

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental. Pada eksperimen ini dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah daun kari memiliki kemampuan sebagai antioksidan pada minyak kelapa. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor perlakuan dan 2 kali ulangan.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari - Maret 2021 yang bertempat di: Laboratorium Kimia Universitas Ma Chung untuk analisis bilangan peroksida, organoleptik, dan umur simpan pada minyak kelapa.

#### **3.3 Variabel Penelitian**

##### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penambahan ekstrak daun kari (*Murayya Koenigii*) pada minyak kelapa terdiri dari variasi konsentrasi sebesar 0,5%, 1%, 1,5% dan variasi penyimpanan setiap 1 minggu sekali selama 3 minggu yaitu 0 minggu, 1 minggu, 2 minggu, dan 3 minggu.

##### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat pada penelitian ini meliputi bilangan peroksida dan kualitas organoleptik pada minyak kelapa.

### 3.4 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala
Organoleptik	Hasil uji organoleptik minyak kelapa dengan penambahan variasi konsentrasi ekstrak yang diamati secara inderawi	Kualitas warna dan bau.	Nominal
Bilangan Peroksida	Nilai bilangan peroksida minyak kelapa dengan penambahan variasi konsentrasi ekstrak dan variasi penyimpanan yang diukur menggunakan titrasi	Bilangan peroksida (Meq O <sub>2</sub> /Kg)	Rasio

### 3.5 Alat dan Bahan

#### 3.5.1 Alat

Alat-alat yang dibutuhkan antara lain Oven, Erlenmeyer, Alat Penyerbuk, Buret, Ayakan Mesh 40, Gelas ukur 500ml, Pipet Volume, Cawan Porselen, Waterbath, Kompor, Desikator, Wadah maserasi, Kain Flanel, Kertas Saring, Timbangan Analitik.

#### 3.5.2 Bahan

1. Minyak kelapa yang dibuat dengan cara metode basah secara tradisional. Pada tahap ini, parutan kelapa tua yang telah ditambahkan air hangat (30-40°C) diperas hingga diperoleh santan. Selanjutnya, santan tersebut didiamkan selama 8 jam sehingga diperoleh fasa krim (kaya minyak) dan skim (kaya air dan proten).

2. Daun kari (*Murayya Koenigii*)
3. Etanol 70%

### 3.5.3 Perekasi

1. Asam asetat
2. Kloroform
3. KI Jenuh
4. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1 N
5. KIO<sub>3</sub> 0,1 N
6. HCl 1 N
7. Amylum 1%
8. Aquades

## 3.6 Prosedur Kerja

### 3.6.1 Proses Pembuatan Minyak Kelapa

Minyak kelapa dibuat dengan cara metode basah secara tradisional. Pada tahap ini, parutan kelapa tua yang telah ditambahkan air hangat (30-40°C) diperas hingga diperoleh santan. Selanjutnya, santan tersebut didiamkan selama 8 jam sehingga diperoleh fasa krim (kaya minyak) dan skim (kaya air dan protein).

### 3.6.2 Penentuan Kadar Air Minyak Kelapa (Ketaren, 1986).

Penentuan kadar air diperlukan untuk mengetahui seberapa besar kadar air dalam sampel sehingga dapat ditentukan apakah memenuhi standar minyak goreng atau tidak. Penentuan kadar air dalam sampel dapat dilakukan dengan cara penguapan dalam alat pengering.

1. Menimbang sampel 5-10 gr ke dalam cawan penguap yang sudah ditentukan berat kosongnya.
2. Memanaskan dengan oven pada suhu 105°C selama 30 menit.
4. Mendinginkan didalam desikator selama 30 menit.
5. Menimbang kembali sampel yang telah didinginkan.
6. Mengulangi pemanasan dan penimbangan sampai diperoleh berat konstan.

Cara perhitungan:

$$\text{Kadar Air} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

A = berat sampel sebelum dipanaskan

B = berat sample setelah didinginkan

### **3.6.3 Proses Pembuatan Simplisia (Depkes, 1985)**

Pembuatan simplisia berdasarkan prosedur menurut Depkes (1985), yaitu :

1. Pengumpulan bahan basah sebagai bahan baku simplisia
2. Bahan baku simplisia disortasi basah untuk memisahkan kotoran dari bahan
3. Bahan kemudian dicuci dan ditiriskan
4. Bahan dirajang menggunakan pisau sampai ukuran yang diinginkan
5. Bahan ditempatkan dalam wadah/ tampah untuk kemudian dikeringkan dalam oven atau di bawah sinar matahari
6. Pengumpulan bahan kering
7. Dilakukan sortasi kering untuk memisahkan kotoran dari bahan
8. Simplisia diblender menggunakan grinder atau alat penyerbuk lainnya
9. Dilakukan pengayakan.

### **3.6.4 Pembuatan Ekstrak Daun Kari (Materia Medika, 1979)**

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi berdasarkan prosedur menurut Materia Medika (1979), yaitu :

1. Timbang serbuk simplisia sebanyak 50 gram
2. Masukkan ke dalam wadah tertutup
3. Tambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 375 mL
4. Aduk perlahan dan biarkan selama 3 hari dengan melakukan pengadukan setiap harinya
5. Saring menggunakan kertas saring atau kain mori
6. Filtrat diletakkan dalam cawan porselin 500 mL
7. Bilas endapan menggunakan 125 mL etanol 70 % dan filtratnya ditampung dalam wadah yang sama
8. Letakkan cawan berisi filtrat di atas waterbath
9. Biarkan hingga mengental

### 3.6.5 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kari

#### 1. Uji Alkaloid

Ekstrak daun kari diambil sebanyak 2 mL. Selanjutnya ditambahkan 10 mL aquadest mendidih. Kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat diambil dan dibagi dalam tiga tabung dan masing-masing tabung diuji untuk mengetahui keberadaan alkaloid. Penambahan dengan reagen Meyer akan menyebabkan endapan putih, dengan reagen Dragendorff akan menyebabkan ada endapan kemerahan, dan dengan reagen Bouchardat timbul endapan kuning, jika positif ada alkaloid.

#### 2. Uji Saponin

Ekstrak daun kari diambil sebanyak 2 mL. Selanjutnya ditambahkan 10 mL aquadest mendidih. Kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat diambil sedikit dan diteteskan air panas ke dalam tabung yang berisi filtrat kemudian dikocok kuat-kuat. Adanya busa yang stabil selama 30 menit menunjukkan adanya saponin.

#### 3. Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak daun kari diambil sebanyak 2 mL. Selanjutnya ditambahkan 10 mL aquadest mendidih. Kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat diambil sedikit, kemudian ditambahkan reagen Bouchard 3 tetes. Warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid dan warna jingga atau merah menunjukkan adanya triterpenoid.

#### 4. Uji Flavonoid

Ekstrak daun kari diambil sebanyak 2 mL. Selanjutnya ditambahkan 10 mL aquadest mendidih. Kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat diambil sedikit, selanjutnya ditambah 0,5 mg logam magnesium dan HCl 0,5 M. Warna merah muda atau ungu menunjukkan adanya flavonoid.

#### 5. Uji Tanin

Ekstrak daun kari diambil sebanyak 2 mL. Selanjutnya ditambahkan 10 mL aquadest mendidih. Kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat diambil sedikit, ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  0,1 % lalu diamati. Jika terjadi perubahan warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin

#### 3.6.6 Penentuan Kadar Air Ekstrak (Depkes RI, 2000)

1. Menimbang 1 gr ekstrak ke dalam cawan penguap yang sudah ditentukan berat kosongnya.
2. Memanaskan dengan oven pada suhu  $105^\circ\text{C}$  selama 5 jam.
3. Mendinginkan didalam desikator selama 30 menit.
4. Menimbang kembali sampel yang telah didinginkan.
5. Mengulangi pemanasan dan penimbangan pada arak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%

Cara perhitungan:

$$\text{Kadar Air} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

A = berat sampel sebelum dipanaskan

B = berat sample setelah didinginkan

#### 3.6.7 Prosedur Analisa Bilangan Peroksida

1. Larutkan 5 g minyak kelapa dalam 30 mL pelarut (60% asam asetat + 40% kloroform) dalam erlenmeyer bertutup. Kocok hingga larut.
2. Tambahkan 0,5 mL larutan KI jenuh
3. Diamkan 1 menit sambil kadang-kadang dikocok, tambahkan 30 mL  $\text{H}_2\text{O}$ .
4. Titrasi dengan larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N sampai warna coklat muda (kocok dengan kuat). Tambahkan 1 mL indikator amyllum 1 %. Campur berubah menjadi biru gelap.
5. Teruskan titrasi sampai warna biru hilang

6. Lakukan standarisasi  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N

$$\text{Bilangan peroksida} = \frac{V \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{berat minyak (gr)}}$$

### 3.6.8 Uji Stabilitas untuk Mengetahui Ketahanan Antioksidan

1. Minyak kelapa ditimbang seberat 25 gram didalam Erlenmeyer.
2. Tambahkan ekstrak daun kari dengan variasi konsentrasi 0% (kontrol), 0,5%, 1%, dan 1,5%.
3. Dimasukkan minyak kelapa tersebut kedalam botol gelap yang telah diberi label.
4. Biarkan campuran minyak kelapa tersebut selama 1 minggu, 2 minggu, dan 3 minggu.
5. Setelah itu, ditimbang minyak kelapa seberat 5 gram.
6. Kemudian dilakukan Analisa Bilangan Peroksida.
7. Prosedur no.6 dilakukan dengan variasi waktu 0 minggu (kontrol), 1 minggu, 2 minggu, dan 3 minggu.

### 3.6.9 Uji Organoleptik (SNI, 2013)

a) Warna

1. Diambil minyak kelapa secukupnya dan letakkan diatas gelas arloji yang bersih dan kering.
2. Diamati minyak kelapa untuk mengetahui warnanya.
3. Jika terlihat warna kuning hingga kuning pucat atau warna sesuai dengan blanko maka hasil dinyatakan “normal”.
4. Jika terlihat warna selain warna di poin 3, maka hasil dinyatakan “tidak normal”.

b) Bau

1. Diambil minyak kelapa secukupnya dan letakkan diatas gelas arloji yang bersih dan kering.
2. Cium minyak kelapa ui untuk mengetahui baunya.
3. Jika tercium bau khas minyak kelapa, maka hasil dinyatakan “normal”.
4. Jika tercium selain bau khas minyak kelapa, maka hasil dinyatakan “tidak normal”.

### 3.7 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

#### a. Pengolahan Data

Data yang diperoleh berupa bilangan peroksida dan kualitas organoleptis minyak kelapa dari masing-masing variasi konsentrasi ekstrak dan variasi penyimpanan.

#### b. Penyajian Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut :

Tabel 3.2 Penyajian Data

No.	Masa Simpan	Konsentrasi Ekstrak	Replikasi	Bilangan Peroksida	Kualitas organoleptis		
1.	0 minggu	0%	1				
			2				
		0,5%	1				
			2				
		1%	1				
			2				
		1,5%	1				
			2				
		2.	1 minggu	0%	1		
					2		
				0,5%	1		
					2		
1%	1						
	2						
1,5%	1						
	2						
3.	2 minggu			0%	1		
					2		
				0,5%	1		

			2		
		1%	1		
			2		
		1,5%	1		
			2		
4.	3 minggu	0%	1		
			2		
		0,5%	1		
			2		
		1%	1		
			2		
		1,5%	1		
			2		

c. Analisis Data

Data yang telah diperoleh dianalisis menggunakan metode banding nyata *Two Way Anova* yaitu membandingkan hasil pengukuran bilangan peroksida pada minyak kelapa dengan variasi kadar ekstrak 0% (kontrol), 0,5%, 1%, dan 1,5% dengan variasi waktu 0 hari (kontrol), 1 minggu, 2 minggu, dan 3 minggu