

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret sampai bulan Juli 2014 yang sebagian besar dilakukan di Laboratorium Riset dan Laboratorium Kimia Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI, diantaranya proses ekstraksi, preparasi sampel untuk pengujian dan pembuatan produk. Pengujian determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Struktur Tumbuhan UPI, selain itu untuk pengujian aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI.

#### 3.2. Alat dan Bahan

##### 3.2.1. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah sirsak yang diambil di daerah pasar Caringin Kota Bandung dan diambil pada bulan Maret 2014. Bahan lainnya yang digunakan pada proses pembuatan minuman serbuk sirsak adalah serbuk maltodekstrin. Bahan yang digunakan untuk pengujian adalah aquades, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, CH<sub>3</sub>COOH, kloroform, serbuk Mg, HCl pekat, FeCl<sub>3</sub> 1%, n-heksana, metanol, DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*), larutan Iodium, larutan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, larutan baku KIO<sub>3</sub>, dan indikator amilum.

##### 3.2.2. Alat

Peralatan yang digunakan pada saat persiapan sampel dan tahap ekstraksi meliputi alat-alat gelas, neraca analitik, Cosmos Juicer 0.5 Liter – CJ388, *rotatory evaporator vaccum*, pompa vakum, *ultrasonic shaker* dan corong *Buchner*. Pada tahap analisis aktivitas antioksidan meliputi sentrifuse, botol vial, dan instrumen UV-Vis Mini Shimadzu 1240. Sedangkan pada analisis kadar vitamin C meliputi buret, labu erlenmeyer,

gelas ukur dan labu ukur. Pada tahap pembuatan serbuk sirsak menggunakan alat *freeze dryer* Eyela YAD.

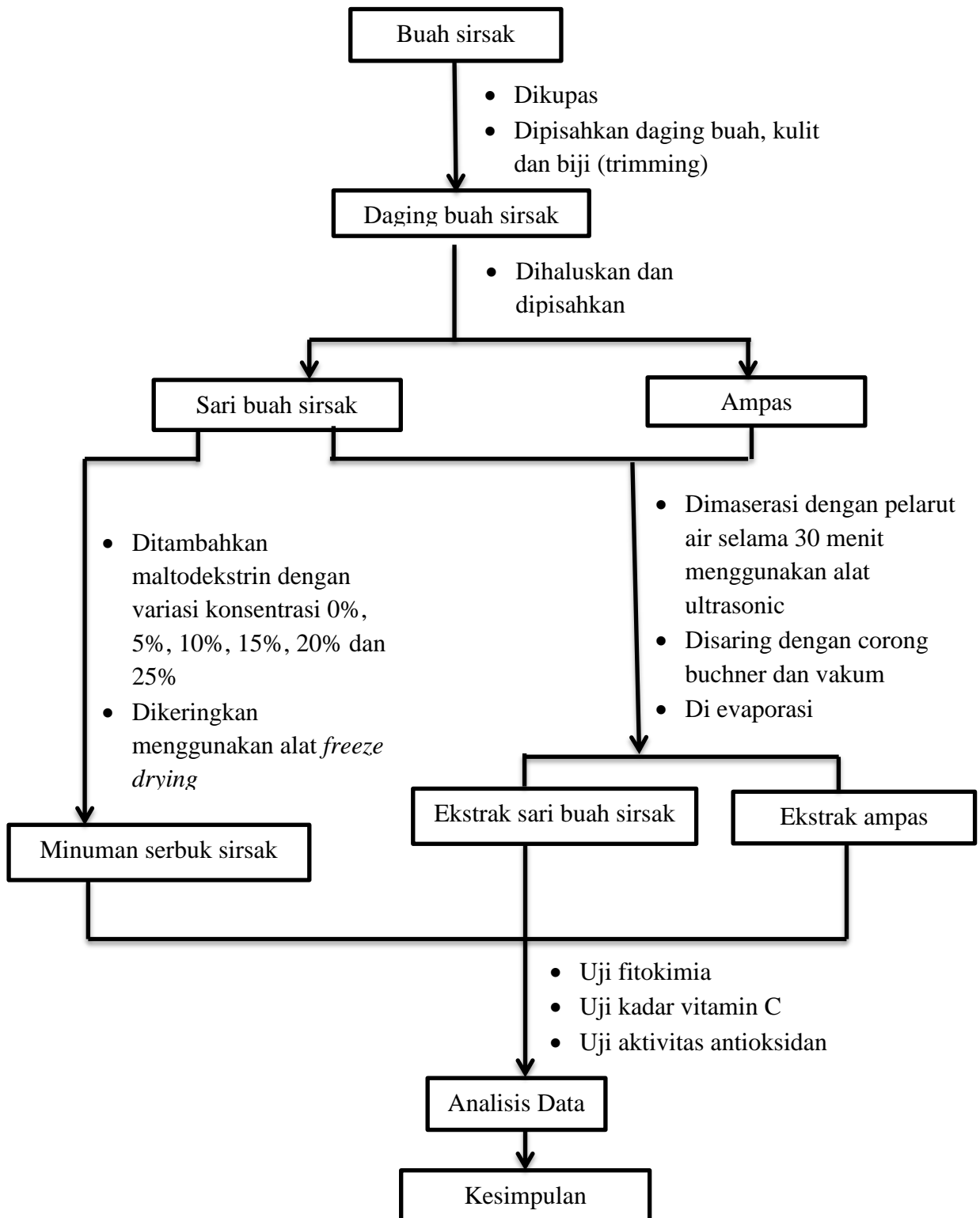
### **3.3. Tahapan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap yaitu:

1. Tahap determinasi tumbuhan sirsak
2. Tahap penyiapan sampel sirsak
3. Tahap ekstraksi sirsak
4. Tahap uji fitokimia ekstrak sari buah sirsak
5. Tahap uji aktivitas antioksidan ekstrak sari buah sirsak
6. Tahap pembuatan serbuk sirsak menggunakan metode pengeringan beku dengan variasi konsentrasi maltodekstrin
7. Tahap uji fitokimia produk minuman serbuk sirsak dengan variasi konsentrasi maltodekstrin
8. Tahap uji aktivitas antioksidan produk minuman serbuk dengan variasi konsentrasi maltodekstrin
9. Tahap uji kadar vitamin C produk minuman serbuk dengan variasi konsentrasi maltodekstrin

### **3.4. Bagan Alir Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahap meliputi persiapan sampel buah sirsak untuk pembuatan ekstrak buah sirsak dan pembuatan minuman serbuk instan sirsak. Selanjutnya ekstrak buah sirsak dan minuman serbuk instan sirsak dilakukan uji pendahuluan berupa uji fitokimia, uji kadar vitamin C dan uji aktivitas antioksidan. Bagan alir penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1.



**Gambar 3.1** Bagan alir metode penelitian

### **3.5. Langkah Kerja**

#### **3.5.1 Persiapan Sampel buah Sirsak**

Buah sirsak dipilih (sortasi) untuk memilih buah yang sudah matang. Kemudian dilakukan pengupasan (trimming) untuk memisahkan antara daging buah, kulit dan biji buah sirsak. Daging buah sirsak kemudian dihaluskan dan dipisahkan sari buah sirsak dengan ampas menggunakan alat Juicer (Cosmos Juicer 0.5 Liter – CJ388).

#### **3.5.2. Proses Ekstraksi Sari Buah Sirsak dan Ampas**

Sari buah sirsak dan ampas masing-masing dimaserasi dengan ditambahkan pelarut air, didiamkan selama 30 menit menggunakan alat ultrasonic. Kemudian dilakukan proses penyaringan menggunakan corong *buchner* dan vakum. Larutan hasil penyaringan kemudian dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 70°C selama 1 jam sehingga didapatkan ekstrak pekat.

#### **3.5.3. Proses Pembuatan Minuman Serbuk Sirsak**

Sari buah sirsak masing-masing 150 mL dimasukkan ke dalam gelas kimia. Kemudian ditambahkan serbuk maltodekstrin dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. Sari buah sirsak kemudian dibekukan pada lemari es pada suhu -4°C selama 1 jam. Setelah melalui proses pembekuan sari buah kemudian di keringkan menggunakan alat *freeze dryer*.

#### **3.5.4. Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak sari buah sirsak, ampas dan produk minuman serbuk sirsak. Ekstrak yang diperoleh diidentifikasi komponen fitokimianya dengan menggunakan metode pereaksi warna. Senyawa yang diperiksa adalah senyawa golongan alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, steroid dan flavonoid. Prosedur kerja yang dilakukan ialah sebagai berikut :

#### 1. Pemeriksaan Alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara menimbang 0,5 gram ekstrak 1 mL kloroform dan beberapa tetes Pereaksi Wagner. Terbentuknya endapan coklat menunjukkan adanya alkaloid.

Pembuatan pereaksi Wagner yaitu 1 gram KI dilarutkan dalam 20 mL aquades sampai semuanya melarut.

#### 2. Pemeriksaan Tanin

Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan dalam 2 mL air, kemudian ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Timbulnya warna biru tua menunjukkan adanya senyawa tanin.

#### 3. Pemeriksaan Saponin

Pemeriksaan saponin dilakukan dengan cara melarutkan 0,1 gram ekstrak dalam 3 mL air, kemudian dikocok dengan kuat selama 10 menit. Timbulnya buih atau busa menunjukkan adanya saponin.

#### 4. Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid

Pemeriksaan terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara melarutkan 0,1 gram ekstrak dalam 1 mL air, kemudian ditambahkan 1 mL  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glasial dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya terpenoid sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid.

#### 5. Pemeriksaan Flavonoid

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara melarutkan 0,1 gram ekstrak dalam 3 mL air kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat. Timbulnya warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

### 3.5.5. Penentuan Kadar Vitamin C

Penentuan kadar vitamin C dilakukan dengan metode titrasi iodimetri. Sebelum melakukan titrasi iodimetri, dilakukan pembuatan larutan baku. Setelah itu dilakukan standarisasi  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dengan  $\text{KIO}_3$  dan standarisasi iodium dengan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

**Pembuatan Larutan  $\text{KIO}_3$  0,01N**

Sebanyak 0,0356 g padatan  $\text{KIO}_3$  dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditandabatkan dan dihomogenkan dengan aquades.

**Pembuatan Larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0,01 N**

Sebanyak 0,2482 g padatan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditandabatkan dan dihomogenkan dengan aquades. Kemudian dilakukan standarisasi menggunakan  $\text{KIO}_3$  0,01 N.

**Pembuatan Larutan Iodium 001 N**

Sebanyak 1 g KI dan 0,6345 g  $\text{I}_2$  dilarutkan dengan aquades dan dimasukkan dalam labu ukur 500 mL. Selanjutnya campuran ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam botol kaca berwarna gelap dan didiamkan selama 24 jam agar iodium larut secara sempurna.

**Pembuatan Larutan Amilum 1%**

Sebanyak 0,25 g amilum dimasukkan ke dalam gelas kimia, lalu dilarutkan dengan aquades dan dipanaskan hingga larutan menjadi jernih.

**Standarisasi  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dengan  $\text{KIO}_3$  0,01 N**

Larutan  $\text{KIO}_3$  0,01 N dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, ditambahkan 4 mL KI dan 1 mL HCl 4 N kemudian dititrasi dengan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  001 N hingga berubah warna menjadi kuning pucat. Setelah itu, ditambah beberapa tetes indikator amilum, dititrasi kembali hingga larutan berubah warna dari kuning pucat menjadi bening. Diamati volume  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  yang terpakai dalam buret dan dihitung normalitasnya.

**Standarisasi  $\text{I}_2$  dengan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0,01 N**

Larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0,01 N dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, 2 tetes indikator amilum kemudian dititrasi dengan larutan  $\text{I}_2$  dari buret hingga terjadi perubahan warna dari bening menjadi biru. Diamati volume  $\text{I}_2$  yang terpakai dalam buret dan dihitung normalitasnya.

**Titration Penentuan Kadar Vitamin C**

Sebanyak 2 mL sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian dihomogenkan dan ditandabatkan dengan aquades. Setelah itu, sebanyak 10 mL

dari sampel tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, ditambah beberapa tetes indikator amilum, kemudian larutan sampel dititrasi dengan larutan I<sub>2</sub> hingga terbentuk larutan berwarna biru yang stabil. Diamati volume I<sub>2</sub> yang terpakai dalam buret, dan ditentukan kandungan vitamin C dalam sampel dengan menggunakan rumus berikut ini :

$$\text{Kadar Vitamin C} = \frac{\text{vol iodium (ml)} \times \text{mg asam askorbat (} \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \text{)} \times Fp}{\text{massa sampel (g)}}$$

Keterangan :

- Volume iodium – volume iodium dari buret yang terpakai selama titrasi
- Mg asam askorbat didapat dari : 1 mL larutan iodium 0,01 N ekuivalen dengan 0,88 mg asam askorbat
- Fp = Faktor pengenceran
- Massa sampel = massa sampel yang digunakan saat titrasi

### 3.5.6. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode menurut Garcia dkk. (2012). Penentuan aktivitas antioksidan ini dilakukan melalui beberapa tahapan. Pertama, larutan DPPH 0,5 mM dibuat dengan melarutkan 4,9290 mg DPPH dalam metanol pada labu ukur 25 mL. Setelah itu pada metode ini dibuat larutan sampel, larutan blanko dan kontrol. Larutan sampel terdiri dari 0,5 mL ekstrak sampel dengan 3 mL metanol dan 0,3 mL larutan DPPH. Larutan blanko dibuat dengan menambahkan 0,5 mL ekstrak sampel dengan 3,3 mL metanol. Kontrol yang digunakan terdiri dari 3,5 mL metanol dan 0,3 mL larutan DPPH. Sebelum diukur absorbansinya, larutan sampel dan blanko disentrifugasi agar larutan tidak keruh dan tidak terdapat endapan. Setelah itu, campuran diinkubasi selama 100 menit agar ekstrak sampel dan larutan DPPH bereaksi sempurna. Absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus berikut

$$\% \text{AA} = 100 - \left( \frac{\text{Abs sampel} - \text{Abs blanko}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \right)$$

Keterangan :

Abs sampel : absorbansi yang diukur pada larutan sampel

Abs blanko : absorbansi yang diukur pada larutan blanko

Abs kontrol : absorbansi yang diukur pada larutan kontrol