

BAB IV

PROSEDUR PENELITIAN

4.1 Determinasi

Bahan yang digunakan adalah jerami padi yang diperoleh dari kecamatan Cibuyaya kabupaten Karawang. Bahan dideterminasi di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

4.2 Pembuatan Simplisia

Jerami yang dipakai merupakan jerami kering. Pembuatan simplisia dilakukan dengan terlebih dahulu mencuci jerami dengan air yang mengalir, setelah itu jerami yang telah bersih didiamkan hingga kadar airnya berkurang. Jerami di rajang dan dikeringkan dengan cara dijemur langsung di bawah sinar matahari. Setelah itu jerami dihaluskan dengan cara diblender.

4.3 Pemeriksaan Makroskopik dan Mirroskopik Jerami

4.3.1 Pemeriksaan makroskopik

Pemeriksaan makroskopik meliputi bentuk, ukuran dan tekstur jerami, bagian-bagian jerami yang dipakai (Depkes RI.2000: 30).

4.3.2 Pemeriksaan mikroskopik

Pengamatan mikroskopik yang dilakukan adalah membuat penampang melintang, dilihat struktur jerami dan ciri khas dari jerami. Sayatan melintang jerami yang sudah didapat dilakukan pengamatan mikroskopik dengan cara menaruh pereaksi kloralhidrat diatas kaca objek, dan kemudian ditambah sayatan

jerami, dan kemudian diaduk agar merata dan kemudian ditutup dengan kaca penutup dan diamati dibawah mikroskop. Pemeriksaan amilum digunakan I₂KI (Depkes RI.2000: 30).

4.4 Parameter Standar Simplisia

Pengukuran parameter standar simplisia meliputi pengukuran dari parameter standar spesifik dan non spesifik.

4.4.1 Parameter spesifik

Parameter spesifik meliputi uji organoleptis, kadar sari larut ait, dan kadar sari larut etanol (Depkes RI, 2000:3)

a. Organoleptik

Simplisia yang sudah didapat dideksripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa.

Uji organoleptik dilakukan minimal oleh lima orang responden yang berbeda. Hal yang didapat merupakan identitas awal jerami (Depkes RI,2000: 31)

b. Penetapan kadar sari larut air

Lima gram serbuk dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml air dan ditambahkan 0,25ml kloroform P. Serbuk dimasukkan ke dalam labu bersumbat sambil sesekali dikocok dengan pengaduk pada enam jam pertama, didiamkan selama 18 jam lalu disaring. Sebanyak 20 mL filtrat dimasukkan ke dalam cawan lalu diuapkan. Sisa hasil penguapan dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap selama enam jam, kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit (Depkes RI.2000: 31).

Rumus:

$$\text{Kadar Sari Larut Air} = \frac{\text{berat sari larut air}}{\text{berat bahan awal}} \times 100\%$$

c. Penetapan kadar sari larut etanol

Lima gram serbuk dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 95% . Semua bahan dimasukkan ke dalam labu bersumbat sambil sesekali dikocok pada enam jam pertama, dan diamkan selama 18 jam, kemudian maserat di saring dengan cepat untuk menghindari penguapan etanol, sebanyak 20 mL filtrat di uapkan hingga kering dalam cawan yang telah ditimbang. Sisanya dipanaskan pada suhu 105°C. Hasil yang didapat didinginkan di dalam desikator selama 30 menit kemudian di timbang. Kadar dalam persen senyawa yang larut dalam etanol, dihitung terhadap simplisia awal (Depkes RI, 2000 : hal 31).

Rumus:

$$\text{Kadar Sari Larut Etanol} = \frac{\text{berat sari larut etanol}}{\text{berat bahan awal}} \times 100\%$$

4.4.2 Parameter non spesifik

Parameter non spesifik yang dilakukan adalah pemeriksaan susut pengeringan, kadar air, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam.

a. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode azeotrop. Metode ini dapat mengukur langsung kadar air dalam bahan uji.

Sebanyak 200 mL toluen dan dua mL air dimasukkan ke dalam labu., kemudian dihubungkan pada alat, hingga didapat hasil campuran kedua

pelarut tersebut, hasil volume air yang diperoleh dicatat, hasil tersebut disebut volume destilasi pertama. Tabung penerima dibilas dan didinginkan dengan air yang mengalir. 10 gram simplisia yang mengandung 2 mL sampai 4 mL air ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu yang didalamnya sudah ditaruh batu didih, kemudian labu dipanaskan selama 15 menit. Setelah toluen mendidih, kecepatan penyulingan diatur yaitu 2 tetesan per detik hingga sebagian air tersuling. Kemudian kecepatan penetesan dinaikkan sampai 4 tetesan per detik. Setelah air tersuling seluruhnya bagian kondensor dibilas dengan toluen. Dilakukan destilasi selama 15 menit. Tabung penerima didinginkan dalam suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna, volume air dicatat dan disebut sebagai volume destilasi kedua (Depkes RI, 2000: 16). Rumus:

$$\text{Kadar Air} = \frac{V_2 - V_1}{\text{berat zat awal (g)}} \times 100\%$$

Keterangan : V_1 = Volume destilasi pertama

V_2 = Volume destilasi kedua

b. Penetapan kadar abu total

Tiga gram serbuk simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam kurs silikat yang telah dipanaskan dan ditimbang. Kurs dipijar pada suhu 600°C selama tiga hari hingga arang habis, kurs dikeluarkan dan didinginkan lalu ditimbang. Jika arang tidak hilang, maka dapat ditambahkan air panas yang kemudian disaring dengan kertas saring bebas abu. Sisa abu yang tertinggal di kertas saring di pijarkan dalam kurs yang sama. Kertas saring dimasukkan ke dalam kurs, kemudian diuapkan, kurs dipijar kemudian di

timbang, dan dicatat bobotnya. Pemijaran dan penimbangan dilakukan berulang kali hingga bobotnya tetap. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI,2000: 17).

Rumus:

$$\text{Kadas Abu} = \frac{\text{berat abu}}{\text{berat simplisia awal}} \times 100\%$$

c. Penetapan kadar abu tidak larut asam

Abu yang didapat dalam penetapan kadar abu total dididihkan dengan 25 mL asam klorida encer selama 15 menit. Bagian yang tidak larut asam dikumpulkan, kemudian disaring dengan kertas saring bebas abu, endapan yang didapat dicuci dengan air panas, dan dipijarkan hingga bobotnya tetap kemudian ditimbang. Kadar abu tidak larut asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara (Depkes RI,2000: 17).

Rumus:

$$\text{Kadas Abu Tidak Larut Asam} = \frac{\text{berat abu tidak larut asam}}{\text{berat simplisia awal}} \times 100\%$$

d. Penetapan susut pengeringan

lima gram serbuk simplisia ditimbang dalam cawan penguap yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit. Bahan diratakan agar ketebalannya 5-10 mm dan dimasukkan ke dalam lemari pengering, dikeringkan pada suhu 105°C. Cawan penguap didinginkan dalam desikator dan dibiarkan dingin pada suhu kamar (WHO, 2011:31).

Rumus Susut Pengeringan =

$$\frac{\text{berta bahan awal} - \text{berat simplisia setelah dipanaskan}}{\text{berat simplisia awal (g)}} \times 100\%$$

4.5 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan pada simplisia untuk mengetahui adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, tanin, monoterpen dan sesquiterpen

a. Alkaloid

Simplisia dicampur dengan 5 ml kloroform dan 5 ml amoniak kemudian dipanaskan, dikocok dan disaring. Ditambahkan 5 tetes asam sulfat 2 N pada masing-masing filtrat, kemudian dikocok dan didiamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi mayer sehingga timbul warna jingga, pereaksi Wagner akan menimbulkan warna coklat, dan pereaksi Dragendorff akan menimbulkan warna putih. Hal tersebut menunjukkan adanya alkaloid (Harborne, 1996:243-244).

b. Flavonoid

Simplisia digerus, lalu dilarutkan dalam aquadest panast 100 mL, didiamkan selama 15 menit kemudian di saring. Filtrat yang didapat dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan serbuk magnesium (Mg) dan H_2SO_4 , Kemudian di kocok dan ditambahkan amil alkohol sambil dikocok. Warna merah, kuning dan jingga pada lapisan amil alkohol meunjukkan positif flavonoid (Farnsworth, 1966: 262).

c. Saponin

Simplisia digerus dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan aquadest dan dikocok, timbulnya busa yang stabil selama 30 menit menunjukkan positif saponin (Mustarichie *et al.*, 2011: 19) .

d. Steroid

Simplisia digerus dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.lalu ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard 10 mL, lalu dikocok. Terbentuknya warna merah menunjukkan positif steroid (Farnsworth, 1966: 259).

e. Triterpenoid

Simplisia digerus dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.lalu ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard 10 mL, lalu dikocok. Terbentuknya warna ungu menunjukkan positif triterpenoid (Farnsworth, 1966: 259).

f. Tanin

Sampel dididihkan dengan 20 ml air lalu disaring. Ditambahkan beberapa tetes feriklorida 1% dan terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin (Harborne, 1996:106-107).

4.6 Isolasi Pektin

Isolasi pektin dari jerami padi dilakukan dengan terlebih dahulu membersihkan sebanyak empat kg jerami dan dikeringkan dengan diangin angin. Setelah jerami kering kemudian jerami digiling dan diekstraksi dengan pelarut aquadest. Ekstraksi dilakukan dengan penambahan aquadest lima kali berat dari simplisia (Meilina, 2011: 3). Kemudian ditambahkan asam klorida hingga didapat

pH 1,5 (Hanum, 2012: 3). Suhu yang digunakan dalam ekstraksi ini 80°C selama 90 menit (Budiyanto dan Yulianingsih, 2008: 42). Bahan yang telah diekstraksi kemudian dituangkan ke atas kain saring, kemudian diperas sampai cairan keluar sebanyak mungkin. Cairan hasil perasan dituangkan kembali ke atas kain saring lain dan dibiarkan tanpa dilakukan pemerasan sampai tidak ada cairan yang turun dari kain saring. Filtrat yang dihasilkan kemudian diukur volumenya dengan menggunakan gelas ukur lalu ditambahkan etanol 96% sebanyak 1 kali volume filtrat sedikit demi sedikit sambil di aduk, dan didiamkan selama 24 jam (Meilina, 2011:3)

Endapan yang didapat disaring dengan menggunakan kain saring yang dilapisi dengan kertas saring Whatman no. 41. Endapan yang diperoleh kemudian dicuci dengan etanol 96%, lalu ditambahkan dengan larutan perak nitrat untuk melihat masih terdapatnya asam atau tidak. Kemudian endapan pektin yang terbentuk diperas. Endapan pektin yang didapat digiling dengan blender, setelah itu hasil blender dikeringkan dengan *vacuum oven* pada suhu 40°C selama 30 jam. Serbuk bubuk pektin yang didapat ditimbang dan dilakukan pengujian standar mutu pektin (Meilina, 2011: 3).

4.7 Pengujian Standar Mutu Pektin

Pemeriksaan mutu pektin terhadap serbuk pektin meliputi *yield* pektin, berat ekivalen, kadar metokil, kadar asam galakturonat, kadar air, kadar abu dan derajat esterifikasi.

a. Yield pektin

Pengukuran rendemen pektin dilakukan dengan cara pektin kering yang diperoleh ditimbang beratnya untuk diketahui banyaknya pektin yang dapat di ekstraksi dari bahan awal (Sulihono dkk., 2012: 5).

Rumus:

$$\text{Yield Pektin (\%)} = \frac{\text{berat pektin kering}}{\text{berat simplisia awal}} \times 100\%$$

b. Berat ekuivalen

Berat ekuivalen pektin diukur dengan cara pektin sebanyak 0,5 gram dibasahi dengan dua ml etanol 96 % dan dilarutkan dalam 40 ml aquadest yang berisi satu gram NaCl. Larutan hasil campuran ditetesi dengan indikator fenolftalin sebanyak lima tetes dan dititansi dengan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna, volume titrasi dicatat. Untuk menentukan berat ekuivalen digunakan rumus (Sulihono dkk., 2012: 5).

$$\text{Rumus: Berat Ekuivalen} = \frac{\text{berat sampel (mg)}}{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH}}$$

c. Kadar metoksil

Pengukuran kadar metoksi dilakukan dengan cara larutan netral dari penentuan berat ekuivalen (BE) ditambah 25 ml larutan NaOH 0,2 N diaduk dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar pada keadaan tertutup. Kemudian ditambahkan 25 ml larutan HCl 0,2 N dan ditetesi dengan fenolftalein sebanyak lima tetes kemudian dititansi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan volume titran (Sulihono dkk., 2012: 5).

$$\text{Rumus: Kadar Metoksil} = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \text{BM metoksi(CH}_3\text{O)}}{\text{berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

d. Kadar asam galakturonat

Pengukuran kadar asam galakturonat dilakukan dengan cara kadar asam galakturonat dihitung dari mili ekivalen (mek) NaOH yang diperoleh dari penentuan bilangan ekivalen dan kadar metoksil (Sulihono dkk., 2012: 5).

Rumus:

$$\text{Kadar asam galakturonat} = \frac{\text{Mek (BE+kadar metoksil)} \times N \text{ NaOH} \times \text{BM AG}}{\text{berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

e. Kadar air

Pengukuran kadar air dilakukan dengan cara 0,25 gram sampel dalam cawan porselen dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C sampai 105°C selama tiga jam. Kemudian didinginkan dan ditimbang. Sampel dipanaskan lagi dalam oven selama 30 menit lalu didinginkan dan ditimbang (Sulihono dkk., 2012: 5).

Rumus:

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{berat sampel awal} - \text{berat sampel akhir}}{\text{berat sampel awal}} \times 100\%$$

f. Kadar abu

Pengukuran kadar abu dilakukan dengan cara 0,25 gram pektin diletakkan dalam krus dan tutup. Lalu dimasukkan dalam tanur pada suhu 600°C selama 72 jam, lalu abu didinginkan sampai suhu kamar dan ditimbang beratnya (Sulihono dkk., 2012: 5).

Rumus:

$$\text{Kadar Abu} = \frac{\text{berat abu (g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\%$$

g. Derajat esterifikasi

Pengukuran derajat esterifikasi dilakukan dengan cara menghitung dari kadar metoksil dan kadar asam galakturonat yang dihasilkan (Sulihono dkk., 2012: 5).

Rumus:

$$\text{Derajat Esterifikasi} = \frac{\% \text{ metoksil} / \text{BM metoksil}}{\% \text{ AG} / \text{BM AG}} \times 100\%$$

4.8 Pembuatan *Edible Film*

Pembuatan *edible film* dilakukan dengan melarutkan 0; 0,3; dan 0,5 gram pektin dalam 60 mL aquadest kemudian ditambahkan 20% (b/v_{aquadest}) tapioka, dan karagen sambil dilakukan pengadukan dan pemanasan menggunakan *stirer plate* sampai tercapai suhu 55-60°C, selama 10 menit. Selanjutnya ditambahkan gliserin sebanyak 10% (v/b_{pektin}) dan dilakukan pemanasan sampai suhu 60°C selama lima menit, kemudian ditambahkan aquades sampai tercapai volume 60 mL untuk mengganti pelarut yang menguap. Pencetakan dilakukan dengan menuangkan larutan ke dalam plat. Kemudian dilakukan pengeringan larutan *edible film* dengan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 24 jam (Murdianto, 2005: 9).

4.9 Kualitas *Edible Film*

Pemeriksaan kualitas *edible film* dari pektin meliputi organoleptik, laju transmisi uap air, ketebalan film, perpanjangan, dan kadar air

a. Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik dilakukan dengan cara suatu *edible film* dilihat dari bentuk, warna, bau, dan rasa (Depkes RI, 2000: 31). Pengujian dilakukan oleh 5 responden yang berbeda.

b. Laju transmisi uap air

Pengukuran laju transmisi uap air dilakukan dengan cara sebanyak 10 g silika gel dimasukkan ke dalam gelas kimia, setelah itu *Edible film* dipotong dengan diameter ± 5 cm. Kemudian *edible film* diletakkan di mulut gelas kimia yang di dalamnya sudah ditaruh silika gel. Setelah itu gelas kimia tersebut diletakkan di suatu bejana yang didalamnya sudah berisi air. Kemudian didiamkan selama 24 jam.

Rumus:

$$\text{Transmisi uap air} = \frac{W}{A \times t}$$

Keterangan: W = perubahan berat desikan

A = Luas area film (m^2)

t = waktu

c. Ketebalan film

Pengukuran ketebalan *edible film* dilakukan dengan cara sampel diukur dengan menggunakan mikrometer pada 5 tempat yang berbeda kemudian hasil pengukuran dirata-rata sebagai hasil ketebalan film. Ketebalan dinyatakan dalam mm sedangkan mikrometer yang digunakan memiliki ketelitian 0.01 mm (Cuq. *et al.*, 1996 dalam Amaliya dan Putri, 2014: 45)

d. Perpanjangan

Pengukuran perpanjangan *edible film* dilakukan dengan cara *edible film* yang didapat dipotong membentuk huruf I dengan panjang 7 cm dan lebar 3 mm. Kemudian persen pemanjangan dihitung dengan cara membandingkan panjang *edible film* saat putus dan panjang *edible film* sebelum ditarik oleh beban. Nilai perpanjangan diperoleh dari hasil penggunaan instrument favigraph (ASTM, 1983 dalam Lenggana, 2016 : 37).

Rumus:

$$\text{Perpanjangan (\%)} = \frac{\text{Perpanjangan edible film (cm)}}{\text{Panjang awal edible film}} \times 100\%$$

e. Kuat renggang

Pengukuran kuat renggang *edible film* dilakukan dengan cara *edible film* yang didapat dipotong membentuk huruf I dengan ukuran panjang 7 cm dan lebar 3 mm. Nilai kuat renggang diperoleh dari hasil penggunaan instrument favigraph (ASTM, 1983 dalam Lenggana 2106 : 37)

f. Pembusukan buah

Pengujian susut berat buah dilakukan dengan membuat larutan *edible coating* dari konsentrasi pektin 0; 0,3 dan 0,5 gram serta stoberi yang tidak dilapisi *edible coating*, buah stroberi segar dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran-kotoran. Pelapisan stroberi dengan larutan *edible coating* menggunakan metode pencelupan dengan dua kali pencelupan. Pencelupan yang pertama dilakukan selama 10 detik, kemudian diangkat hingga tidak terdapat tetesan dan diletakkan pada tempat bersih.

Selanjutnya, dibiarkan selama 15 menit dan dicelup kembali selama 10 detik dengan prosedur yang sama. Selanjutnya buah yang sudah dilapisi dengan *edible coating* tersebut dimasukkan ke dalam kulkas selama 6 jam, lalu buah tersebut dikeluarkan dan ditaruh dalam suhu ruangan dan diamati selama 30 hari (Pokatong dkk., 2014: 88).

