

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan dalam kurun waktu 3 bulan (Februari 2019- April 2019) di Laboratorium Kimia Riset Makanan dan Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

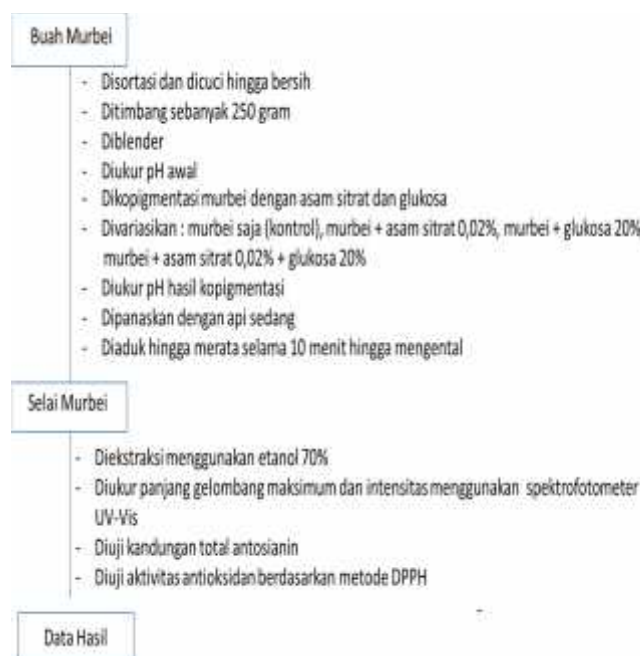
3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi baskom kecil, mangkok, plastik, panci, sendok, blender, spektrofotometer UV-Visible, gelas kimia, tabung reaksi, batang pengaduk, pH meter, labu takar, botol kaca cokelat.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi buah murbei, akuades, asam sitrat, DPPH (*2,2-difenil-1-pikrihidrazil*), natrium asetat, HCl, KCl, etanol, metanol, aluminium foil.

3.3 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3. 1 Bagan alir penelitian

3.3.1 Determinasi Tumbuhan

Buah murbei yang diteliti, dilakukan determinasi di Laboratorium Struktur Tumbuhan, Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia untuk mengetahui klasifikasi dari tumbuhan yang digunakan dalam penelitian.

3.3.2 Pembuatan Selai dan Kopigmentasi

Buah murbei yang akan digunakan dalam penelitian disortasi dan dicuci hingga bersih agar terhindar dari kontaminan. Kemudian diblender sampai halus. Buah murbei yang sudah halus dikopigmentasi dengan asam sitrat 0,02%, glukosa 20% dan campuran asam sitrat 0,02% dan glukosa 20%. Kopigmentasi antosianin pada buah murbei dilakukan dengan mencampurkan murbei, asam sitrat dan glukosa dengan variasi yang tertera pada Tabel 3.1

Tabel 3. 1 *Rencana Penelitian*

Komposisi	Perlakuan			
	Kontrol	Murbei + asam sitrat	Murbei + glukosa	Murbei + asam sitrat + glukosa
Buah murbei				
Asam Sitrat				
Glukosa				

Variasi tersebut untuk mengetahui pengaruh penambahan asam sitrat, glukosa dan campurannya terhadap hasil kopigmentasi buah murbei. Kemudian buah murbei yang telah dikopigmentasi dipanaskan dengan api sedang dan diaduk hingga mengental selama 10 menit hingga terbentuk selai.

3.3.3 Uji Pergeseran Batokromik dan Efek Hiperkromik

Sebelum dilakukan uji pergeseran batokromik dan efek hiperkromik sampel selai murbei dilakukan ekstraksi. Ekstraksi selai murbei dilakukan dengan metode Bae & Suh, 2007 menggunakan 100 mL etanol 70%. Ekstrak disaring menggunakan saringan, kemudian dibilas dengan 50 mL etanol 70%.

Residu diekstraksi kembali dengan cara dan kondisi yang sama saat ekstraksi pertama. Kedua filtrat hasil ekstraksi dicampurkan kemudian dilakukan uji pergeseran panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pergeseran batokromik dan efek hiperkromik dapat dilihat berdasarkan rumus sebagai berikut

Pergeseran batokromik = panjang gelombang sampel- panjang gelombang kontrol

Efek Hiperkromik (%) = $(A_{\text{sampel}} - A_{\text{kontrol}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$

3.3.5 Uji Kandungan Total Antosianin

Uji kandungan total antosianin pada selai murbei dilakukan dengan metode perbedaan pH yang dirujuk dari Giusti & Wrolstad, 2003. Sampel yang mengandung antosianin dari selai murbei diambil 1mL dilarutkan dalam larutan buffer pH 1 yang dibuat dari larutan KCl 0,2 M dan larutan HCl 0,2 M kemudian larutan buffer pH 4,5 yang dibuat dari larutan natrium asetat 1M dan HCl 1 N kemudian diencerkan hingga volume totalnya 10 mL. kemudian masing-masing larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510nm dan 700 nm, hasil uji kandungan total antosianin dapat dilihat berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kandungan TA} = \left(\frac{m}{L} \right) = \frac{(A_{510}^{\text{pH 1}} - A_{700}^{\text{pH 1}}) - (A_{510}^{\text{pH 4,5}} - A_{700}^{\text{pH 4,5}})}{\epsilon L} \times 1000 \times M_r \times F_P$$

Keterangan :

- A : Absorbansi
- : Absortivitas molar (sianidin-3-glukosida 26.900 L/cm.mol)
- L : Diameter kuvet (1cm)
- Mr : Massa molekul antosianin (sianidin-3-glukosida 449,2 g/mol)
- FP : Faktor pengenceran (10)

Selain diukur pada panjang gelombang maksimum, sampel juga diukur pada panjang gelombang 700nm untuk memastikan tidak ada endapan. Apabila tidak terbentuk endapan maka pada panjang gelombang 700 nm tidak memiliki nilai absorbansi (Giusti & Wrolstad, 2003).

3.3.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada selai murbei dilakukan dengan metode DPPH berdasarkan prosedur (Almas, dkk. 2017) dengan sedikit modifikasi. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan melalui beberapa tahapan. Tahapan pertama yaitu pembuatan larutan DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) 0,5 mM. tahapan kedua yaitu membuat larutan sampel dengan cara menambahkan larutan sampel hasil kopigmentasi dengan DPPH dan metanol. Tahapan ketiga membuat larutan kontrol dengan cara menambahkan akuades, DPPH dan metanol. Larutan blanko yang digunakan adalah metanol. Absorbansi dibaca dengan spektrometer pada panjang gelombang 517 nm. aktivitas penangkap radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{aktivitas antioksidan} = \frac{A_k - A_s}{A_k} \times 100\%$$