

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret sampai dengan Agustus 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. Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1. Alat**

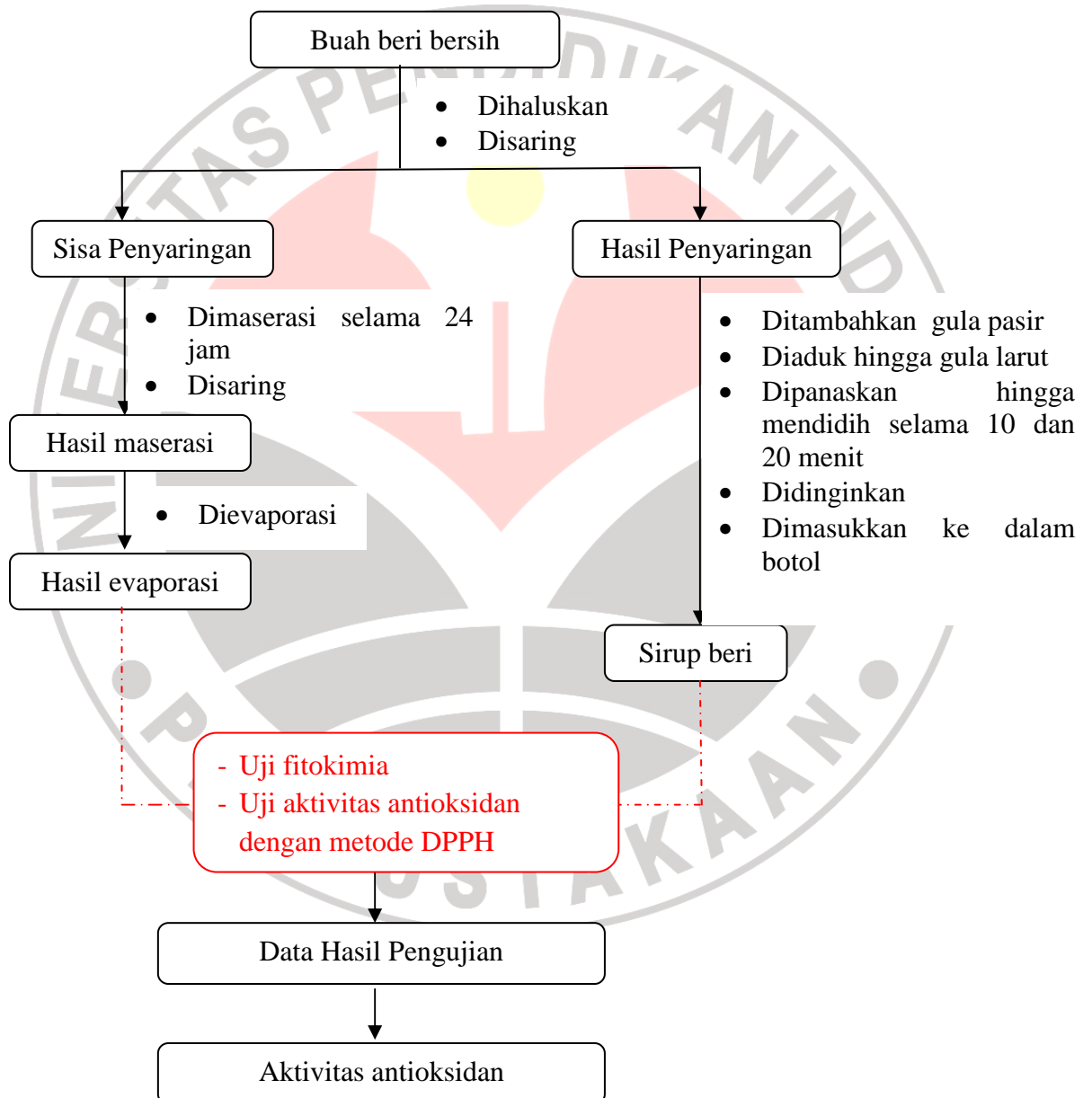
Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas, neraca analitik, labu ukur, panci aluminium, saringan, botol sirup, penguap berputar vakum (*vaccum rotary evaporator*). Sedangkan peralatan yang akan digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah UV-VIS (Shimadzu 1240).

##### **3.2.2. Bahan**

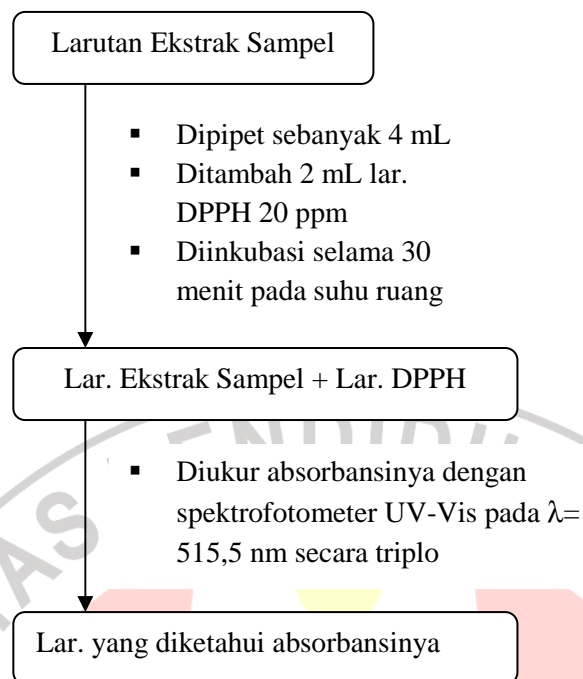
Pada penelitian ini, bahan yang digunakan adalah buah beri (strawberi, mullberi, bluberi), gula pasir, air, DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*), metanol p.a, kloroform p.a, HgCl<sub>2</sub> p.a, KI, HCl pekat, serbuk Mg p.a, CH<sub>3</sub>COOH glasial, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, FeCl<sub>3</sub> p.a, NaOH, aquades, kertas saring.

### 3.3. Metodologi Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahapan tersebut yaitu penyiapan sampel, ekstraksi, uji fitokimia, uji aktivitas antioksidan. Bagan alir penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada gambar 3.1.



**Gambar 3.1.** Bagan Alir Penelitian



**Gambar 3.2** Bagan Alir Pengukuran Aktivitas Antioksidan

### 3.3.1. Penyiapan Sampel Tumbuhan

Pada awal penelitian, buah beri yang akan digunakan dibersihkan dengan cara dicuci dengan air kran pada suhu ruangan kemudian dilakukan penghalusan dengan menggunakan *blender*. Hasil penghalusan disaring sehingga diperoleh hasil penyaringan dan sisa penyaringan buah beri.

### 3.3.2. Pembuatan sirup buah beri

Filtrat buah beri sebanyak 30 mL dipanaskan kemudian ditambahkan gula sebanyak 65% dari volume total. Kemudian dipanaskan hingga mendidih selama variasi waktu 10 dan 20 menit.

### 3.3.3. Ekstraksi buah beri

Sisa penyaringan dimasukkan dalam wadah kaca dan ditambahkan pelarut metanol / air dengan perbandingan 1:3, 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.

#### 3.3.4. Uji Fitokimia

Tiap fraksi diidentifikasi komponen fitokimianya dengan metode pereaksi warna yang bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalam masing-masing fraksi. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, tanin, kuinon, dan antosianin. Prosedur kerja yang dilakukan ialah sebagai berikut :

##### 1. Pemeriksaan Alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara, masing-masing ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 5 tetes kloroform dan beberapa tetes Pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya alkaloid.

Pembuatan Pereaksi Mayer yaitu satu gram KI dilarutkan dalam 20 mL aquades sampai semuanya melarut. Lalu ke dalam larutan KI tersebut dimasukkan 0,271 gram  $\text{HgCl}_2$  sampai larut.

##### 2. Pemeriksaan Flavonoid

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara, masing-masing ekstrak sebanyak 2 mL ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan 2 mL HCl 2 N. Timbulnya warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

### 3. Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid

Pemeriksaan terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara, masing-masing ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glasial dan 1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya terpenoid sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid.

### 4. Pemeriksaan Tanin

Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara, masing-masing ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Timbulnya warna biru tua menunjukkan adanya senyawa tanin (fenolik).

### 5. Pemeriksaan Kuinon

Pemeriksaan kuinon dilakukan dengan cara, masing-masing ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes  $\text{NaOH}$  0,1 N. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya senyawa kuinon.

### 6. Pemeriksaan Antosianin

Pemeriksaan antosianin dilakukan dengan cara, masing-masing ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes  $\text{HCl}$  0,1 N. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya senyawa antosianin.

#### 3.3.5. Pengujian aktivitas antioksidan

Pada tahap awal pengujian, dibuat terlebih dahulu kurva kalibrasi untuk larutan DPPH. Sebanyak 5 mg DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dalam metanol. Kemudian dilakukan pengenceran larutan DPPH dalam labu ukur 10 mL hingga konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Selanjutnya diukur serapannya pada  $\lambda = 515,5$  nm.

Untuk uji aktivitas antioksidan sirup buah beri, sebanyak 1 ml sirup dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan pelarut air hingga tanda batas. Sedangkan untuk pembuatan larutan DPPH yang digunakan sebagai pereaksi pada sampel, sebanyak 1 mg DPPH dilarutkan menggunakan metanol ke dalam labu ukur 50 mL hingga tanda batas sehingga konsentrasi larutan DPPH yang digunakan adalah 20 ppm. Sebanyak 2 mL larutan DPPH dalam metanol dicampur dengan 4 mL larutan sampel dalam botol vial. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah itu larutan yang telah siap diukur dimasukkan ke dalam kuvet kemudian diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu pada  $\lambda = 515,5$  nm. Pengukuran aktivitas antioksidan ini dilakukan secara triplo.

Aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Abs DPPH kontrol} - \text{Abs sisa DPPH}}{\text{Abs DPPH kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs DPPH kontrol : absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel

Abs sisa DPPH : absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan sampel