

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret sampai dengan Juli 2014 di Laboratorium Kimia Riset Makanan dan Laboratorium Kimia Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia, Jl. Dr. Setiabudhi No. 229 Bandung.

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

##### **3.2.1 Alat**

Peralatan yang akan digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas, neraca analitik, panci anti lengket, saringan, thermometer, sentrifugasi, tabung sentrifugasi, *juicer*, *stirrer*, *magnetic stirrer*, *heater*, *rotary vacuum evaporator*, dan spektrofotometer UV-Vis Mini Shimadzu 1240.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit yang diambil dari buah manggis sebanyak 120 gram dan kacang merah kering sebanyak 100 gram. Bahan lainnya yang digunakan pada proses pembuatan sari kacang merah dan minuman sari kacang merah adalah gula pasir 30 gram dan air 600 mL. Bahan yang akan digunakan untuk pengujian adalah aquadest; 500 mL methanol p.a; 1,2 gram serbuk Mg; 18 mL HCl pekat; 3 mL FeCl<sub>3</sub> 1%; 0,8 gram NaOH; 6 ml CH<sub>3</sub>COOH glacial; 6mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat; 1,5 gram serbuk KCl; 7 gram serbuk CH<sub>3</sub>COONa.3H<sub>2</sub>O; dan 4,9 mg DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

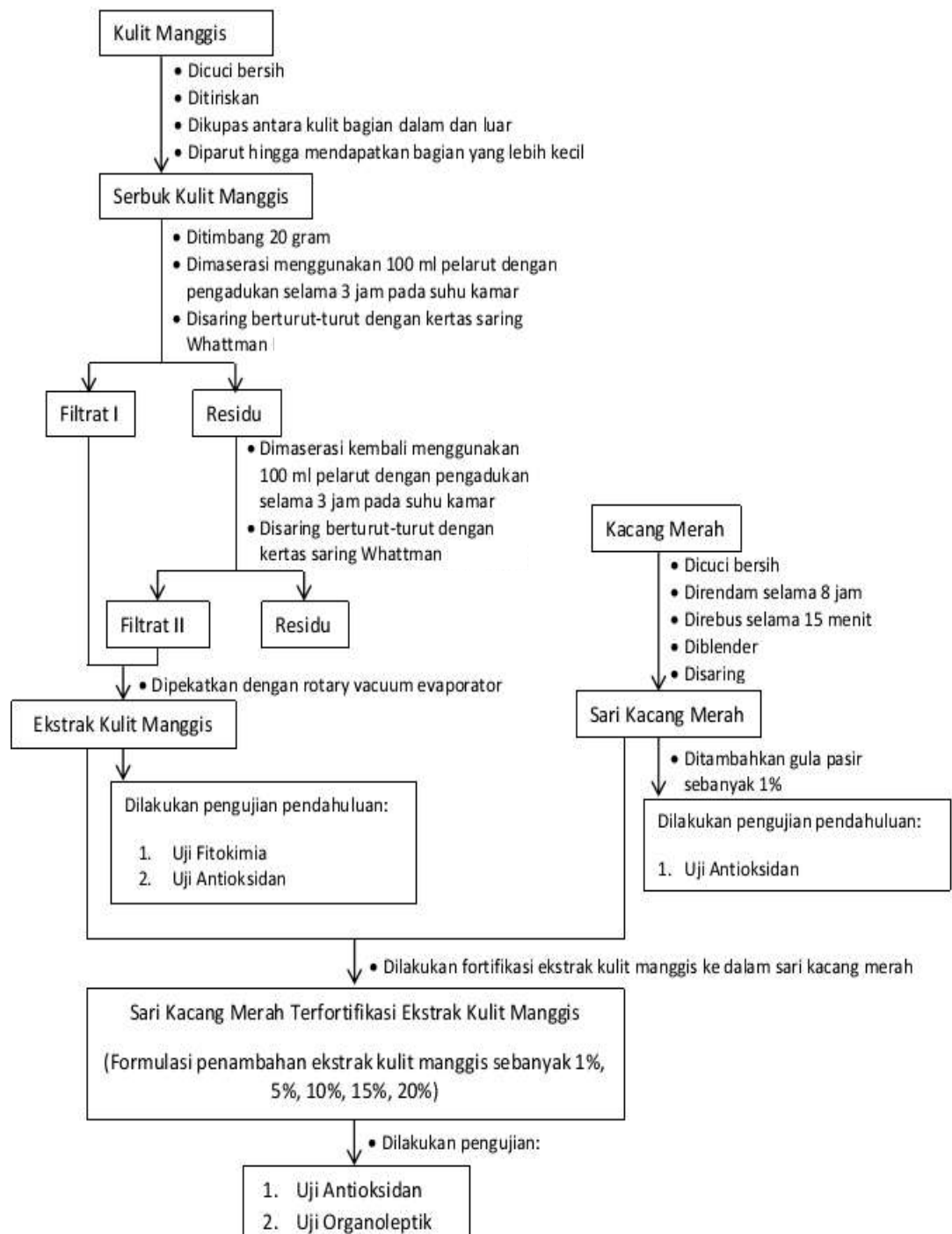
### **3.3 Tahapan Penelitian**

Adapun tahapan penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Determinasi tumbuhan.
2. Penyiapan sampel kulit manggis.
3. Ekstraksi kulit manggis.
4. Penyiapan sampel kacang merah.
5. Pembuatan minuman sari kacang merah.
6. Fortifikasi ekstrak kulit manggis ke dalam minuman sari kacang merah.
7. Uji fitokimia ekstrak kulit manggis.
8. Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis, minuman sari kacang merah, dan minuman sari kacang merah terfortifikasi ekstrak kulit manggis menggunakan metode DPPH.
9. Uji organoleptik minuman sari kacang merah terfortifikasi ekstrak kulit manggis dengan metode uji hedonik.

### 3.4 Bagan Alir Penelitian

Bagan alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Bagan Alir Penelitian

### **3.5 Cara Kerja**

#### **3.5.1 Determinasi Tumbuhan**

Uji determinasi dilakukan berdasarkan pengamatan ciri fisiologis tumbuhan untuk mengetahui klasifikasi botani tumbuhan yang diteliti.

#### **3.5.2 Penyiapan Sampel Kulit Manggis**

Kulit manggis disortasi untuk mendapatkan kualitas yang baik kemudian dibersihkan dengan cara dicuci, dikeringkan kemudian dilakukan pengupasan untuk memisahkan kulit bagian luar dan bagian dalam. Selanjutnya diparut untuk mendapatkan bagian yang lebih kecil.

#### **3.5.3 Ekstraksi Kulit Manggis**

Ekstraksi dilakukan terhadap kulit bagian luar, kulit bagian dalam, dan gabungan kulit bagian luar dan dalam. Metode ekstraksi menggunakan metode Putra (2010) dengan modifikasi. Sebanyak 20 gram kulit manggis diekstraksi dengan 2 jenis pelarut, yaitu air dan metanol. Pemakaian pelarut dalam satu kali ekstraksi sebanyak 100 mL. Perendaman dilakukan dengan disertai pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu kamar selama 3 jam. Campuran selanjutnya disaring berturut-turut menggunakan kertas saring Whattmann No.4 dan No.1 sehingga diperoleh filtrat I dan residu. Residu yang diperoleh diekstraksi kembali dengan pelarut sehingga diperoleh filtrat II dan residu. Filtrat I dan II digabungkan kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 75°C. Ekstrak yang dihasilkan digunakan untuk pengujian fitokimia dan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

#### **3.5.4 Penyiapan Sampel Kacang Merah**

Kacang merah kering dipilih untuk mendapatkan kacang yang berkualitas baik dan berwarna merah. Kacang merah kering direndam terlebih dahulu selama 8 jam, lalu direbus selama kurang lebih 15 menit, untuk menghilangkan kandungan tripsin inhibitor (Tandijo, 2011).

### **3.5.5 Pembuatan Minuman Sari Kacang Merah**

Kacang merah hasil perebusan dihancurkan dengan blender sampai halus, lalu disaring sehingga terpisah antara sari kacang merah dan padatnya. Sari kacang merah yang didapatkan dilakukan pengenceran dengan air pada perbandingan 1 : 6. Kemudian ditambahkan gula sebanyak 1% dan dipanaskan pada suhu 80°C selama 5 menit (Tandijo, 2011).

### **3.5.6 Fortifikasi Ekstrak Kulit Manggis ke dalam Minuman Sari Kacang Merah**

Ekstrak kulit manggis dengan aktivitas antioksidan terbesar difortifikasi ke dalam minuman sari kacang merah. Konsentrasi penambahan ekstrak kulit manggis yaitu sebesar 1% (P1), 5% (P2), 10% (P3), 15% (P4), 20% (P5). Campuran selanjutnya diaduk hingga merata dan dipanaskan kembali pada suhu 80°C selama 5 menit. Minuman hasil fortifikasi disimpan dalam lemari pendingin.

### **3.5.7 Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Manggis**

Sampel yaitu ekstrak kulit buah manggis diidentifikasi komponen fitokimianya dengan metode pereaksi warna. Uji fitokimia dilakukan menggunakan metode menurut Harborne (2006). Uji fitokimia yang dilakukan adalah :

#### **1. Pemeriksaan Antosianin**

Pemeriksaan antosianin dilakukan dengan cara : ekstrak kulit manggis dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl 2M dan dipanaskan 100°C selama 5 menit. Hasil positif bila timbul warna merah. Juga ditambahkan NaOH 2M tetes demi tetes sambil diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif mengandung antosianin bila timbul warna hijau biru yang memudar perlahan-lahan (Harborne, 2006).

#### **2. Pemeriksaan xanton**

Pemeriksaan xanton dilakukan dengan cara : ekstrak kulit manggis dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk Mg dan

HCl pekat, kemudian dikocok hingga serbuk Mg larut. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 2006).

### 3. Pemeriksaan Tanin

Pemeriksaan tannin dilakukan dengan cara : ekstrak kulit manggis ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Ekstrak positif mengandung tannin apabila menghasilkan warna hijau kebiruan (Harborne, 2006).

### 4. Pemeriksaan terpenoid dan steroid

Pemeriksaan terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara : ekstrak kulit manggis dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glasial dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya terpenoid sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid (Harborne, 2006).

### 4. Pemeriksaan Saponin

Pemeriksaan saponin dilakukan dengan cara : ekstrak kulit manggis dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah air panas dan dikocok dengan cepat. Timbulnya busa yang stabil hingga lebih dari 10 menit menunjukkan adanya saponin (Harborne, 2006).

### 5. Pemeriksaan alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara : 1 mL ekstrak ditambah dengan 5 tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Mayer dan Wagner. Sampel positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan putih ketika ditambah pereaksi Mayer dan terbentuknya endapan coklat ketika ditambah pereaksi Wagner (Harborne, 2006).

### **3.5.8 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis, Minuman Sari Kacang Merah, dan Minuman Sari Kacang Merah Terfortifikasi Ekstrak Kulit Manggis**

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode menurut Garcia (2012). Sampel yang digunakan adalah ekstrak kulit manggis, minuman sari kacang merah, dan minuman sari kacang merah yang terfortifikasi ekstrak kulit manggis.

Untuk penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara sampel direaksikan dengan radikal stabil DPPH dalam metanol. Campuran sampel terdiri dari 0,5 mL sampel, 3 mL metanol, dan 0,3 mL DPPH 0,5 mM dalam metanol. Blanko terdiri dari 3,3 mL metanol dan 0,5 mL sampel. Kontrol terdiri dari 3,5 mL etanol dan 0,3 mL larutan DPPH 0,5 mM. Perubahan warna dari ungu tua ke kuning terang dibaca menggunakan Spektrofotometer UV VIS pada absorbansi 517 nm setelah diinkubasi selama 100 menit. Persentase aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan Mensor *et al.* :

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

### **3.5.9 Uji Organoleptik Sari Kacang Merah Terfortifikasi Ekstrak Kulit Manggis dengan Metode Uji Hedonik**

Uji hedonik merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan terhadap produk pangan. Sebanyak 25 orang panelis tidak terlatih diminta memberikan skor sesuai dengan kesan yang diperoleh dan kriteria yang diberikan. Tingkat kesukaan tersebut dinilai dalam bentuk angka, misalnya 3, 2, dan 1 yang menunjukkan suka, kurang suka, dan tidak suka. Selanjutnya angka tersebut dapat dianalisis secara statistik (Ebookpangan.com, 2006).

### **3.5.10 Analisa Data**

Analisa dari data-data yang didapatkan dari hasil percobaan diolah dengan menggunakan SPSS for windows versi 18. Untuk uji beda menggunakan metode parametrik test berdasarkan One Way ANOVA sedangkan uji normalitas data menggunakan metode uji Kruskal Wallis (Nasren, 2013).