

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret sampai dengan Juni 2010 di Laboratorium Kimia Riset Makanan dan Material Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia, dan di Laboratorium Kimia Analitik Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2 Sistematika Penelitian

Sistematika penelitian ini dibagi dalam empat tahap, yaitu tahap penyiapan sampel buah beri, tahap pembuatan ekstrak buah beri, tahap uji fitokimia, tahap uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dengan pengukuran absorbansi menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1240.

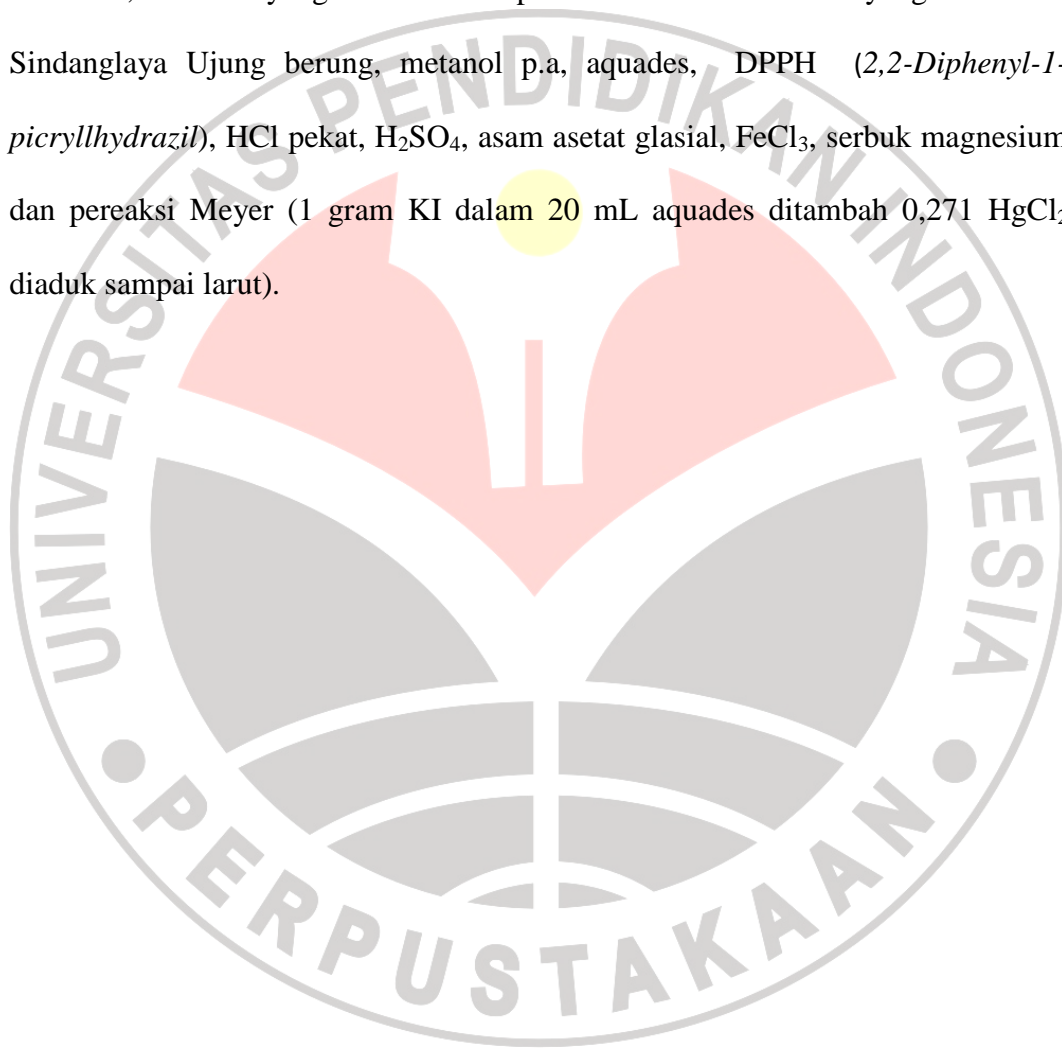
3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, seperangkat alat gelas di laboratorium kimia, evaporator, labu ukur. Untuk keperluan analisis digunakan instrumen UV – Vis Shimadzu 1240.

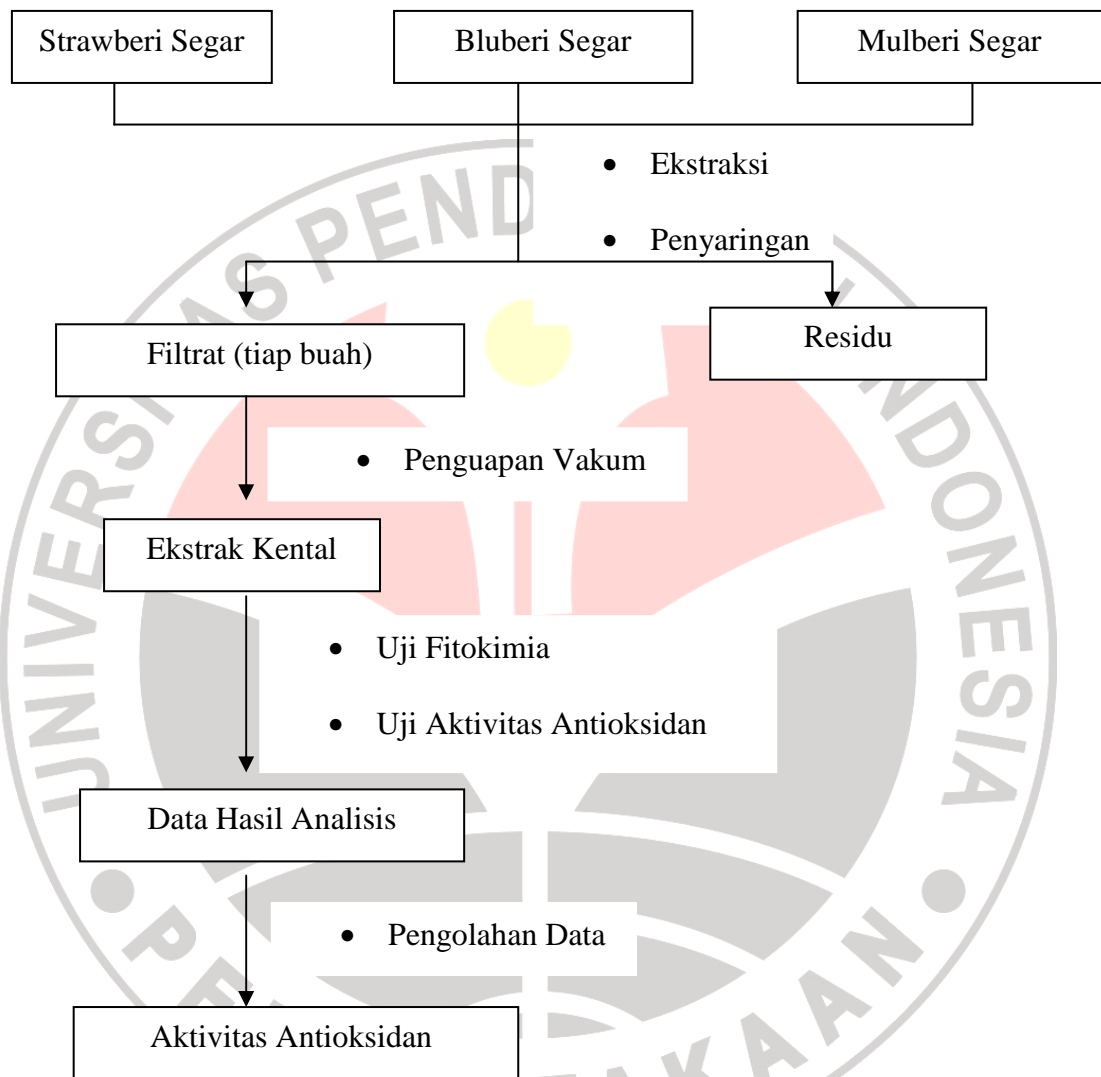
3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu stroberi yang berasal dari kebun stroberi Dapur Lembang (Bandung), blueberi yang berasal dari Australia, mulberi yang berasal dari peternakan Ulat Sutra Dayang Sumbi di Sindanglaya Ujung berung, metanol p.a, aquades, DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazil*), HCl pekat, H₂SO₄, asam asetat glasial, FeCl₃, serbuk magnesium dan pereaksi Meyer (1 gram KI dalam 20 mL aquades ditambah 0,271 HgCl₂ diaduk sampai larut).

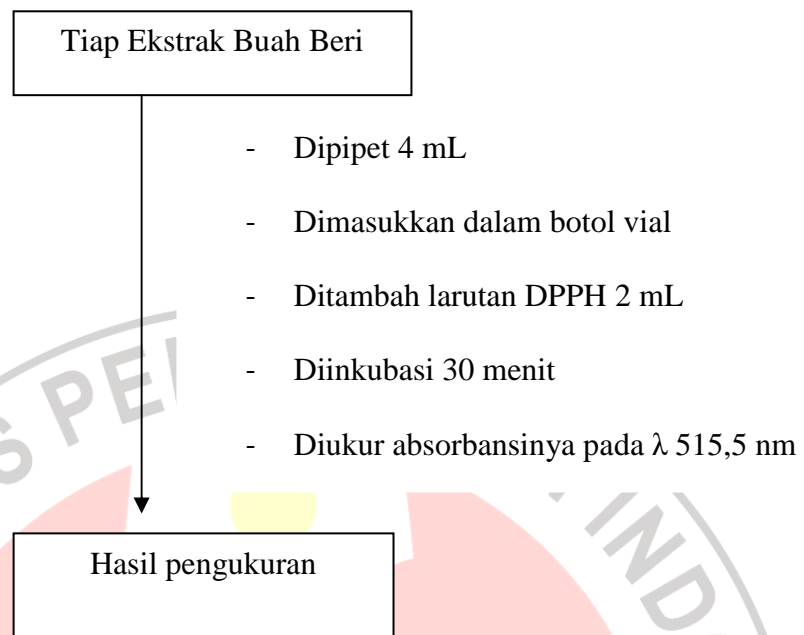


3.4 Desain Penelitian

Secara keseluruhan penelitian ini dapat dilihat seperti bagan alir di bawah ini:



Gambar 3.1. Bagan Alir Penelitian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Beri



Gambar 3.2. Bagan Alir Pengujian Aktivitas Antioksidan Buah Beri

3.5 Langkah Kerja

3.5.1 Penyiapan Ekstrak

Tiap buah beri (stroberi, blueberi, mulberi) yang segar diiris kecil- kecil kemudian ditimbang 50 gram, dimasukkan dalam wadah kaca dan ditambahkan pelarut metanol / aquades sebanyak 150 mL, ditutup rapat dan dibiarkan selama 24 jam (1 hari). Setelah itu disaring, filtrat ditampung dalam gelas kimia. Filtrat yang didapat akan diuapkan dengan vacuum rotary evaporator sampai tidak ada pelarut yang menetes lagi. Ekstrak yang diperoleh ditampung dalam botol vial yang telah diketahui massanya kemudian ditimbang kembali untuk mengetahui massa ekstrak yang diperoleh. Ekstrak dalam botol ditutup aluminium foil dan siap diuji.

3.5.2 Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada buah tiap ekstrak buah beri meliputi uji :

1. Alkaloid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambah 5 tetes kloroform dan ditambah beberapa tetes pereaksi meyer. Jika terbentuk endapan putih maka ekstrak positif mengandung alkaloid.

2. Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambah dengan serbuk magnesium dan asam klorida 2 N. Jika terbentuk warna jingga maka ekstrak positif mengandung flavonoid.

3. Antosianin

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambah beberapa tetes HCl 0,1 N. Jika terbentuk warna merah maka ekstrak positif mengandung antosianin.

4. Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambah asam asetat glasial 1 ml dan ditambah 1 ml H_2SO_4 . Jika terbentuk warna merah maka ekstrak positif mengandung terpenoid dan jika terbentuk warna biru maka ekstrak positif mengandung steroid.

5. Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambah beberapa tetes FeCl_3 . Jika terbentuk warna biru maka ekstrak positif mengandung tanin.

6. Kuinon

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambah beberapa tetes NaOH 0,1 N. jika terbentuk warna ungu maka ekstrak positif mengandung kuinon.

3.5.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pada tahap awal pengujian, dibuat terlebih dahulu kurva standar untuk larutan DPPH. Sebanyak 5 mg DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan dalam metanol. Larutan DPPH yang dibuat memiliki konsentrasi 100 ppm, kemudian dilakukan pengenceran dalam labu ukur 10 mL dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Selanjutnya diukur serapannya menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1240 pada λ 515,5 nm.

3.5.4 Pengukuran Absorbansi Sisa DPPH Dari Setiap Ekstrak

Untuk uji aktivitas antioksidan pada ekstrak buah beri (stroberi, blueberi, dan mulberi), sebanyak 1 mL tiap ekstrak buah beri dimasukan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan pelarutnya (aquades / metanol) hingga tanda batas kemudian dikocok. Selanjutnya, sebanyak 4 mL ekstrak dipipet dan disimpan dalam botol vial bersih yang telah dilapisi aluminium foil. Setelah itu ditambahkan DPPH 20

ppm sebanyak 2 mL, lalu ditutup dan diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1240 pada panjang gelombang 515 nm.

Sementara itu aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sisa DPPH}}{\text{Abs Kontrol}} \times 100 \%$$

Keterangan:

Abs DPPH kontrol : absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel

Abs sisa DPPH : absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan sampel