

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset Departemen Pendidikan Kimia Universitas Pendidikan Indonesia. Waktu penelitian dimulai bulan Agustus sampai November 2016.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Alat-alat gelas kimia,
2. Neraca analitik,
3. Kuvet,
4. Hot plate,
5. Beker glass,
6. Tabung reaksi,
7. Pipet,
8. Penangas,
9. Batang pengaduk,
10. Kertas saring,
11. Botol vial,
12. Micropipet 1 dan 10 mL,
13. Alat instrumen spektrometer UV-VIS.

3.2.2 Bahan

Penelitian ini menggunakan sampel daun janggolan (cincau hitam). Sedangkan bahan lain yang dibutuhkan adalah:

1. Metanol
2. Aquadest

3. 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)
4. Kloroform
5. Amoniak
6. H_2SO_4 ,
7. Pereaksi Dragendor
8. Pereaksi Meyer
9. Pereaksi Wagner
11. Eter
12. Pereaksi Liebermen Burchard
13. FeCl_3

3.3 Bagan Alur Penelitian

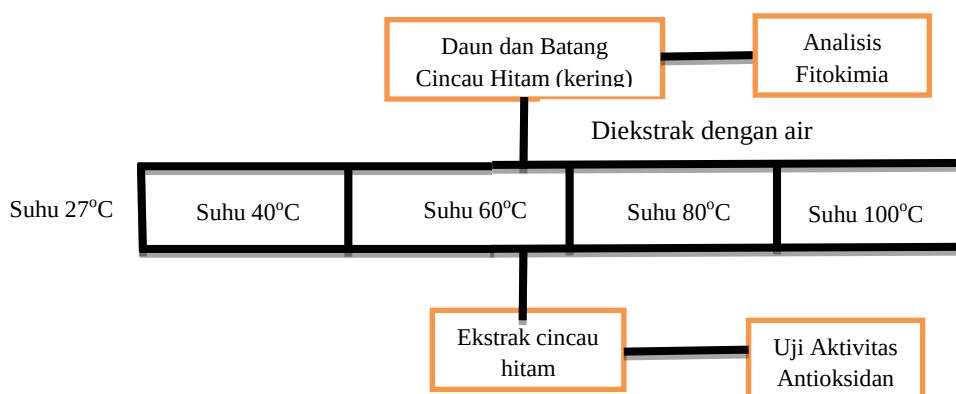
Secara umum bagan alur penelitian ini terbagi kepada 4 alur, diantaranya :

1. Optimasi
2. Perbandingan Proses Perebusan dengan Proses Ekstraksi Uap Bertekanan
3. Rekayasa Produk

Bagan alur penelitian lebih detail bisa dilihat dibawah ini.

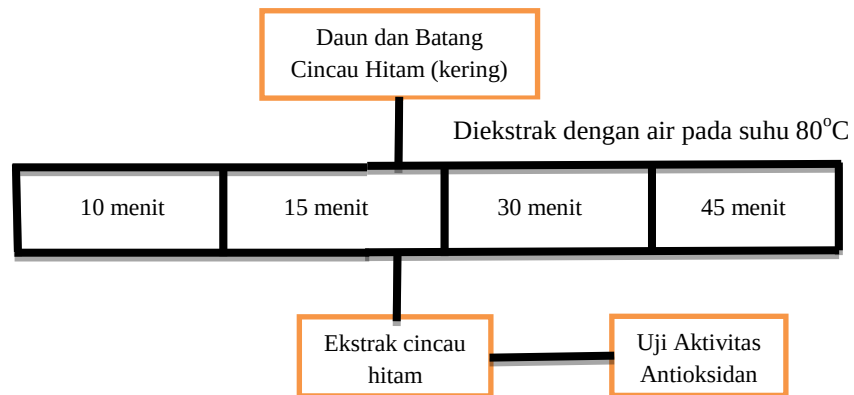
3.3.1 Optimasi

3.3.1.1 Kelarutan Ekstrak Daun-Batang Cincau Variabel Suhu dan Uji Aktivitas Antioksidan



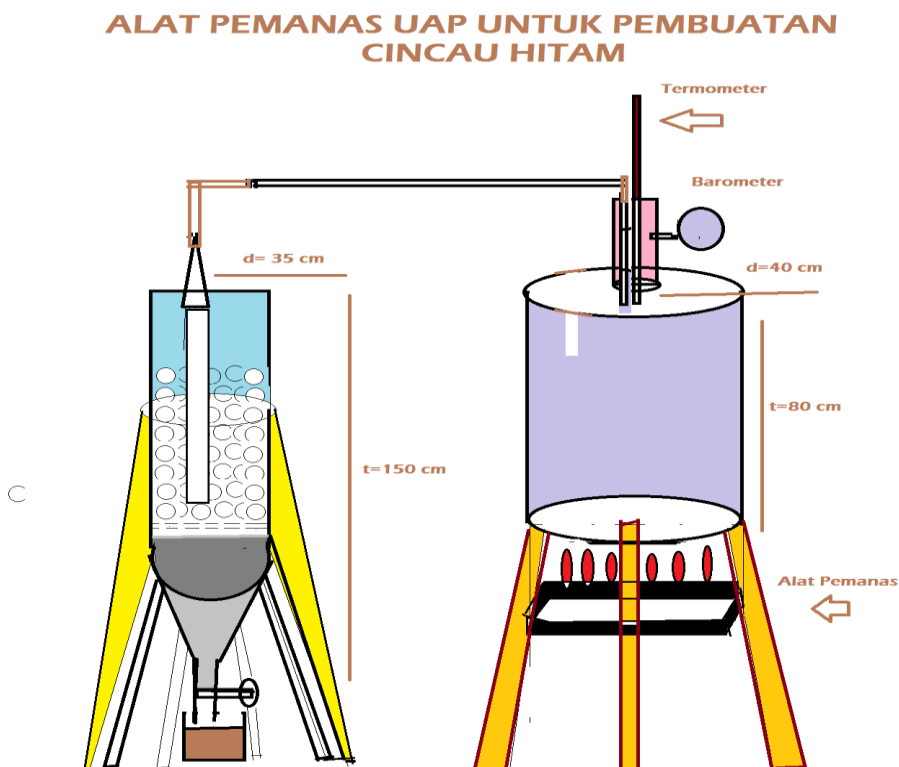
Gambar 3.1 Bagan Kelarutan Daun-Batang Cincau Variabel Suhu, Analisis Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan

3.3.1.2 Kelarutan Ekstrak Daun-Batang Cincau Variabel Waktu dan Uji Aktivitas Antioksidan

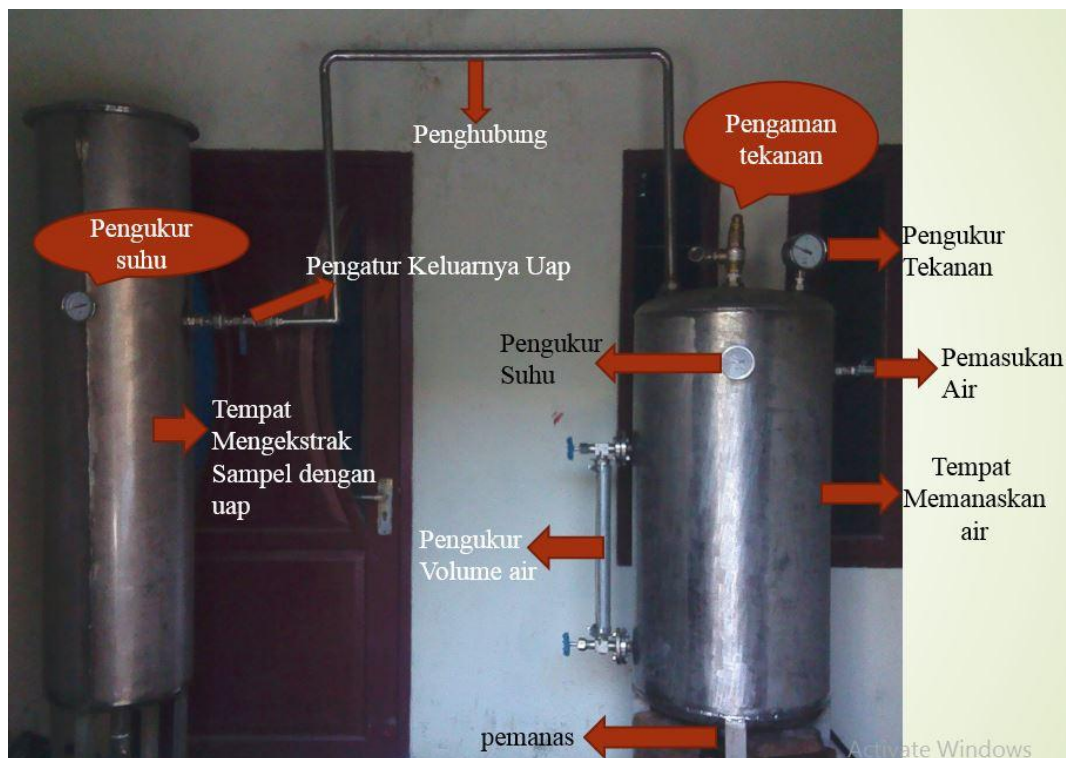


Gambar 3.2 Bagan Kelarutan Daun-Batang Cincau Variabel Waktu dan Uji Aktivitas Antioksidan

3.3.2 Desain Alat Ekstraksi Uap Bertekanan

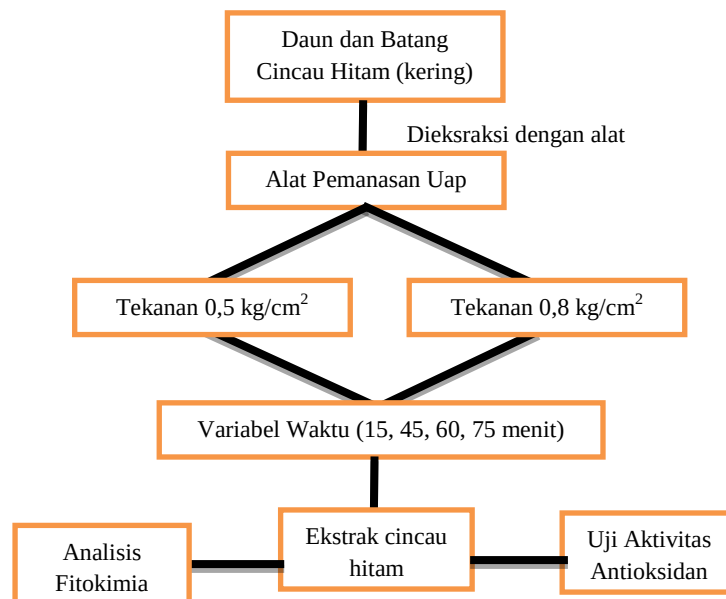


Gambar 3.3 Desain Alat Ekstraksi Uap Bertekanan



Gambar 3.4 Alat Ekstraksi Uap Bertekanan

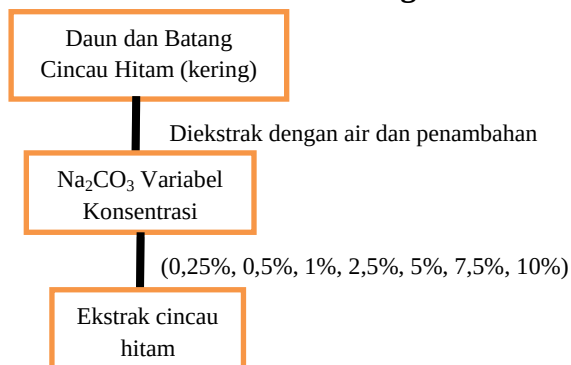
3.3.2.1 Uji Alat Ekstraksi Uap Bertekanan



Gambar 3.5 Bagan Uji Alat Ekstraksi Uap Bertekanan, Analisis Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan

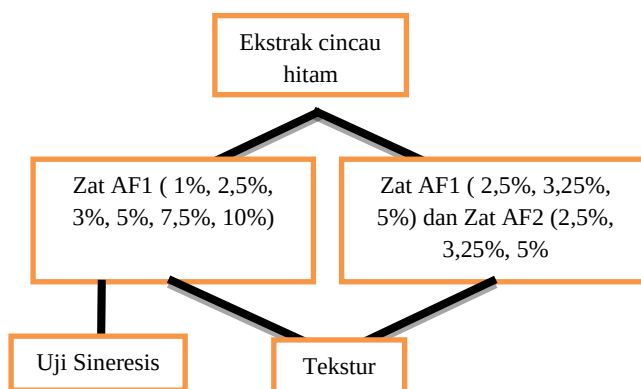
3.3.3 Rekayasa Produk

3.3.3.1 Penambahan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) Variabel Konsentrasi Sebagai Penambah Kelarutan Ekstrak dan Pengawet



Gambar 3.6 Penambahan Na_2CO_3 Variabel Konsentrasi

3.3.3.2 Penambahan *Additive Flour* Ditandai dengan AF1 dan AF2 dengan Uji Sineresis dan Perbandingan Tekstur



Gambar 3.7 Penambahan *Additive Flour* dengan Uji Sineresis dan Perbandingan Tekstur

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Kelarutan Ekstrak Daun-Batang Cincau Variabel Suhu

Uji kelarutan dilakukan dengan menggunakan beberapa variasi suhu, dari suhu 27°C, 40°C, 60°C, dan 80°C. Uji kelarutan ini dilakukan dengan menimbang 2 gram sampel dan ditambahkan air 100mL dan dipanaskan dengan suhu diatas selama 10 menit. Setelah proses tersebut kemudian disaring dengan kertas saring, ekstrak ditampung di dalam botol sementara sisa daun ekstraksi dikeringkan kembali kemudian ditimbang. Jumlah daun dan batang cincau yang terekstraksi di dapat dari :

$$\text{Massa daun dan batang yang terekstraksi} = \text{massa sebelum diekstrak} - \text{massa sesudah diekstrak}$$

3.4.2 Kelarutan Ekstrak Daun-Batang Cincau Variabel Waktu

Uji kelarutan dilakukan dengan menggunakan beberapa variasi waktu, dari waktu 10 menit, 15 menit, 30 menit, dan 45 menit. Uji kelarutan ini dilakukan dengan menimbang 2 gram sampel dan ditambahkan air 100mL dan dipanaskan dengan suhu 80°C. Setelah proses tersebut kemudian disaring dengan kertas saring, ekstrak ditampung di dalam botol sementara sisa daun ekstraksi dikeringkan kembali kemudian ditimbang. Jumlah daun dan batang cincau yang terekstraksi di dapat dari :

$$\text{Massa daun dan batang yang terekstraksi} = \text{massa sebelum diekstrak} - \text{massa sesudah diekstrak}$$

3.4.3 Uji Alat Ekstraksi Uap Bertekanan

Uji alat pemanasan uap dilakukan dengan menimbang daun dan batang cincau 2 kg dengan variabel tekanan 0,5 kg/cm², dan 0,8 kg/cm² setelah tekanan tercapai, saluran yang menyambungkan antara pemanas dan tempat menyimpan ekstrak dibuka sehingga uap akan mengekstrak sampel dengan suhu uap 90°C dengan lama ekstraksi 15 menit, 45 menit, 60 menit, dan 75 menit. Massa jenis dari ekstraksi ditentukan menggunakan alat aerometer (alat pengukur massa jenis).

3.4.4 Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan berdasarkan Harbone (1987). Identifikasi yang dilakukan adalah uji alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, steroid, dan triterpenoid.

3.4.4.1 Uji Alkaloid

Pada uji alkaloid, 1 gram daun digerus dan ditambahkan 1,5 ml kloroform dan 3 tetes amoniak. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 5 tetes H_2SO_4 2M. Fraksi asam dibagi menjadi 3 tabung kemudian masing-masing ditambahkan pereaksi Dragendorf, Meyer dan Wagner. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendorf, dan endapan coklat pada pereaksi Wagner.

3.4.4.2 Uji Flavonoid

0,5 g daun ditambahkan dengan metanol sampai terendam lalu dipanaskan. Filtrat ditambahkan dengan 5 tetes H_2SO_4 . Terbentuknya warna merah karena penambahan H_2SO_4 menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

3.4.4.3 Uji Saponin

0,5 g daun ditambahkan air secukupnya dan dipanaskan selama lima menit. Larutan tersebut didinginkan kemudian dikocok selama $\pm$ 10 menit dan bila menimbulkan busa menunjukkan adanya saponin.

3.4.4.4 Uji Triterpenoid dan Steroid

0,5 gram daun ditambahkan air sampai terendam lalu dipanaskan dan disaring. Ekstrak ditambah 5 tetes asam asetat dan 3 tetes H_2SO_4 pekat. Warna merah yang terbentuk menunjukkan adanya triterpenoid sedangkan timbulnya perubahan warna violet menjadi warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid.

3.4.4.5 Uji Tanin

0,5 gram daun ditambahkan air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Disaring dan filtrat ditambahkan dengan 3 tetes FeCl_3 . Warna biru tua atau hitam kehijauan yang terbentuk menunjukkan adanya tanin.

3.4.5 Analisis Antioksidan

Uji aktifitas antioksidan dengan metode DPPH berdasarkan acuan prosedur dari Garcia, dkk. (2012). Pengukuran aktifitas antioksidan pada sampel dapat dilakukan dengan cara memasukan 0,5 mL sampel kedalam botol vial kemudian ditambahkan dengan 3 mL metanol p.a dan 0,3 mL DPPH 0,5 mM. Untuk blanko, terdiri dari 3,3 mL metanol p.a dan 0,5 sampel, sedangkan kontrol 3,5 mL metanol p.a dan 0,3 DPPH 0,5 mM. Ketiga tersebut, ditutup lalu diinkubasi selama 100 menit. Proses pengukuran absorbansi dapat terukur dengan menggunakan spektrometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 517 nm.

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

Keterangan :

Abs. Sampel = absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan sampel

Abs. Kontrol = absorbansi DPPH tanpa direaksikan dengan sampel

Abs. Blanko = absorbansi sampel sebelum direaksikan dengan DPPH

3.4.6 Penambahan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) Variabel Konsentrasi

Sebagai Pengganti Mineral, Penambah Kelarutan Ekstrak dan Pengawet

Penambahan natrium karbonat dilakukan dengan menimbang daun dan batang cincau 2 gram, ditambahkan air 100 mL dan dipanaskan pada suhu 80°C selama 10 menit dengan penambahan natrium karbonat dengan variabel konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 2,5%, 5%, 7,5%, dan 10% hasil pemanasan disaring dengan kertas saring. Untuk mengetahui massa daun yang terekstrak maka daun residu dikeringkan dan ditimbang kembali. Jumlah daun dan batang cincau yang terekstraksi di dapat dari :

$$\text{Massa daun dan batang yang terekstraksi} = \text{massa sebelum diekstrak} - \text{massa sesudah diekstrak}$$

3.4.7 Penambahan zat AF1 dan AF2

Pada penambahan zat AF1 dan AF2 dilakukan dengan larutan ekstrak (± 50 mL) dipanaskan dan ditambahkan zat AF1 dengan variabel konsentrasi (1%, 2,5%, 3%, 5%, 7,5%, 10%) dan ditambahkan zat AF2 dengan variabel konsentrasi (2,5%, 3,25%, 5%) dan digunakan stirer untuk mengaduk dan didinginkan.

3.4.8 Uji Sineresis

Tabung *sentrifuge* dan sampel ditimbang, dimasukkan kedalam alat *sentrifuge* selama 20 menit dengan kecepatan 1535 rpm, dipisahkan cairan dari endapan cincau, kemudian ditimbang endapan dalam tabung.

$$\text{Rumus sineresis} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = berat awal sampel sebelum *sentrifuge* (gram)

B = berat akhir sampel setelah *sentrifuge* (gram)