

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Neraca analitik, tabung maserasi, *rotary evaporator*, *water bath*, termometer, spatula, *blender*, botol semprot, batang pengaduk, gelas kimia, gelas ukur, kaca arloji, labu ukur, pipet tetes, spektrofotometer visibel dan kromameter.

3.1.2 Bahan

Serbuk kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lam, serbuk Mg (p.a), HCL pekat, metanol (p.a), aseton (p.a), aquades dan kentang.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu:

- Tahap pertama: determinasi tanaman *Artocarpus heterophyllus* yang dilakukan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) ITB Bandung.
- Tahap kedua: pengeringan dan penggilingan kulit batang *Artocarpus heterophyllus*.

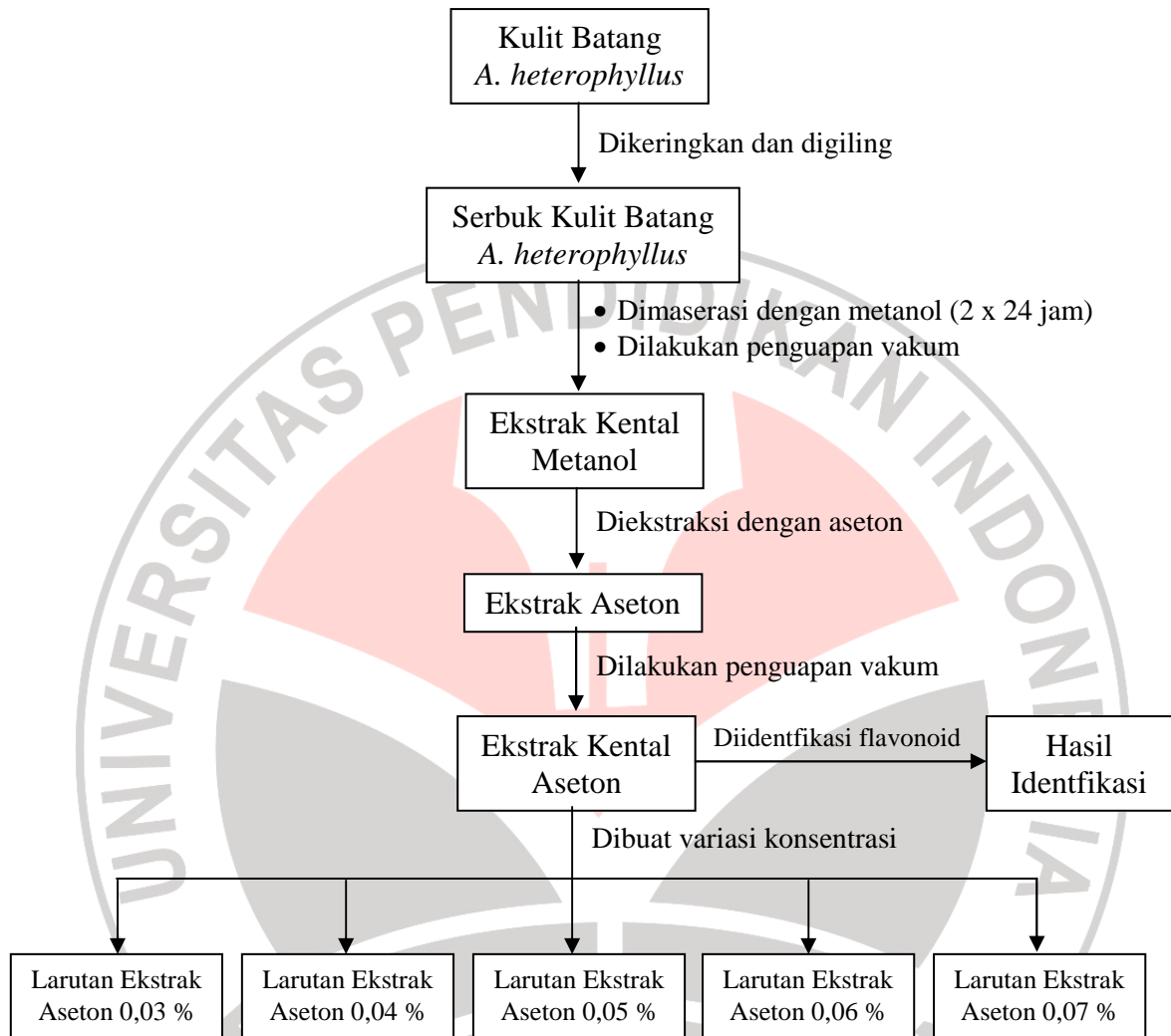
- Tahap ketiga: ekstraksi seluruh zat yang terdapat dalam serbuk kulit batang *Artocarpus heterophyllus* dengan teknik maserasi menggunakan pelarut metanol.
- Tahap keempat: identifikasi senyawa flavonoid dari ekstrak metanol hasil maserasi kulit batang *Artocarpus heterophyllus* secara kualitatif.
- Tahap kelima: fraksinasi zat-zat atau komponen yang terdapat dalam ekstrak metanol hasil maserasi menggunakan pelarut aseton.
- Tahap keenam: identifikasi senyawa flavonoid dari ekstrak aseton hasil fraksinasi ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus heterophyllus* secara kualitatif.
- Tahap ketujuh: pengujian aktivitas inhibisi ekstrak aseton terhadap reaksi enzimatik yang terjadi pada kentang, dengan cara mengukur absorbansi larutan sampel pada panjang gelombang 475 nm dengan menggunakan spektrofotometer Visible. Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi pembentukan produk (senyawa quinon). Dari data pengukuran absorbansi dapat dihitung persen aktivitas inhibisi polifenoloksidase berdasarkan metode Chang *et al* (2005) dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{Inhibisi Polifenoloksidase} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

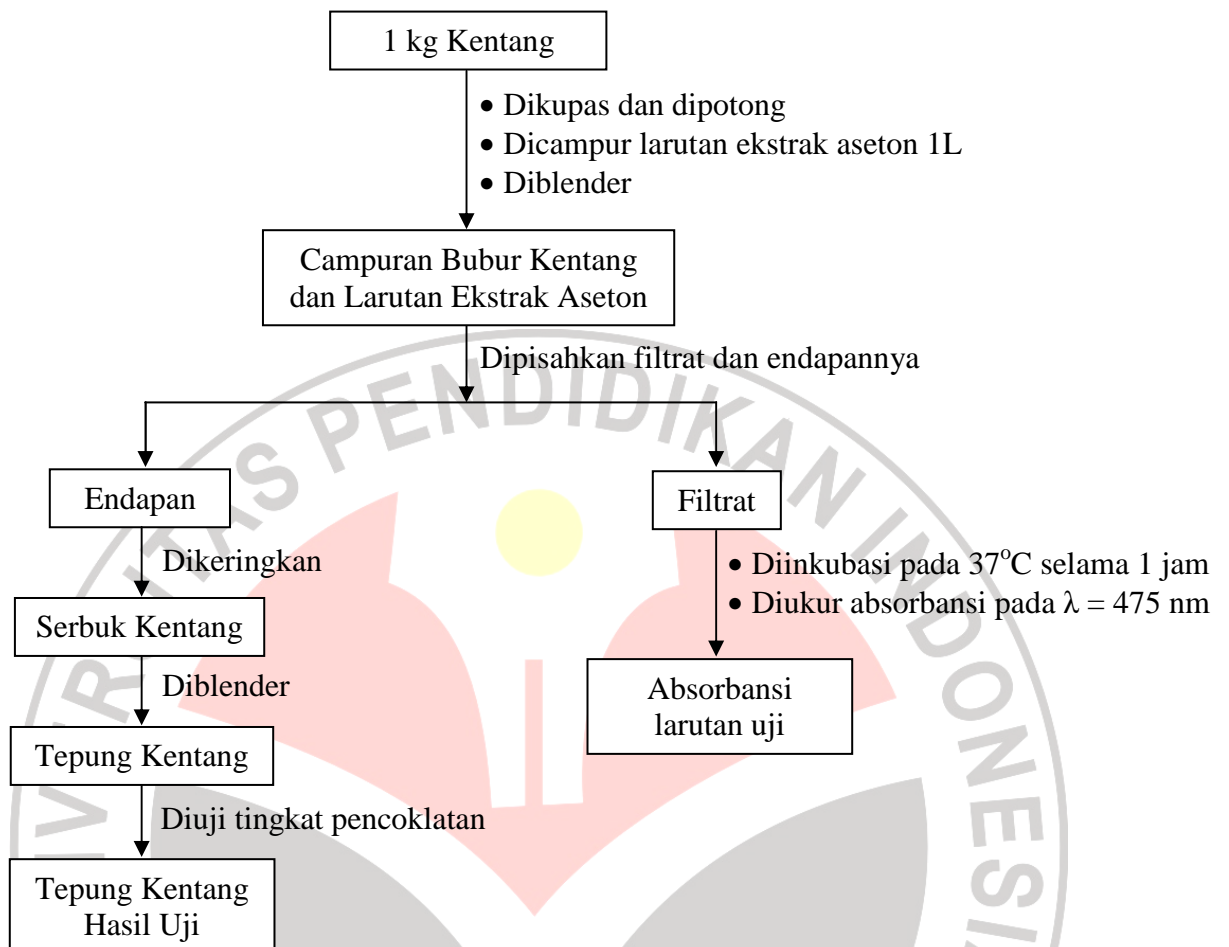
Dengan A adalah absorbansi kontrol (tanpa ekstrak aseton) dan B adalah absorbansi larutan dengan penambahan ekstrak aseton.

- Tahap kedelapan: penentuan tingkat pencoklatan pada tepung kentang yang telah dibuat dengan penambahan ekstrak aseton sebagai inhibitor dengan menggunakan kromameter.

Secara umum penelitian yang dilakukan tertera pada bagan di bawah ini.



Gambar 3.1. Bagan Alir Proses Pembuatan Ekstrak Aseton



Gambar 3.2. Bagan Alir Proses Pembuatan Tepung Kentang serta Pengujian Aktivitas Inhibisi Polifenoloksidase dan Tingkat Pencoklatan

Keterangan: Bagan di atas berlaku untuk setiap larutan ekstrak aseton dengan konsentrasi yang telah ditentukan (0,03%; 0,04%; 0,05%; 0,06%; 0,07%)

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Preparasi dan Ekstraksi

Tanaman *Artocarpus heterophyllus* terlebih dahulu dideterminasi untuk menentukan spesifikasi dari tanaman tersebut yang dilakukan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) ITB Bandung.

Kulit batang *Artocarpus heterophyllus* yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu dari tanah dan lumut. Kemudian dikeringkan dan dihaluskan (digiling) hingga berbentuk serbuk. Proses penggilingan dilakukan di Balai Besar Pulp dan Kertas, Bandung.

Serbuk kulit batang *Artocarpus heterophyllus* ditimbang sebanyak 1 kg kemudian diekstraksi dengan metode maserasi yang dilakukan selama 2 x 24 jam dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak cair dari hasil maserasi disaring dengan menggunakan corong Buchner kemudian filtratnya diuapkan dengan alat *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental metanol.

Untuk memperoleh fraksi aseton, ekstrak kental metanol dari hasil maserasi ditimbang kemudian diekstraksi dengan menggunakan aseton sebanyak 2 kali. Larutan aseton yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental aseton. Ekstrak kental aseton ditimbang sehingga diperoleh massanya. Setelah itu, ekstrak kental aseton dibuat beberapa variasi konsentrasi yang digunakan sebagai inhibitor reaksi enzimatik pada proses pembuatan tepung kentang.

3.3.2 Analisis Kualitatif Senyawa Flavonoid

Ekstrak kental metanol hasil maserasi dilarutkan menggunakan metanol sebanyak 1 mL. Kemudian ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat tetes demi tetes. Jika larutan berubah menjadi warna kuning, itu menandakan adanya flavonoid (Elsa Natalia, 2008).

3.3.3 Uji Aktivitas Inhibisi Polifenoloksidase

Metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas inhibisi polifenoloksidase ialah metode Min-Kyung Lee *et al* (2001), dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 1 kg kentang dicampur dengan 1 liter larutan ekstrak aseton dengan konsentrasi tertentu. Kemudian diblender sehingga diperoleh campuran bubuk kentang dan larutan ekstrak aseton. Campuran didiamkan sampai terbentuk endapan dan filtrat. Filtrat tersebut diinkubasi selama 1 jam pada 37°C lalu diuji aktivitas inhibisi polifenoloksidase dengan cara mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer Visible pada panjang gelombang 475 nm. Absorbansi yang didapat diubah ke dalam bentuk persen inhibisi dengan menggunakan rumus $[(A-B) / A] \times 100\%$, dengan A adalah absorbansi kontrol (tanpa ekstrak aseton) dan B adalah absorbansi larutan dengan penambahan ekstrak aseton.

3.3.4 Uji Tingkat Pencoklatan Tepung Kentang

Langkah pembuatan tepung kentang sama halnya seperti pada penentuan aktivitas inhibisi polifenoloksidase. Hanya saja ketika bubuk kentang terbentuk,

yang diambil bukan filtratnya melainkan endapannya. Endapan inilah yang dijadikan tepung kentang dan akan diuji tingkat pencoklatannya menggunakan kromameter.

