

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret sampai dengan bulan Juni 2012 di Laboratorium Kimia Riset Makanan dan Material Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia dan Laboratorium Kimia Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

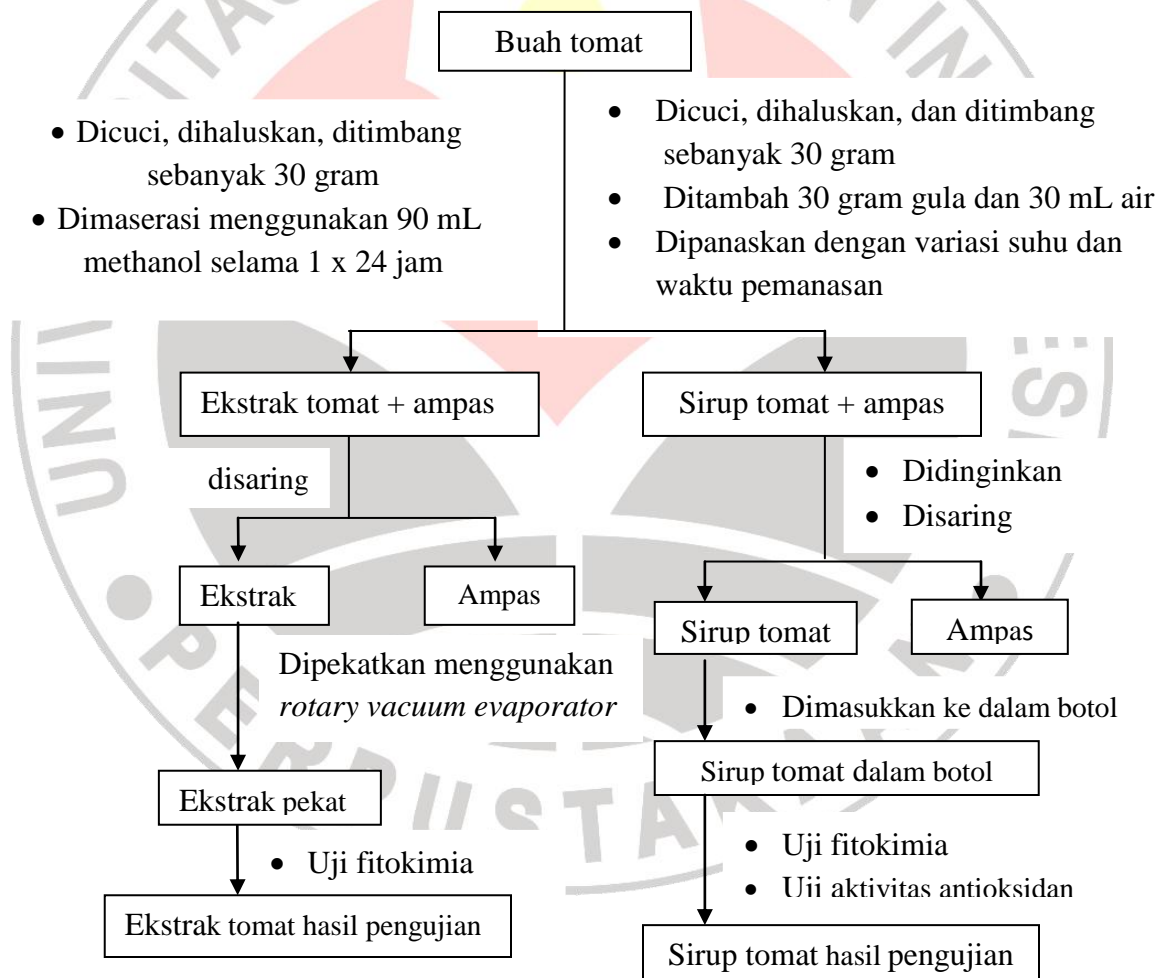
Alat yang digunakan adalah blender, neraca analitik, pemanas listrik, termometer, corong Buchner, *rotary vacuum evaporator*, labu ukur, pipet ukur, aluminium foil, oven, ball pipet, labu erlemeyer, kaca arloji, botol vial, gelas ukur, tabung reaksi, seperangkat alat spektrofotometer UV – Vis.

##### 3.2.2 Bahan

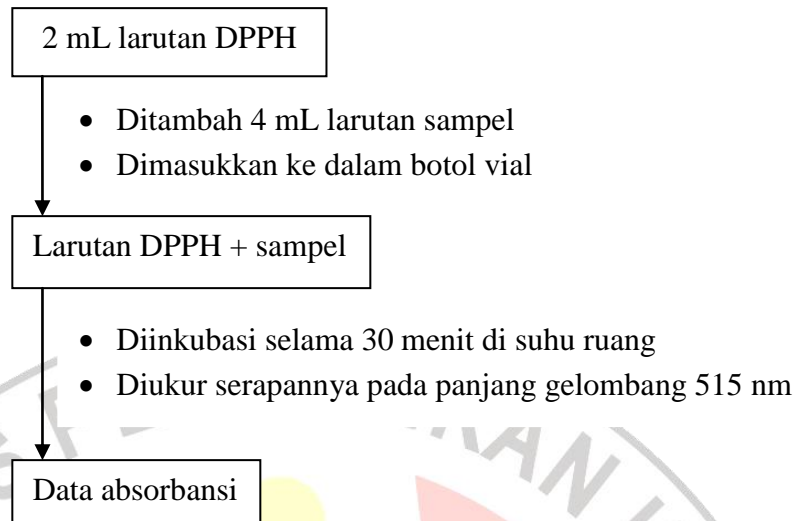
Bahan yang digunakan : buah tomat (buah tomat diambil di Balitsa, Lembang, Bandung dengan umur 95 hari), gula pasir dengan merk dagang *Gulaku*, air, kertas saring Whatman no.1, metanol p.a (Merck), kloroform p.a, HgCl<sub>2</sub> p.a, KI, HCl pekat, serbuk Mg, CH<sub>3</sub>COOH glasial, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, FeCl<sub>3</sub> p.a., NaOH, aquadest, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) p.a (Merck).

### 3.3 Tahapan penelitian

Penelitian ini dilakukan beberapa tahap yaitu determinasi tanaman, penyiapan sampel tomat, ekstraksi tomat, pembuatan sirup tomat, uji pendahuluan berupa uji warna untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang ada dalam tomat (Uji fitokimia), pengujian aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Bagan alir penelitian ditunjukkan dengan gambar berikut ini



Gambar 3.1. Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.2. Pengujian aktivitas antioksidan

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan yang diteliti dideterminasi di Sekolah Tinggi Ilmu Hayati (SITH) ITB untuk mengetahui spesies dan famili tumbuhan yang diteliti.

#### 3.4.2 Penyiapan sampel tomat

Buah tomat dibersihkan dahulu dengan cara dicuci dengan air bersih. Kemudian dilakukan penghalusan menggunakan blender.

#### 3.4.3 Ekstraksi buah tomat

Tiga puluh gram tomat yang telah dihaluskan dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 90 mL selama 1x24 jam. Kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuji fitokimia.

#### 3.4.4 Pembuatan sirup tomat

Tiga puluh gram gula, tiga puluh mL air matang, dan tiga puluh gram tomat yang telah dihaluskan dicampur dan dipanaskan sampai mencapai suhu yang diinginkan. Setelah suhu yang diharapkan tercapai, hitung waktu dan dipanaskan selama 20, 30, dan 40 menit pada masing – masing suhu yaitu 60, 70, dan 80°C. Sirup didinginkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL lalu ditandabatkan kemudian disaring.

#### 3.4.5 Uji fitokimia

Tiap sampel diidentifikasi komponen fitokimianya dengan metode pereaksi warna yang bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam masing-masing sampel. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi

1. Pemeriksaan terpenoid dan steroid

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

2. Pemeriksaan alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dan masing-masing sampel sirup ditambah dengan 5 tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya alkaloid.

### 3. Pemeriksaan Flavonoid

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dan masing-masing sampel sirup ditambah 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat, timbulnya warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

### 4. Pemeriksaan tanin

Pemeriksaan fenolik dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dan masing-masing sampel sirup ditambah beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Timbulnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya senyawa tanin.

### 5. Pemeriksaan kuinon

Pemeriksaan kuinon dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dan masing-masing sampel sirup ditambah NaOH 0,1 N. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya kuinon.

### 6. Pemeriksaan antosianin

Pemeriksaan antosianin dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dan masing-masing sampel sirup ditambah beberapa tetes HCl 0,1 N. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya senyawa antosianin.

#### 3.4.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pada tahap awal pengujian, dibuat terlebih dahulu kurva kalibrasi untuk larutan DPPH. Sebanyak 5 mg DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan dalam metanol. Larutan DPPH 100 yang dibuat memiliki konsentrasi 100 ppm. Larutan DPPH 100 ppm tersebut diencerkan kembali hingga diperoleh larutan

DPPH dengan konsentrasi 5,10,15,20, dan 25 ppm. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm.

Untuk uji aktivitas antioksidan sirup tomat, 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 dalam sampel, sebanyak 5 mg DPPH dilarutkan menggunakan metanol ke dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas kemudian diambil larutan DPPH tersebut sebanyak 40 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas sehingga konsentrasi larutan DPPH yang digunakan 20 ppm. Sebanyak 2 mL larutan DPPH dalam metanol dicampur dengan 4 mL larutan sampel dalam botol vial dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah itu larutan yang telah siap diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Pengukuran aktivitas antioksidan 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