

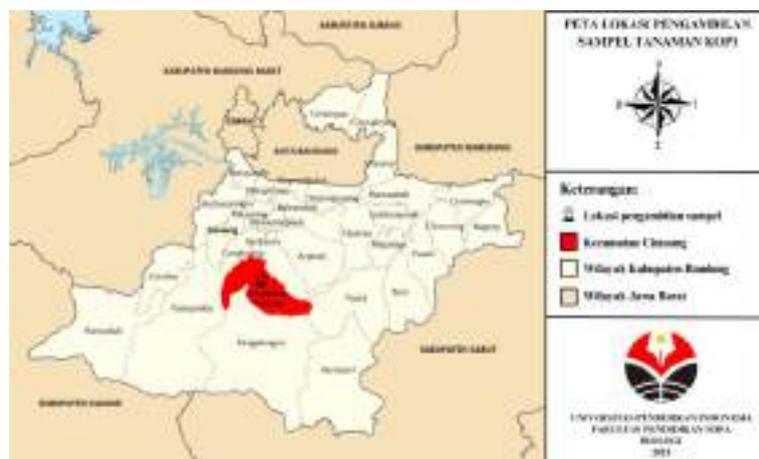
BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

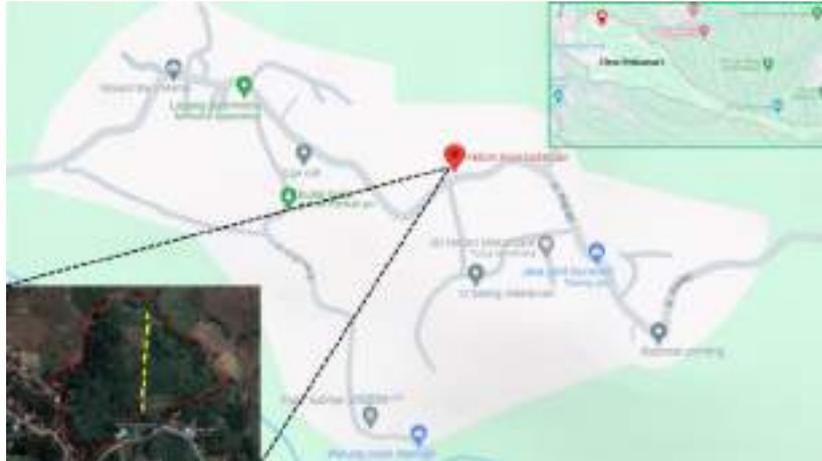
Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif. Penelitian ini hanya mendeskripsikan dan menginterpretasikan kandungan metabolit pada *cascara* dan kulit tanduk kopi dengan metode pengeringan sinar matahari dan oven yang dianalisis menggunakan instrumen *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Menurut Sukmadinata & Syaodih (2006), penelitian deskriptif merupakan penelitian yang bertujuan untuk mendeskripsikan atau menjelaskan tentang suatu permasalahan atau kondisi yang diteliti. Furchan (2004) juga menjelaskan bahwa penelitian deskriptif hanya mendeskripsikan dan menginterpretasikan dengan tepat terkait fakta yang diteliti.

3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2023 – Juni 2024, mulai dari pengambilan bahan hingga analisis data. *Cascara* dan kulit tanduk diperoleh dari buah kopi yang dibudidayakan di Kebun Kopi Kadatuan di Jalan Pieret, Desa Mekarsari, Kecamatan Cimaung, Kabupaten Bandung, Jawa Barat (Gambar 3.1 dan Gambar 3.2). Persiapan dan ekstraksi bahan dilakukan di Laboratorium Riset Lingkungan Program Studi Biologi FPMIPA UPI. Analisis senyawa metabolit dilakukan menggunakan instrumen *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) di Pusat Laboratorium Forensik Bareskrim Polri, Sentul.



Gambar 3.1. Peta Lokasi Pengambilan *Cascara* dan Kulit Tanduk



Gambar 3.2. Peta Lokasi Kebun Kopi Kadatuan
(Google Maps, 2023)

3.3 Subjek Penelitian

Tanaman kopi arabika yang digunakan dalam penelitian ini dibudidayakan di Kebun Kopi Kadatuan, Desa Mekarsari, Kecamatan Cimaung, Kabupaten Bandung. Subjek penelitian yang digunakan meliputi bagian eksokarp dan mesokarp buah (*cascara*), serta bagian endokarp buah (kulit tanduk) (Gambar 3.3).



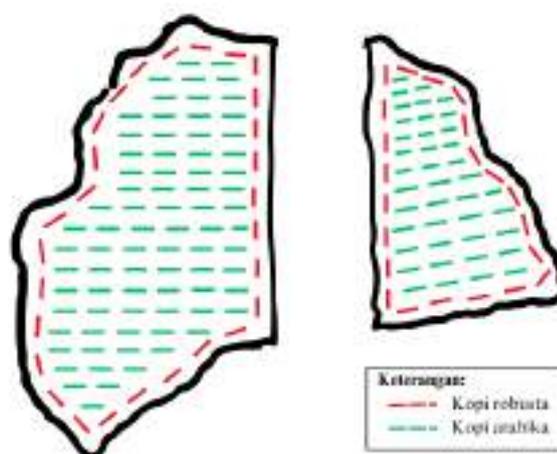
Gambar 3.3. Subjek Penelitian: A. *Cascara*; B. Kulit Tanduk yang Sudah Dikeringkan

3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari tahapan-tahapan yang dilakukan untuk mengumpulkan data. Tahapan tersebut terdiri dari pengambilan bahan, pengukuran faktor abiotik, persiapan bahan, pengeringan, ekstraksi, analisis metabolit menggunakan GC-MS, dan analisis data.

3.4.1 Pengambilan Bahan

Cascara dan kulit tanduk kopi diperoleh dari tanaman kopi arabika yang dibudidayakan di Kebun Kopi Kadatuan, Desa Mekarsari, Cimaung, Kabupaten Bandung. Tanaman kopi tersebut ditanam pada suatu bidang lahan dengan luas 8 hektare (Gambar 3.4). Pengambilan bahan pada penelitian ini menggunakan metode *simple random sampling*. Tanaman kopi arabika yang berumur 8 tahun dipilih secara acak dengan buah yang sudah matang dan siap panen yang ditandai dengan buah berwarna merah. Buah kopi matang dikumpulkan sebanyak 8 kg dan ditempatkan ke dalam wadah. Dipisahkan bagian eksokarp dan mesokarp (*cascara*) serta bagian endokarp (kulit tanduk) sebagai subjek penelitian.



Gambar 3.4. Ilustrasi Denah Kebun Kopi Kadatuan

3.4.2 Pengukuran Faktor Abiotik

Pengukuran faktor abiotik mencakup faktor edafik dan faktor klimatik. Faktor edafik meliputi pengukuran pH, suhu, kelembapan, ketinggian tanah, dan materi organik tanah (MOT). Sementara faktor klimatik meliputi pengukuran suhu udara dan kelembapan udara. Tingkat keasaman (pH) tanah diukur menggunakan *soil tester* (Gambar 3.5A). Suhu tanah diukur menggunakan termometer pada kedalaman 30 cm (Gambar 3.5B). Ketinggian tanah diukur menggunakan altimeter (Gambar 3.5C). Suhu dan kelembapan udara diukur menggunakan *thermohyrometer* (Gambar 3.5D). Pengukuran faktor abiotik dilakukan teratur pada pagi, siang, dan sore hari di area lahan Kebun Kopi Kadatuan. Selain di tempat pengambilan bahan, pengukuran abiotik yaitu suhu dan kelembapan udara juga diukur di tempat yang digunakan untuk pengeringan sinar matahari (Gambar 3.6)



Gambar 3.5. Pengukuran Faktor Abiotik di Tempat Pengambilan Bahan: A. Soil tester; B. Termometer; C. Altimeter; D. Thermohygrometer



Gambar 3.6. Pengukuran Faktor Abiotik di Tempat Pengeringan Sinar Matahari

Analisis materi organik tanah (MOT) dilakukan menggunakan metode *Walkey-Black*. Tanah berwarna coklat – coklat tua atau abu-abu – abu-abu tua dengan % C organik ≤ 2 , dibutuhkan sebanyak 0,25 gram sampel tanah kering untuk analisis MOT (Michael, 1984). Sampel tanah dari tempat pengambilan bahan memiliki tekstur berpasir dengan warna coklat tua. Sampel tanah tersebut diambil sebanyak 100 gram, selanjutnya dikeringkan selama 1×24 jam menggunakan oven dengan suhu 100°C . Tanah kering diayak menggunakan saringan (*sieve*) 0,2 *mesh*, dan diambil sebanyak 0,25 gram tanah untuk dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer 500 mL. Ditambahkan 5 mL potasium dikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 1 N dan dihomogenkan. Ditambahkan juga 10 mL asam sulfat (H_2SO_4) pekat dan dihomogenkan secara perlahan selama satu menit, lalu dibiarkan selama 10-30 menit (Gambar 3.7A). Larutan diencerkan menggunakan akuades hingga volumenya 100 mL. Ditambahkan 5 mL asam fosfat (H_3PO_4) 85%, 0,1 gram NaF, dan 10 tetes indikator difenilamin ke dalam larutan. Selanjutnya, larutan dititrasi menggunakan ferro amonium sulfat hingga warnanya berubah menjadi biru kehijauan (Gambar 3.7B).

Hasil titrasi tersebut dimasukkan ke dalam rumus berikut untuk mengetahui nilai % C organik dan MOT:

$$\text{C-Organik (\%)} = \frac{(V \text{ Blanko} - V \text{ Sampel}) \times 3 \times Fka}{(V \text{ Blanko} - m \text{ sampel})}$$

$$\text{MOT (\%)} = \text{C-Organik (\%)} \times 1,73$$

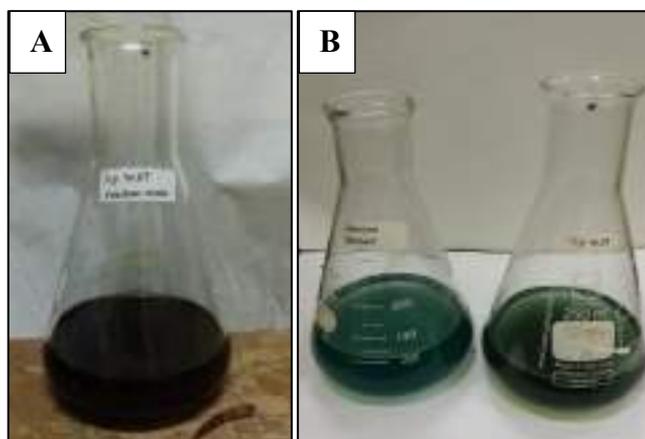
Keterangan :

V Blanko : Volume ferro ammonium sulfat untuk titrasi blanko (mL)

V Sampel : Volume ferro ammonium sulfat untuk titrasi sampel (mL)

Fka : Faktor koreksi (1,3)

m sampel : Massa sampel tanah (g)



Gambar 3.7. Analisis Materi Organik Tanah: A. Sebelum Titrasi; B. Setelah Titrasi

3.4.3 Persiapan Bahan

Buah kopi matang dicuci menggunakan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran pada permukaannya. Buah kopi digiling menggunakan mesin pengupas kulit buah kopi (*pulper*) untuk memisahkan bagian eksokarp dan mesokarp (*cascara*) sehingga hanya tersisa bagian buah kopi yang disebut gabah, yaitu biji kopi yang masih memiliki lapisan endokarp (kulit tanduk). Gabah kopi direndam dalam genangan air bersih selama 1x24 jam untuk menghilangkan lapisan lendir yang tersisa pada permukaan endokarp (Gambar 3.8). Setelah perendaman, gabah kopi dikeringkan. Bagian endokarp (kulit tanduk) dikupas dan dipisahkan dari gabah kopi yang sudah kering.



Gambar 3.8. Perendaman Gabah Kopi

3.4.4 Pengeringan

Pengeringan *cascara* dan kulit tanduk dilakukan dengan dua metode yaitu menggunakan sinar matahari dan oven listrik. Pengeringan menggunakan oven dilakukan pada suhu 45°C (Gambar 3.9). Pengeringan sinar matahari dilakukan dengan menjemur *cascara* dan kulit tanduk dibawah sinar matahari langsung (*direct solar drying*) (Gambar 3.10). Rentang suhu rata-rata harian panas matahari selama periode ini adalah 24,2-33,3°C. Sebelum dilakukan pengeringan, berat basah ditimbang dan dicatat. Pengeringan dihentikan ketika telah mencapai berat kering konstan. Berat kering ditimbang dan dicatat. *Cascara* dan kulit tanduk yang telah dikeringkan, selanjutnya dihaluskan menggunakan *blender* lalu diayak menggunakan saringan (*sieve*) 100 *mesh* hingga menjadi serbuk simplisia (Gambar 3.11 dan Gambar 3.12). Serbuk simplisia disimpan dalam wadah kedap udara hingga proses ekstraksi. Metode pengeringan didasarkan pada penelitian Tampubolon (2023) yang menyatakan bahwa kondisi pengeringan menggunakan oven listrik pada suhu 45°C menghasilkan mutu *cascara* yang optimal. Optimalisasi mutu *cascara* juga dapat dicapai melalui pengeringan dibawah sinar matahari dengan suhu lingkungan 30-35°C (Baihaqi dkk., 2023).



Gambar 3.9. Pengeringan Menggunakan Sinar Matahari: A. Cascara (CM); B. Kulit Tanduk (TM)



Gambar 3.10. Pengeringan Menggunakan Oven: A. Cascara (CO); B. Kulit Tanduk (TO)



Gambar 3.11. Penghalusan Bahan Menggunakan *Blender*



Gambar 3.12. Pengayakan Simplisia Menggunakan Saringan 100 *mesh*

3.4.5 Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia *cascara* dan kulit tanduk yang telah diayak, selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol p.a. 70%. Metode maserasi didasarkan pada penelitian Nugraha dkk. (2020) dan Muharam & Sriwidodo (2022) yang menyatakan bahwa perbandingan serbuk simplisia dan pelarut adalah 1:10. Sebanyak 20 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 200 mL etanol p.a. 70% dalam tabung Erlenmeyer dan ditutup menggunakan *aluminium foil* untuk mencegah penguapan (Gambar 3.13 dan Gambar 3.14). Maserasi dilakukan total selama 7×24 jam yang terbagi ke dalam dua tahap maserasi. Maserasi pertama dilakukan selama 5 x 24 jam dan diaduk berulang setiap 1 hari sekali selama 5 menit menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm (Gambar 3.15).



Gambar 3.13. Serbuk Simplisia Hasil Penyaringan



Gambar 3.14. Maserasi Serbuk Simplisia



Gambar 3.15. Pengadukan Ekstrak Menggunakan *Shaker*

Hasil maserasi tahap pertama disaring menggunakan kertas *Whatman* No.1 untuk memisahkan residu dan hasil ekstraksi (filtrat I). Residu ditambahkan 50 mL etanol p.a. 70% dan dimaserasi tahap dua selama 2×24 sambil diaduk satu hari sekali. Hasil rendaman disaring kembali hingga menghasilkan filtrat II. Filtrat I dan II dihomogenkan, lalu disaring menggunakan kertas *Whatman* No.1 hingga menjadi filtrat III (Gambar 3.16 dan Gambar 3.17). Filtrat III diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 40°C untuk menghilangkan pelarutnya sampai didapatkan ekstrak kental (Gambar 3.18). Sebanyak 1 µL ekstrak kental dimasukkan ke dalam *microtube* dan disimpan pada suhu ruang hingga dianalisis metabolitnya menggunakan instrumen GC-MS (Gambar 3.19).



Gambar 3.16. Penyaringan Ekstrak



Gambar 3.17. Filtrat Hasil Maserasi



Gambar 3.18. Penguapan Ekstrak Menggunakan *Waterbath*



Gambar 3.19. Ekstrak Kental Hasil Penguapan

3.4.6 Analisis Senyawa Bioaktif Menggunakan GC-MS

Analisis metabolit ekstrak etanol *cascara* dan kulit tanduk kopi dilakukan menggunakan instrumen *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) di Pusat Laboratorium Forensik Bareskrim Polri, Sentul, Kabupaten Bogor, Jawa

Rinrin Sakinah, 2024

KANDUNGAN METABOLIT *CASCARA* DAN KULIT TANDUK KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.) DENGAN PERBEDAAN METODE PENGERINGAN

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

Barat. Digunakan instrumen GC-MS AGILENT 5973 tahun 2004 (Gambar 3.20). Spesifikasi instrumen GC-MS tersebut menggunakan tipe kolom Agilent 19091S-433 HP-5 MS ultra Inert (5% *Phenyl Methyl Siloxane*), panjang kolom 30,0 m, diameter kolom 250 μm , dan ketebalan kolom 0,25 μm . Volume ekstrak yang diinjeksikan sebanyak 1 μL , gas helium sebagai gas pembawa. Diatur suhu oven pada 60°C lalu ditingkatkan hingga 450°C. Spektrofotometer massa diatur pada 35-650 m/z , serta *Electron Multiplier Voltage (EMV)* pada 1200 V. Total waktu pengoperasian GC-MS adalah 45 menit. Hasil kromatogram dan spektrum massa metabolit diidentifikasi menggunakan pustaka WILLEY09TH.



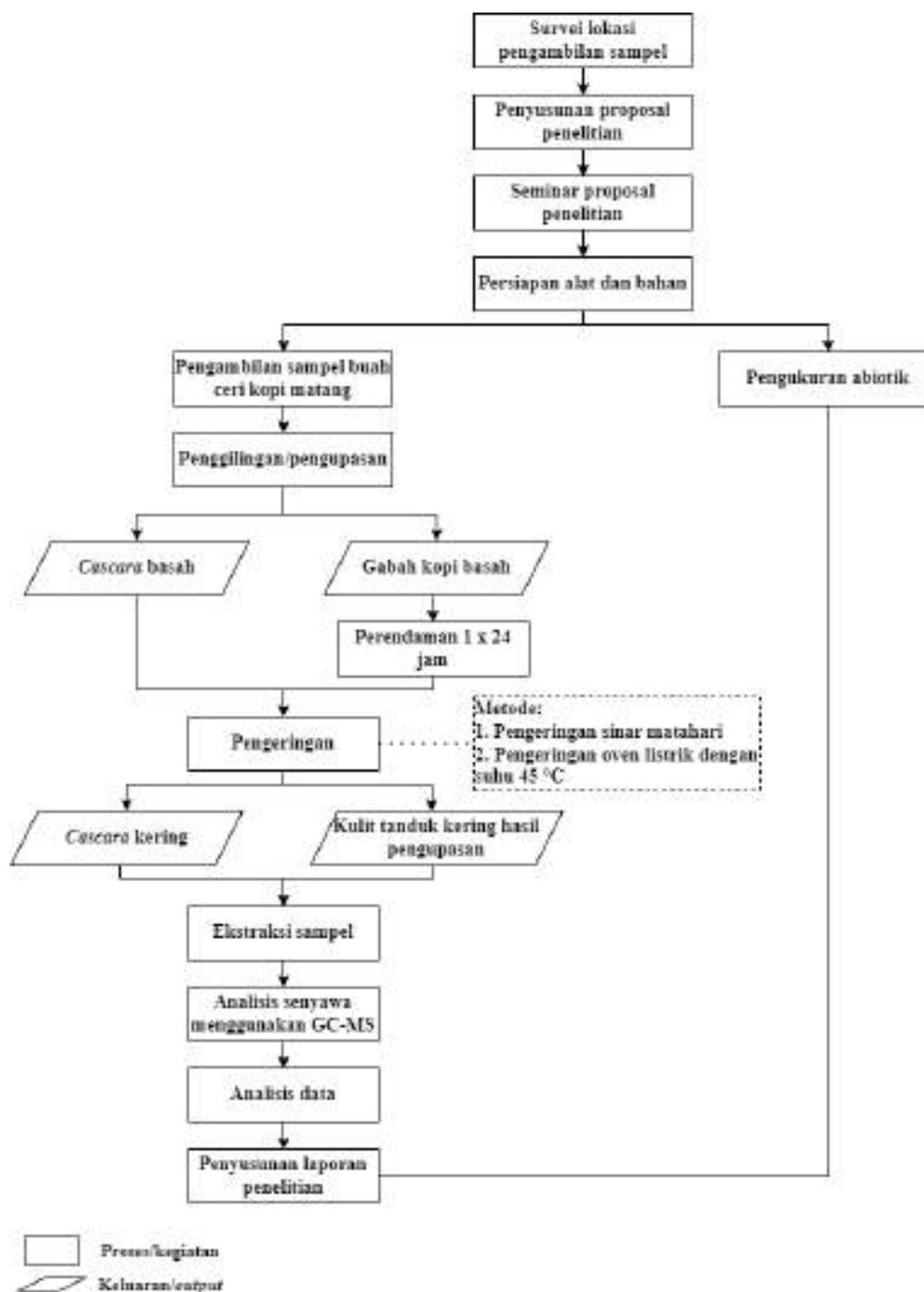
Gambar 3.20. GC-MS AGILENT 5973

3.4.7 Analisis Data Senyawa Bioaktif

Hasil analisis metabolit menggunakan GC-MS disajikan dalam bentuk grafik yang tersusun atas puncak-puncak (*peak*) yang menunjukkan jenis dan kadar metabolit. Identifikasi metabolit dilakukan dengan menyesuaikan indeks kemiripan (*similarity index*) dengan data pada pustaka *National Institute of Standards and Technology* (NIST). Metabolit yang diinterpretasikan pada penelitian hanya metabolit yang memiliki indeks kesamaan minimal 80%. Nama umum dan IUPAC setiap metabolit diperoleh dari situs PubChem *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Hasil pengolahan data disajikan dalam bentuk *heatmap*, tabel, dan diagram venn. Informasi terkait manfaat dan bioaktivitas setiap metabolit diperoleh melalui studi literatur.

3.5 Alur Penelitian

Alur penelitian menunjukkan urutan prosedur analisis metabolit *cascara* dan kulit tanduk dengan perbedaan metode pengeringan yang dapat dilihat pada Gambar 3.21.



Gambar 3.21. Bagan Alur Penelitian