

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret sampai bulan Juli 2014 yang sebagian besar dilakukan di Laboratorium Riset 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 biji alpukat yang diambil dari pohon alpukat yang tumbuh di daerah Citepus Kota Bandung dan diambil pada bulan Maret 2014. Bahan lainnya yang digunakan pada proses pembuatan es krim adalah gula pasir, air mineral, susu *full cream*, telur ayam dan *whipped cream*. Bahan yang digunakan untuk pengujian adalah aquades, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH, kloroform, serbuk Mg, HCl pekat, FeCl₃ 1%, n-heksana, metanol, dan DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

3.2.2. Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas, neraca analitik, blender, panci aluminium, *mixer*, botol vial, sentrifuse, *rotary vacuum evaporator*, saringan, *ultrasonic shaker* dan UV-Vis Mini Shimadzu 1240.

3.3. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap yaitu:

1. Tahap determinasi tumbuhan alpukat
2. Tahap penyiapan sampel biji alpukat

Hakim, Astri Astari. 2014

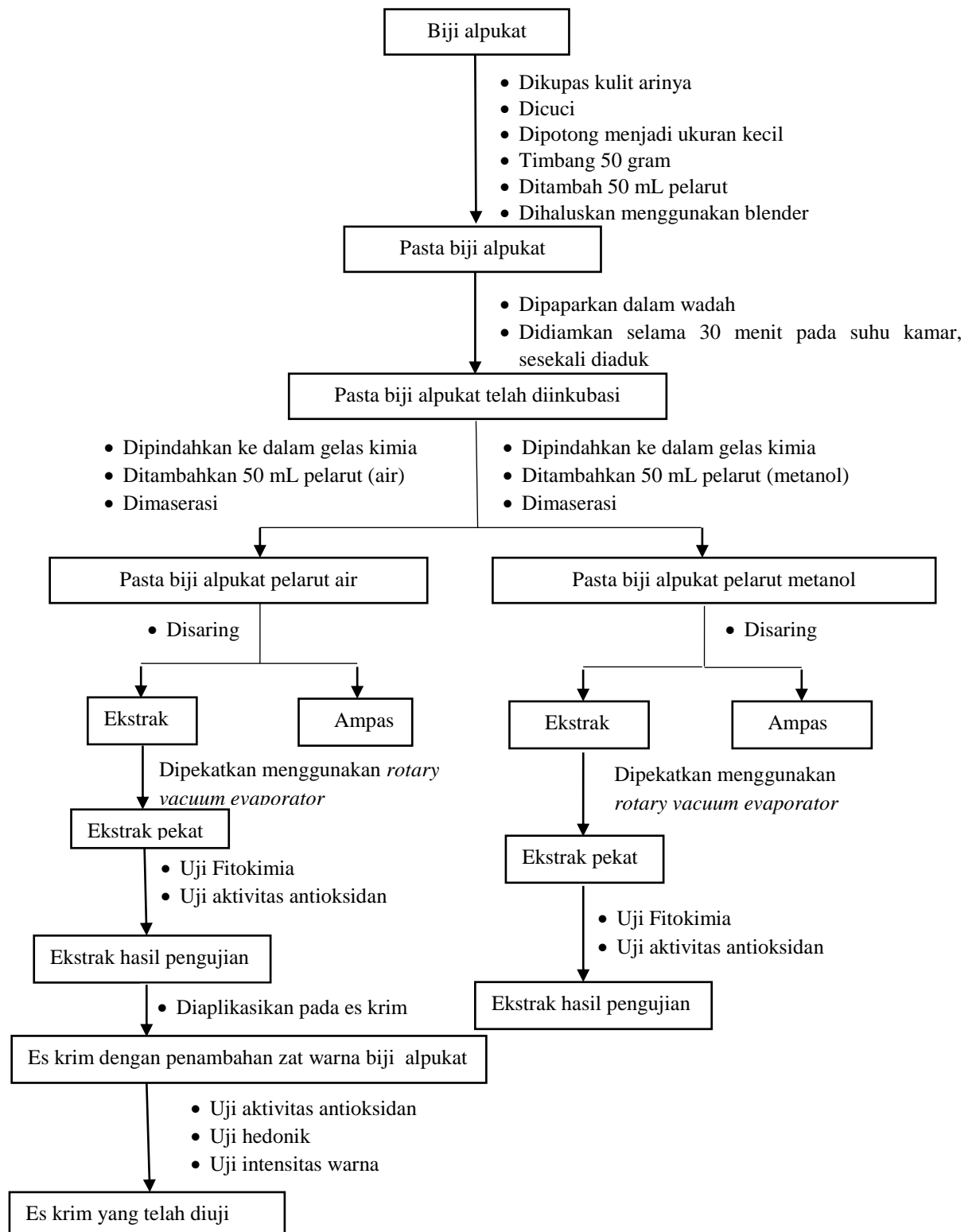
PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN TERHADAP DWIFUNGSI EKSTRAK BIJI ALPUKAT SEBAGAI ZAT WARNA DAN ANTIOKSIDAN ALAMI PADA PEMBUATAN ES KRIM

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3. Tahap ekstraksi biji alpukat
4. Tahap uji fitokimia ekstrak biji alpukat
5. Tahap uji aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat
6. Tahap pembuatan es krim dengan penambahan zat warna ekstrak biji alpukat
7. Tahap uji fitokimia produk es krim dengan penambahan zat warna ekstrak biji alpukat
8. Tahap uji aktivitas antioksidan es krim dengan penambahan zat warna ekstrak biji alpukat
9. Tahap uji pengaruh lama penyimpanan produk es krim dengan penambahan zat warna ekstrak biji alpukat terhadap aktivitas antiosidan
10. Tahap uji pengaruh lama penyimpanan produk es krim dengan penambahan zat warna ekstrak biji alpukat terhadap intensitas warna
11. Tahap uji hedonik es krim dengan penambahan zat warna ekstrak biji alpukat

3.4. Bagan Alir

Penelitian yang dilakukan meliputi sebelas tahapan yang telah disebutkan pada sub bab 3.3. Bagan alir penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1



Gambar 3.1. Bagan alir penelitian

3.5. Langkah Kerja

3.5.1. Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan yang diteliti dideterminasi di Laboratorium Struktur Tumbuhan UPI untuk mengetahui spesies dan famili tumbuhan yang akan diteliti.

3.5.2. Ekstraksi Zat Warna dari Biji Alpukat

Prosedur ekstraksi zat warna biji alpukat merupakan modifikasi dari prosedur yang dilakukan Dabas *et al.*, 2011. Modifikasi yang dilakukan adalah mengganti pelarut metanol menjadi pelarut air. Metanol digunakan sebagai pelarut hanya untuk membandingkan hasil pengujian dengan ekstrak air. Pada prosedur ini terdapat dua proses yaitu proses inkubasi dan proses maserasi.

Pada proses inkubasi 50 gram biji alpukat yang telah dipotong kecil-kecil ditambah pelarut. Biji alpukat yang telah ditambah pelarut selanjutnya dihaluskan menggunakan blender dan dipaparkan dalam wadah selama 30 menit untuk proses inkubasi. Pasta biji alpukat berwarna orange dihasilkan setelah proses inkubasi. Proses selanjutnya adalah ekstraksi zat warna dari pasta biji alpukat. Pada proses ini ditambahkan pelarut pada masing-masing pasta sampai volume larutan 100 mL. Setelah ditambah pelarut, proses selanjutnya adalah proses maserasi, yaitu disonikasi selama 30 menit. Zat warna ekstrak biji alpukat dihasilkan dari penyaringan pasta yang telah dimaserasi.

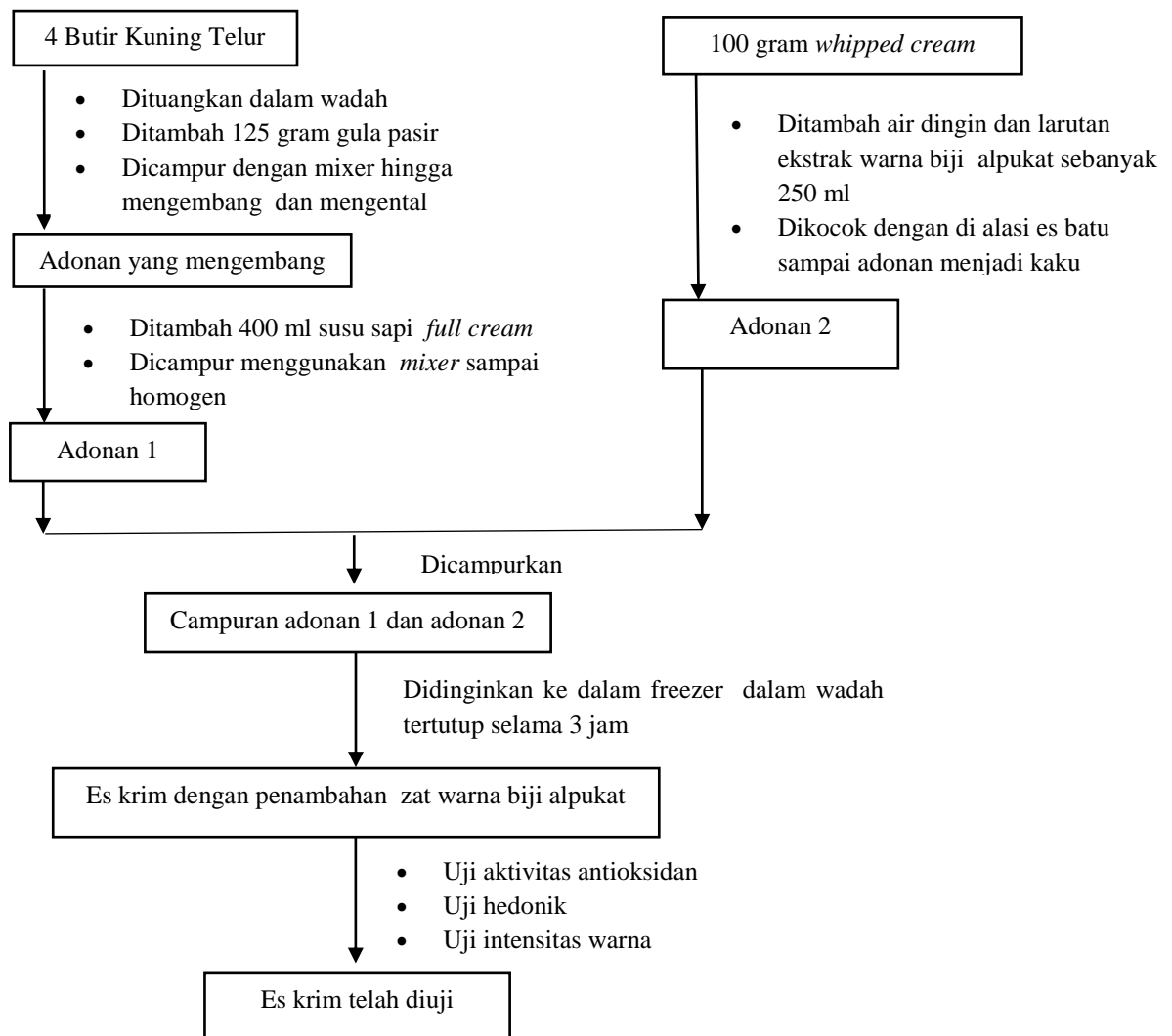
3.5.3. Pembuatan Larutan Zat Warna Ekstrak Biji Alpukat

Zat warna yang akan diaplikasikan pada pembuatan es krim dibuat dengan konsentrasi berbeda. Perbedaan konsentrasi zat warna mengacu pada penelitian pemanfaatan pewarna angkak pada es krim (Kurniawan,

2011). Variasi konsentrasi zat warna biji alpukat yang ditambahkan adalah 0%, 2.5% dan 5%.

3.5.4. Pembuatan Produk Es Krim

Tahap pembuatan es krim dengan penambahan zat warna ekstrak biji alpukat dapat dilihat pada bagan alir yang tersedia pada gambar 3.2.



Gambar 3.2. Bagan alir pembuatan es krim

3.5.5. Uji Aktivitas Antioksidan

Penentuan persentase aktivitas antioksidan (%AA) dilakukan dengan metode Brand-Williams, et al. (1995). Hal yang pertama dilakukan adalah membuat larutan DPPH dengan cara melarutkan 4.9 mg DPPH

dalam 25 mL metanol. Selanjutnya untuk mengetahui persentase aktivitas antioksidan (%AA) dalam suatu sampel, dibutuhkan beberapa larutan. Larutan yang pertama adalah larutan blanko yang merupakan campuran 0.5 mL larutan sampel yang akan diuji, 3 mL pelarut metanol dan 0.3 mL pelarut sampel (metanol atau air). Larutan yang kedua adalah larutan kontrol yang merupakan campuran dari 0.3 mL larutan DPPH dengan konsentrasi 0.5 mM, 3 mL pelarut metanol dan 0.5 mL pelarut sampel (metanol atau air). Larutan yang ketiga adalah larutan sampel yang merupakan campuran dari 0.5 mL sampel, 0.3 mL larutan DPPH 0.5 mM dan 3 mL metanol. Ketiga larutan tersebut diinkubasi dalam ruang gelap selama 60 menit, selanjutnya ketiga larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm.

Penentuan aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan rumus berikut :

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

3.5.6. Uji Kandungan Fitokimia

Uji kandungan fitokimia dilakukan menggunakan metode menurut Singsing (2008). Tiap sampel diidentifikasi komponen fitokimianya dengan metode pereaksi warna yang bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam masing-masing sampel. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi:

1. Pemeriksaan terpenoid dan steroid

Pemeriksaan terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL ekstrak dari masing-masing sampel ditambah dengan 1 mL CH_3COOH glasial dan 1 mL H_2SO_4 pekat. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya terpenoid sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid.

2. Pemeriksaan alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dari masing-masing sampel ditambah dengan 5 tetes kloroform dan

beberapa tetes pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya alkaloid.

3. Pemeriksaan flavonoid

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dari masing-masing sampel ditambah 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat, timbulnya warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

4. Pemeriksaan tanin

Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dari masing-masing sampel ditambah beberapa tetes FeCl_3 1%. Timbulnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya senyawa tanin.

5. Pemeriksaan kuinon

Pemeriksaan kuinon dilakukan dengan cara menambahkan 1 mL sampel dengan beberapa tetes larutan NaOH 0,1 N. Timbulnya larutan berwarna merah tua menunjukkan adanya senyawa kuinon.

3.5.7. Uji Pengaruh Waktu Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Produk Es Krim yang Ditambahkan Zat Warna Ekstrak Biji Alpukat

Pengujian pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan dilakukan pada sampel es krim yang memiliki aktivitas antioksidan paling baik. Pengujian pengaruh lama penyimpanan dilakukan setiap hari secara berturut-turut selama lima hari. Setiap harinya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan untuk melihat perbedaan besarnya persentase aktivitas antioksidan.

3.5.8. Uji Pengaruh Waktu Penyimpanan Terhadap Intensitas Warna Produk Es Krim yang Ditambahkan Zat Warna Ekstrak Biji Alpukat

Pengujian pengaruh lama penyimpanan terhadap intensitas warna dilakukan pada sampel es krim yang ditambahkan 5% zat warna ekstrak biji alpukat. Pengujian pengaruh lama penyimpanan dilakukan setiap hari

secara berturut-turut selama lima hari. Setiap harinya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrometri visibel. Panjang gelombang yang digunakan merupakan panjang gelombang maksimum yang sebelumnya dicari terlebih dahulu. Sebelum pengukuran absorbansi sampel, sampel es krim dilarutkan dalam metanol dan dilakukan proses sentrifugasi.

3.5.9. Uji Hedonik

Uji hedonik merupakan salah satu uji berdasarkan tingkat kesukaan panelis terhadap sampel. Uji hedonik dilakukan pada produk es krim yang ditambah zat warna biji alpukat dengan variasi konsentrasi 0%, 2.5% dan 5%. Ketiga sampel dianalisis oleh 20 panelis tidak terlatih. Variabel yang dianalisis pada pengujian ini adalah rasa dan warna.