

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan April sampai dengan bulan Juli 2013 di Laboratorium Kimia Riset Makanan dan Material, dan Laboratorium Kimia Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia, Jl. Dr. Setiabudhi No. 229 Bandung, serta Laboratorium Hayati, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang akan digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas, neraca analitik, panci anti lengket, saringan, thermometer, *juicer*, kain kassa, *heater*, *rotary vacuum evaporator*, dan spektrofotometer UV-Vis Mini Shimadzu 1240.

3.2.2 Bahan

Bahan utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah manggis sebanyak 440 gram yang diambil dari Desa Rajamandala, Kecamatan Cipatat, Kabupaten Bandung Barat. Bahan lainnya yang digunakan pada proses pembuatan sirup kulit buah manggis adalah gula pasir 800 gram dan air 720mL. Bahan yang akan digunakan untuk pengujian adalah aquadest, 370 mL methanol p.a, 1,2 gram serbuk Mg, 18 mL HCl pekat, 3 mL FeCl₃ 1%, 0,8 gram NaOH, 6 ml CH₃COOH glacial, 6mL H₂SO₄ pekat, 1,5 gram serbuk KCl, 7 gram serbuk CH₃COONa.3H₂O, dan 5 mg DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

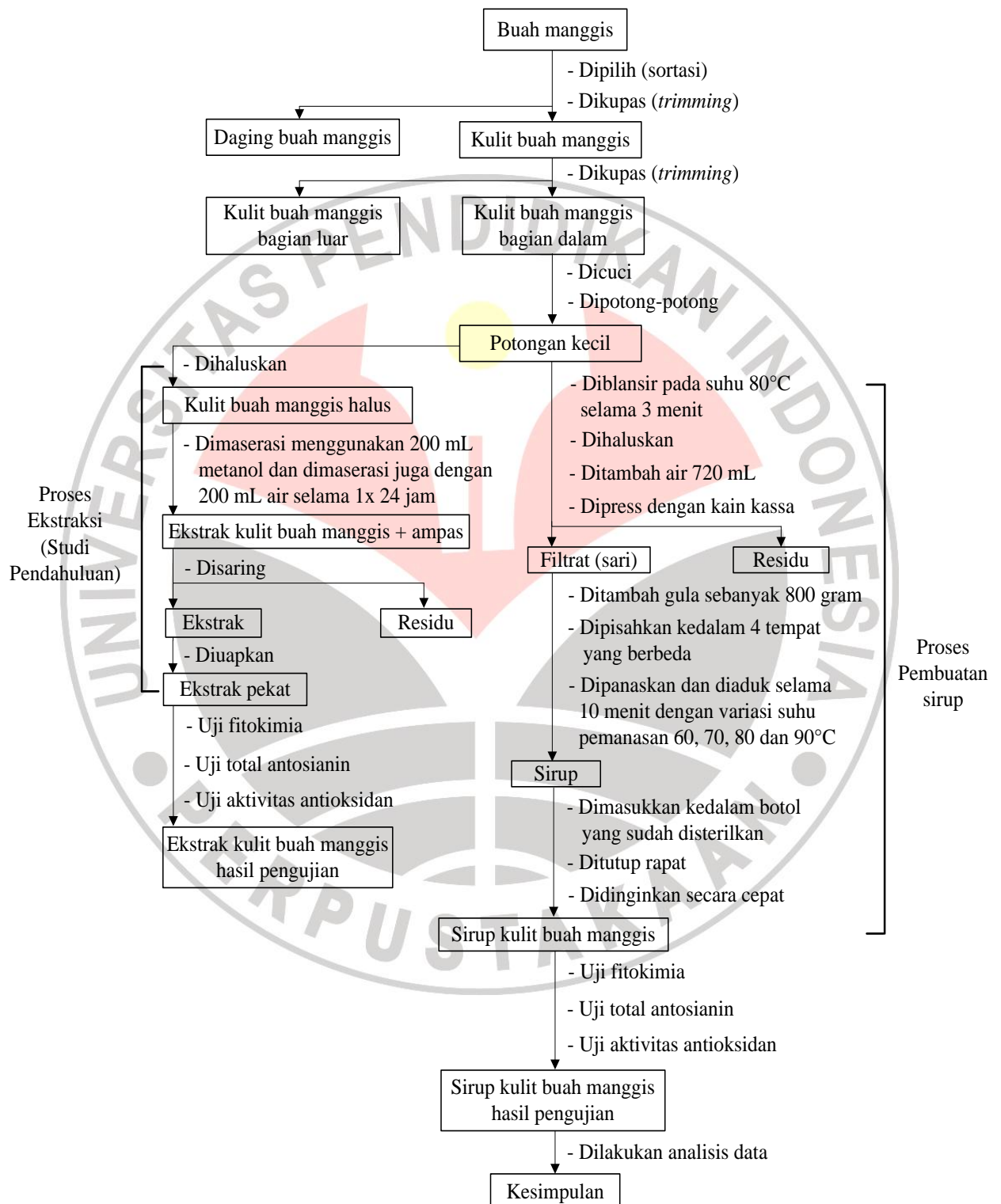
3.3 Tahapan Penelitian

Adapun tahapan penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Tahap determinasi tumbuhan manggis
2. Tahap penyiapan sampel kulit buah manggis
3. Tahap ekstraksi kulit buah manggis
4. Tahap pembuatan sirup kulit buah manggis
5. Tahap studi pendahuluan berupa uji fitokimia
6. Tahap uji total antosianin sirup kulit buah manggis menggunakan metode perbedaan pH
7. Tahap uji aktivitas antioksidan sirup kulit buah manggis menggunakan metode DPPH

3.4 Bagan Alir Penelitian

Dibawah ini merupakan bagan alir penelitian :



Gambar 3.1. Bagan Alir Penelitian

Astri Widyawati, 2014

Penentuan Aktivitas Antioksidan Sirup Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Yang Diolah Melalui Variasi Suhu Pemanasan

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

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Determinasi Tumbuhan

Sampel kulit buah manggis diperoleh dari Desa Rajamandala, Kecamatan Cipatat, Kabupaten Bandung Barat. Buah manggis yang diambil untuk penelitian merupakan buah manggis yang sudah matang.

Uji determinasi dilakukan di Laboratorium Hayati, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Determinasi ini dilakukan berdasarkan pengamatan ciri fisiologis tumbuhan untuk mengetahui klasifikasi botani tumbuhan yang diteliti.

3.5.2 Penyiapan Sampel

Buah manggis dipilih (sortasi) untuk memilih buah yang sudah matang. Setelah itu dilakukan pengupasan (*trimming*) untuk memisahkan antara buah dan kulit buah manggis, kemudian kulit buah manggis dikupas kembali untuk memisahkan bagian luar dan bagian dalam. Kulit buah manggis bagian dalam dibersihkan dengan cara dicuci dan kemudian dipotong-potong (*size reduction*) menjadi bagian yang lebih kecil.

3.5.3 Ekstraksi Kulit Buah Manggis

Kulit buah manggis yang telah dipotong-potong kecil kemudian dihaluskan sedikit demi sedikit, lalu diekstraksi dengan 2 variasi pelarut, yaitu methanol dan air. Penambahan masing-masing pelarut ini sampai semua bahan terendam, perendaman dilakukan selama 24 jam (Wiwin S, 2010). Ekstrak kulit buah manggis disaring dengan kertas saring dengan bantuan corong Buchner dan vakum. Ekstrak diuapkan dengan bantuan *rotary evaporator*. Ekstrak yang dihasilkan digunakan untuk uji fitokimia, uji total antosianin dengan metode perbedaan pH, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

3.5.4 Pembuatan Sirup Kulit Buah Manggis

Prosedur pembuatan sirup kulit buah manggis ini adalah modifikasi suhu pemanasan sirup dari prosedur pembuatan sirup jahe yang dilakukan oleh Rahayu

Astri Widyawati, 2014

Penentuan Aktivitas Antioksidan Sirup Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L.) Yang Diolah Melalui Variasi Suhu Pemanasan

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

(2010). Kulit buah manggis yang telah dipotong-potong kemudian diblansir pada suhu 80°C selama 3 menit, lalu dihaluskan dan ditambahkan air, kemudian di *press* menggunakan kain kassa, sehingga dapat dipisahkan residu dari kulit manggis dan didapatkan filtratnya (sari) (Iswari, K, 2011). Sari kulit manggis kemudian ditambahkan gula dengan perbandingan gula dan sari sebanyak 2:1. Menurut Rahayu (2010), suhu pemanasan sirup adalah 75°C dengan lama pemanasan 10 menit, sehingga pada penelitian ini sari kulit manggis yang sudah dicampur gula dipanaskan sambil diaduk dengan variasi suhu 60, 70, 80, dan 90°C selama 10 menit. Sirup kulit manggis yang masih panas langsung dimasukkan kedalam botol yang sudah disterilkan terlebih dahulu. Botol yang sudah berisi sirup ditutup rapat dan didinginkan secara cepat (Iswari, K, 2011). Sirup kulit buah manggis yang sudah jadi digunakan untuk uji fitokimia, uji total antosianin dengan metode perbedaan pH, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

3.5.5 Uji Fitokimia Ekstrak dan Sirup Kulit Buah Manggis

Sampel yaitu ekstrak kulit buah manggis dan sirup kulit buah manggis diidentifikasi komponen fitokimianya dengan metode pereaksi warna. Uji fitokimia dilakukan menggunakan metode menurut Harborne (2006). Uji fitokimia yang dilakukan adalah :

1. Pemeriksaan Antosianin

Pemeriksaan antosianin dilakukan dengan cara : ekstrak dan sirup kulit buah manggis dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl 2M dan dipanaskan 100°C selama 5 menit. Hasil positif bila timbul warna merah. Juga ditambahkan NaOH 2M tetes demi tetes sambil diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif mengandung antosianin bila timbul warna hijau biru yang memudar perlahan-lahan (Harborne, 2006).

2. Pemeriksaan xantone

Pemeriksaan xantone dilakukan dengan cara : ekstrak dan sirup kulit buah manggis dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat, kemudian dikocok hingga serbuk Mg larut. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 2006).

3. Pemeriksaan Tanin

Pemeriksaan tannin dilakukan dengan cara : ekstrak dan sirup kulit buah manggis ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Ekstrak positif mengandung tannin apabila menghasilkan warna hijau kebiruan (Harborne, 2006).

4. Pemeriksaan terpenoid dan steroid

Pemeriksaan terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara : ekstrak dan sirup kulit buah manggis dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan CH_3COOH glasial dan H_2SO_4 pekat. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya terpenoid sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan adanya steroid (Harborne, 2006).

5. Pemeriksaan Saponin

Pemeriksaan saponin dilakukan dengan cara : ekstrak dan sirup kulit buah manggis dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah air panas dan dikocok dengan cepat. Timbulnya busa yang stabil hingga lebih dari 10 menit menunjukkan adanya saponin (Harborne, 2006).

6. Pemeriksaan alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara : 1 mL ekstrak dan masing-masing sampel ditambah dengan 5 tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Mayer dan Wagner. Sampel positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan putih ketika ditambah pereaksi Mayer dan terbentuknya endapan coklat ketika ditambah pereaksi Wagner (Harborne, 2006).

3.5.6 Uji Total Antosianin Ekstrak dan Sirup Kulit Buah Manggis menggunakan Metode Perbedaan pH

Total antosianin dalam kulit buah manggis dapat diketahui melalui pengujian dengan metode perbedaan pH menurut Lee, *et al.* (2005). Caranya adalah : 5 mL ekstrak dan sirup kulit buah manggis dimasukkan dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditandabatkan dengan buffer KCl - HCl pH 1,0 dan buffer $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ - HCl pH 4,5. Setelah itu sampel diambil 1 mL dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL lalu ditandabatkan dengan larutan buffer yang sama. Larutan yang telah ditandabatkan oleh buffer kemudian diinkubasi

selama \pm 35 menit. Pemisahan endapan yang terbentuk dilakukan dengan cara sentrifugasi dan larutan didekantasi. Larutan pada kondisi pH yang berbeda tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm. Kandungan antosianin total dalam kulit buah manggis dihitung menggunakan perhitungan dengan koefisien ekstingsi molar (ϵ) sebesar 29.600 (berdasarkan koefisien ekstingsi molar dari sianidin - 3 glukosida) dan bobot molekul sebesar 449,2 sebagai berikut :

$$\text{Totalantosianin (mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l}$$

Keterangan :

A : (Abs520 nm – Abs700 nm) pH 1 – (Abs520 nm – Abs700 nm) pH 4,5

ϵ : Koefisien ekstingsi molar ($L \times mol^{-1} \times cm^{-1}$)

MW : Bobot molekul

DF : Faktor pengenceran

l : Tebal kuvet (1 cm) (Lee, *et al.*, 2005)

3.5.7 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Sirup Kulit Buah Manggis menggunakan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode menurut Biranti (2009). Sampel yang digunakan adalah ekstrak dan sirup kulit buah manggis. Untuk melakukan pengujian aktivitas antioksidan, diperlukan kurva kalibrasi DPPH. Kurva kalibrasi diperoleh dengan cara membuat larutan DPPH 100 ppm yang dibuat dengan cara melarutkan 5 mg DPPH dalam methanol pada labu ukur 50 mL, kemudian dilakukan pengenceran pada labuukur 10 mL, sehingga didapat 5 konsentrasi, yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Selanjutnya absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 514 nm.

Untuk penentuan aktivitas antioksidan ekstrak dan sirup kulit buah manggis dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL ekstrak dan sirup kulit buah manggis dimasukkan kedalam labu ukur 25mL dan ditambahkan perlarut

Astri Widyawati, 2014

Penentuan Aktivitas Antioksidan Sirup Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L.) Yang Diolah Melalui Variasi Suhu Pemanasan

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

methanol hingga tanda batas. Selanjutnya sampel tersebut dipipet sebanyak 4mL, dimasukkan dalam botol vial dan ditambah 2ml larutan DPPH 20 ppm, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Serapan larutan diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 514 nm. Blanko yang digunakan adalah metanol. Aktivitas antioksidan dapat dihitung menggunakan rumus dibawah ini :

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{AbsDPPH kontrol} - \text{Abs sisa DPPH}}{\text{AbsDPPH kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Abs DPPH kontrol : Absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel

Abs sisa DPPH : Absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan sampel

