

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan Rimpang Lempuyang Pahit (*Zingiber littorale Val*), Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) dan Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum Val*). Aquadest (BRATAKO), α -naftol, Natrium sitrat, Natrium karbonat anhidrat, iodium, Kalium Iodida, etanol 96%, bismut subnitrat, asam asetat, HgCl₂, asam klorida pekat, serbuk Magnesium, FeCl₃, asam sulfat pekat, amil alkohol, eter, kloroform, amonia

3.2. Peralatan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah toples plastik, mikroskop optik, kaca objek, kaca preparat, rak tabung reaksi, tabung reaksi(IWAKI), spatula, kertas perkamen, penjepit kayu, Corong, Timbangan analitik (ADAM EQUIPMENT™), *waterbath* (memmert) *laminar air flow*, kompor listrik (MASPION), *tap density tester* (TDT-I-H), pipet tetes, gelas ukur(IWAKI), gelas kimia(IWAKI), *flow tester*, kertas saring, cawan penguap, PH/ *ise meter pH 240L*(NEOMET), *Moisture balance*, oven listrik (GEMMYCO Digital # YCO-NO 1), blender (PHILIPS), ayakan mesh nomor 40, 60, 80 dan 100, gunting, label, sarung tangan, masker.

3.3. Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium bahan alam, Universitas Buana Perjuangan Karawang dan waktu penelitian terhitung dari bulan Februari - Agustus 2020.

3.4. Prosedur Kerja

3.4.1. Determinasi Tanaman

Dilakukan determinasi tanaman lempuyang pahit (*Zingiber littorale Val*), lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) dan lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum Val*) secara utuh tanaman diambil dari perkebunan manoko Bandung dan dilakukan identifikasi di Laboratorium Pusat Penelitian Biologi-LIPI bogor untuk mengetahui kebenaran identitas tanamannya.

3.4.2. Isolasi Amilum

Rimpang Lempuyang Pahit (*Zingiber littorale Val*), Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) dan Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum Val*), dilakukan dengan cara mengupas terlebih dahulu kulit rimpang, kemudian dibersihkan dengan air mengalir setelah itu diparut hingga halus, ditambahkan air dan disaring menggunakan kain flanel. Air hasil saringan dimasukkan ke dalam toples dan diendapkan selama 24 jam. Endapan amilum dikeringkan menggunakan oven selama 48 jam pada suhu 50°C, terakhir diayak menggunakan ayakan mesh 100, sehingga di peroleh serbuk amilum yang halus.

3.4.3. Uji Karakteristik Amilum

Karakteristik amilum dapat diketahui dengan pengujian sebagai berikut :

A. Uji organoleptik

Amilum diamati secara visual, kemudian dianalisis warna, bau, dan rasa dilakukan dengan menggunakan bantuan indra penglihatan, penciuman dan pengecap .

B. Uji mikroskopik

Ditimbang amilum sebanyak 0.1 gram dan diletakkan pada gelas objek. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes aquadest, lalu diamati susunan amilum, bentuk amilum di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x..

C. Uji Kompresibilitas

Timbang 100 gram amilum masukkan ke dalam gelas ukur dan dicatat volumenya, kemudian granul dimampatkan sebanyak 500 kali ketukan dengan alat uji, catat volume uji sebelum dimampatkan (V_0) dan volume setelah dimampatkan dengan pengetukan 500 kali (V).

$$\text{Perhitungan : } I = \frac{V_0 - V}{V_0} \times 100\%$$

Keterangan :

I = indeks kompresibilitas (%);

V_0 = volume granul sebelum dimampatkan (mL)

V = volume granul setelah dimampatkan (mL).

D. Uji kadar air

Pengukuran kadar air menggunakan *Moisture Analyzer* dengan massa yang diuji sebanyak 1 gram dan diukur pada suhu 105°C

E. Uji sifat alir

Alat yang digunakan adalah *flow tester*, Amilum Ditimbang 100 gram, kemudian dimasukkan ke dalam corong alir. Amilum dituang melalui tepi corong secara perlahan-lahan ke dalam corong yang bagian bawahnya tertutup. Tutup corong bagian bawah dibuka secara perlahan-lahan dan amilum dibiarkan mengalir keluar hingga membentuk kerucut. Dicatat waktu yang diperlukan (detik) dengan menggunakan stopwatch sampai semua amilum melewati corong, granul dengan sifat alir yang baik akan membutuhkan waktu kurang atau sama dengan 10 detik (Voigt, 1995)

F. Uji susut pengeringan

Amilum lempuyang wangi, lempuyang pahit dan lempuyang gajah ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105 °C selama 30 menit dan telah ditara. Amilum dimasukkan ke dalam botol timbang tersebut dan botol timbang, ditimbang beserta isinya. Amilum diratakan sampai setinggi 5 mm. Lalu dimasukkan ke dalam oven, sumbat dibuka dan dibiarkan sumbat ini di dalam oven. Dikeringkan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Setelah pengeringan dibiarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin (Depkes RI, 1995)

G. Uji kelarutan

Amilum lempuyang pahit, lempuyang gajah, lempuyang wangi masing-masing sampel amilum 0.5 gram, masukan pada beaker gelas, kemudian beri etanol dan tambahkan 40 ml aquadest. Sampel diaduk pada temperatur suhu 20-30°C selama 30 menit, kemudian disentrifugasi dan di saring. Filtrat yang di dapat kemudian di uap kan hingga kering pada suhu 105 °C dan residu yang di dapat ditimbang untuk menentukan jumlah yang terlarut.

H. Uji pH

Dicampurkan 1 gram amilum lempuyang pahit, lempuyang gajah, lempuyang wangi dengan 10 mL air bebas CO₂. Lakukan pengecekan menggunakan pH meter, lalu amati amilum memiliki pH sekitar 4.0-7.0

3.4.4. Identifikasi amilum

Identifikasi amilum dapat diketahui dengan pengujian sebagai berikut :

A. Uji molish

Siapkan gelas tabung 3 buah, beri identitas 3 sampel amilum yaitu lempuyang pahit, lempuyang gajah, lempuyang wangi, masing-masing gelas tabung dimasukan

pada rak tabung, masukan sampel amilum pada gelas tabung sebanyak 0.5 gr lalu teteskan reagen molish dan perlahan berikan asam sulfat pekat melalui dinding gelas tabung amati hingga membentuk cincin berwarna ungu, maka menunjukkan amilum mengandung karbohidrat.

B. Uji benedict

Siapkan gelas tabung 3 buah, beri identitas 3 sampel amilum yaitu lempuyang pahit, lempuyang gajah, lempuyang wangi, masing-masing gelas tabung dimasukan pada rak tabung, masukan sampel amilum pada gelas tabung sebanyak 0.5 gr lalu teteskan reagen benedict dalam gelas tabung amati hingga berubah warna biru kehijauan, maka menunjukkan amilum mengandung gula.

C. Uji iodium

Siapkan gelas tabung 3 buah, beri identitas 3 sampel amilum yaitu lempuyang pahit, lempuyang gajah, lempuyang wangi, masing-masing gelas tabung dimasukan pada rak tabung, masukan sampel amilum pada gelas tabung sebanyak 0.5 gr lalu teteskan reagen iodin, gelas tabung di kocok hingga berubah warna biru, maka menunjukkan amilum mengandung komponen amilosa.

3.4.5. Skrining fitokimia

Pemeriksaan metabolit sekunder dilakukan dengan metode skrining fitokimia sebagai berikut :

A. Uji Alkaloid

Timbang 0.5 gram serbuk amilum lalu ditambahkan 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk tes alkaloid. Diambil 3 tabung reaksi, lalu masing-masing dimasukkan 0.5 ml filtrat. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer, dan dragendorff. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi yang pertama dan timbulnya endapan berwarna coklat kemerahan pada tabung reaksi kedua (Endarini, 2016).

B. Uji Flavonoid

Timbang sebanyak 1 gram amilum tambahkan 50 ml air panas, didihkan selama 5 menit lalu saring, filtrat yang dihasilkan ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 5mL HCL 2N. Lalu tambahkan amil alkohol dan kocok kuat hingga memisah dan terbentuk nya warna kuning hingga merah yang dapat ditarik dengan amil alkohol.

C. Uji Saponin

Timbang 0.5 gram serbuk amilum dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang banyak selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin pada sampel (Supomo *et al.*, 2016).

D. Uji Tanin

Timbang 1 gram serbuk lalu ditambahkan ke dalam 2 ml air suling. Selanjutnya, larutan tersebut ditetesi dengan satu atau dua tetes larutan FeCl_3 1%. Adanya kandungan tanin ditandai dengan timbulnya warna hijau gelap atau hijau kebiruan (Endarini, 2016).

E. Uji Steroid dan Terpenoid

Timbang 1 gram amilum digerus dengan 5ml eter kemudian di pipet yang disumbat dengan kapas, lalu tempatkan pada cawan penguap dan biarkan menguap hingga kering, kedalam residu ditetaskan 2 hingga 3 tetes anhidrida asetat dan kemudian satu tetes asam sulfat pekat. Adanya senyawa golongan terponoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah dan adanya senyawa golongan steroid ditandai dengan munculnya warna biru.

3.5. Diagram Alir

