

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

1.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen dan Laboratorium Riset Makanan Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia pada bulan Februari hingga Juli 2024. Sampel diambil dari kebun di daerah Lembang pada tanggal 15 Februari 2024.

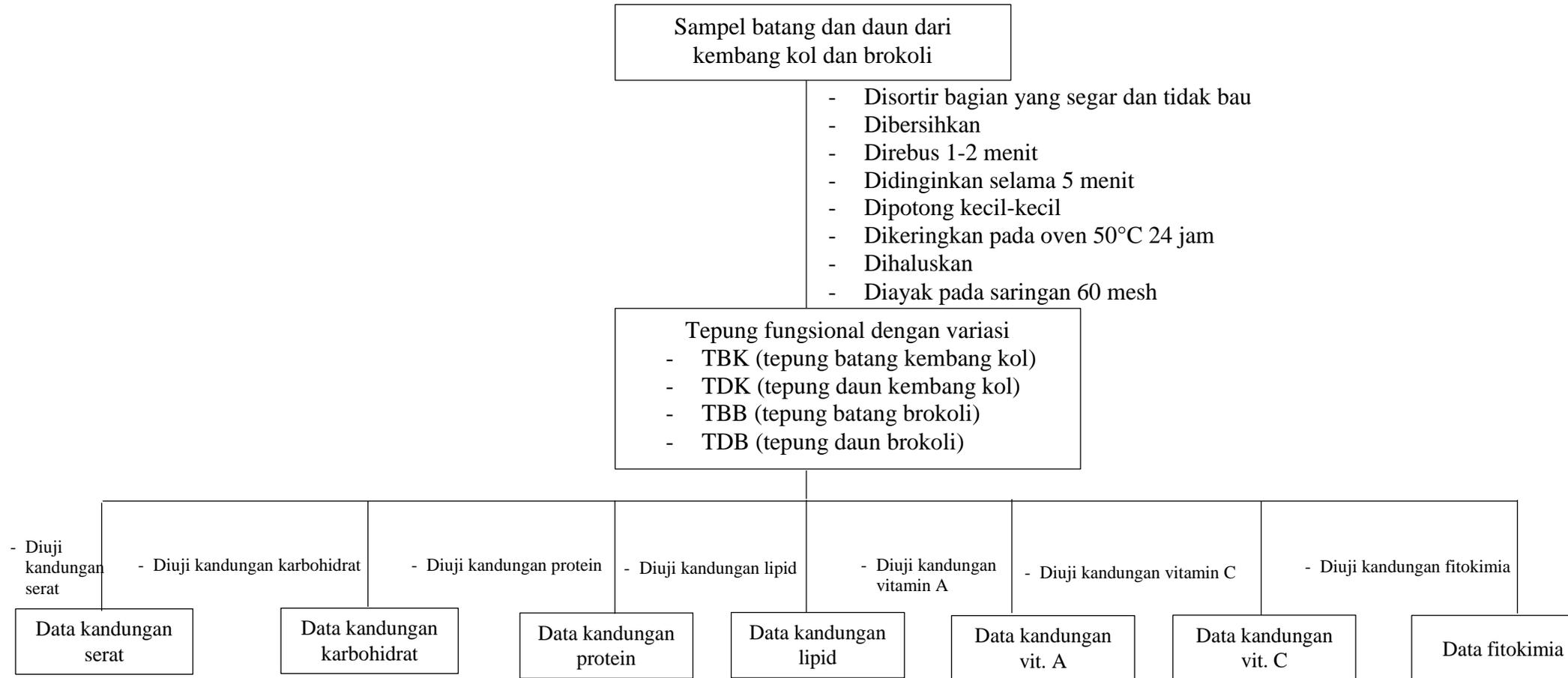
1.2. Alat

Alat yang digunakan dalam produksi tepung fungsional adalah pisau dapur, mangkuk besar, panci, *food processor*, ayakan 60 mesh, plastik vakum. Alat yang digunakan untuk analisis senyawa adalah neraca analitik, *hot plate*, gelas kimia 250 mL, pipet volume 50 mL, pipet volume 25 mL, corong Buchner, Erlenmeyer, kertas saring, cawan petri, oven, *magnetic stirrer*, set alat refluks, buret, statif dan klem, pipet volume 15 mL, pipet volume 10 mL, labu Kjeldahl, labu destilat, indikator Bromkresol Green, mesin *shaker*, labu ukur 100 mL, labu ukur 50 mL, spektrofotometri UV-Vis.

1.3. Bahan

Bahan yang digunakan dalam produksi tepung fungsional adalah batang kembang kol, daun kembang kol, batang brokoli, dan daun brokoli. Bahan yang digunakan untuk analisis senyawa adalah asam sulfat (H_2SO_4) 0,3 N, natrium hidroksida (NaOH), aseton (C_3H_6O), reagen Luff-schoorl, kalium iodida (KI) 20%, asam sulfat (H_2SO_4) 25%, indikator kanji 0,5%, natrium tiosulfat ($Na_2S_2O_3$) 0,1 N, selenium, asam borat (H_3BO_3) 2%, asam sulfat (H_2SO_4) 0,046 N, n-heksana ($n-C_6H_{14}$), natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4), vitamin C/asam askorbat, aquades bebas CO_2 .

1.4. Bagan Alir Penelitian



1.5. Prosedur Penelitian

1.5.1. Persiapan Bahan

Penelitian ini diawali dengan proses persiapan bahan, yakni bagian-bagian batang dan daun dari kembang kol dan brokoli dipisahkan kemudian disortir bagian-bagian yang segar dan tidak bau kemudian dicuci bersih dengan air mengalir. Setelah itu, dilakukan blansir selama 1-2 menit. Setelah blansir, kembang kol dan brokoli kemudian didinginkan selama 5 menit sebelum dilakukan pengecilan ukuran dengan menggunakan *food processor*. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan, pengeringan yang terbaik adalah pengering menggunakan kabinet pada suhu 50°C selama 24 jam (Soedirga dkk, 2020). Kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender kering dan diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh hingga diperoleh produk tepung.

1.5.2. Penentuan Kandungan Serat

Penentuan kandungan serat diukur menggunakan prosedur (Fajri, 2015) dengan prinsip dasar gravimetri. Sampel ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL dan ditambahkan 50 mL H₂SO₄ 0,3 N yang berfungsi untuk menguraikan karbohidrat non-serat karena H₂SO₄ bersifat asam kuat yang mampu memecah ikatan glikosidik dan akan menghubungkan unit-unit gula dalam karbohidrat non-serat. Selanjutnya dilakukan pemanasan pada suhu 70°C yang tujuannya untuk mempercepat proses hidrolisis karbohidrat non-serat. Selanjutnya ditambahkan 25 ml NaOH 1,5 N sebagai penetral dan dipanaskan selama 30 menit pada suhu 70°C. Larutan disaring menggunakan corong buchner. Selama penyaringan, endapan dicuci berturut-turut dengan aquades panas secukupnya, 50 mL H₂SO₄ 0,3 N, dan 25 mL aseton yang berfungsi untuk menghilangkan sisa-sisa kontaminan dari residu serat. Kertas saring berisi residu dimasukkan ke dalam cawan petri dan dikeringkan di dalam oven selama 1 jam dengan suhu 105°C untuk menghilangkan air dari residu serat. Setelah pengeringan, sampel didinginkan kemudian ditimbang setelah seluruh sampel kering.

Analisis data kandungan serat kasar dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut

$$\text{Kadar serat kasar (\%)} = \frac{b-a}{x} \times 100\%$$

Keterangan :

Aliyya Divania, 2024

PENENTUAN KANDUNGAN SERAT, KARBOHIDRAT, PROTEIN, LIPID, VITAMIN A, VITAMIN C, DAN FITOKIMIA PADA TEPUNG LIMBAH KEMBANG KOL DAN BROKOLI

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

b = massa kertas saring + sampel setelah dioven

a = massa kertas saring

x = massa sampel

1.5.3. Penentuan Kandungan Karbohidrat

Penentuan kandungan karbohidrat diukur menggunakan uji Luff-schoorl. Larutan Sampel dipipet 25 mL lalu ditambah 25 mL reagen Luff-schoorl, dipanaskan pada pengaduk magnet dengan pemanasan (*thermo*) digabungkan dengan refluks selama 10 menit. Setelah itu, larutan didinginkan ditambahkan 10 mL larutan kalium iodida 20% sebanyak 10 mL untuk mengikat Cu^+ dan menghasilkan endapan CuI , lalu ditambahkan 15 mL larutan asam sulfat (H_2SO_4) 25% perlahan-lahan untuk menciptakan suasana asam yang diperlukan untuk reaksi antara KI dan Cu^+ dan membantu mencegah Cu^+ teroksidasi kembali menjadi Cu^{2+} . Kemudian ditambahkan indikator kanji 0,5% untuk menunjukkan titik akhir titrasi. Selanjutnya dilakukan titrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N sampai berwarna putih. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ akan bereaksi dengan sisa ion Cu^{2+} menjadi Cu^+ dan ion sulfat (SO_4^{2-}). Selama masih ada ion Cu^{2+} yang tersisa, indikator kanji akan membentuk kompleks berwarna biru dengan Cu^{2+} . Ketika semua ion Cu^{2+} telah bereaksi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, larutan akan berubah warna menjadi putih susu dan hal ini menandakan titik akhir titrasi tercapai.

Analisis data kandungan karbohidrat dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{mg tabel} = (\text{mL blanko} - \text{mL sampel}) \times \frac{N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}{0,1}$$

$$\text{Kandungan karbohidrat (\%)} = \frac{\text{mg tabel} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{massa sampel} \times 1000} \times 100$$

1.5.4. Penentuan Kandungan Protein

Penentuan kadar protein diukur menggunakan uji Kjeldahl. 1 gram sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL, kemudian ditambahkan 10 mL H_2SO_4 pekat yang berfungsi untuk mengubah sampel menjadi senyawa yang lebih sederhana. Ditambahkan 1 gram selenium sebagai katalisator agar mempercepat proses destruksi. Kemudian dilakukan pemanasan, dimulai dengan api yang kecil setelah beberapa saat secara bertahap suhu dinaikkan. Proses destruksi dihentikan saat larutan sudah berubah menjadi warna kehijauan. Hasil destruksi didinginkan, setelah itu diencerkan dengan aquadest 200 mL. Setelah homogen dan dingin, larutan dipipet sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam labu destilasi. Ditambahkan 10 mL NaOH

hingga larutan menjadi basa yang ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi ungu. Labu destilat dipasang dan dihubungkan dengan kondensor dibenamkan dalam cairan penampung. Uap dari cairan yang mendidih akan mengalir melalui kondensor menuju erlenmeyer penampung yang sebelumnya diisi dengan 20 mL larutan H_3BO_3 2% sebagai penangkap NH_3 sebagai destilat berupa gas yang bersifat basa agar amonia dapat ditangkap secara maksimal. Hasil destilat kemudian dipipet sebanyak 100 mL dan ditambahkan indikator Bromkresol Green sebanyak 3 tetes lalu dititrasi dengan larutan baku H_2SO_4 0,046 N. Titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna larutan dari hijau menjadi ungu. Dilakukan pula titrasi blanko dengan prosedur yang sama tanpa menggunakan sampel.

1.5.5. Penentuan Kandungan Lipid

Penentuan kandungan lipid diukur menggunakan prosedur AOAC, 2005. Labu lipid yang dipakai lalu di dimasukkan oven bersuhu 105°C 1 jam untuk dikeringkan. Kemudian, labu lipid didinginkan dalam desikator 15 menit dan ditimbang (W_2). Sampel yang digunakan sebanyak ± 5 gram (W_1) dan dibungkus menggunakan kertas saring yang dibentuk selongsong (thimble). Alat ekstraksi soxhlet dirangkai yang terdiri dari *hot plate*, labu lipid, soxhlet hingga kondensor. Sampel lalu dimasukkan ke dalam soxhlet, selanjutnya ditambahkan pelarut n-heksana mencukupi $1\frac{1}{2}$ siklus. Pelarut n-heksana adalah pelarut *anhydrous*, yakni pelarut yang benar-benar bebas air. Tujuannya supaya bahan-bahan yang larut air terhitung sebagai lipid dan tidak terekstrak serta keaktifan pelarut tidak berkurang (Winarno, 1997). Proses ekstraksi dilaksanakan selama ± 6 jam hingga pelarut turun melalui sifon ke dalam labu lipid warnanya jernih. Lalu, lipid yang sudah dipisah dengan heksan, dipanaskan melalui oven suhunya 105°C 1 jam dan labu lipid didinginkan dalam desikator 15 menit kemudian ditimbang (W_3).

Analisis data kadar lipid diukur melalui persamaan sebagai berikut :

$$\%lipid = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

Dimana :

W_1 = massa sampel (g)

W_2 = massa labu lipid kosong (g)

W_3 = massa labu lipid + lipid hasil ekstraksi (g)

1.5.6. Penentuan Kandungan Vitamin A

Penentuan kandungan vitamin A diukur menggunakan prosedur (Afni, 2020). Sampel sebesar 1 gram dimasukkan dalam erlenmeyer. Diekstrak oleh 20 mL pelarut n-heksana sebab pelarut nonpolar yang mampu melarutkan vitamin A yang juga nonpolar. Ekstrak dikocok dengan mesin *shaker* 2 jam dengan agitasi 150rpm sampai semua terekstrak. Ekstrak yang diperoleh disaring dan dilewatkan Na_2SO_4 secukupnya guna mengurangi kandungan air dari ekstrak yang selanjutnya diambil filtratnya. Filtrat tersebut dihasilkan dari penyaringan yang volumenya diukur. Kemudian menghitung nilai absorbannya dengan menerapkan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 450,5nm. Pengukuran spektrofotometer pada 450,5nm metode yang ideal untuk menentukan kadar vitamin A karena sensitivitas tinggi, spesifisitas tinggi, akurasi tinggi, dan reproduktivitas tinggi. Perhitungannya dilakukan dalam komputer yang telah terprogram, lalu masukkan rumus untuk menganalisa kandungan vitamin A tersebut.

Analisis data kadar karoten dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$x = \frac{A \times Y}{E_{1cm}^{1\%} \times b}$$

Dimana :

X = massa karoten (g)

A = absorbanis

Y = jumlah volume ekstrak karoten (mL)

$E_{1cm}^{1\%}$ = koefisien ekstingsi molar (2500 mL/g.cm)

b = tebal kuvet (cm)

dan kadar vitamin A (mg/100g bahan) dapat dihitung dengan persamaan :

$$\text{Kadar vitamin A (mg/100g bahan)} = \frac{\text{massa karoten (mg)}}{\text{massa awal sampel (g)} \times 100}$$

1.5.7. Penentuan Kandungan Vitamin C

Penentuan kandungan vitamin C menggunakan metode Iodimetri (AOAC, 1995). Mula-mula sampel ditimbang sebanyak 5 gram. Kemudian dilarutkan pada labu 100 mL menggunakan aquadest dan ditanda bataskan kemudian ditambahkan H_2SO_4 10% untuk menciptakan lingkungan asam yang optimal untuk reaksi redoks antara vitamin C dan iodine karena vitamin C lebih stabil dan reaktif dalam kondisi asam, selain itu asam sulfat bertindak sebagai katalisator, mempercepat reaksi antara vitamin C dan iodine. Larutan tersebut disaring dan filtratnya dipipet sebanyak 25

mL. Tambahkan beberapa tetes indikator kanji, lalu titrasi dengan cepat menggunakan larutan iod 0,01N hingga timbul warna biru.

Analisis data kadar vitamin C dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Vit. C (mg/100 gr)} = \frac{VI_2 \times 0,88 \times Fp}{W \text{ sampel}} \times 100\%$$

Dimana :

V I₂ = volume Iodium (mL)

0,88 = 0,88 mg asam askorbat setara dengan 1 mL larutan I₂ 0,01 N

Fp = faktor Pengenceran

W sampel = massa sampel (gram)

1.5.8. Penentuan Kandungan Fitokimia

1.5.8.1. Uji Alkaloid

Identifikasi dilakukan dengan menggunakan 5 tetes kloroform dan pereaksi mayer. Terciptanya endapan putih berindikasi sampel positif terkandung alkaloid.

1.5.8.2. Uji Flavonoid

Sebesar 1ml ekstrak ditambah 1 gram Mg dan larutan HCl 37%. Perubahan warna menjadi jingga hingga merah berindikasi sampel positif mengandung flavonoid.

1.5.8.3. Uji Saponin

Pengujian dengan memasukkan 10ml air panas pada tabung reaksi yang berisi 1ml sampel uji yang telah dilarutkan dalam aseton. Lalu larutan didinginkan dan dikocok 10 detik lamanya. Terbentuknya buih sekitar 10 menit dengan ketinggian 1-10cm dan tidak hilang bila ditambah 1 tetes

1.5.8.4. Uji Tanin

Pengujian dengan memasukkan 1ml larutan ekstrak ke tabung reaksi dan ditambah 2-3 tetes FeCl₃ 1%. Tanin dikonfirmasi positif jika pada reaksi terbentuk warna hijau cenderung hitam.

1.5.8.5. Uji Terpenoid dan Steroid

Identifikasi diterapkan melalui campuran asam asetat anhidrid dan asam sulfat pekat yang biasa dikenal pereaksi Liebermann-Burchard. Pengujian

ini sepuluh tetes asam asetat ahidrid dan dua tetes asam sulfat pekat ditambah secara urut ke dalam 1ml sampel uji yang sudah dilarutkan aseton. Kemudian, sampel uji dikocok dan dibiarkan beberapa menit. Reaksi yang terjadi diikuti dengan berubahnya warna, jika berubah warna merah dan ungu maka uji dikonfirmasi positif untuk triterpenoid dan jika berubah warna biru dan hijau maka uji dikonfirmasi positif steroid.