

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret 2014 sampai dengan bulan Mei 2014 di Laboratorium Riset Kimia Makanan serta di Laboratorium Kimia Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas, spatula, pisau, parutan, neraca analitik, blender, panci, kompor, kertas saring, kain saring, corong Buchner, botol vial, termometer, *heater*, *rotary vacuum evaporator*, UV-VIS Mini Shimadzu 1240.

3.1.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ubi jalar ungu. Bahan lainnya yang digunakan pada proses pembuatan minuman sari ubi jalar ungu adalah gula pasir dan air. Bahan yang akan digunakan untuk pengujian adalah HCl 2 M, NaOH 2 M, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH, HCl pekat, serbuk Mg, FeCl₃ 1%, indikator pH, buffer KCl pH 1,0, buffer Na-Asetat pH 4,5, metanol, DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*), dan aquades.

3.3 Tahapan Penelitian

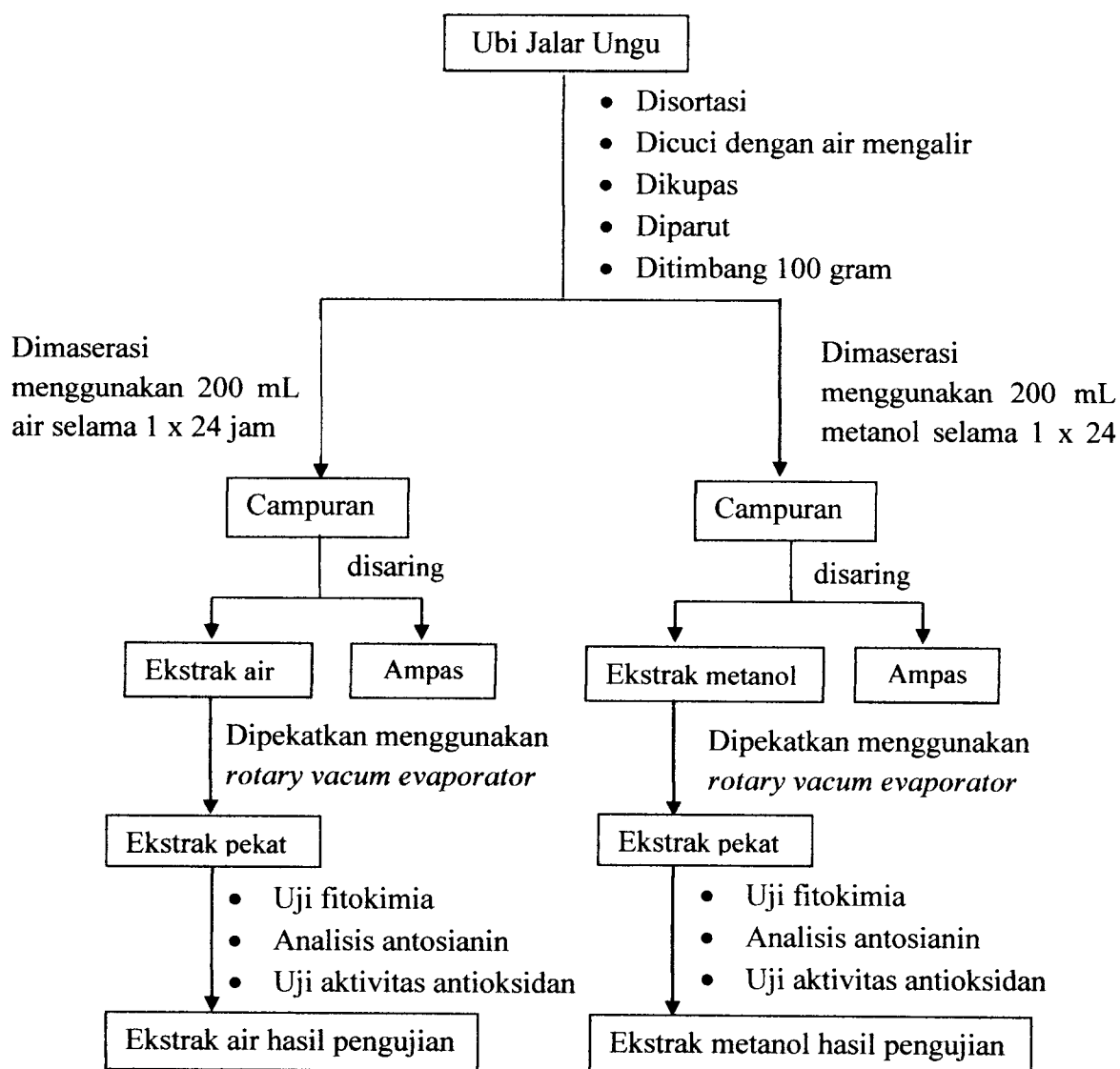
Tahapan penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Tahap penyiapan sampel
2. Tahap ekstraksi ubi jalar ungu

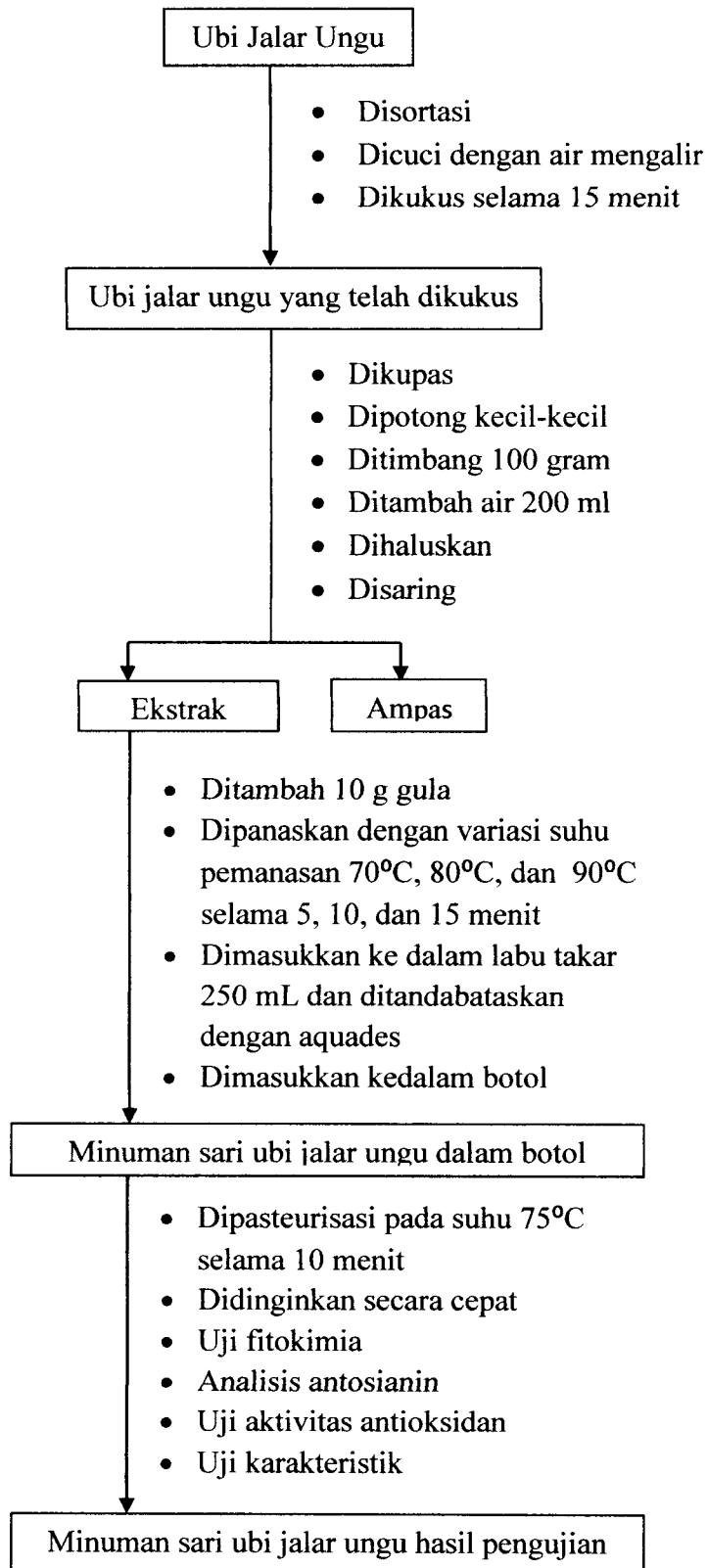
3. Tahap pembuatan minuman sari ubi jalar ungu
4. Tahap uji pendahuluan, yaitu uji fitokimia
5. Tahap uji total antosianin
6. Tahap uji aktivitas antioksidan minuman sari ubi jalar ungu
7. Tahap uji karakteristik minuman sari ubi jalar ungu

3.4 Bagan Alir Penelitian

Penelitian yang dilakukan meliputi beberapa tahapan seperti telah disebutkan sebelumnya. Bagan alir penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1 dan gambar 3.2.



Gambar 3.1. Bagan alir penelitian ekstraksi ubi jalar ungu



Gambar 3.2. Bagan alir penelitian minuman sari ubi jalar ungu

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan yang diteliti dideterminasi di Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia untuk mengetahui spesies dan famili tanaman yang diteliti.

3.5.2 Penyiapan Sampel Ubi Jalar Ungu

Ubi jalar ungu disortasi untuk memilih ubi jalar ungu dengan kualitas yang baik kemudian dibuang bagian ubi jalar ungu yang tidak akan diolah. Setelah itu ubi jalar ungu dicuci dengan air bersih. Untuk proses ekstraksi, ubi jalar ungu yang telah dicuci kemudian dihaluskan. Sedangkan untuk proses pembuatan minuman sari ubi jalar ungu, ubi jalar ungu yang telah dicuci dengan bersih dikukus selama 15 menit saat air mulai mendidih.

3.5.3 Ekstraksi Ubi Jalar Ungu

Sebanyak 100 gram ubi jalar ungu yang telah dihaluskan dimaserasi dengan 200 mL metanol selama 1x24 jam dan dimaserasi juga dengan 200 mL aquades selama 1x24 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*.

3.5.4 Pembuatan Minuman Sari Ubi Jalar Ungu

Ubi jalar ungu yang telah dikukus, dikupas dan dipotong kecil-kecil kemudian ditimbang sebanyak 100 gram dan ditambah aquades 200 ml lalu diblender sampai menjadi bubur ubi jalar ungu. Bubur ubi jalar ungu disaring dengan kain saring dan filtrat hasil saringannya dicampur gula pasir. Menurut Suharyono (2008), suhu pemanasan sirup adalah 85°C dengan lama pemanasan 10 menit, sehingga pada penelitian ini dilakukan variasi pemanasan pada suhu 70°C, 80°C, dan 90°C dan variasi lama waktu pemanasan selama 5, 10, dan 15 menit. Minuman sari ubi jalar ungu yang telah diperoleh dimasukkan kedalam labu takar 250 mL dan ditandabatkan dengan aquades, lalu dimasukkan kedalam botol dan

dipasteurisasi pada suhu 75°C selama 10 menit, kemudian minuman sari ubi jalar ungu didinginkan secara cepat.

3.5.5 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan menggunakan metode menurut Sangi (2008). Tiap sampel diidentifikasi komponen fitokimianya dengan metode pereaksi warna yang bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam masing-masing sampel yaitu, ekstrak metanol ubi jalar ungu, ekstrak air ubi jalar ungu, dan minuman sari ubi jalar ungu. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi :

1. Pemeriksaan antosianin

Pemeriksaan antosianin dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL ekstrak / 1 mL minuman sari ubi jalar ungu ditambah 2 mL HCl 2 M dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya antosianin. Ditambahkan NaOH 2 M akan terbentuk warna hijau biru yang memudar perlahan.

2. Pemeriksaan Flavonoid

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak / 1 mL minuman sari ubi jalar ungu ditambah 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat, timbulnya warna merah menunjukkan adanya flavonoid.

3. Pemeriksaan tanin

Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak / 1 mL minuman sari ubi jalar ungu ditambah beberapa tetes FeCl₃ 1%. Timbulnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya senyawa tanin.

4. Pemeriksaan terpenoid

Pemeriksaan terpenoid dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL ekstrak / 1 mL minuman sari ubi jalar ungu ditambah dengan 1 mL CH₃COOH glasial dan 1 mL H₂SO₄ pekat. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya terpenoid.

3.5.6 Analisis Antosianin

Pengukuran total konsentrasi antosianin dilakukan dengan metode perbedaan pH menurut Steed (2008). Disiapkan 2 sampel larutan, larutan pertama adalah larutan untuk pH 1,0 menggunakan buffer KCl-HCl (0,025 M) dan larutan kedua untuk pH 4,5 menggunakan buffer Natrium Asetat-HCl (0,4 M). Diambil masing-masing 1 mL ekstrak ubi jalar ungu dan 1 mL minuman sari ubi jalar ungu dari berbagai suhu pemanasan dan diencerkan menggunakan larutan buffer masing-masing sampai volume 10 mL (faktor pengenceran = 10). Sampel hasil pengenceran masing-masing dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 530 nm dan 700 nm, dan untuk menentukan nilai absorbansinya dengan menggunakan persamaan berikut:

$$A = (A_{\lambda 530} - A_{\lambda 700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda 530} - A_{\lambda 700})_{\text{pH } 4,5}$$

dan untuk menentukan total konsentrasinya menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Total Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Dimana :

A = Absorbansi sampel

MW = Berat molekul (MW = 449,2 untuk sianidin-3-glukosida)

DF = Faktor pengenceran

ϵ = Absorptivitas molar ($\epsilon = 26900$ untuk sianidin-3-glukosida)

3.5.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH menurut Garcia (2012) yang dimodifikasi. Untuk uji aktivitas antioksidan minuman sari ubi jalar ungu, sebanyak 0,5 mL sampel minuman sari ubi jalar ungu ditambah dengan 3 mL metanol dan 0,3 mL DPPH 0,5 mM. Campuran tersebut diinkubasi selama 100 menit pada suhu kamar kemudian absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai blanko dicampurkan 3,3 mL metanol dengan 0,5 mL sampel. Sedangkan

untuk kontrol dibuat dengan mencampurkan 3,5 mL metanol dengan 0,3 mL DPPH 0,5 mM.

Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan persamaan berikut:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = 100 - \left[\frac{(\text{Abs sampel} - \text{Abs blanko}) \times 100}{\text{Abs kontrol}} \right]$$

3.5.8 Uji Karakteristik Minuman Sari Ubi Jalar Ungu

Minuman sari ubi jalar ungu yang diperoleh diuji karakteristiknya selama penyimpanan pada suhu kamar dengan cara konvensional melalui pengamatan kondisi fisik dan pengukuran pH. Pengujian dilakukan terhadap minuman sari ubi jalar ungu yang dibuat pada suhu pemanasan 70°C, 80°C, 90°C dan lama pemanasan 5, 10, 15 menit.

Sebanyak 10 ml minuman sari ubi jalar ungu dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi dan disimpan pada suhu kamar. Sampel diamati perubahan kondisi fisik dan juga dilakukan pengukuran pH setiap hari sampai terjadi perubahan. Uji karakteristik minuman sari ubi jalar ungu selama penyimpanan dilakukan selama 5 hari.

