (A ₅)
0 (B ₁)					
1 (B ₂)					
2 (B ₃)					
3 (B ₄)					
4 (B ₅)					

Keterangan :

- A₁ : Konsentrasi 0 ppm ekstrak kulit jengkol/ BHT dalam minyak kelapa
- A₂ : Konsentrasi 75 ppm ekstrak kulit jengkol/BHT dalam minyak kelapa
- A₃ : Konsentrasi 150 ppm ekstrak kulit jengkol/ BHT dalam minyak kelapa
- A₄ : Konsentrasi 225 ppm ekstrak kulit jengkol/ BHT dalam minyak kelapa
- A₅ : Konsentrasi 300 ppm ekstrak kulit jengkol/ BHT dalam minyak Kelapa
- B₁ : Lama penyimpanan 0 minggu
- B₂ : Lama penyimpanan 1 minggu
- B₃ : Lama penyimpanan 2 minggu

B₄ : Lama penyimpanan 3 minggu

B₅ : Lama penyimpanan 4 minggu

Metode statistic yang digunakan adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} = Perubahan bilangan peroksida pada ulangan ke-k yang memperoleh kombinasi ij (taraf ke-i dari factor lama penyimpanan dan taraf ke j konsentrasi ekstrak kulit jengkol

K = Kelompok

μ = Nilai tengah populasi

α_i = Pengaruh lama penyimpanan

β_j = Pengaruh konsentrasi

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Pengaruh interaksi faktor konsentrasi ekstrak kulit jengkol taraf ke-i dan faktor lama penyimpanan taraf ke-j

ϵ_{ijk} = Pengaruh galat percobaan pada ulangan ke-k yang memperoleh kombinasi perlakuan ij

E. Analisis Data

Pada penelitian ini, untuk melihat pengaruh perlakuan (adanya kemampuan antioksidan), dilakukan analisis ragam (ANOVA) dua arah pada taraf 1% dan 5%. Proses analisis dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Dari tabel diketahui :

$$r = 3 \text{ (banyak ulangan)}$$

$$a = 5 \text{ (banyak variasi konsentrasi)}$$

$$b = 5 \text{ (banyak variasi lama penyimpanan)}$$

2. Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{y^2}{rab}$$

3. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = \sum y_{ijk}^2 - FK$$

4. Jumlah Kuadrat Kelompok

$$JKK = \frac{T_k^2}{ab} - FK$$

5. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$JKP = \frac{y_1^2 + \dots + y_t^2}{r} - FK$$

6. Jumlah Kuadrat Galat

$$JKG = JKT - JKK - JKP$$

7. Derajat Bebas (db)

$$\text{db kelompok} = r - 1$$

$$\text{db total} = rab - 1$$

$$\text{db perlakuan} = ab - 1$$

$$\text{db galat} = \text{db total} - \text{db perlakuan}$$

$$\text{db faktor A} = a - 1$$

$$\text{db faktor B} = b - 1$$

$$\text{db interaksi (AB)} = (a - 1)(b - 1)$$

8. Jumlah Kuadrat

$$JK (A) = \frac{i(ai)^2}{rb} - FK$$

$$JK (B) = \frac{i(bi)^2}{ra} - FK$$

$$JK (AB) = JKP - JK (A) - JK (B)$$

9. Kuadrat Tengah

$$KT (A) = \frac{JK (A)}{a-1}$$

$$KT (B) = \frac{JK (B)}{b-1}$$

$$KT (AB) = \frac{JK (AB)}{a-1 (b-1)}$$

$$KTG = \frac{JKG}{db Galat}$$

10. F Hitung

$$F \text{ Hitung A} = \frac{KT (A)}{KTG}$$

$$F \text{ Hitung B} = \frac{KT (B)}{KTG}$$

$$F \text{ Hitung AB} = \frac{KT (AB)}{KTG}$$

Sedangkan untuk melihat perbedaan antar taraf perlakuan yang berpengaruh paling efektif dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).¹⁰

¹⁰ Kemas A Hanafiah, *Rancangan Percobaan*, Raja Grafindo Persada, Jakarta, 2005, hlm. 119