

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain studi eksperimental dengan lima kelompok perlakuan. Hasil penghitungan bilangan peroksida dari tiap-tiap kelompok perlakuan akan dianalisis dengan menggunakan SPSS.

3.2 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini bertempat di laboratorium kimia kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan dilaksanakan pada tanggal 15 Februari – 28 Februari 2008 dengan lama penelitian sekitar 2 minggu.

3.3 Sampel dan Besar Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini :

- a. Pisang raja yang didapat dari pasar Rawasari Jakarta Pusat, kemudian dideterminasi jenisnya oleh Herbarium Bogoriense, Bogor.
- b. Vitamin C merek IPI diperoleh dari Pasar Swalayan "Carrefour" di Cempaka Mas, Jakarta.
- c. Vitamin A merek IPI diperoleh dari Pasar Swalayan "Carrefour" di Cempaka Mas, Jakarta.
- d. Epigalokatekin didapat dari bahan penelitian Departemen Patologi Anatomi FKUI Jakarta.

Terdapat 5 kelompok perlakuan pada penelitian ini yakni :

- Kelompok perlakuan 1 : menggunakan minyak tanpa tambahan senyawa antioksidan dari luar
- Kelompok perlakuan 2 : menggunakan minyak dengan tambahan senyawa antioksidan berupa Vitamin A
- Kelompok perlakuan 3 : menggunakan minyak dengan tambahan senyawa antioksidan berupa Vitamin C
- Kelompok perlakuan 4 : menggunakan minyak dengan tambahan senyawa antioksidan berupa Epigalokatekin

- o Kelompok perlakuan 5 : Menggunakan minyak dengan tambahan berupa ekstrak daging pisang raja

Setiap kelompok perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak enam kali.

3.4 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

No.	Alat	Jumlah
1	Gelas pengukur	5 buah
2	Labu Erlenmeyer	5 buah
3	Pipet	5 buah
4	Mikropipet	1 buah
5	Cawan arloji	2 buah
6	Tabung reaksi	10 buah
7	Botol coklat	25 buah
8	Label kertas	1 <i>pack</i>
9	Aluminium foil	1 gulung
10	Selotip	1 buah
11	Batang pengaduk	1 buah
12	Oven	1 buah
13	Mortar	1 buah
14	Timbangan digital	1 buah
15	Spatula	1 buah
16	pH meter	1 buah
17	Kertas saring	25 buah
18	Corong	1 buah
19	Tisu	1 <i>pack</i>
20	Gunting	1 buah
21	Rak tabung	1 buah
22	Kompor	1 buah
23	Gelas kimia	5 buah

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

No.	Bahan	Jumlah
1	Daging buah pisang raja	200 gram
2	Etanol absolute	500 mL
3	Minyak goreng merek "Bimoli"	200 mL
4	Vitamin C merek "IPI"	1 tablet
5	Vitamin A merek "IPI"	1 tablet
6	Epigalokatekin	0,01 mg
7	Kalium Iodida	10 gram
8	Amilum	5 gram
9	Asam Asetat Glasial	60 mL
10	Kloroform	40 mL
11	Natrium Tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)	10 gram
12	Aquades	1 L

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Ekstraksi pisang

Proses ekstraksi pisang adalah sebagai berikut :

- 200 gram daging pisang raja ditimbang dan dilumatkan hingga halus dengan menggunakan mortar.
- Pisang yang telah dilumatkan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer.
- Labu tersebut ditandai dengan label.
- 200 mL etanol absolute ditambahkan ke dalam labu Erlenmeyer yang sudah dimasukkan pisang.
- Ujung labu Erlenmeyer ditutup dengan *aluminium foil*.
- Larutan tersebut direndam selama satu hari.
- Larutan yang telah direndam disaring dengan menggunakan kertas saring hingga mendapatkan ekstrak pisang.
- Label ditempelkan ke cawan arloji.
- Cawan arloji ditimbang dengan timbangan digital dan dicatat beratnya.
- Ekstrak pisang dituang ke dalam cawan arloji yang telah dilabel.

- Ekstrak pisang tersebut dibiarkan di ruang terbuka selama 3 hari supaya ekstrak mengering.
- Cawan arloji beserta ekstrak pisang yang telah mengering ditimbang.
- Berat ekstrak pisang dihitung dengan mengurangi berat cawan arloji sesudah ditambahkan ekstrak dengan sebelum ditambahkan ekstrak pisang.
- Ekstrak pisang dikerok dan dimasukkan ke dalam gelas kimia.
- Etanol absolut ditambah sehingga terbentuk ekstrak etanol 5000 ppm.
- 0,2 mL ekstrak etanol 5000 ppm diambil ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 98,2 mL etanol absolut sehingga terbentuk ekstrak etanol 100 ppm.
- Tabung reaksi ditutup dengan *aluminium foil*.

3.5.2 Pembuatan reagen

Proses pembuatan reagen yang diperlukan pada percobaan ini adalah sebagai berikut :

3.5.2.1 Pembuatan larutan kalium iodida jenuh

- Aquades diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
- Serbuk kalium iodida ditambahkan ke dalam tabung reaksi lalu diaduk dengan batang pengaduk sehingga serbuk kalium iodida tidak larut lagi.
- Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil.
- Pada tabung reaksi diberi label.

3.5.2.2 Pembuatan larutan Natrium Tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,1 N

- Kristal $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ diambil sebanyak 6,2 gr lalu dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer.
- Pada labu Erlenmeyer tersebut ditambahkan aquades sebanyak 500 mL.
- Labu Erlenmeyer digoyangkan sehingga kristal $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ larut dalam aquades.
- Labu Erlenmeyer di tutup dengan penutup.
- Diberikan label pada labu Erlenmeyer.

3.5.2.3 Pembuatan larutan campuran asam asetat glasial dan kloroform

- 6 mL asam asetat glasial diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
- 4 mL kloroform ditambahkan ke dalam tabung reaksi.
- Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil.
- Diberikan label pada tabung reaksi.

3.5.2.4 Pembuatan larutan amilum

- Serbuk amilum sebanyak 5 gr dimasukkan ke dalam gelas kimia.
- Aquades sebanyak 100 mL ditambahkan ke dalam gelas kimia.
- Gelas kimia tersebut dipanaskan di atas kompor sampai mendidih sambil diaduk.
- Kompor dimatikan dan gelas kimia yang berisi amilum diangkat.
- Larutan amilum didiamkan pada suhu ruangan.

Catatan: Larutan amilum dibuat beberapa saat sebelum dilakukan titrasi untuk mencegah rusaknya amilum

3.5.3 Pembuatan Sampel

3.5.3.1 Kelompok Perlakuan 1 : Minyak

- 1 ml etanol absolut diambil dan ditambahkan 5 ml minyak goreng.
- Larutan tersebut dimasukkan ke dalam botol coklat dan ditandai dengan label.
- Botol coklat yang sudah dibuka tutupnya dimasukkan ke dalam oven dan dipanaskan dengan suhu 60°C selama 1 hari.
- Botol coklat dikeluarkan dari oven, dan dibiarkan terbuka selama 1 minggu untuk mempercepat proses oksidasi.

3.5.3.2 Kelompok Perlakuan 2 : Minyak + Vitamin A

- 1 tablet vitamin A IPI diambil dan dihancurkan dengan menggunakan mortar.

- Sebanyak 0,01 gr vit. A IPI yang sudah dihancurkan ditimbang dan ditambahkan 1 ml etanol absolut sehingga terbentuk larutan vit. A dengan konsentrasi 10000 ppm.
- 0,1 ml larutan vit. A 10000 ppm diambil dengan menggunakan mikropipet dan ditambahkan 9,9 ml etanol ke dalam tabung reaksi sehingga terbentuk larutan vit. A dengan konsentrasi 100 ppm.
- 1 ml larutan vit. A 100 ppm diambil dan ditambahkan 5 ml minyak ke dalam botol coklat. Botol coklat ditandai dengan label.
- Botol coklat yang sudah dibuka tutupnya dimasukkan ke dalam oven dan dipanaskan dengan suhu 60°C selama 1 hari.
- Botol coklat dikeluarkan dari oven, dan dibiarkan terbuka selama 1 minggu untuk mempercepat proses oksidasi.

3.5.3.3 *Kelompok Perlakuan 3 : Minyak + Vitamin C*

- 1 tablet vitamin C IPI diambil dan dihancurkan dengan menggunakan mortar.
- Sebanyak 0,01 gr vit. C IPI yang sudah dihancurkan ditimbang dan ditambahkan 1 ml etanol absolut sehingga terbentuk larutan vit. C dengan konsentrasi 10000 ppm.
- 0,1 ml larutan vit. C 10000 ppm diambil dengan menggunakan mikropipet dan ditambahkan 9,9 ml etanol ke dalam tabung reaksi sehingga terbentuk larutan vit. C dengan konsentrasi 100 ppm.
- 1 ml larutan vit. C 100 ppm diambil dan ditambahkan 5 ml minyak ke dalam botol coklat. Botol coklat ditandai dengan label.
- Botol coklat yang sudah dibuka tutupnya dimasukkan ke dalam oven dan dipanaskan dengan suhu 60°C selama 1 hari.
- Botol coklat dikeluarkan dari oven, dan dibiarkan terbuka selama 1 minggu untuk mempercepat proses oksidasi.

3.5.3.4 *Kelompok Perlakuan 4 : Minyak + Epigalokatekin*

- Sebanyak 0,01 mg epigalokatekin ditimbang dan ditambahkan 1 ml etanol absolut sehingga terbentuk larutan epigalokatekin dengan konsentrasi 10000 ppm.
- 0,1 ml larutan epigalokatekin 10000 ppm diambil dengan menggunakan mikropipet dan ditambahkan 9,9 ml etanol ke dalam tabung reaksi sehingga terbentuk larutan epigalokatekin dengan konsentrasi 100 ppm.
- 1 ml larutan epigalokatekin 100 ppm diambil dan ditambahkan 5 ml minyak ke dalam botol coklat. Botol coklat ditandai dengan label.
- Botol coklat yang sudah dibuka tutupnya dimasukkan ke dalam oven dan dipanaskan dengan suhu 60°C selama 1 hari.
- Botol coklat dikeluarkan dari oven, dan dibiarkan terbuka selama 1 minggu untuk mempercepat proses oksidasi.

3.5.3.5 *Kelompok Perlakuan 5 : Minyak + ekstrak daging pisang raja*

- 1 ml ekstrak etanol 100 ppm diambil dan ditambahkan 5 ml minyak goreng.
- Larutan tersebut dimasukkan ke dalam botol coklat. Botol coklat ditandai dengan label.
- Botol coklat yang sudah dibuka tutupnya dimasukkan ke dalam oven dan dipanaskan dengan suhu 60°C selama 1 hari.
- Botol coklat dikeluarkan dari oven, dan dibiarkan terbuka selama 1 minggu untuk mempercepat proses oksidasi.

3.5.4 *Prosedur penghitungan bilangan peroksida*³⁴

- 1 mL sampel dari setiap kelompok perlakuan diambil dengan menggunakan mikropipet.
- Sampel tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditandai dengan label masing-masing.
- Kedalam setiap sampel ditambahkan 10 ml campuran pelarut yang terdiri dari 60% asam asetat glacial dan 40% kloroform.

- Setelah sampel larut ditambahkan 0,5 ml larutan kalium iodida sambil dikocok.
- Setelah 2 menit sejak penambahan kalium iodida, ditambahkan 10 ml air suling.
- 2 tetes larutan amilum yang sudah disiapkan dimasukkan ke dalam setiap sampel. Lihat perubahan warna ungu yang terjadi. Setelah itu, dilakukan titrasi dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N sehingga terjadi perubahan warna dari ungu ke jernih.
- Dilakukan pencatatan volume larutan natrium tiosulfat 0,1N yang digunakan sampai terjadi perubahan warna larutan dari ungu ke jernih

3.5.5 Perhitungan Reagen

Rumus-rumus yang digunakan dalam pembuatan sampel dan reagen yang dibutuhkan dalam penelitian ini terlampir dalam Lampiran B.

3.5.6 Analisis Data

Untuk melihat perbandingan antara bilangan peroksida yang dihasilkan oleh minyak goreng yang ditambahkan ekstrak pisang raja dengan bilangan peroksida yang dihasilkan minyak goreng, minyak goreng yang ditambahkan vitamin A, minyak goreng yang ditambahkan vitamin C, dan minyak goreng yang ditambahkan katekin, data dianalisis dengan menggunakan program SPSS 11.5. Uji statistik nonparametrik digunakan karena sebaran data tidak normal meskipun sudah dilakukan transformasi data. Uji nonparametrik yang digunakan adalah Kruskal-Wallis dengan batas kemaknaan $p < 0,05$. Jika hasil yang didapat nantinya menunjukkan perbedaan yang bermakna, maka perbedaan bermakna tersebut dilihat antara kelompok perlakuan mana saja yang berbeda bermakna dengan menggunakan uji *post hoc* Mann-Whitney.