

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dimulai pada bulan Maret sampai Juni 2012 di Laboratorium Riset Kimia 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

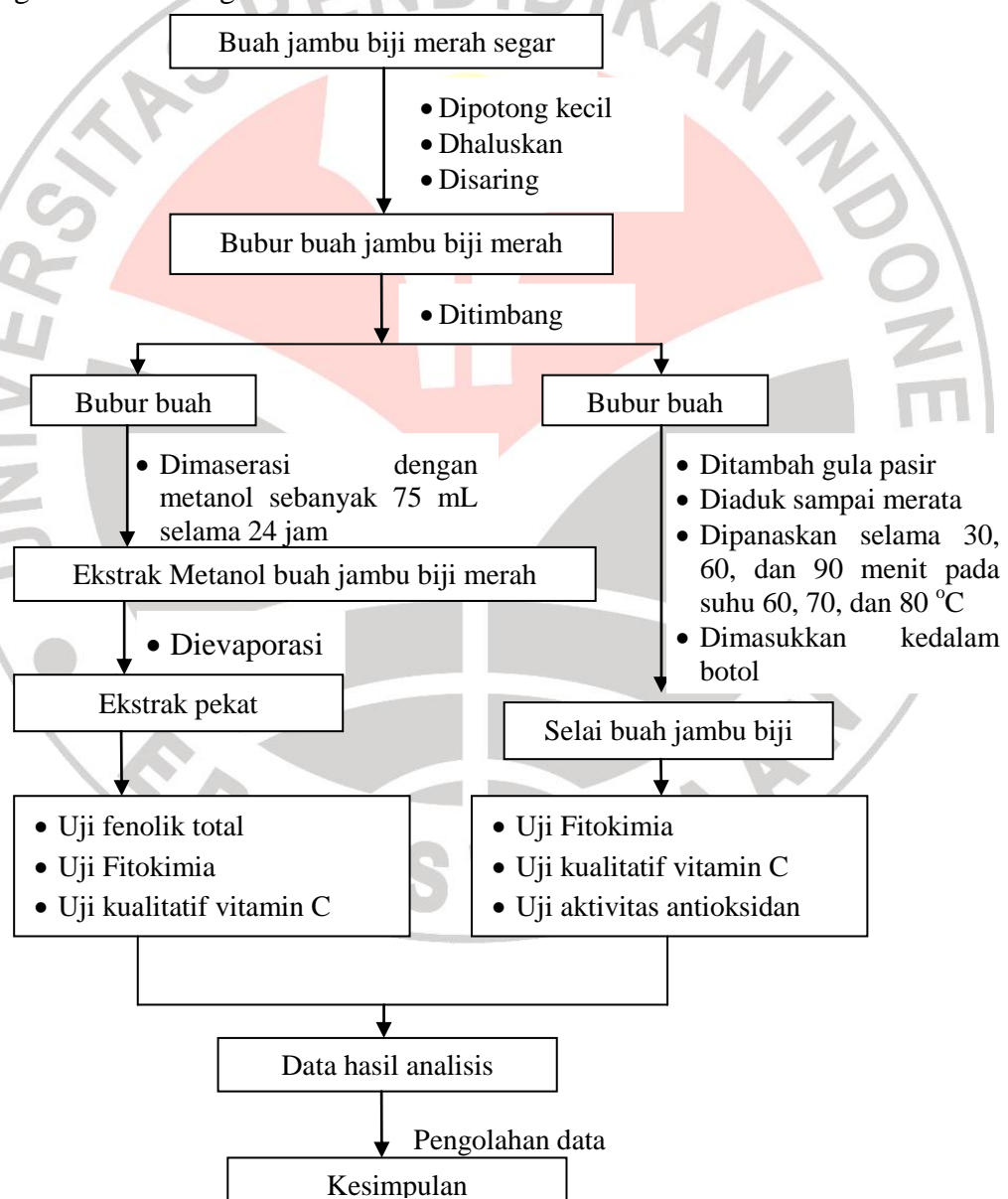
Alat yang digunakan yaitu : Neraca analitik, labu Erlenmeyer, *vacuum rotary evaporator*, spektrofotometer *Visible*, spatula, blender, saringan, botol semprot, pipet volum, batang pengaduk, gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, pipiet tetes, pipet volum, pisau, corong pendek, corong Buchner, botol vial, tabung reaksi.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu : buah jambu biji merah, gula pasir, DPPH, pereaksi Folin Ciocalteu, natrium karbonat, , etanol p.a, metanol, air dua kali penyulingan, asam galat, air suling, kloroform p.a, pereaksi Meyer, serbuk Mg p.a, asam klorida, asam asetat glasial, asam sulfat, besi (III) klorida, natrium hidroksida, kertas saring *whatman*.

### 3.3 Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu tahap preparasi sampel jambu biji merah, tahap ekstraksi, tahap pembuatan selai, dan tahap analisis meliputi uji fenolik total, uji fitokimia, uji kualitatif vitamin C, dan uji aktivitas antioksidan. Bagan alir dan tahapan penelitian dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 3.1. Bagan alir keseluruhan

### 3.3.1 Persiapan Sampel

Buah jambu biji merah dibersihkan dengan cara dicuci dengan air kran pada suhu ruang kemudian buah jambu biji merah dipotong kecil dan ditimbang. Buah jambu biji merah dihaluskan menggunakan *blender*. Hasil penghalusan disaring sehingga diperoleh hasil penyaringan buah jambu biji merah berupa bubur.

### 3.3.2. Pembuatan selai jambu biji merah

Bubur buah jambu biji merah ditimbang sebanyak 25 gram. Ditambah gula pasir sebanyak 18,75 gram. Kemudian dipanaskan sampai mengental dengan variasi waktu 30, 60, dan 90 menit dan variasi suhu 60, 70, dan 80 °C.

### 3.3.3 Ekstraksi Buah Jambu Biji Merah

Bubur buah jambu biji merah ditimbang 25 g, dan dimasukkan kedalam labu Erlenmeyer, kemudian ditambah pelarut metanol, ditutup rapat, dan dibiarkan selama 24 jam (1 hari). Kemudian disaring, filtrat ditampung dalam gelas kimia. Filtrat yang didapat diuapkan menggunakan *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 Fenolik Total Buah Jambu Biji Merah

#### a. Pembuatan Kurva Asam Galat

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 Folincioaltea. Didiamkan selama 8 menit, ditambah 3 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  kemudian dikocok hingga homogen. Ukur serapan pada panjang gelombang 765 nm, lalu dibuat kurva kalibrasinya hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi.

#### b. Analisis Fenolik Total buah jambu biji merah segar

Pada uji total fenolik ini digunakan metode Folincioaltea. Sebanyak 0,3 gram ekstrak 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 Folincioaltea. 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 Folincioaltea diukur absorbansinya dengan menggunakan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm. Kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/g ekstrak segar.

### 3.3.5 Uji Fitokimia Jambu Biji Merah dan Produk Olahannya

Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder seperti senyawa alkaloid, flavanoid, terpenoid, steroid, tanin, kuinon, dan antosianin yang terdapat dalam ekstrak buah jambu biji merah dan produk olahannya berupa selai. Prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut :

a. Pemeriksaan alkaloid

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

b. Pemeriksaan flavonoid

1 ml ekstrak ditambah 1 gram serbuk Mg dan 1 mL HCl 2N. Timbulnya warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

c. Pemeriksaan terpenoid dan steroid

1 ml ekstrak ditambah 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya terpenoid, sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid.

d. Pemeriksaan Tanin

1 ml ekstrak ditambah beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Timbulnya warna biru tua menunjukkan ekstrak positif mengandung tanin.

e. Pemeriksaan Kuinon

1 ml ekstrak ditambah beberapa tetes NaOH 0,1 N. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya senyawa kuinon.

f. Pemeriksaan Antosianin

1 ml ekstrak ditambah beberapa tetes HCl 0,1 N. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya senyawa antosianin.

### 3.3.6 Uji Kualitatif Vitamin C Buah Jambu Biji merah Segar dan Selai

Ekstrak buah jambu biji merah dan filtrat hasil penyaringan selai masing – masing dimasukkan kedalam tabung reaksi menggunakan pipet sebanyak 5 tetes. Kemudian ditambah 15 tetes pereaksi Benedict dan dipanaskan diatas api kecil sampai mendidih selama 2 menit. Adanya perubahan warna menjadi hijau kekuningan sampai merah bata menandakan adanya vitamin C pada sampel.

### 3.3.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Terlebih dahulu dibuat kurva kalibrasi larutan DPPH. Sebanyak 5 mg DPPH dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dalam metanol. Kemudian dilakukan pengenceran larutan DPPH dalam labu ukur 10 mL hingga diperoleh larutan – larutan dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Selanjutnya diukur serapan pada panjang gelombang 517 nm.

Untuk uji aktivitas antioksidan selai buah jambu biji merah, sebanyak 5 gram filtrat selai dimasukkan ke dalam gelas kimia dan diencerkan dengan sedikit air. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan pelarut air hingga tanda batas. Kemudian dibuat larutan DPPH dengan menimbang sebanyak 5 mg DPPH dilarutkan dalam metanol pada labu ukur 100 mL hingga tanda batas sehingga konsentrasi larutan DPPH yang digunakan adalah 50 ppm, kemudian di pipet sebanyak 10 mL dan dilarutkan ke dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 20 ppm. Kemudian 2 mL larutan DPPH dalam metanol di pipet ke dalam botol vial dan dicampur dengan 4 mL larutan sampel. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah itu larutan yang telah siap diukur dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian diukur serapan pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer *Visible*.

Aktivitas antioksidan diukur 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 : absorpsi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel

Abs sisa DPPH : absorpsi DPPH setelah direaksikan dengan sampel