

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Waktu penelitian dimulai bulan April sampai dengan September 2018. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Makanan dan Laboratorium Kimia Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia (FPMIPA UPI).

#### **3.2 Alat**

Dalam penelitian ini digunakan beberapa peralatan yaitu pisau, blender, alat-alat gelas, neraca analitik, botol kaca coklat, kertas saring, corong buchner, *freeze dryer*, *rotary evaporator vacuum*, pH meter, *magnetic stirrer*, dan spektrofotometer UV-Vis.

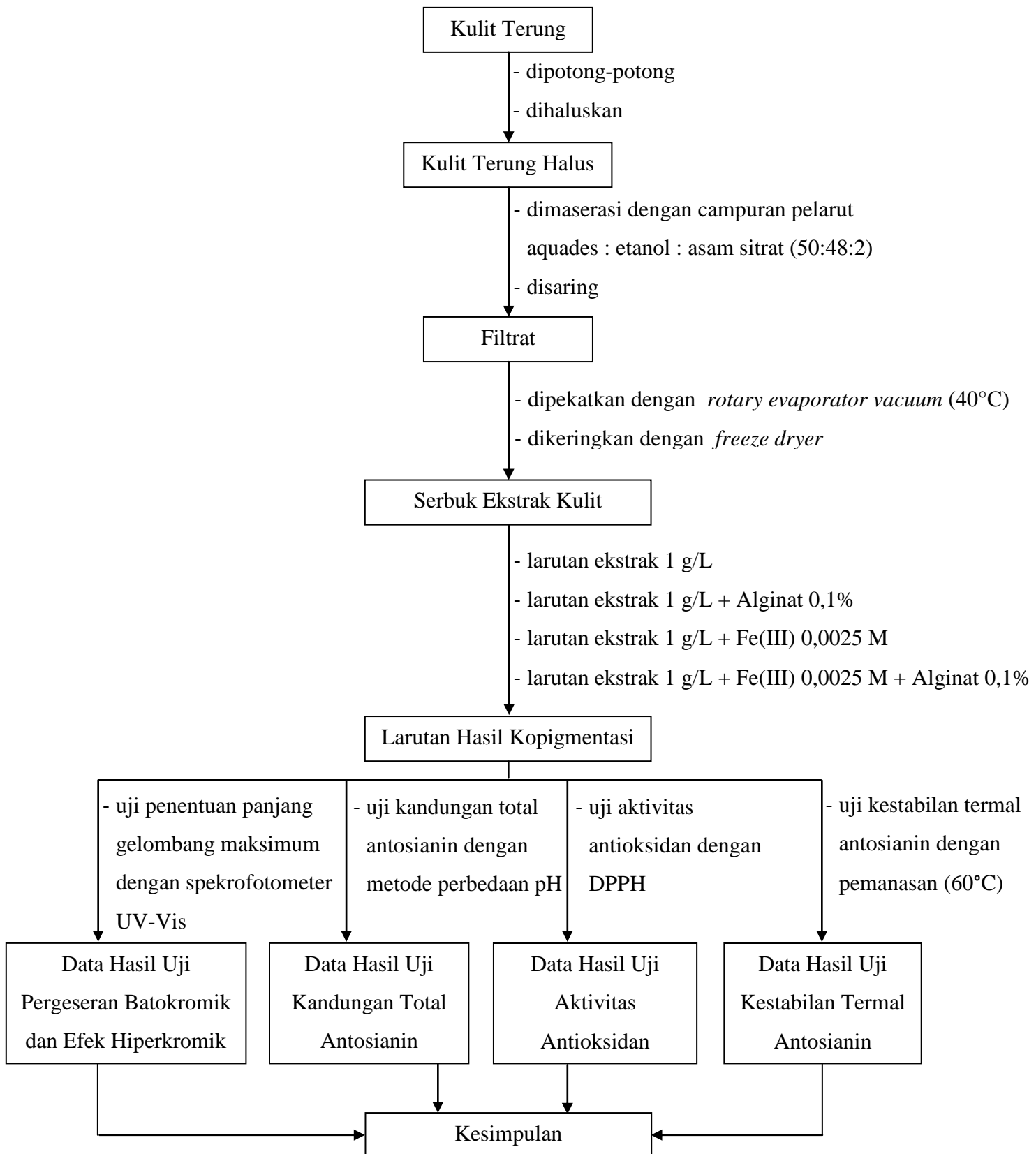
#### **3.3 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah kulit terung jepang, aquades, etanol 96%, asam sitrat 10%, buffer asetat pH 4 ( $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M dan  $\text{CH}_3\text{COONa}$  0,2 M), buffer pH 1 ( $\text{KCl}$  0,2 N dan  $\text{HCl}$  0,2 N), buffer pH 4,5 ( $\text{CH}_3\text{COONa}$  1 M dan  $\text{HCl}$  1 N),  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , alginat, DPPH, aluminium foil, dan label.

#### **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**

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

### **3.4.3 Persiapan Sampel**

Disiapkan terung jepang yang masih segar, disortasi, dan dicuci bersih. Setelah itu, terung dikupas dan diambil kulitnya. Kemudian dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan blender.

### **3.4.4 Pembuatan Ekstrak**

Pembuatan ekstrak dari kulit terung dilakukan dengan berdasarkan metode Hosseini dkk. (2016). Kulit terung yang sudah dihaluskan dimaserasi dengan campuran aquades:etanol:asam sitrat (50:48:2) sebanyak 100 mL untuk 15 g sampel. Maserasi dilakukan selama 1 jam dalam kondisi gelap. Setelah itu, disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* pada suhu 40°C. Kemudian, ekstrak pekat kulit terung dikeringkan dengan alat *freeze dryer* sampai terbentuk serbuk.

### **3.4.5 Uji Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Serbuk ekstrak kulit terung dibuat larutan ekstrak 1 g/L dalam larutan buffer pH 4. Pada larutan ekstrak dilakukan kopigmentasi dengan perbandingan volume ekstrak 1 g/L, Fe(III) 0,0025 M, alginat 0,1 %, dan larutan buffer pH 4 masing-masing yaitu 4:2:1:3, 4:3:1:2, 4:4:1:1, dengan kontrol ekstrak saja 4:0:0:6, penambahan alginat 4:0:1:5, dan penambahan variasi Fe(III) 4:2:0:4, 4:3:0:3, 4:4:0:2. Setelah itu, sampel dikocok dan dibiarkan beberapa menit. Kemudian, dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-700 nm, dengan buffer pH 4 sebagai blanko.

### 3.4.6 Uji Kandungan Total Antosianin

Uji kandungan total antosianin dilakukan berdasarkan metode perbedaan pH dari Wrolstad (1993) dengan sedikit modifikasi. Disiapkan 2 jenis larutan, larutan pertama adalah buffer pH 1 yang dibuat dari campuran larutan KCl 0,2 N dengan larutan HCl 0,2 N dan larutan buffer pH 4.5 yang terbuat dari campuran CH<sub>3</sub>COONa 1 M dengan larutan HCl 1 N. Setiap sampel larutan hasil kopigmentasi dibuat menjadi 2 larutan, yaitu masing-masing dilarutkan dengan menggunakan buffer pH 1 dan pH 4,5. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm dan 700 nm. Jika nilai absorbansi yang didapat lebih dari 1, maka sampel harus diencerkan hingga absorbansi yang didapat kurang dari satu. Perhitungan kandungan total antosianin dilakukan dengan menggunakan persamaan berikut (Hosseini, dkk. 2016):

$$A = (A_{510 \text{ nm pH } 1,0} - A_{700 \text{ nm pH } 1,0}) - (A_{510 \text{ nm pH } 4,5} - A_{700 \text{ nm pH } 4,5}) \quad (1)$$

$$\text{Antosianin} = \frac{A \times M_w \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (2)$$

Keterangan:

A = absorbansi

MW = massa molekul antosianin (449,2 g/mol)

DF = faktor pengenceran

$\epsilon$  = absorptivitas molar (26.900 L/cm mol)

$l$  = diameter kuvet (1 cm)

### 3.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan berdasarkan prosedur dari Garcia dkk. (2012) dengan modifikasi. Penentuan antioksidan ini dilakukan dengan beberapa tahapan. Pertama, yaitu pembuatan larutan DPPH 0,5 mM dengan cara melarutkan 4,9 mg DPPH menggunakan 25 mL pelarut metanol. Tahapan kedua, dibuat larutan kontrol dengan cara mencampurkan 0,3 mL larutan DPPH 0,5 mM dan 3,5 mL pelarut metanol. Tahapan ketiga, pembuatan larutan sampel yang merupakan

campuran dari 0,5 mL sampel, 0,3 mL larutan DPPH 0,5 mM, dan 3 mL pelarut metanol. Pelarut metanol digunakan sebagai blanko.

Larutan blanko, kontrol, dan sampel diinkubasi selama 100 menit. Setelah itu, diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Persentase aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan persamaan berikut (Aramwit, dkk. 2010):

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

Keterangan:

$A_0$  = absorbansi kontrol

$A_1$  = absorbansi ekstrak/standar

#### **3.4.8 Uji Kestabilan Termal**

Sampel (larutan ekstrak, ekstrak dengan penambahan Fe(III), ekstrak dengan penambahan campuran Fe(III) dan alginat) dipanaskan dengan menggunakan *waterbath* yang dijaga pada suhu 60°C. Kestabilan termal masing-masing sampel diamati dengan mengukur absorbansi setelah diinkubasi pada suhu 60°C dengan waktu yang bervariasi, yaitu 0, 5, 10, 20, 40, dan 80 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum masing-masing sampel.