

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian dilaksanakan dari Bulan Maret sampai dengan Mei 2019 di Laboratorium Riset Kimia Makanan dan Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Universitas Pendidikan Indonesia.

#### **3.2 Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis mini Shimadzu 1240, autoklaf, pH meter Mettler Toledo, *juicer*, gelas kimia, gelas ukur, labu takar, tabung reaksi, batang pengaduk, pipet volume, dan botol kaca cokelat.

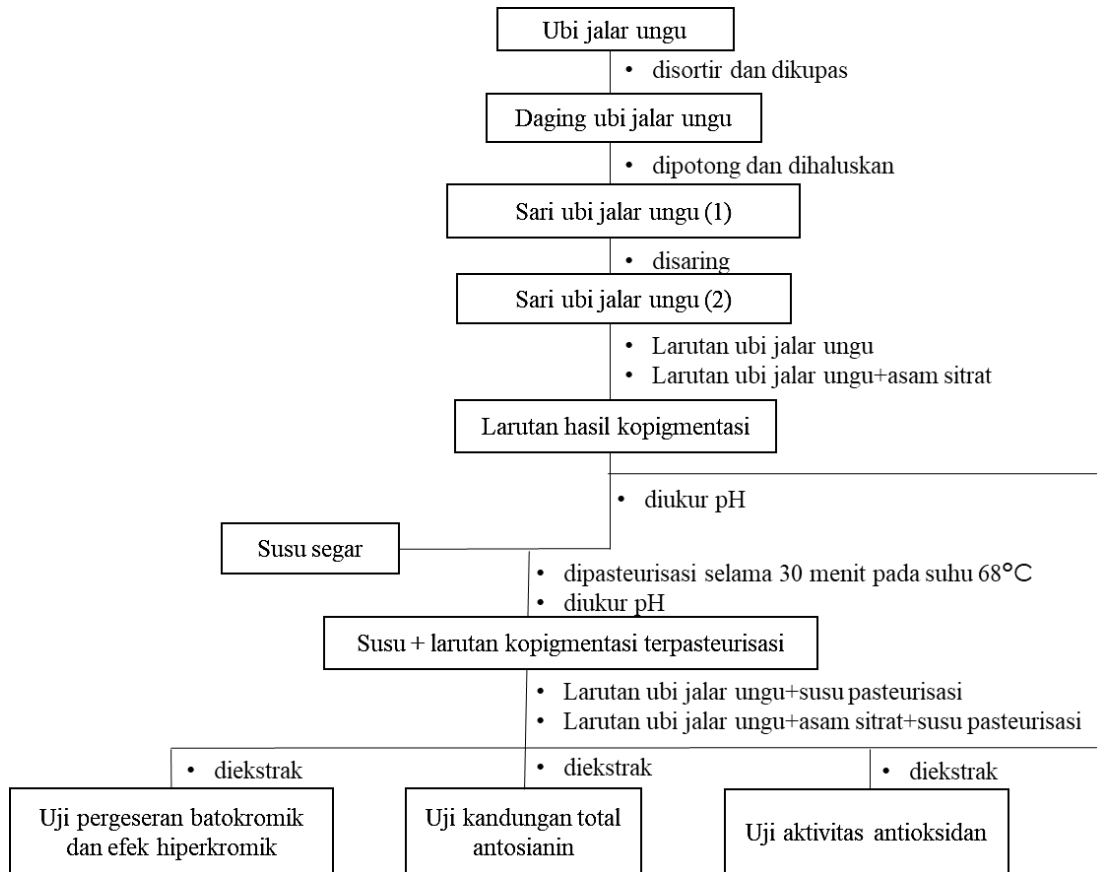
#### **3.3 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu ubi jalar ungu, aquades, natrium asetat, asam sitrat, metanol, kalium klorida, asam klorida, pereaksi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), susu segar, dan alumunium foil.

#### **3.4 Cara Kerja**

##### **3.4.1 Bagan Alir Penelitian**

Bagan alir penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1



Gambar 3. 1 Bagan Alir Penelitian

### 3.4.2 Determinasi Tumbuhan

Ubi jalar ungu yang digunakan untuk penelitian dilakukan determinasi terlebih dahulu di Laboratorium Struktur Tumbuhan, Departemen Pendidikan Biologi, Universitas Pendidikan Indonesia untuk mengetahui klasifikasi dari tumbuhan tersebut.

### 3.4.3 Preparasi Sampel

Ubi jalar ungu disortir dan dikupas dari kulitnya. Kemudian dipotong kecil untuk dihaluskan dengan cara dipres menggunakan *juicer*. Sari dari ubi jalar ungu kemudian disaring kembali dan filtrat yang diperoleh siap untuk di kopigmentasi.

### 3.4.4 Preparasi Larutan

#### a. Pembuatan Buffer pH 4,5

Natrium asetat 1 M (4,102 gram dalam 50 mL aquades) dicampurkan dengan asam klorida 1 M (2,0903 ml dalam 25 mL aquades) dan 175 mL aquades. Nilai pH diukur dan disesuaikan menggunakan pH meter.

#### b. Pembuatan Buffer pH 1

Kalium klorida 0,2 M (0,3727 gram dalam 25 mL aquades) dicampurkan dengan 67 mL asam klorida 0,2 M (1,6722 ml dalam 100 ml aquades) dan 8 mL aquades. Nilai pH diukur dan disesuaikan menggunakan pH meter.

#### c. Pembuatan Larutan Sampel

Sari ubi jalar ungu ditambahkan asam sitrat hingga mencapai pH optimum kopigmentasi yaitu pH 3,6-4 (0,05 gram/5 mL ubi jalar ungu). Kemudian ubi jalar ungu tanpa asam sitrat dan dengan asam sitrat masing-masing diaplikasikan pada susu segar yang siap dipasteurisasi. Variasi pencampuran komposisi yang diperoleh sesuai pada Tabel 3.1.

Tabel 3. 1

#### *Rancangan Penelitian*

<i>Perlakuan</i>	<i>Komposisi</i>		
	<i>Ubi Jalar Ungu</i>	<i>Asam Sitrat</i>	<i>Susu Pasteurisasi</i>
<i>K<sub>0</sub></i>	√		
<i>K<sub>1</sub></i>	√	√	
<i>K<sub>2</sub></i>	√		√
<i>K<sub>3</sub></i>	√	√	√

Variasi dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan asam sitrat terhadap ubi jalar ungu. Selanjutnya, diaplikasikan pada susu pasteurisasi untuk mengetahui pengaruh kopigmentasi ubi jalar ungu dengan asam sitrat terhadap susu pasteurisasi.

### 3.4.5 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter elektronik. Ujung katoda pH meter dicuci terlebih dahulu dengan aquades kemudian dikeringkan. pH meter

dikalibrasi dengan mencelupkan ujung katoda ke dalam larutan buffer pH 4 dan 7. Selanjutnya nilai pH sampel setiap perlakuan diukur dengan mencelupkan ujung katoda pada sampel (Wahyudi, 2006).

### 3.4.6 Uji Pergeseran Batokromik dan Efek Hiperkromik

Uji pergeseran batokromik dan efek hiperkromik dilakukan sesuai metode yang dirujuk dari Li dkk. (2016). Larutan-larutan sampel di-*scanning* pada panjang gelombang visibel (450-700 nm) menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui absorbansi maksimal dan panjang gelombangnya. Metanol digunakan sebagai larutan blanko. Pergeseran batokromik dan efek hiperkromik ditentukan dengan rumus:

$$\text{Pergeseran batokromik} = \lambda_{\text{sampel}} - \lambda_{\text{kontrol}}$$

$$\text{Efek hiperkromik} = (A_{\text{sampel}} - A_{\text{kontrol}}) / A_{\text{kontrol}}$$

Keterangan: A= Absorbansi, kontrol yang digunakan adalah K<sub>0</sub>.

### 3.4.7 Uji Total Antosianin

Pada uji total antosianin digunakan metode perbedaan pH (Wrolstad, 1993). Disiapkan 2 sampel masing-masing sampel diencerkan dengan larutan dari campuran KCL 0,2 M dengan HCL 0,2 M pada buffer pH 1 dan larutan dari campuran Na-asetat 1 M dengan HCL 1 M pada buffer pH 4,5. Total atau kadar antosianin dianalisis dengan mengukur absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm dan 700 nm. Sebelum dilakukan pengukuran, larutan didiamkan selama 15 menit terlebih dahulu. Total antosianin diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$\text{Total antosianin (mg/L)} = \frac{(A_{510 \text{ nm}}^{\text{pH } 1} - A_{700 \text{ nm}}^{\text{pH } 1}) - (A_{510 \text{ nm}}^{\text{pH } 4,5} - A_{700 \text{ nm}}^{\text{pH } 4,5})}{\epsilon \times L} \times 1000 \times \text{Mr} \times \text{FP}$$

Keterangan:

A= absorbansi

$\epsilon$  = absorptivitas molar (sianidin-3-glukosida 26.900 L/mol.cm)

L = diameter kuvet

Mr = massa molar antosianin (sianidin-3-glukosida 449,2 gram/mol)

FP = faktor pengenceran

### 3.4.8 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan beberapa tahap, tahap pertama yaitu pembuatan larutan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) 0,5 mM. DPPH ditimbang sebesar 4,9 mg kemudian dilarutkan dengan pelarut metanol hingga volume akhirnya 25 mL. Tahap kedua yaitu pembuatan larutan sampel dan larutan kontrol. Pembuatan larutan sampel dilakukan dengan cara menambahkan larutan sampel, DPPH, dan metanol. Pembuatan larutan kontrol mirip dengan pembuatan larutan sampel, dengan larutan sampel diganti dengan pelarut sampel. Tahap ketiga yaitu larutan sampel dan larutan kontrol diukur pada panjang gelombang 517 nm. Persen aktivitas antioksidan ditentukan dengan cara:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$