

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

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

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset, Jurusan Pendidikan Kimia, Universitas Pendidikan Indonesia yang bertempat di jalan Dr. Setiabudhi No. 229 Bandung, Jawa Barat, Indonesia. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2010 sampai dengan bulan Agustus 2010.

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

##### **3.2.1 Alat**

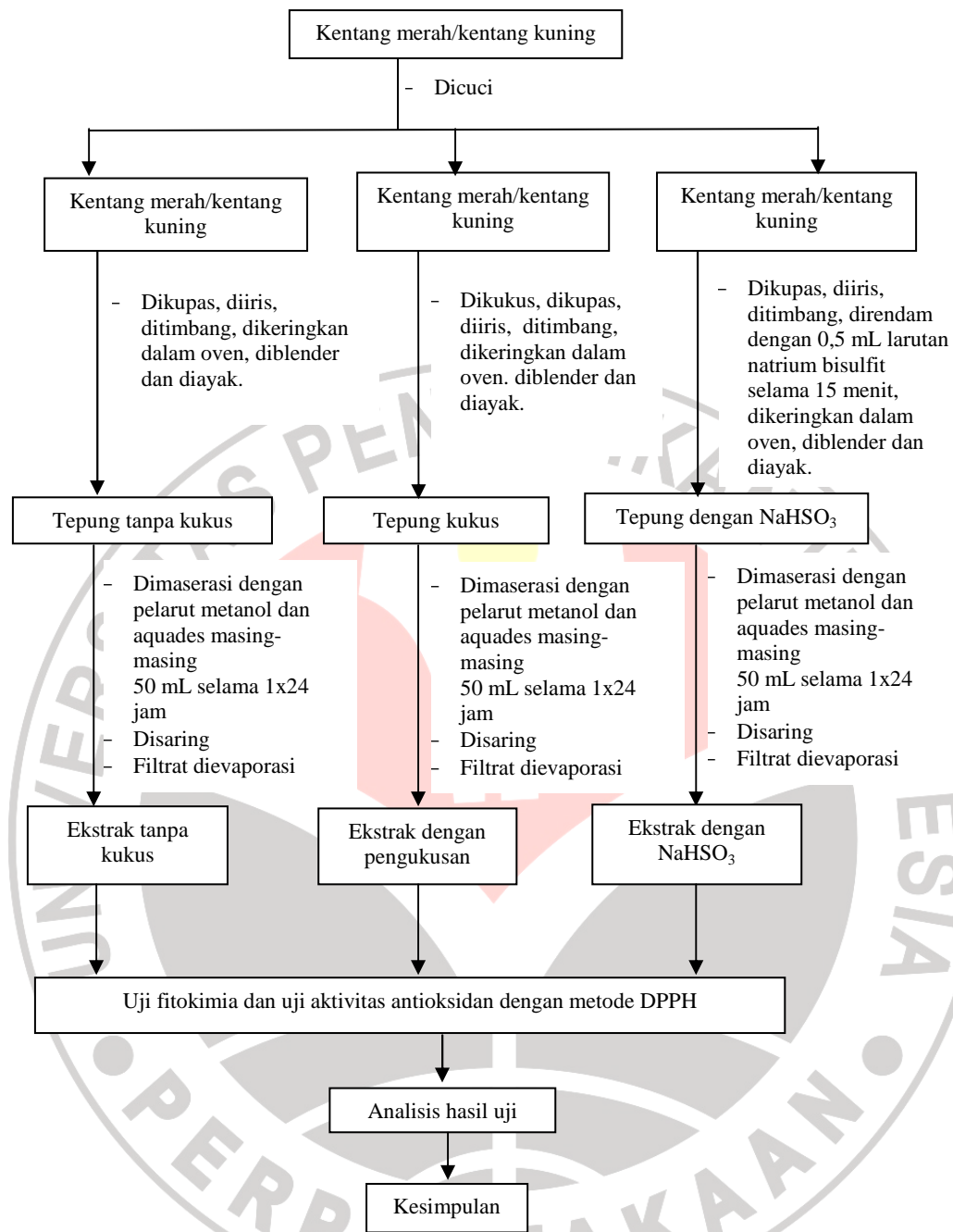
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas (botol vial, gelas ukur, gelas kimia, corong kaca, kaca arloji, batang pengaduk, labu ukur, pipet tetes, pipet volumetri 1 mL dan 5 mL, tabung reaksi), spatula, oven, alat evaporasi, kertas saring, alat blender, termometer, neraca analitik, *multishaker* MMS 3000 dan botol sirup. Untuk kepentingan analisis digunakan Spektrofotometri UV-Vis Mini Shimadzu 1240.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kentang merah, kentang kuning, natrium bisulfit ( $\text{NaHSO}_3$ ), metanol p.a, serbuk DPPH,  $\text{FeCl}_3$ , kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ), serbuk Mg, pereaksi Meyer,  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glasial,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, HCl 0,1 N, HCl 2 N, NaOH 0,1 N dan aquades.

### 3.3. Tahapan Penelitian

Penelitian yang dilakukan terdiri dari beberapa tahap, yaitu tahap pembuatan tepung kentang ada tiga macam cara yaitu tanpa pengukusan, dengan pengukusan, dan perendaman dengan natrium bisulfit ( $\text{NaHSO}_3$ ). Dari ketiga macam cara tersebut diperoleh tepung kentang. Tahap kedua yaitu pengekstrakan tepung dengan menggunakan pelarut metanol dan aquades masing-masing 50 mL. Pada tahap ini akan diperoleh ekstrak dari tiga macam perlakuan yang akan dianalisis. Ketiga macam ekstrak tersebut adalah ekstrak olahan tanpa pengukusan, ekstrak olahan dengan pengukusan, dan ekstrak olahan dengan perendaman  $\text{NaHSO}_3$ . Tahap ketiga yaitu uji pendahuluan berupa uji fitokimia atau uji warna untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder apa yang terkandung dalam ekstrak olahan kentang, sedangkan tahap ke-empat yaitu uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis mini. Untuk lebih jelas alur penelitian ini dapat dilihat pada gambar 3.1 berikut ini.



**Gambar 3.1. Bagan alir penelitian**

### **3.4. Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1. Cara Pengolahan Kentang**

##### **a. Tanpa pengukusan**

Kentang dicuci bersih, dikupas, diiris tipis-tipis dengan pisau, ditimbang, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu maksimum 60°C selama 18 jam, diblender, diayak, serta ditimbang dan dianalisis.

##### **b. Pengukusan**

Kentang dicuci bersih, dikukus dengan panci selama 30 menit, dikupas, diiris tipis-tipis dengan pisau, ditimbang, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu maksimum 60°C selama 18 jam, diblender dan diayak, serta ditimbang dan dianalisis.

##### **c. Perendaman dengan larutan natrium bisulfit**

Kentang dicuci bersih, dikupas, diiris tipis-tipis dengan pisau, ditimbang, direndam dalam larutan natrium bisulfit 0,2 % selama 15 menit, ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu maksimum 60°C selama 18 jam, diblender dan diayak, serta ditimbang dan dianalisis.

#### **3.4.2. Ekstraksi Tepung Kentang**

Tepung kentang merah atau tepung kentang kuning dari masing-masing hasil ketiga pengolahan diekstraksi dengan pelarut metanol atau aquades sebanyak masing-masing sebanyak 50 mL selama 24 jam, kemudian disaring maka diperoleh ekstrak tanpa kukus, ekstrak kukus, dan ekstrak rendaman NaHSO<sub>3</sub>.

Masing-masing ekstrak yang diperoleh dievaporasi sampai memperoleh ekstrak kental untuk uji fitokimia dan aktivitas antioksidan.

### 3.4.3. Uji Fitokimia

Uji Pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak tepung kentang. Uji warna yang dilakukan meliputi:

#### 1. Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah lima tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Mayer. Apabila ada endapan putih berarti sampel mengandung alkaloid.

#### 2. Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl 2 %. Apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, berarti sampel mengandung flavonoid.

#### 3. Pemeriksaan Antosianin

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah beberapa tetes HCl 0,1 N. Apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, berarti sampel mengandung antosianin.

#### **4. Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid**

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah 1 mL  $\text{CH}_3\text{COOH}$  dan 1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, berarti sampel mengandung senyawa terpenoid. Jika terjadi perubahan warna menjadi biru menunjukkan sampel mengandung steroid.

#### **5. Pemeriksaan Tanin**

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Apabila terjadi perubahan warna menjadi biru tua, berarti sampel mengandung tanin.

#### **6. Pemeriksaan Kuinon**

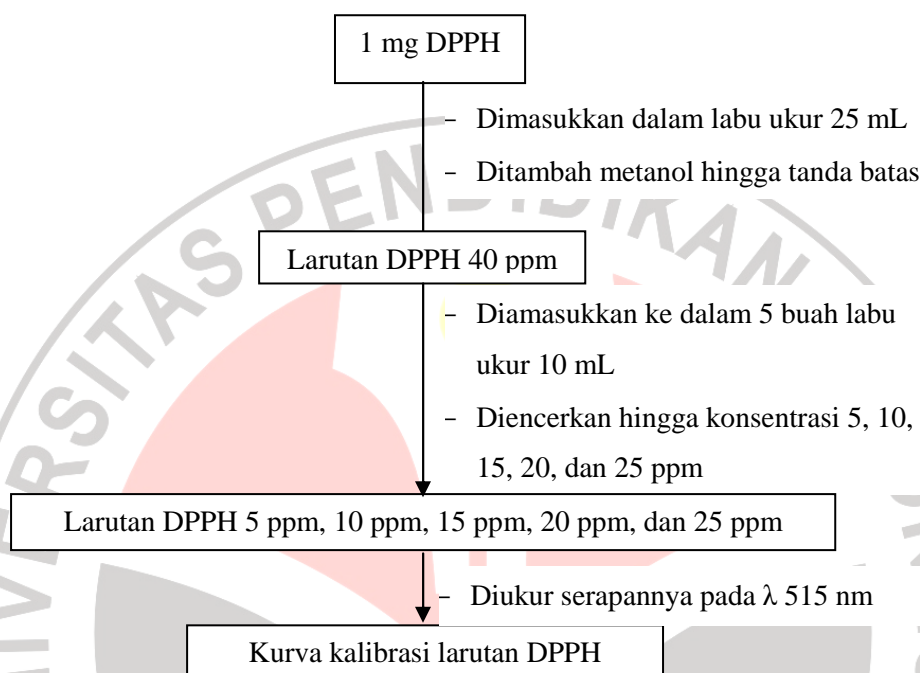
Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah beberapa tetes  $\text{HCl}$  0,1 N. Apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, berarti sampel mengandung kuinon.

### **3.4.4. Uji Aktivitas Antioksidan**

#### **3.4.4.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi**

Pada tahap awal pengujian, terlebih dahulu dibuat kurva standar untuk larutan DPPH. Sebanyak 1 mg DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dalam pelarut metanol. Larutan DPPH yang dibuat memiliki konsentrasi 40 ppm, kemudian dilakukan pengenceran dalam labu ukur 10 mL

hingga konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 515,5 nm. Bagan alir pembuatan kurva kalibrasi dapat dilihat pada gambar 3.2 berikut ini.

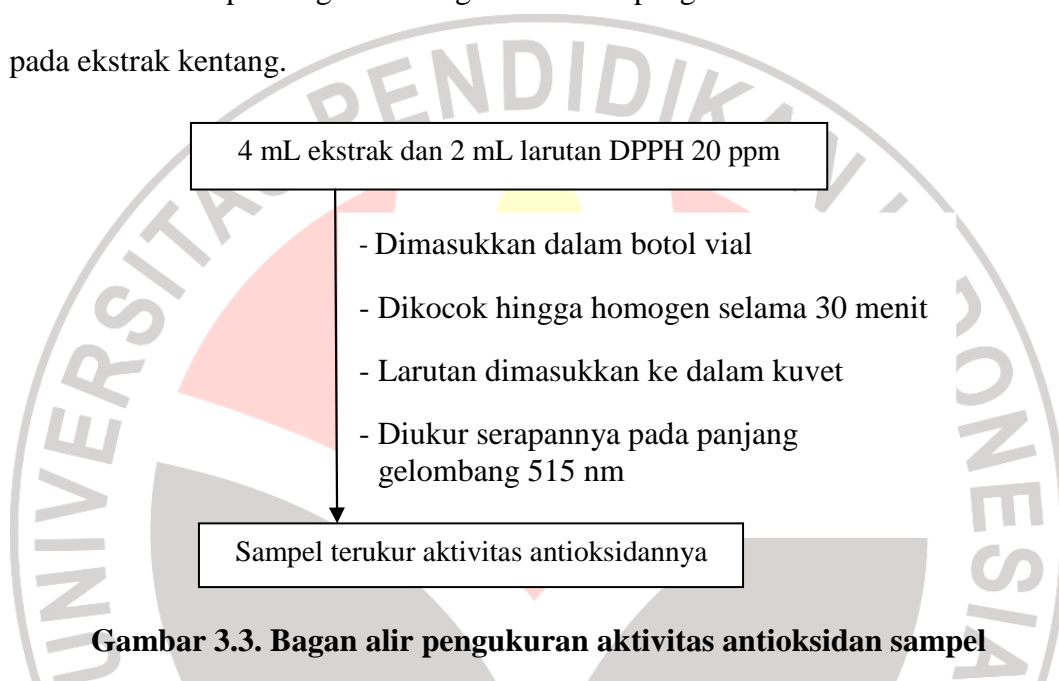


**Gambar 3.2. Bagan alir pembuatan kurva kalibrasi**

#### 3.4.4.2 Uji Aktivitas Antioksidan

Untuk uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kentang, sebanyak 5 mL tiap ekstrak dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan pelarutnya (air atau metanol) hingga tanda batas. Sedangkan untuk DPPH, sebanyak 0,0010 g dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan pelarut metanol. Selanjutnya, diambil sebanyak 4 mL tiap ekstrak kentang dalam labu ukur 25 mL tadi dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 20 ppm yang telah diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam botol vial, dikocok menggunakan alat

*multishaker* MMS 3000 hingga homogen lalu dibiarkan selama 30 menit. Setelah 30 menit, larutan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet. Kemudian diukur serapannya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis mini Shimadzu 1240 pada panjang gelombang 515,5 nm. Setiap sampel diukur triplo. Gambar 3.3 berikut ini merupakan gambar bagan alir dari pengukuran aktivitas antioksidan pada ekstrak kentang.



**Gambar 3.3. Bagan alir pengukuran aktivitas antioksidan sampel**

Data konsentrasi yang diperoleh digunakan untuk menghitung konsentrasi DPPH sisa (konsentrasi DPPH setelah ditambah sampel). Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

[DPPH awal] : konsentrasi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel

[DPPH sisa] : konsentrasi DPPH setelah direaksikan dengan sampel