

BAB III

METODE PENELITIAN

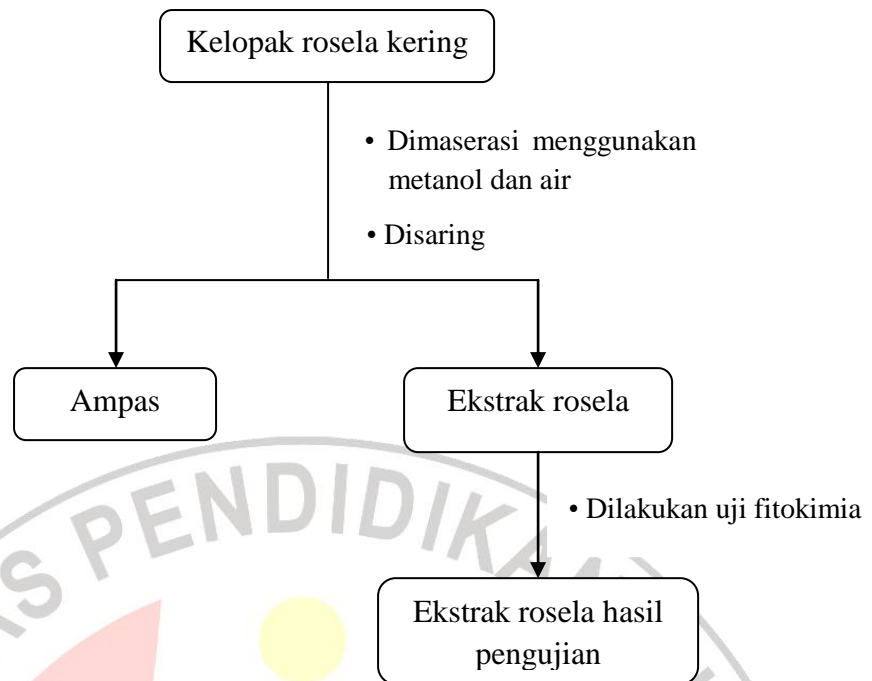
3.1. Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan melalui beberapa tahap yaitu uji fitokimia yang dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak rosela, sterilisasi kemasan dengan cara sterilisasi kering yaitu alat simpan bahan (botol) dimasukkan ke dalam oven selama 60 menit pada suhu 180 °C, pembuatan teh, uji kandungan antioksidan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis mini serta tahap penyimpanan teh selama 2 hari yang setiap harinya dilakukan pengukuran serapan DPPH sisa. Bagan alir penelitian ditunjukkan gambar 3.2 dan 3.3 berikut:

Hati Nurani Kartini, 2012

Pengaruh Lama Penyeduhan dan Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Teh Rosela (Hibisous Sabdariffa)

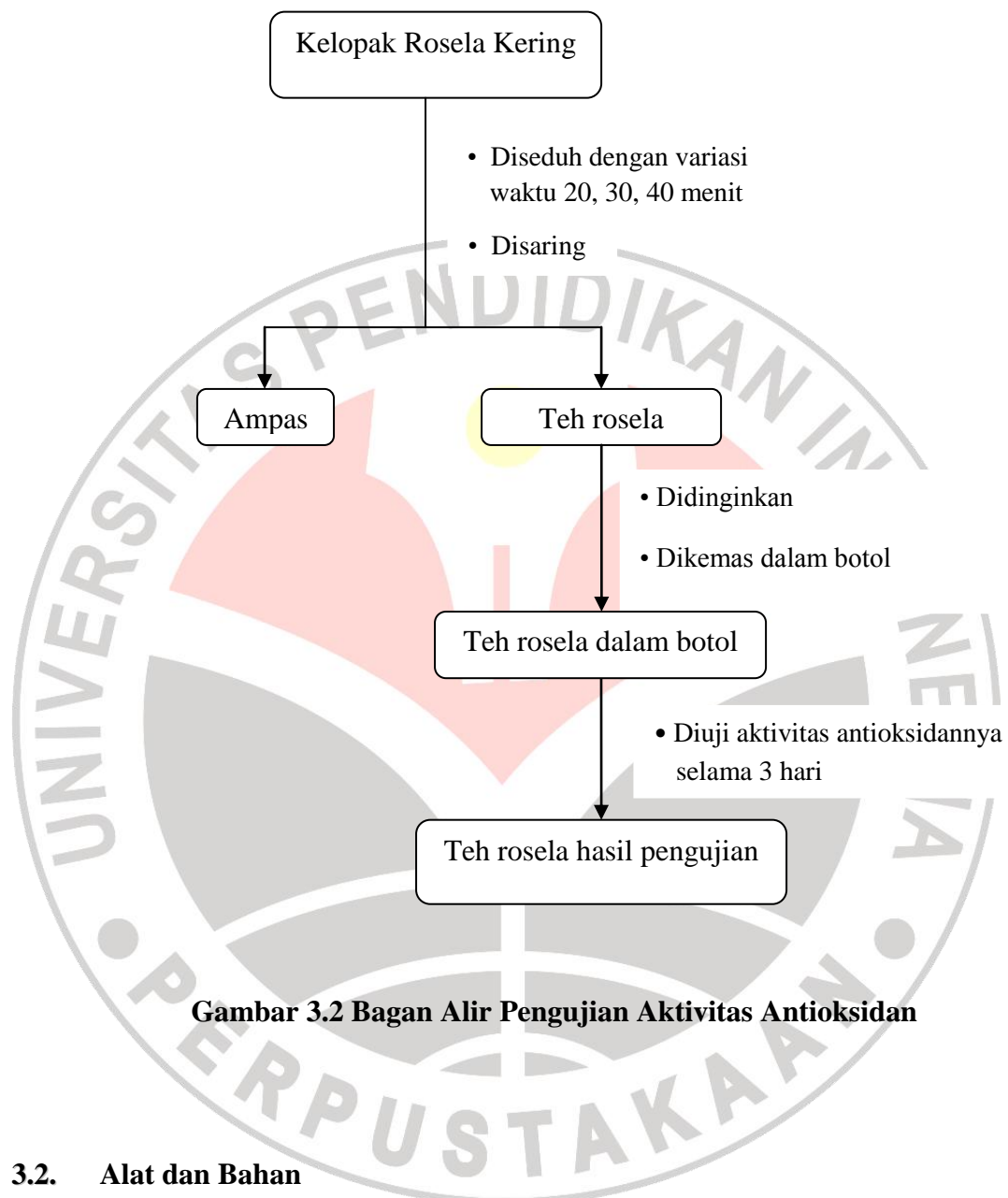
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu



Gambar 3.1 Bagan Alir Uji Fitokimia

Hati Nurani Kartini, 2012

Pengaruh Lama Penyeduhan dan Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Teh Rosela (Hibisous Sabdariffa)



Gambar 3.2 Bagan Alir Pengujian Aktivitas Antioksidan

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan untuk preparasi sampel adalah gelas ukur, gelas kimia, botol vial, corong kaca, labu ukur, batang pengaduk, pipet seukuran, pemanas listrik, saringan plastik,

Hati Nurani Kartini, 2012

Pengaruh Lama Penyeduhan dan Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Teh Rosela (Hibisous Sabdariffa)

termometer, neraca analitik, multishaker MMS 3000, dan botol simpan. Sedangkan untuk analisis sampel digunakan Spektrofotometri UV-Vis Mini Shimadzu 1240.

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah kelopak rosela kering (merk tertentu), air mineral dengan merk tertentu, aquades, metanol p.a, DPPH radikal, HgCl_2 , HCl 0,1N, FeCl_3 1%, serbuk Mg, KI, kloroform, CH_3COOH glasial, H_2SO_4 pekat, NaOH 0,1N dan HCl pekat.

3.3. Langkah Kerja

3.3.1. Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak rosela. Preparasi sampel dilakukan dengan cara merendam 1 gram rosela kering dalam 2 pelarut yang berbeda yaitu metanol selama 2x24 jam dan air mendidih (94°C) selama 30 menit yang kemudian disaring dan selanjutnya dilakukan pengujian fitokimia terhadap ekstrak yang meliputi:

1. Uji Antosianin

1 mL ekstrak rosela ditambah beberapa tetes HCl 0,1N.

2. Uji flavonoid

Hati Nurani Kartini, 2012

Pengaruh Lama Penyeduhan dan Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Teh Rosela (Hibiscus Sabdariffa)

1 mL ekstrak rosela ditambah 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat. Bila terjadi perubahan larutan menjadi warna merah kekuningan, maka ekstrak rosela mengandung senyawa flavonoid.

3. Uji terpenoid dan steroid

1 mL ekstrak rosela ditambah 1 mL CH_3COOH glasial dan 1 mL H_2SO_4 . Reaksi positif dari uji ini diperlihatkan jika setelah dicampurkan tidak terjadi perubahan pada warna larutan.

4. Uji tanin

1 mL ekstrak rosela ditambah beberapa tetes FeCl_3 1%. Perubahan warna larutan dari merah menjadi berwarna merah keunguan menunjukkan bahwa ekstrak rosela mengandung tannin.

5. Uji alkaloid

Terlebih dahulu dibuat pereaksi Meyer dengan cara 1 gram KI dilarutkan dalam 20 mL aquades sampai larut kemudian ditambah 0,271 gram HgCl_2 sampai larut. Selanjutnya 1 mL ekstrak rosela ditambah beberapa tetes pereaksi Meyer dan 5 tetes kloroform.

6. Uji kuinon

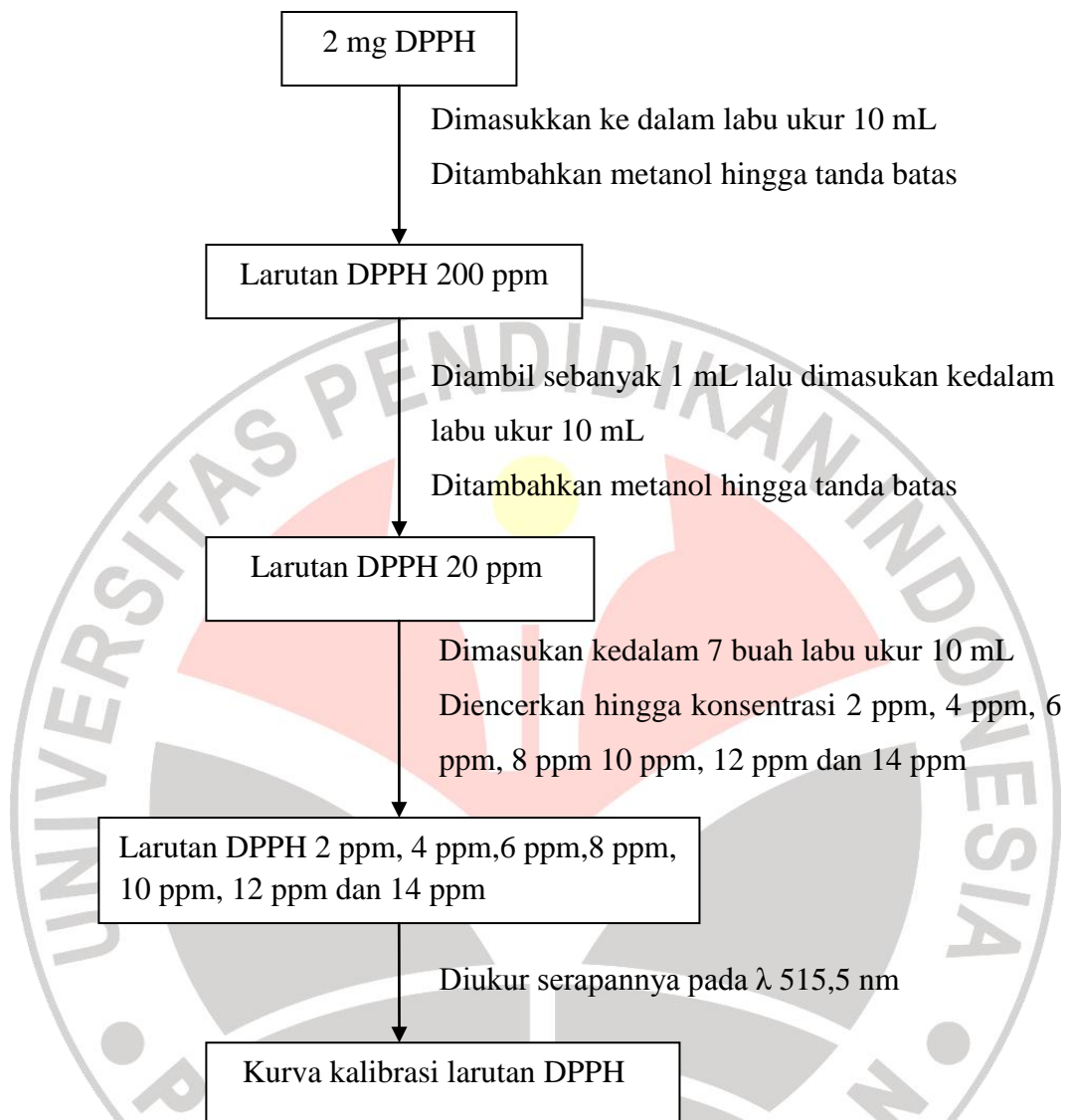
1 mL ekstrak rosela ditambah beberapa tetes NaOH 0,1 N.

3.3.2. Pembuatan Teh Rosela

Kelopak rosela kering diseduh dengan air bersuhu 60°C selama 20, 30 dan 40 menit. Selama penyeduhan suhu air dijaga konstan pada 60°C. Teh disaring dan didinginkan kemudian teh dikemas ke dalam botol gelap dan diberi label. Teh disimpan selama 2 hari pada suhu kamar ($\pm 25^\circ\text{C}$).

3.3.3. Uji Aktivitas Antioksidan teh Rosela

Pada tahap pengujian, dibuat terlebih dahulu kurva kalibrasi untuk larutan DPPH. Sebanyak 2 mg DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dalam pelarut metanol p.a sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm, kemudian diencerkan dalam labu ukur 10 mL hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi DPPH 20 ppm, dan diencerkan lagi hingga diperoleh konsentrasi DPPH 2, 4, 6, 8, 10, 12 dan 14 ppm. Selanjutnya diukur serapannya pada λ 515,5 nm. Bagan alir pembuatan kurva kalibrasi dapat dilihat pada gambar 3.3



Gambar 3.3 Bagan Alir Pembuatan Kurva Kalibrasi

Untuk uji aktivitas antioksidan teh rosela, sebanyak 1 mL teh rosela dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan pelarut metanol hingga tanda batas. Untuk pembuatan larutan DPPH, dimasukkan 2 mg DPPH ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan pelarut

metanol hingga tanda batas. Diambil 1 mL larutan DPPH tersebut

Hati Nurani Kartini, 2012

Pengaruh Lama Penyeduhan dan Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Teh Rosela (Hibisous Sabdariffa)

kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan pelarut metanol hingga tanda batas. Kemudian dimasukkan 1 mL teh rosela dan 2 mL larutan DPPH ke dalam botol vial dan dikocok dengan menggunakan *multishaker* MMS 3000 hingga homogen \pm selama 10 menit. Selanjutnya diukur serapannya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis mini Shimadzu 1240 pada panjang gelombang λ 515,5 nm dan setiap sampel diukur triplo.

Data konsentrasi yang diperoleh digunakan untuk menghitung konsentrasi DPPH sisa (konsentrasi DPPH setelah ditambah sampel). Dari data tersebut persentase DPPH yang tidak tereduksi dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ DPPH yang tidak tereduksi} = \frac{C_t}{C_o} \times 100\%$$

Ket : C_t = konsentrasi DPPH sisa

C_o = konsentrasi DPPH tanpa penambahan sampel

Sementara itu aktivitas antioksidan dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \frac{(DPPH \text{ awal}) - (DPPH \text{ sisa})}{(DPPH \text{ awal})} \times 100 \%$$

Ket : (DPPH awal) = konsentrasi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel

(DPPH sisa) = konsentrasi DPPH setelah direaksikan dengan sampel

Hati Nurani Kartini, 2012

Pengaruh Lama Penyeduhan dan Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Teh Rosela (Hibisous Sabdariffa)