

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

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

Penelitian ini dilakukan dari bulan April 2013 sampai Agustus 2013 di Laboratorium Kimia Riset Makanan dan Material serta di Laboratorium 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, blender, panci aluminium, botol vial, pemanas listrik, *rotary vacuum evaporator*, dan UV-Vis Mini Shimadzu 1240.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah naga super merah yang di ambil dari dari perkebunan Desa Citaman, Kecamatan Nagreg dengan usia siap panen. Bahan lainnya yang digunakan pada proses pembuatan permen jelly kulit buah naga super merah adalah air, gula pasir, dan karagenan. Bahan yang digunakan untuk pengujian adalah  $H_2SO_4$  pekat,  $CH_3COOH$ , kloroform, serbuk Mg, HCl pekat,  $FeCl_3$  1%, etanol 96%, n-heksana, metanol, reagen *Follin ciocalteu* dan DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

#### **3.3 Tahapan Penelitian**

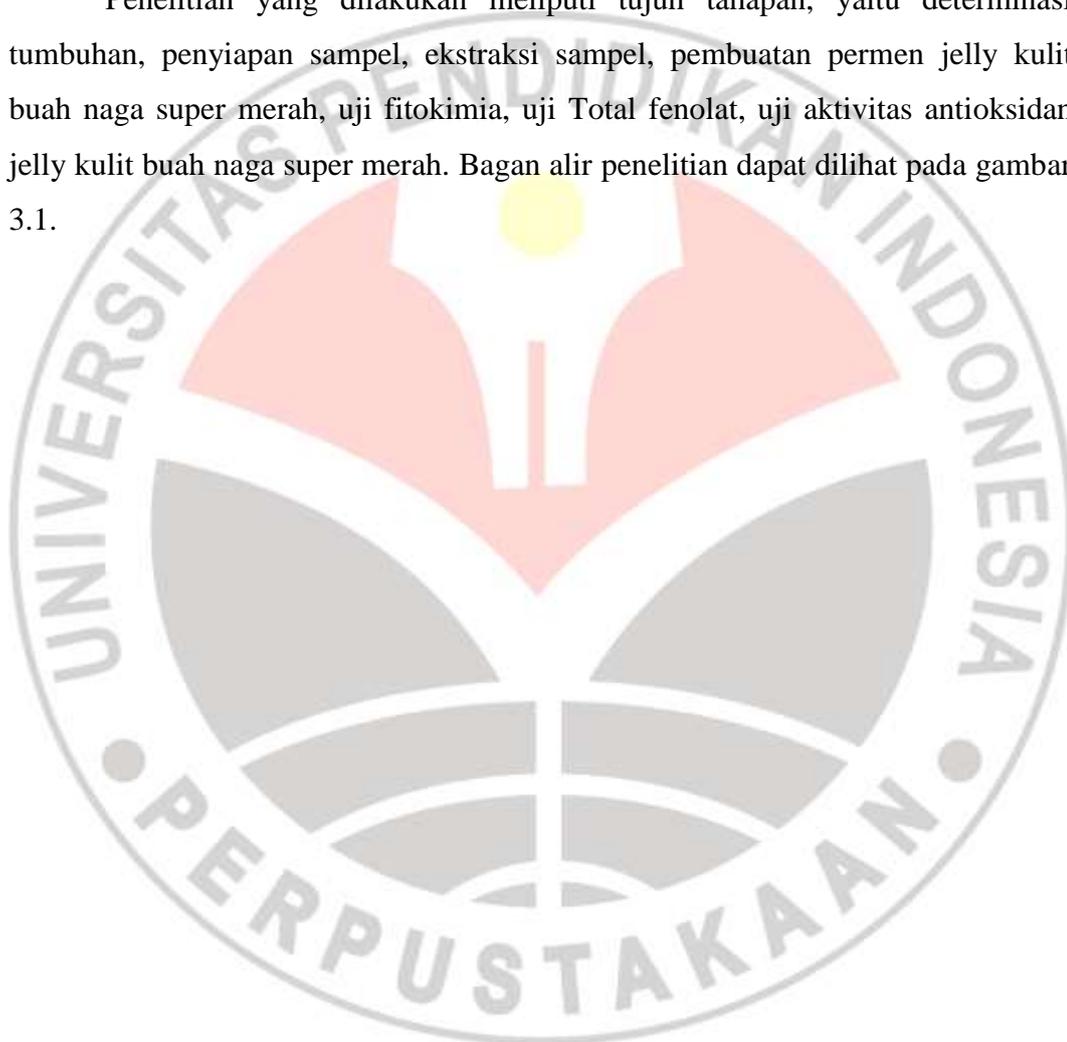
Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap yaitu:

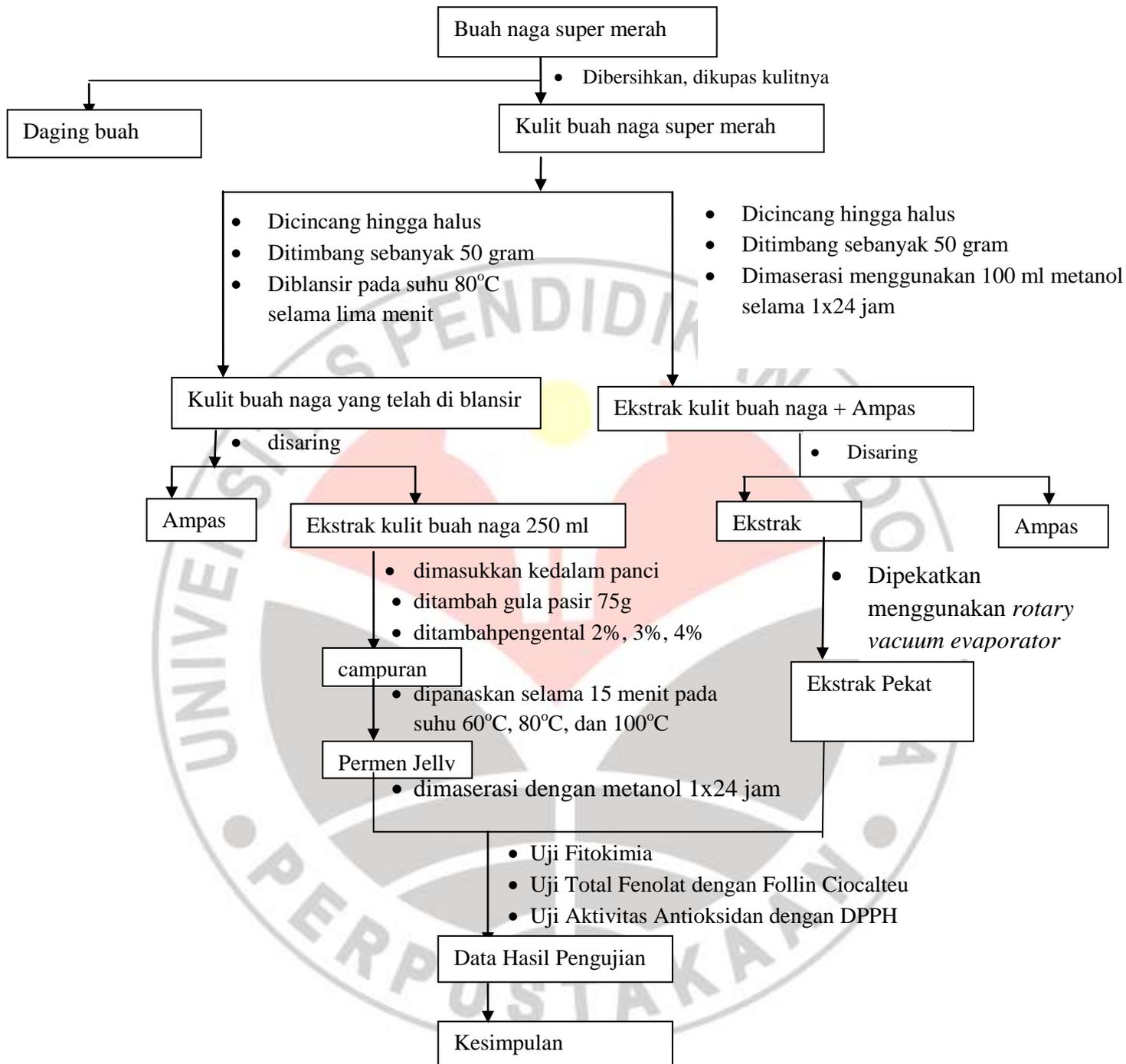
1. Tahap determinasi tumbuhan buah naga super merah
2. Tahap penyiapan sampel kulit buah naga super merah
3. Tahap ekstraksi kulit buah naga super merah

4. Tahap pembuatan permen jelly kulit buah naga super merah
5. Tahap uji pendahuluan berupa uji fitokimia
6. Tahap uji Total fenolat permen jelly kulit buah naga super merah
7. Tahap uji aktivitas antioksidan permen jelly kulit buah naga super merah

### 3.4 Bagan Alir Penelitian

Penelitian yang dilakukan meliputi tujuh tahapan, yaitu determinasi tumbuhan, penyiapan sampel, ekstraksi sampel, pembuatan permen jelly kulit buah naga super merah, uji fitokimia, uji Total fenolat, uji aktivitas antioksidan jelly kulit buah naga super merah. Bagan alir penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1.





**Gambar 3.1** Bagan Alir Proses Penelitian

### **3.5 Cara Kerja**

#### **3.5.1 Determinasi Tumbuhan**

Sampel kulit buah naga super merah didapatkan dari perkebunan Desa Citaman, Kecamatan Nagreg. Buah naga super merah dipetik pada saat siap panen hingga diperoleh kulit buah berwarna merah. Menurut Kristanto (2009), buah naga yang siap petik adalah buah yang sudah tua dengan karakteristik sebagai berikut: kulit buah sudah berubah warna menjadi merah tua, mahkota buah sudah mengecil, jumbai buah sudah berubah menjadi warna kemerahan, kedua pangkal buah berkeriput.

Uji determinasi dilakukan di Laboratorium “Herbarium Bogoriense”, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Determinasi dilakukan berdasarkan pengamatan ciri fisiologis tumbuhan untuk mengetahui spesies dan famili tanaman yang diteliti.

#### **3.5.2 Penyiapan Sampel Kulit Buah Naga Super Merah**

Kulit buah naga super merah disortasi untuk memilih kulit dengan kualitas yang baik kemudian dibuang bagian yang tidak akan diolah. Kulit buah naga super merah dicuci kemudian dimaserasi. Untuk pengolahan produk, kulit buah naga diblansir terlebih dahulu pada suhu 80°C selama lima menit.

#### **3.5.3 Ekstraksi Kulit Buah Naga Super Merah**

Lima puluh gram kulit buah naga super merah yang telah dihaluskan dimaserasi dengan 100 mL pelarut metanol selama 1×24 jam dan dimaserasi juga dengan 100 mL pelarut air selama 1×24 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring dengan corongbuchner menggunakan vakum, dan filtrat dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator*.

### 3.5.4 Pembuatan Permen Jelly Kulit Buah Naga Super Merah

Prosedur pembuatan permen jelly kulit buah naga super merah ini adalah modifikasi dari jurnal penelitian yang dilakukan oleh Wahyuni (2011). Modifikasi dilakukan pada penetapan berbagai variasi suhu pemanasan.

Lima puluh gram kulit buah naga super merah yang telah dihaluskan ditambah dua ratus lima puluh mL air, diblansir pada suhu 80°C selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah gula sebanyak 75 gram dan karagenan sebanyak 2%, 3%, dan 4%. Menurut Wahyuni (2011), suhu pemasakan jelly yang baik adalah 80°C, sehingga pada penelitian ini dilakukan pemanasan dengan variasi suhu 60°C, 80°C, dan 100°C selama 15 menit untuk diketahui kriteria fisik permen jelly baik dengan antioksidan yang paling tinggi. Waktu pemanasan 15 menit didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Wahyuni (2011) karena dengan waktu 15 menit merupakan waktu dihasilkan pembentukan permen jelly dengan tekstur terbaik. Permen jelly kulit buah naga super merah yang telah diperoleh didinginkan dan dipotong-potong.

### 3.5.5 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan menggunakan metode menurut Santi (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 terpenoid dan steroid

Pemeriksaan terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL ekstrak dari masing-masing sampel ditambah dengan 1 mL  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glasial dan 1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya terpenoid sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid.

## 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 merah menunjukkan adanya flavonoid.

## 4. Pemeriksaan Saponin

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dari masing-masing sampel ditambah air suling sehingga seluruh cuplikan terendam, dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

## 5. Pemeriksaan Fenolik

Pemeriksaan fenolik dilakukan dengan cara 1 mL ekstrak dari masing-masing sampel ditambah beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Timbulnya warna hitam kebiruan/hijau menunjukkan adanya senyawa fenolik.

Setelah diketahui secara kualitatif keberadaan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang diperoleh, maka dilakukan uji kuantitatif berupa pengujian kadar total fenolat ekstrak segar dan produk olahannya agar diketahui seberapa besar kandungan metanolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak sampel.

### 3.5.6 Uji Kadar Total Fenolat

Kadar total fenolat ditentukan dengan metode *Follin ciocalteu* (Waterhouse A, 1999) dengan asam galat sebagai pembanding.

1. Pembuatan Larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20%

Ditimbang 10 gram  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , dan ditambah 40 ml aquabides, didihkan, kemudian didiamkan selama 24 jam, disaring, dan diencerkan dengan aquabides hingga volume larutan 50 ml.

2. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat

Ditimbang 0,25 gram asam galat, ditambah 5 ml etanol 96%, dan ditambah aquabides sampai volume 50 ml sehingga diperoleh konsentrasi larutan asam galat 5 mg/ml.

3. Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Larutan induk asam galat dipipet 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; dan 1,4 ml, masing-masing diencerkan dengan aquabides sampai volume 10 ml sehingga didapat konsentrasi larutan 300, 400, 500, 600, dan 700 mg/L asam galat. Dari masing-masing larutan asam galat dipipet sebanyak 0,2 ml, ditambah 15,8 ml aquabides, 1 ml reagen *Follin ciocalteu*, dan dikocok sampai homogen. Didiamkan selama 8 menit, ditambah 3 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20%, dikocok sampai homogen. Didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Diukur serapan larutan pada panjang gelombang maksimum  $\lambda = 765$  nm, lalu dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi.

4. Pengukuran Kadar Total Fenolat Sampel

Ditimbang 0,1 gram ekstrak, dilarutkan dengan metanol sampai volume larutan 10 ml, dipipet 0,2 ml larutan ekstrak, ditambah 15,8 ml aquabides, 1 ml reagen *Follin ciocalteu*, dan dikocok hingga homogen. Larutan didiamkan selama 8 menit kemudian ditambah 3 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20%. Larutan didiamkan kembali selama 2 jam pada suhu kamar hingga didapatkan larutan berwarna biru. Diukur serapan larutan dengan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang maksimum,  $\lambda = 765$  nm.

### 3.5.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan melalui beberapa tahapan. Larutan DPPH 100 ppm dibuat dengan melarutkan 5 mg DPPH dalam metanol pada labu ukur 50 mL. Larutan DPPH 100 ppm kemudian diencerkan kembali dan dibuat dalam lima seri konsentrasi, yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Sebelum dilakukan pengukuran absorbansi deret, terlebih dahulu dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum agar diketahui bahwa panjang gelombang maksimum untuk larutan standar DPPH adalah 516 nm. Kemudian dibuat larutan DPPH dalam metanol dengan konsentrasi 20 ppm. Larutan DPPH 20 ppm tersebut digunakan sebagai kontrol dalam penentuan aktivitas antioksidan sampel. Sebanyak 1 mL ekstrak sampel diencerkan dengan metanol pada labu ukur 25 mL. Larutan sampel diambil sebanyak 4 mL dan ditambah 2 mL larutan DPPH 20 ppm dalam metanol. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Absorbansinya diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm.

Aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus berikut.

$$\text{Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Abs DPPH kontrol} - \text{Abs sisa DPPH}}{\text{Abs DPPH kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Abs DPPH kontrol : absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel

Abs sisa DPPH : absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan sampel