

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Riset Makanan dan Material Jurusan Pendidikan Kimia, Universitas Pendidikan Indonesia (UPI). Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Juni 2012.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

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

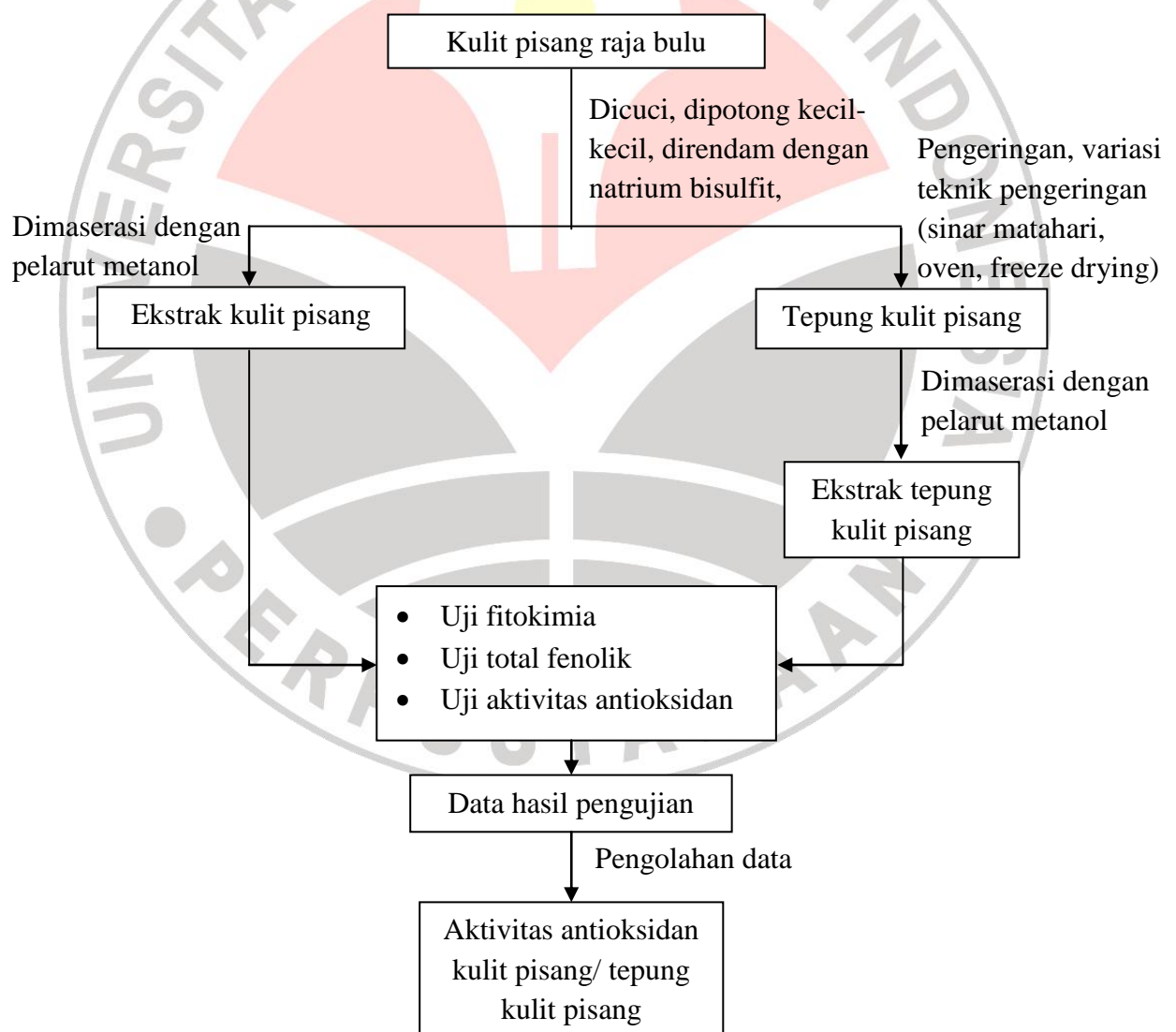
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, labu erlenmeyer, gelas kimia, pipet ukur, pipet tetes, kaca arloji, botol vial, labu erlenmeyer vacuum, spatula, tabung reaksi, pisau, blender, corong buchner, labu ukur, oven, dan Spektrofotometer UV-Vis.

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

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit pisang raja bulu, aquades, natrium bisulfit, metanol p.a, pereaksi folin-ciocalteu, DPPH, kloroform, pereaksi meyer, etanol 96%, serbuk Mg, HCl 0,1 N, asam asetat glasial, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, FeCl<sub>3</sub>, NaOH 0,1 N, asam galat, dan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%.

### 3.3 Tahapan Penelitian

Sistematika penelitian ini dibagi menjadi tiga tahap, yaitu tahap persiapan sampel kulit pisang raja bulu, tahap preparasi yaitu pembuatan ekstrak metanol kulit pisang dan pembuatan tepung kulit pisang, serta tahap terakhir yaitu tahap analisis meliputi uji fitokimia, uji total fenolik, dan uji aktivitas antioksidan. Bagan alir penelitian yang dilakukan secara keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 3.1.



**Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian**

Eva Nuramanah, 2012

Kajian Aktivitas Antioksidan Kulit Pisang Raja Bulu (*Musa Paradisiaca* L. Var *Sapientum*) Dan Produk Olahannya

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu

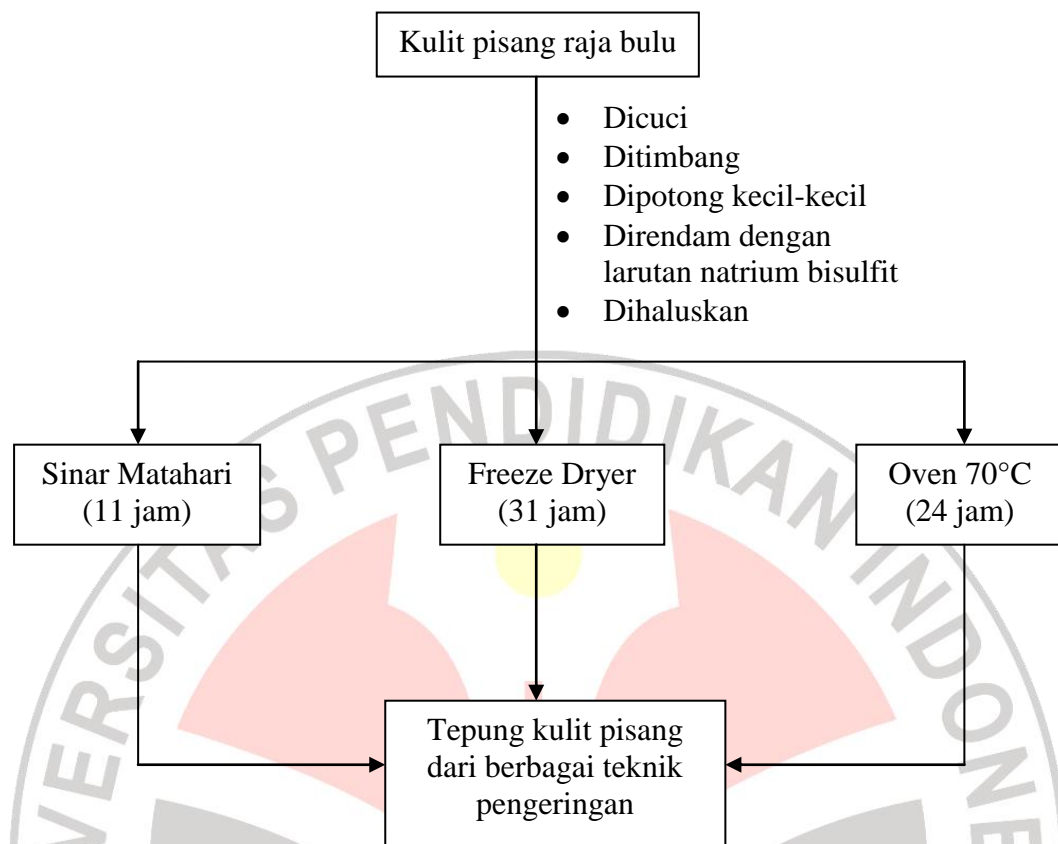
### 3.4 Prosedur Kerja

#### 3.4.1. Persiapan Sampel

Pada awal penelitian, disiapkan kulit pisang raja bulu matang yang akan digunakan, kemudian dibersihkan dan dipotong kecil-kecil dilanjutkan dengan perendaman dengan larutan natrium bisulfit 0,2% selama 15 menit. Setelah itu ditiriskan kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender.

#### 3.4.2. Pembuatan Tepung Kulit Pisang

Dalam pembuatan tepung kulit pisang ini dilakukan dengan teknik pengeringan yang berbeda, yaitu teknik sinar matahari, oven, dan *freeze dryer*. Tepung kulit pisang yang telah dihaluskan dengan blender, dikeringkan dengan ketiga teknik pengeringan tersebut. Setelah kering, digiling dengan menggunakan blender. Kemudian dilanjutkan dengan diayak sehingga diperoleh tepung kulit pisang yang halus. Berikut adalah bagan alir pembuatan tepung kulit pisang (Gambar 3.2).



**Gambar 3.2 Pengolahan Kulit Pisang Menjadi Tepung**

### 1. Pembuatan Tepung Kulit Pisang dengan Pengeringan Sinar Matahari

Kulit pisang yang telah halus (383,38 gram) ditempatkan di atas tampan, kemudian simpan di bawah sinar matahari. Monitoring produk ditimbang setiap satu jam, sampai diperoleh massa yang konstan. Hasil pengeringan kemudian dihaluskan dengan cara diblender sehingga didapat tepung kulit pisang yang halus.

## 2. Pembuatan Tepung Kulit Pisang dengan Pengeringan Oven

Kulit pisang yang telah halus (257,87 gram) ditempatkan di loyang, kemudian dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven. Monitoring produk ditimbang setiap satu jam, sampai diperoleh massa yang konstan. Hasil pengeringan kemudian dihaluskan dengan cara diblender sehingga diperoleh tepung kulit pisang yang halus.

## 3. Pembuatan Tepung Kulit Pisang dengan Pengeringan *Freeze Dryer*

Kulit pisang yang telah halus (257,87 gram) dimasukkan ke dalam empat buah labu, kemudian diletakkan pada alat *freeze dryer* untuk pengeringan. Hasil dari pengeringan kemudian dihaluskan dengan cara diblender sehingga diperoleh tepung kulit pisang yang halus.

### 3.4.3. Persiapan Ekstrak

Kulit pisang yang telah halus maupun tepung kulit pisang (25 gram) diekstraksi dengan pelarut metanol sebanyak 75 ml selama 1x24 jam. Setelah itu disaring sehingga didapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental.

### 3.4.4. Uji Fitokimia

Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kulit pisang. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi :

Eva Nuramanah, 2012

Kajian Aktivitas Antioksidan Kulit Pisang Raja Bulu (*Musa Paradisiaca* L. Var *Sapientum*) Dan Produk Olahannya

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu

1) Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan 5 tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Meyer. Jika terbentuk endapan putih, maka ekstrak positif mengandung alkaloid.

2) Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak sebanyak 1 ml ditambah 1 gram serbuk Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Timbulnya warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

3) Pemeriksaan Antosianin

Pemeriksaan antosianin dilakukan dengan cara sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan beberapa tetes HCl 0,1 N. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya senyawa antosianin.

4) Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambah 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml  $H_2SO_4$ . Timbulnya warna merah menunjukkan adanya terpenoid, sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid.

5) Pemeriksaan Tanin

Ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan beberapa tetes  $FeCl_3$  1%. Timbulnya warna biru tua menunjukkan ekstrak positif mengandung tanin.

6) Pemeriksaan Kuinon

Ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan beberapa tetes NaOH 0,1 N. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya senyawa kuinon.

### 3.4.5. Uji Total Fenolik

Dilakukan pembuatan kurva standar asam galat sebelum pengukuran total fenolik dalam sampel. Larutan asam galat dibuat dengan melarutkan 0,25 gram asam galat ditambah 5 ml etanol 96% ke dalam 50 ml aquabidest, sehingga diperoleh konsentrasi 5 mg/ml. Dari larutan induk dipipet 6, 8, 10, 12, 14 ml dan diencerkan dengan aquabidest sampai volume 100 ml, sehingga dihasilkan dengan konsentrasi 300, 400, 500, 600, dan 700 mg/L asam galat. Dari masing-masing konsentrasi di atas dipipet 0,2 ml ditambah 15,8 ml aquabidest, ditambah 1 ml pereaksi folin-ciocalteu. Didiamkan selama 8 menit, ditambah 3 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20% kemudian dikocok hingga homogen. Ukur serapan pada panjang gelombang 765 nm, lalu dibuat kurva kalibrasinya hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi.

Selanjutnya dilakukan pengukuran total fenolik dalam sampel. Sebanyak 0,3 gram ekstrak sampel dilarutkan dengan metanol:air (1:1) hingga 10 ml, kemudian larutan ekstrak tersebut dipipet sebanyak 0,2 ml, ditambahkan 15,8 ml aquabidest dan 1 ml pereaksi folin-ciocalteu. Campuran tersebut dikocok dan didiamkan selama 8 menit lalu ditambahkan 3 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20%. Larutan ekstrak yang telah ditambah pereaksi folin-ciocalteu diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm. Kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg GAE/ 100 gram ekstrak sampel.

### 3.4.6. Uji Aktivitas Antioksidan

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak sampel, dilakukan pembuatan kurva kalibrasi DPPH terlebih dahulu. Sebanyak 5 mg DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dan dilarutkan dengan metanol. Larutan DPPH yang dibuat memiliki konsentrasi 100 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran dalam labu ukur 10 ml hingga didapat konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Selanjutnya diukur serapan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515,5 nm.

Untuk pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara sebanyak 5 ml ekstrak sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan ditambahkan pelarut 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 pada panjang gelombang 515,5 nm. Aktivitas antioksidan dapat 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

**Eva Nuramanah, 2012**

Kajian Aktivitas Antioksidan Kulit Pisang Raja Bulu (*Musa Paradisiaca* L. Var *Sapientum*) Dan Produk Olahannya

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu