

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini terbagi menjadi beberapa tahapan yaitu, determinasi tanaman talas, preparasi umbi talas bagian *central*, analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa kalsium oksalat menggunakan metode permanganometri, optimasi kondisi penurunan kadar senyawa kalsium oksalat, isolasi pati dan produksi hidrokoloid, sintesis dan karakterisasi *edible film*. Umbi talas yang digunakan sebagai bahan baku dalam penelitian ini diambil dari daerah perkebunan Cimahi, Jawa Barat. Proses determinasi tanaman talas dilakukan di Laboratorium Struktur Tumbuhan Departemen Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia. Tahapan karakterisasi *edible film* yang telah dihasilkan dilakukan di Lembaga Penelitian Pusat Survei Geologi, sedangkan tahapan penelitian lainnya sebagian besar dilakukan di Laboratorium Riset Makanan dan Laboratorium Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia, selama enam bulan, dimulai dari bulan Februari sampai Juli 2017.

#### 3.2. Alat dan Bahan

##### 3.2.1. Alat

Pada penelitian ini digunakan alat-alat sebagai berikut, diantaranya, Oven Listrik Memmert, Blender Philips, Neraca analitik Metler Toledo, *Hot Plate Wise Stir*, Pompa *Vacuum Woo Sung Automa*, *Centrifuge H-103-n Kokusan*, *Waterbath SB-24 Eyela*, *Ultrasonic Cleaner W-211 Honda*, *freezer*, gelas kimia, batang pengaduk, cawan petri, desikator, termometer, buret, statif dan klem buret, labu takar, labu erlenmeyer, corong kaca, gelas ukur, spatula, pipet gondok, pipet volum, *ball pipet*, pipet tetes, kaca arloji, statif dan klem corong, corong *buchner*, dan pisau. Sementara instrumen yang

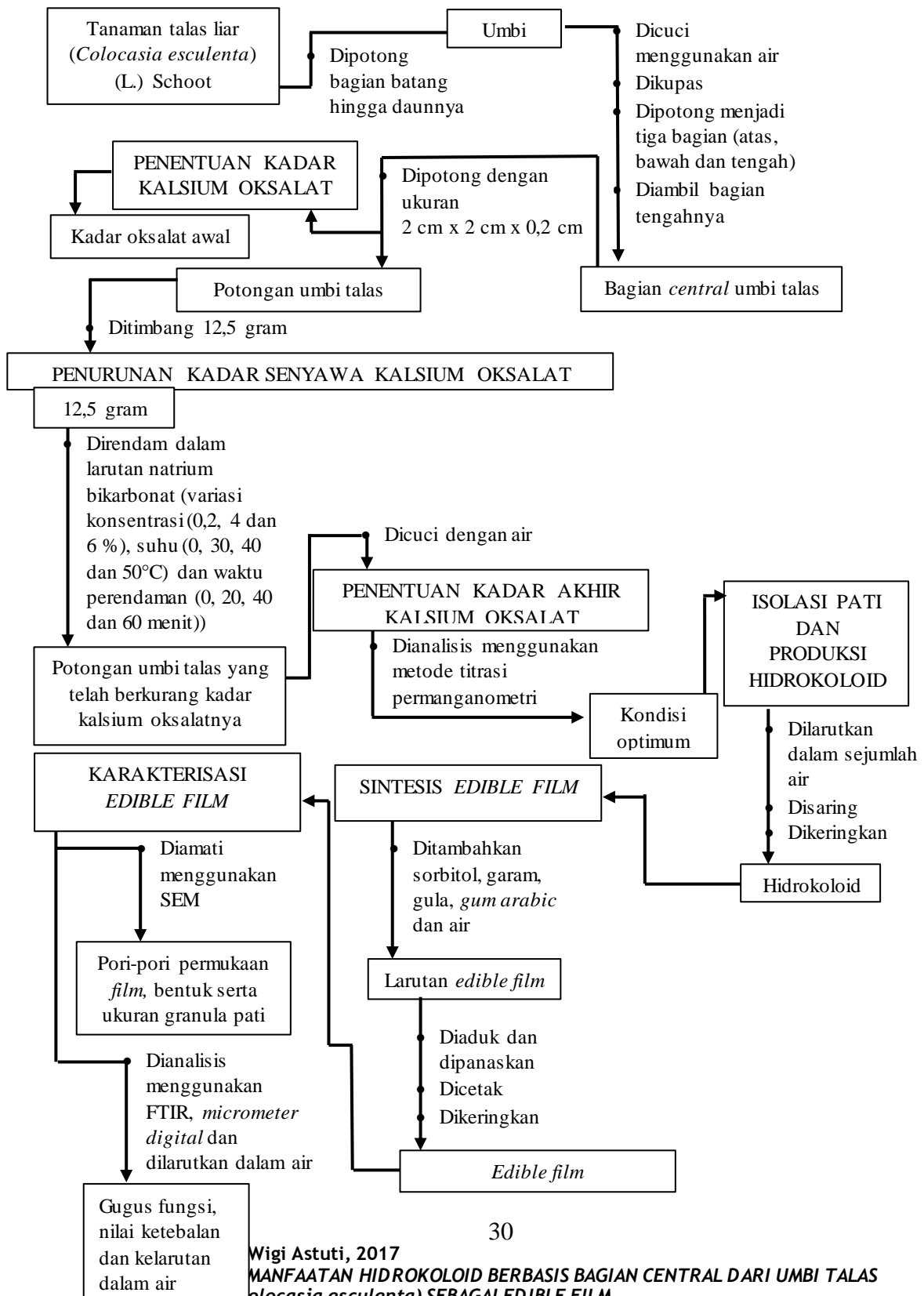
digunakan dalam penelitian ini adalah SEM (*Scanning Electron Microscope*) dan FTIR (*Fourier Transform Infrared*).

### 3.2.2. Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah talas liar (*Colocasia esculenta*) yang berasal dari daerah perkebunan Cimahi Jawa Barat. Sementara pereaksi lainnya diantaranya adalah natrium bikarbonat 2, 4 dan 6 %, HCl 6 M, larutan standar  $\text{KMnO}_4$  0,05 M, *methyl red indicator*, larutan  $\text{NH}_4\text{OH}$ , larutan  $\text{CaCl}_2$  5%, larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  20%, metanol, gula, garam, *gum arabic*, sorbitol, kertas saring *whatman*, dan aquades.

### 3.3. Prosedur Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan melalui enam tahapan kerja, yaitu proses determinasi tanaman talas yang akan digunakan sebagai bahan baku, preparasi umbi talas bagian *central*, analisis kualitatif dan kuantitatif untuk menentukan keberadaan dan konsentrasi senyawa kalsium oksalat menggunakan metode titrasi permanganometri, kemudian dilakukan optimasi kondisi penurunan kadar senyawa kalsium oksalat dari talas dengan pereaksi natrium bikarbonat, setelah dikurangi kadar kalsium oksalatnya dilakukan proses isolasi pati dan produksi hidrokoloid dari pati yang telah diperoleh. Hidrokoloid yang diperoleh digunakan sebagai bahan baku dalam sintesis *edible film* yang kemudian akan dikarakterisasi kualitasnya menggunakan instrumen SEM dan FTIR, berikut bagan alirnya :



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

### 3.4. Tahapan Penelitian

#### 3.4.1. Determinasi Tanaman Talas

Tanaman talas yang digunakan pada penelitian ini dideterminasi di Departemen Pendidikan Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

#### 3.4.2. Preparasi Bagian *Central* Talas

Hal pertama yang harus dilakukan setelah memperoleh tanaman talas yang diinginkan, adalah memotong bagian batang hingga daunnya, hingga diperoleh umbi talas, kemudian dilakukan pencucian umbi menggunakan air bersih untuk menghilangkan tanah. Setelah dilakukan pencucian, selanjutnya dilakukan pemotongan bagian dasar umbi dan kepala umbi (bagian a dan g pada gambar 2.2), kedua bagian tersebut dibuang dan dilakukan pengupasan kulit talas. Setelah dikupas, talas kemudian dipotong menjadi tiga bagian utama, dalam penelitian ini, bagian talas yang akan diambil adalah bagian tengah (bagian d pada gambar 2.2), bagian tengah talas yang telah diperoleh, selanjutnya dipotong-potong kembali dengan ukuran tertentu (2 cm x 2 cm x 0,2 cm) (Kumoro *et al.*, 2014). Potongan-potongan umbi talas tersebut, disimpan pada suhu 4°C hingga digunakan untuk proses selanjutnya (Kaur *et al.*, 2013).

#### 3.4.3. Optimasi Kondisi Penurunan Kadar Senyawa kalsium oksalat yang Terdapat dalam Umbi Talas

Pada proses optimasi kondisi penurunan kadar senyawa kalsium oksalat ini, diberlakukan beberapa kondisi. Kondisi yang pertama adalah tanpa melakukan perendaman, kondisi kedua dilakukan proses perendaman dalam 50 mL aquades, kedua kondisi tersebut dilakukan pada suhu ruang selama 60 menit dengan massa talas sejumlah 12,5 gram. Sementara pada kondisi ketiga dilakukan proses perendaman menggunakan larutan natrium bikarbonat

sebagai pereaksi. Variabel kontrol yang diterapkan antara lain yaitu, waktu perendaman (30, 40, 50 dan 60 menit) suhu (30, 40, 50 dan 60°C) dan konsentrasi natrium bikarbonat (0,2, 4 dan 6%). Sebelum dilakukan perendaman dengan beberapa variabel tersebut, potongan-potongan talas terlebih dahulu ditimbang dengan massa yang sama dengan kedua kondisi sebelumnya (Kumoro *et al.*, 2014).

#### 3.4.4. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Senyawa Kalsium Oksalat Menggunakan Metode Permanganometri (Sebelum dan Sesudah Proses Perendaman)

Penentuan kadar kalsium oksalat dari umbi talas dapat dilakukan dengan tiga tahapan. Tahap pertama adalah *digestion*, pada tahap ini potongan talas yang telah direndam menggunakan larutan natrium bikarbonat dibilas menggunakan aquades, ditimbang sebanyak 2 gram, ditambahkan 190 mL air, diblender hingga halus, ditambahkan 10 mL HCl 6 M, kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam hingga dihasilkan suatu suspensi. Tahapan kedua yaitu presipitasi senyawa kalsium oksalat dari sampel, suspensi tersebut didinginkan dan diencerkan hingga 250 mL, kemudian disaring hingga diperoleh suatu filtrat, filtrat tersebut diambil masing-masing sebanyak 125 mL, kemudian ditambahkan 4 tetes *methyl red indicator* dan dititrasi menggunakan larutan NH<sub>4</sub>OH hingga terjadi perubahan warna (pH = 4-4,5).

Setelah terjadi perubahan warna, larutan dipanaskan pada suhu 60-70°C, didinginkan, kemudian disaring hingga diperoleh total filtrat. Pada tahap ketiga yaitu titrasi, total filtrat tersebut dipanaskan kembali pada suhu 60-70°C, ditambahkan 5% larutan CaCl<sub>2</sub> sebanyak 10 mL, dan disonikasi selama 5 menit, hingga dihasilkan suatu campuran. Campuran tersebut dipanaskan kembali pada suhu 60-70°C, didinginkan kembali, kemudian didiamkan selama semalaman pada suhu 4°C. Larutan yang telah didiamkan semalaman, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit untuk memperoleh residu dan supernatan. Residu yang dihasilkan ditambahkan 10 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20%, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*,

diencerkan volumenya hingga 300 mL, kemudian diambil 125 mL. Titrat tersebut dipanaskan mendekati titik didihnya (250°C), dan dititrasi menggunakan larutan standar  $\text{KMnO}_4$  0,05 M hingga dicapai titik akhir titrasi (warna merah muda). Kadar kalsium oksalat yang terkandung dalam umbi talas dapat diketahui dengan rumus sebagai berikut :

$$C. As = \frac{T \times V_{me} \times DF \times 10^5}{ME \times mf}$$

- T = Volume  $\text{KMnO}_4$  (mL)  
 Vme = Volume – massa ekuivalen ( $1 \text{ cm}^3$  0,05  $\text{KMnO}_4 \sim 0,00225$  gram oksalat anhidrat)  
 DF = Faktor dilusi VTA (2,4 dimana VT = 300 mL)  
 A = Volume titrat (125 mL)  
 ME = Molar ekuivalen  $\text{KMnO}_4$  dalam oksalat (dalam reaksi redoks (5))  
 mf = massa analit  
 C = gram oksalat/100 gram talas segar

(Kumoro *et al.*, 2014).

#### 3.4.5. Isolasi Pati dari Umbi Talas Bagian *Central*

Umbi talas dalam kondisi penurunan kadar kalsium oksalat yang telah optimum, dibilas menggunakan aquades, diblender selama 5 menit, ditambahkan aquades (1/3 v/v), kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 5 menit. Selanjutnya larutan disaring menggunakan kain katun, filtrat yang dihasilkan didekantasi selama 2 jam, bagian supernatan dibuang, kemudian pada bagian residu ditambahkan air dan dilakukan proses pengadukan serta dekantasi ulang. Residu yang diperoleh dikeringkan dalam oven selama 12 jam pada suhu 40°C, untuk memperoleh pati dari umbi talas dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 2500 rpm selama 10 menit, residu yang dihasilkan, kembali dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 3 jam (Nand *et al.*, 2008). Kadar pati hasil isolasi (SC) dapat ditentukan melalui rumus berikut :

$$SC(\%) = \frac{\text{massa amilum}}{\text{massa talas segar}} \times 100\%$$

#### 3.4.6. Sintesis *Edible film*

Pati yang telah diisolasi, dicampurkan dengan sorbitol, gula, garam dan *gum arabic* dalam volume 100 mL, kemudian ditambahkan 150 mL aquades, larutan tersebut diaduk dan dipanaskan pada suhu 85°C selama 2 jam hingga dihasilkan suatu larutan tak berwarna, kemudian dilakukan sonikasi selama 20 menit. Larutan yang telah disonikasi kemudian dituangkan ke dalam cawan petri untuk dikeringkan dalam oven selama 18 jam pada suhu 50°C. Lapisan yang telah terbentuk dikeluarkan dari cawan petri untuk menghasilkan suatu *edible film* (Santoso *et al.*, 2013).

#### 3.4.7. Karakterisasi *Edible Film* (Hanani *et al.*, 2013)

##### 3.4.7.1. Ketebalan

Ketebalan *edible film* diukur menggunakan *digital micrometer* untuk mengetahui nilai ketebalannya.

##### 3.4.7.2. Analisis Keberadaan Gugus Fungsi

Sampel *edible film* dihaluskan hingga menjadi serbuk, kemudian dicampur dengan Kalium Bromida (KBr) dengan perbandingan massa sampel dan KBr adalah 1/1000 gram, campuran tersebut dipadatkan dan dianalisis keberadaan gugus fungsinya menggunakan instrumen FTIR.

##### 3.4.7.3. Kelarutan dalam Air

Sampel *edible film* dipotong menjadi suatu lapisan dengan ukuran yang kecil, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 3 jam untuk memperoleh massa yang konstan, sampel yang telah kering kemudian dilarutkan dalam 5 mL air selama 3, 12 dan 24 jam. Setelah itu, sampel diangkat dari larutan dan dikeringkan kembali pada suhu 100°C selama 3 jam, massa akhir dari lapisan dihitung sebagai tingkat kelarutannya dalam air.

$$\text{Kelarutan } \textit{edible film} \text{ dalam air} = \frac{(\text{massa awal} - \text{massa akhir})}{\text{massa awal}} \times 100\%$$

#### 3.4.7.4. Karakterisasi Pori-Pori Permukaan *Edible Film*, Bentuk serta Ukuran Granula Pati

Sampel *edible film* dipotong menjadi suatu lapisan dengan ukuran tertentu, kemudian sampel ditempatkan dalam wadah sampel dan dianalisis pori-pori permukaan *film*, bentuk serta ukuran granula pati menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*) dengan perbesaran 1000 kali.