

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian Ekstraksi dan Analisis Sifat Kimia Pektin dari *Endocarp* Jeruk Bali (*Citrus maxima*) dengan Air dan Amonium Oksalat dilakukan selama kurang lebih 6 minggu, mulai dari awal bulan Februari sampai pertengahan bulan Maret 2020. Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Makanan Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

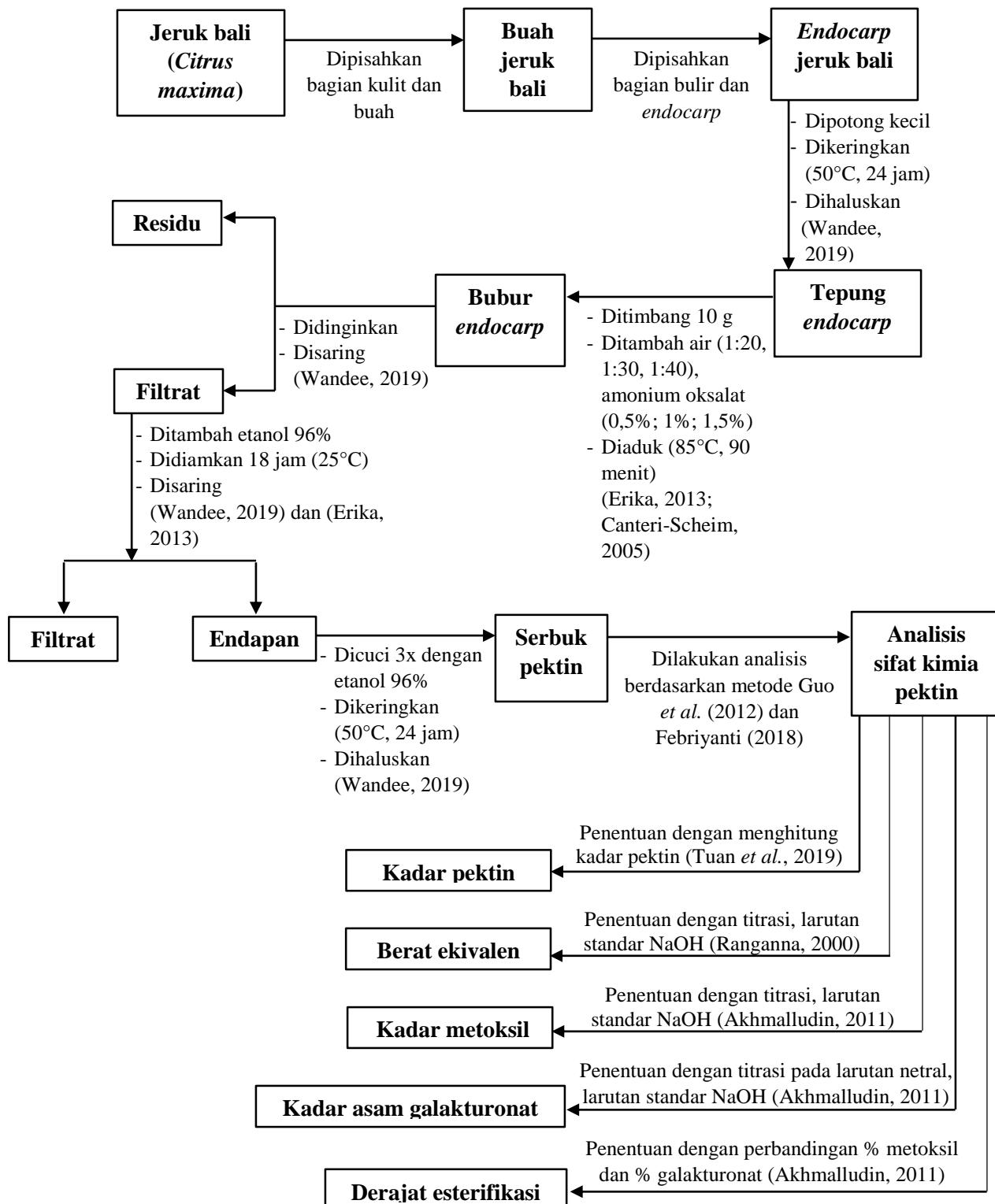
3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi neraca analitik, batang pengaduk, *hotplate* yang dilengkapi dengan *stirrer*, *magnetic stirrer*, blender, oven, loyang, *microwave*, wadah plastik, sendok plastik, pisau, spatula, saringan kain, corong buchner, labu erlenmeyer vakum, kaca arloji, cawan petri, gelas kimia, gelas ukur, labu erlenmeyer, buret, statif dan klem, tabung reaksi, pipet tetes, pipet volumetri, *ball* pipet, labu ukur, corong kaca, botol semprot, dan botol kaca.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya: *endocarp* (lapisan luar segmen) jeruk bali (*Citrus maxima*), aquades (H_2O), amonium oksalat $(NH_4COO)_2.H_2O$ p.a., etanol (C_2H_5OH) 96%, sodium hidroksida ($NaOH$) 0,1 N, asam klorida (HCl) 0,1 N, natrium tetraborat/boraks ($Na_2B_4O_7.10H_2O$), asam oksalat ($C_2H_2O_4.2H_2O$), natrium klorida ($NaCl$), indikator metil jingga, dan indikator *phenolftalein*.

3.3 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.7. Bagan Alir Penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dengan melalui tiga tahap, yaitu pengolahan tepung *endocarp* jeruk bali, ekstraksi pektin dari *endocarp*, dan analisis sifat kimia pektin *endocarp*. Pada tahap pengolahan tepung *endocarp* dilakukan dengan cara dihaluskan menggunakan blender. Tahap selanjutnya yaitu ekstraksi pektin dari *endocarp* dengan air dan amonium oksalat. Kemudian dilakukan analisis sifat kimia dari pektin *endocarp* untuk mengetahui perolehan hasil yang lebih tinggi diantara variasi pelarut.

3.4.1 Persiapan Tepung *Endocarp* Jeruk Bali

Jeruk bali yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari perkebunan di daerah Cianjur, Jawa Barat. Metode yang digunakan mengikuti metode penelitian Wandee, *et al.* (2019) kemudian dilakukan modifikasi untuk sampel yang digunakan yaitu bagian *endocarp* jeruk bali. Bagian *endocarp* segar dicuci dengan air mengalir, dipotong-potong menjadi bagian kecil kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam. *Endocarp* jeruk bali kering selanjutnya dihaluskan dengan blender dan diayak dengan saringan berukuran 80 mesh untuk mendapatkan serbuk halus.

3.4.2 Ekstraksi Pektin dari *Endocarp* Jeruk Bali

Pektin diekstraksi sesuai dengan metode Wandee, *et al.* (2019) kemudian dilakukan modifikasi untuk pelarut yang digunakan. Tepung *endocarp* ditimbang sebanyak 10 gram lalu dilarutkan dalam air dengan rasio perbandingan massa tepung *endocarp* terhadap volume air (b/v) 1:20 (200 ml), 1:30 (300 ml), 1:40 (400 ml), dan amonium oksalat 1:30 b/v (300 ml) dengan variasi konsentrasi 0,5%; 1% dan 1,5%. Campuran tepung *endocarp* dengan pelarut diaduk pada suhu 85°C selama 90 menit. *Slurry* (bubur) yang diperoleh kemudian disaring menggunakan saringan kain berukuran 38 μ m dan didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Filtrat ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:2 (v/v). Campuran didiamkan semalam (12 jam) pada suhu ruang untuk mencapai presipitasi pektin sepenuhnya. Endapan

dipisahkan dan dicuci 3-4 kali dengan etanol 96%, dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam, dan dihaluskan dengan blender atau lumpang dan alu sehingga diperoleh serbuk pektin.

3.4.3 Analisis Sifat Kimia Pektin dari *Endocarp* Jeruk Bali

3.4.3.1 Analisis Kadar Pektin

Hasil ekstraksi pektin dihitung sebagai fungsi dari massa pektin yang diperoleh dari bahan baku kering yang digunakan, menurut persamaan berikut:

$$\text{Kadar pektin} = \frac{m \text{ pektin (g)}}{m \text{ raw material (g)}} \times 100$$

Keterangan:

m pektin : Massa pektin yang diperoleh (gram)

m *raw material* : Massa bahan baku yang digunakan untuk ekstraksi (gram)

3.4.3.2 Analisis Berat Ekivalen

Penentuan berat ekivalen mengikuti metode penelitian Ranganna (2000), serbuk pektin ditimbang sebanyak 0,25 gram, dimasukkan dalam labu erlenmeyer 250 ml dan dilembabkan dengan 1,0 ml etanol 96%. Kemudian ditambah akuades sebanyak 50 ml dan 6 tetes indikator PP (*phenolphthalein*). Campuran tersebut kemudian diaduk dengan cepat untuk memastikan bahwa semua substansi pektin telah terlarut dan tidak ada gumpalan yang menempel pada sisi labu erlenmeyer. Titrasi dilakukan perlahan-lahan dengan larutan standar NaOH 0,1 N sampai warna campuran berubah menjadi merah muda dan tetap bertahan selama 30 detik. Berikut rumus untuk menentukan berat ekivalen dari pektin hasil ekstraksi:

$$\text{Berat ekivalen} = \frac{m \text{ sampel (g)} \times 1000}{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH}}$$

Keterangan:

m sampel : Massa sampel (gram)

V NaOH : Volume NaOH (ml) yang terpakai pada saat titrasi

N NaOH : Normalitas NaOH (N) sebagai standar pada saat titrasi

3.4.3.3 Analisis Kadar Metoksil

Analisis kadar metoksil dilakukan sesuai metode penelitian Akhmalludin dan Kurniawan (2011) dengan cara melarutkan 0,25 g pektin kering dalam 50 ml akuades. Setelah itu ditambah 6 tetes indikator PP (*phenolphthalein*), kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N. Titik ekivalen ditandai dengan perubahan warna dari putih kecoklatan sampai merah muda. Volume NaOH yang dibutuhkan dicatat. Selanjutnya ditambah 6 tetes larutan HCl 0,1 N dan dikocok, kemudian larutan didiamkan selama 15 menit. Kandungan metoksil dalam pektin dapat diketahui dengan rumus:

$$\text{Kadar metoksil} = \frac{V \text{ NaOH} \times 31 \times N \text{ NaOH} \times 100}{m \text{ sampel} (\text{mg})}$$

Keterangan:

V NaOH : Volume NaOH (ml) yang terpakai pada saat titrasi

Angka 31 : Berat molekul metoksi (CH_3O)

N NaOH : Normalitas NaOH (N) sebagai standar pada saat titrasi

m sampel : Massa sampel (mg)

3.4.3.4 Analisis Kadar Asam Galakturonat

Analisis kadar asam galakturonat mengikuti metode penelitian Akhmalludin dan Kurniawan (2011). Larutan hasil pendiaman pada penentuan kadar metoksil kemudian dikocok sampai warna merah muda hilang dan ditambahkan 6 tetes *phenolphthalein* serta dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai timbul warna merah muda.

Kadar galakturonat dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar asam galakturonat} = \frac{\text{meq NaOH} \times 176}{\text{m sampel (mg)}} \times 100\%$$

Keterangan:

- meq NaOH : miliekuivalen NaOH
 Angka 176 : Berat ekivalen terendah dari asam pektat
 M sampel : Massa sampel (mg)

$$\text{meq NaOH} = \frac{N \text{ NaOH} \times \text{Mr NaOH} \times V \text{ NaOH}}{1000}$$

Keterangan:

- N NaOH : Normalitas NaOH (N) sebagai standar pada saat titrasi
 Mr NaOH : Berat molekul NaOH (g/mol)
 V NaOH : Volume NaOH (ml) yang terpakai pada saat titrasi

3.4.3.5 Analisis Derajat Esterifikasi

Menurut metode penelitian Akhmalludin dan Kurniawan (2011), derajat esterifikasi pektin dapat diperoleh dari perbandingan kadar metoksil dan kadar asam galakturonat mengikuti rumus berikut:

$$\text{Derajat esterifikasi} = \frac{\% \text{ Metoksil} \times 176}{\% \text{ Galakturonat} \times 31} \times 100\%$$

Keterangan:

- % Metoksil : Kadar metoksil pektin (%)
 Angka 176 : Berat ekivalen terendah dari asam pektat
 % Galakturonat : Kadar asam galakturonat pektin (%)
 Angka 31 : Berat molekul metoksi (CH_3O)