

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan April 2014 sampai dengan bulan Januari 2015 bertempat di Laboratorium Riset Kimia Makanan dan Material serta di Laboratorium Kimia Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas, neraca analitik, *rotary vacuum evaporator*, corong *Buchner*, Philips blender, pompa vakum, tabung reaksi, rak tabung, botol vial, seperangkat alat spektrofotometer *Visible Shimadzu*, buret bening, buret coklat, labu Erlenmeyer, pipet volume, dan ball pipet.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu buah melon jingga (*Cucumis melo*), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil, metanol, aquadest, kloroform, FeCl₃ 1%, NaOH 0,1 N, kertas saring, gula pasir, asam sitrat, natrium benzoat, pereaksi Mayer, serbuk Mg, HCl pekat, CH₃COOH glasial, H₂SO₄ pekat, KIO₃, Na₂SO₃.5H₂O, I₂, KI, amilum.

3.3 Tahapan Penelitian

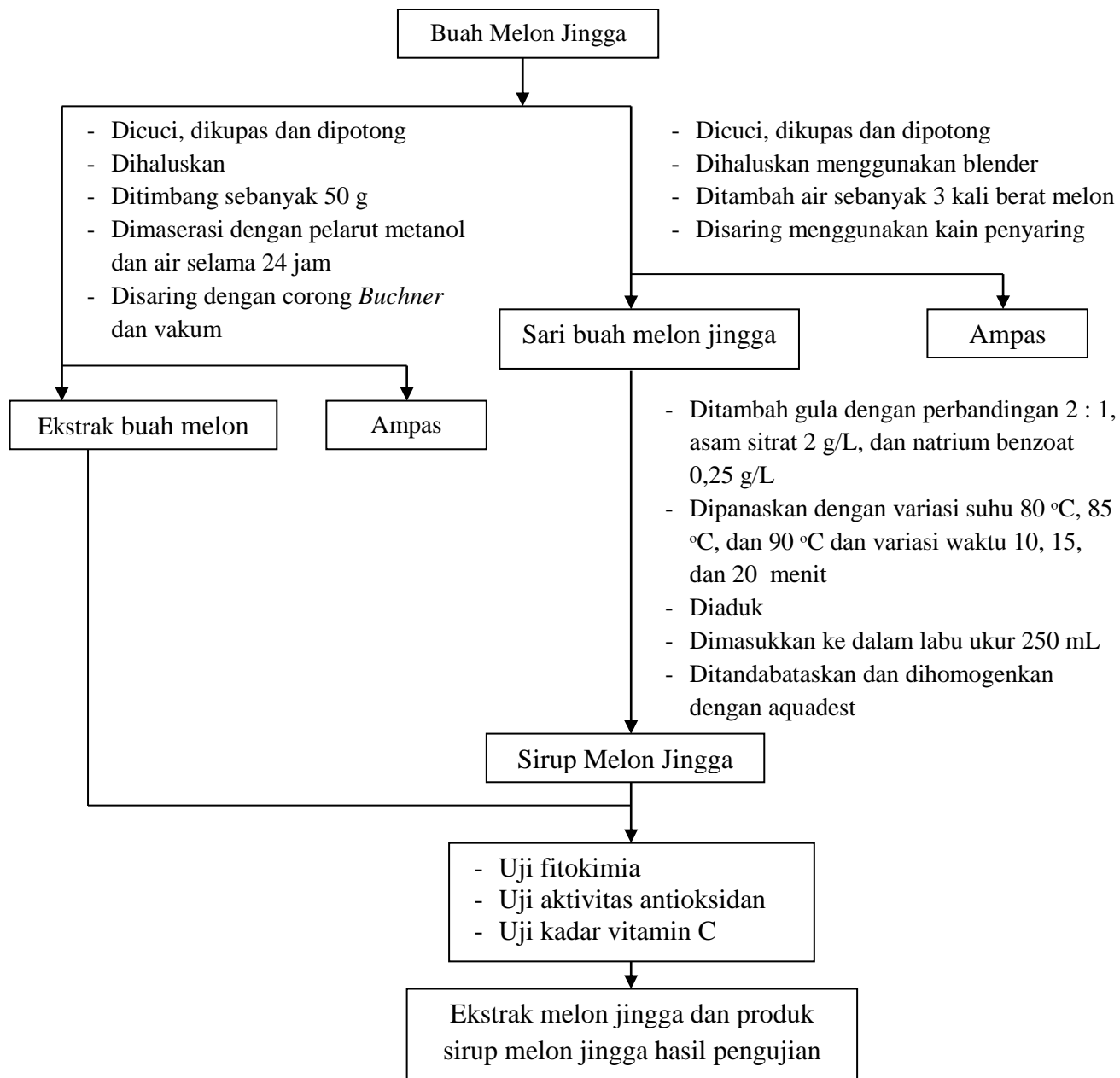
Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu :

1. Tahap determinasi tumbuhan melon jingga
2. Tahap penyiapan sampel melon jingga
3. Tahap ekstraksi melon jingga
4. Tahap uji fitokimia ekstrak buah melon jingga
5. Tahap uji aktivitas antioksidan ekstrak buah melon jingga
6. Tahap uji kadar vitamin C ekstrak buah melon jingga
7. Tahap pembuatan sirup melon jingga

8. Tahap uji fitokimia produk sirup melon jingga
9. Tahap uji aktivitas antioksidan produk sirup melon jingga
10. Tahap uji kadar vitamin C produk sirup melon jingga

3.4 Bagan Alir Penelitian

Tahapan dalam penelitian ditunjukkan dalam bagan alir sebagai berikut :



Gambar 3.1. Bagan alir penelitian

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Sampel Buah Melon Jingga

Buah melon jingga dipilih atau disortasi untuk memilih buah dengan kualitas yang baik dan yang sudah matang. Kemudian dilakukan pengupasan untuk memisahkan antara daging buah, kulit, dan biji buah melon jingga. Daging buah melon jingga kemudian dipotong-potong dan dihaluskan menggunakan blender.

3.5.2 Ekstraksi Melon Jingga

Buah melon jingga yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 50 g kemudian dimaserasi dengan 100 mL pelarut metanol selama 1 malam dan dimaserasi juga dengan 100 mL pelarut air selama 1 malam. Hasil maserasi disaring dengan corong *Buchner* menggunakan vakum, dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* sampai pelarut yang digunakan sudah tidak menetes lagi ke labu penampung.

3.5.3 Pembuatan Sirup

Sirup melon jingga dibuat dengan metode menurut Tim Lentera (2002). Melon jingga dicuci, dikupas dan diiris halus. Kemudian diblender dengan penambahan air sebanyak 3 kali berat melon jingga. Setelah diblender, campuran disaring menggunakan kain penyaring, sehingga diperoleh sari buah melon jingga dan ampas melon jingga. Sari buah melon jingga yang diperoleh ditambah gula pasir dengan perbandingan 2 : 1, asam sitrat 2 gram/liter, dan natrium benzoat 0,25 gram/liter. Kemudian dipanaskan dengan variasi suhu 80 °C, 85 °C, dan 90 °C dan variasi waktu 10, 15, dan 20 menit sambil diaduk. Sirup melon jingga dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL, kemudian ditandabatkan dengan aquadest dan dihomogenkan.

3.5.4 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. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi :

1. 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.

2. 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.

3. Pemeriksaan Kuinon

Pemeriksaan kuinon dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dari masing-masing sampel ditambah beberapa tetes larutan NaOH 0,1 N. Timbulnya larutan berwarna merah tua menunjukkan adanya kuinon.

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 tanin.

5. Pemeriksaan terpenoid dan steroid

Pemeriksaan terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL ekstrak dari masing-masing sampel ditambah 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.

3.5.5 Uji Kadar Vitamin C

Penentuan kadar vitamin C dilakukan dengan menggunakan metode titrasi iodimetri. Sebelum melakukan titrasi iodimetri, dilakukan pembuatan larutan baku. Setelah itu dilakukan standarisasi larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dengan KIO_3 dan standarisasi larutan iodium dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

1. Pembuatan Larutan KIO_3 0,1 N

Sebanyak 0,3560 g padatan KIO_3 dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditandabatkan dan dihomogenkan dengan aquadest.

2. Pembuatan Larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01N

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 aquadest. Kemudian dilakukan standarisasi menggunakan KIO_3 0,1 N.

3. Pembuatan Larutan Iodium 0,01 N

Sebanyak 0,6345 g serbuk I_2 dan 1 g KI dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL, ditandabatkan dan dihomogenkan dengan aquadest, didiamkan semalaman. Setelah didiamkan selama semalam dilakukan standarisasi menggunakan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

4. Pembuatan Larutan Amilum 1%

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

5. Standarisasi Larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dengan KIO_3 0,01 N

Larutan KIO_3 0,1 N dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambah 4 mL KI dan 1 mL HCl 4 N kemudian dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 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 larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang terpakai dalam buret dan dihitung normalitasnya.

6. Standarisasi I₂ dengan Na₂S₂O₃.5H₂O 0,01 N

Larutan Na₂S₂O₃.5H₂O 0,01 N dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambah 2 tetes indikator amilum kemudian dititrasi dengan larutan I₂ dari buret hingga terjadi perubahan warna dari bening menjadi biru. Diamati volume I₂ yang terpakai dalam buret dan dihitung normalitasnya.

7. Penentuan Kadar Vitamin C

Sebanyak 2 mL sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian ditandabatkan dan dihomogenkan dengan aquadest. 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 I₂ hingga terbentuk larutan dengan warna biru yang stabil. Diamati volume I₂ yang terpakai dalam buret, dan ditentukan kandungan vitamin C dalam sampel dengan menggunakan rumus berikut ini :

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

Keterangan :

Volume iodium : Volume larutan iodium yang terpakai

Massa asam askorbat : 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 Uji Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode menurut (Garcia *et al.*, 2012). Penentuan aktivitas antioksidan ini dilakukan melalui beberapa tahapan. Pertama, dilakukan pembuatan larutan DPPH 0,5 mM dengan melarutkan 4,9290 mg DPPH dalam metanol pada labu ukur 25 mL. Kedua, dilakukan pembuatan larutan kontrol, larutan blanko, dan larutan sampel. Larutan kontrol dibuat dengan mengambil 3,5 mL metanol

ke dalam botol vial ditambah 0,3 mL larutan DPPH 0,5 mM kemudian diinkubasi selama 100 menit. Larutan blanko dibuat dengan mengambil 3,3 mL metanol ke dalam botol vial ditambah 0,5 mL ekstrak sampel kemudian diinkubasi selama 100 menit. Sedangkan larutan sampel dibuat dengan mengambil 3,0 mL metanol ke dalam botol vial ditambah 0,5 mL ekstrak sampel dan 0,3 mL larutan DPPH kemudian diinkubasi selama 100 menit. Setelah itu, dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 517 nm.

Aktivitas antioksidan dapat dihitung menggunakan persamaan berikut :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan (AA)} = 100 - \left[\frac{(\text{Absorbansi Sampel} - \text{Absorbansi Blanko}) \times 100 \%}{\text{Absorbansi Kontrol}} \right]$$

Keterangan :

Abs sampel : Absorbansi sampel yang diuji

Abs blanko : Absorbansi blanko dari sampel yang diuji

Abs kontrol : Absorbansi DPPH sebagai kontrol