

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Waktu penelitian dimulai dari bulan Maret sampai dengan September 2018. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Riset Makanan dan Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Universitas Pendidikan Indonesia.

#### 3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi neraca analitik, *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-VIS mini Shimadzu 1240, sentrifugasi, pH meter, pipet mikro, waterbath, batang pengaduk, gelas kimia, gelas ukur, labu erlenmeyer, labu ukur, pipet, tabung reaksi, dan labu dasar bulat.

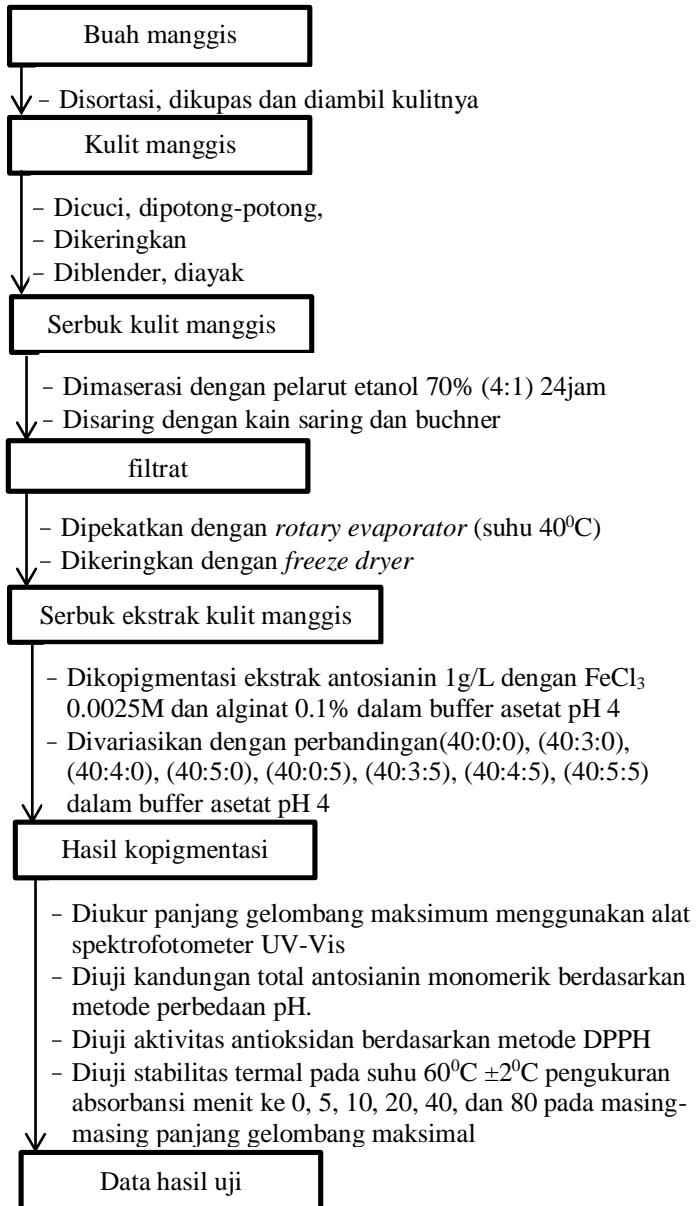
#### 3.3 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit manggis,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , alginat, aquades, etanol,  $\text{CH}_3\text{COONa}$ , asam asetat glasial, HCl, KCl, DPPH, metanol.

#### 3.4 Tahapan Penelitian

##### 3.4.1 Bagan Alir Penelitian

Bagan alir penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1:



Mutia Septiani, 2019

**KOPIGMENTASI ANTOSIANIN EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L) DENGAN CAMPURAN ION LOGAM Fe(III) DAN ALGINAT**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian

### 3.4.2 Determinasi Tumbuhan

Buah manggis yang akan digunakan untuk penelitian dilakukan determinasi terlebih dahulu di Laboraturium Struktur Tumbuhan, Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia untuk mengetahui klasifikasi dari tumbuhan yang akan digunakan.

### 3.4.3 Persiapan Sampel dan Ekstraksi Antosianin Kulit Manggis

Buah manggis yang akan digunakan untuk penelitian disortasi terlebih dahulu, kemudian dicuci bersih dan dipisahkan antara daging buah dan kulitnya. Setelah itu, kulit buah manggis dipotong kecil-kecil. Dikeringkan pada suhu rendah dan keadaan gelap. Kulit buah manggis yang sudah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk berukuran  $\pm 40$  mesh. Serbuk kulit manggis dimaserasi dengan etanol 70% (4:1) selama 24 jam. Ekstrak disaring menggunakan buchner. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan menggunakan *rotatory-evaporator* pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$ , kemudian pekatan dilakukan *freeze-drying* hingga menjadi serbuk.

### 3.4.4 Kopigmentasi

Kopigmentasi antosianin ekstrak kulit manggis dilakukan dengan campuran ion logam Fe(III) dan alginat. Serbuk ekstrak kulit manggis,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , dan alginat dilarutkan dalam buffer asetat pH 4 pada masing-masing konsentrasi yang diperlukan. Buffer asetat pH 4 terbuat dari campuran larutan natrium asetat 0,2 M dan asam asetat glasial 0,2 M. Kopigmentasi dilakukan dengan memvariasikan ekstrak antosianin kulit manggis 1g/L,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0,0025M, dan alginat 0,1% dalam buffer asetat pH 4 pada perbandingan (40:0:0), (40:3:0), (40:4:0), (40:5:0), (40:0:5), (40:3:5), (40:4:5), dan (40:5:5). Larutan hasil kopigmentasi dikocok kemudian dilakukan uji pergeseran panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dilihat efek hiperkromik dan pergeseran batokromik dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Efek hiperkromik}(\%) = \left( \frac{A_0 - A}{A_0} \right) \times 100$$

Mutia Septiani, 2019

**KOPIGMENTASI ANTOSIANIN EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L) DENGAN CAMPURAN ION LOGAM Fe(III) DAN ALGINAT**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Pergeseran batokromik =  $\Delta\lambda_{\max}$  (nm)

### 3.4.5 Uji Kandungan Total Antosianin Monomerik

Uji kandungan total antosianin monomerik dilakukan berdasarkan metode perbedaan pH dari Giusti & Wrolstad (2001) dengan sedikit modifikasi. Disiapkan 2 jenis larutan, larutan pertama adalah buffer pH 1 yang terbuat dari campuran larutan KCl 0,2 N dengan larutan HCl 0,2 N dan larutan buffer pH 4,5 yang terbuat dari campuran  $\text{CH}_3\text{COONa}$  1 M dengan larutan HCl 1 N. Dibuat 2 larutan sampel dari ekstrak antosianin kulit manggis dan larutan hasil kopigmentasi perbandingan (40:0:0), (40:3:0), (40:4:0), (40:5:0), (40:0:5), (40:3:5), (40:4:5), dan (40:5:5). Masing-masing perbandingan dilarutkan dalam buffer pH 1 dan buffer pH 4,5 kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm yaitu panjang gelombang maksimal untuk antosianin dan 700 nm untuk mengukur endapan yang ada. Perhitungan total kandungan antosianin dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Absorbansi} = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

$$\text{Kandungan Total Antosianin Monomerik} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times l}$$

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 (cm)

### 3.4.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan berdasarkan prosedur dari Gracia, dkk (2012) dengan sedikit modifikasi. Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada hasil kopigmentasi variasi (40:0:0), (40:3:0), (40:4:0), (40:5:0), (40:0:5), (40:3:5), (40:4:5), dan (40:5:5). Penentuan aktivitas antioksidan ini dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahapan pertama yaitu pembuatan larutan DPPH 0,5 mM dengan cara melarutkan 4,9 mg DPPH dengan 25 ml pelarut metanol. Tahap kedua dibuat larutan kontrol dengan cara mencampurkan 0,3 ml

Mutia Septiani, 2019

**KOPIGMENTASI ANTOSIANIN EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L) DENGAN CAMPURAN ION LOGAM Fe(III) DAN ALGINAT**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

larutan DPPH 0,5 mM dan 3,5 ml pelarut metanol. Tahapan ketiga pembuatan larutan sampel yang merupakan campuran dari 0,5 ml hasil kopigmentasi, 0,3 ml larutan DPPH 0,5 mM, dan 3 ml pelarut metanol. Larutan blanko yang digunakan adalah metanol.

Larutan blanko, kontrol, dan sampel diinkubasi selama 100 menit. Setelah itu diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Perhitungan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \frac{(A_0 - A)}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan :

$A_0$  = absorbansi kontrol

A = absorbansi sampel

### 3.4.7 Uji Stabilitas termal

Uji stabilitas termal hasil kopigmentasi didasarkan pada metode Tachibana, dkk (2014). Hasil kopigmentasi variasi (40:0:0), (40:5:0), dan (40:5:5) dilakukan pemanasan pada suhu  $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dan diukur absorbansinya pada menit ke 0, 5, 10, 20, 40, dan 80. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum masing-masing larutan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis.