

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2022 di Laboratorium Riset Kimia Makanan dan Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

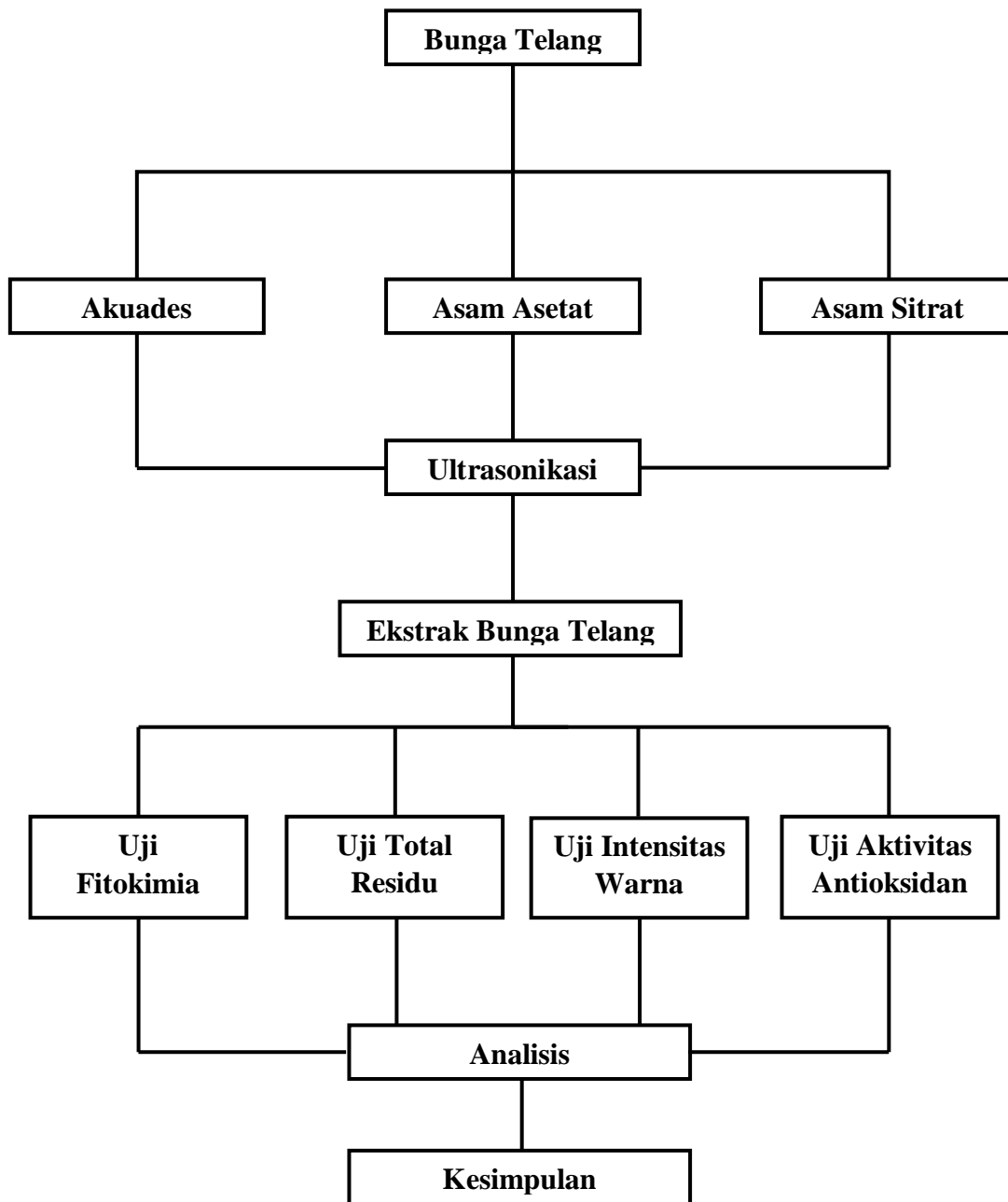
3.2.1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, neraca analitik, gelas kimia, spatula, *ultrasonic cleaner*, gelas ukur, labu takar, corong pendek, batang pengaduk, termometer, *chopper*, corong Buchner, labu Erlenmeyer, spektrofotometer UV-VIS, kuvet, tabung reaksi, penangas air, rak tabung reaksi, pipet tetes, *ball* pipet, pipet volum, pipet ukur, dan aluminium *foil*.

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga telang kering, akuades, larutan asam asetat 5%, larutan asam sitrat 5%, serbuk DPPH, metanol, etanol, larutan FeCl 5%, asam asetat glasial, H₂SO₄ pekat, klorofom, pereaksi Mayer, serbuk Mg, dan asam klorida.

3.3 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian

3.4 Cara Kerja

3.4.1. Preparasi Sampel

Bunga Telang yang digunakan diperoleh dari Jogjakarta dalam kondisi kering dan dipisahkan mahkota bunga dengan kelopak bunga.

3.4.2. Ekstraksi Bunga Telang (Modifikasi Salacheep, 2020)

Bunga telang yang diekstraksi dengan metode ultrasonikasi pada rasio sampel dan pelarut 1:40 (15 gram/150 ml) dengan suhu ekstraksi 40°C. Ekstraksi yang dilakukan menggunakan pelarut, antara lain air, asam asetat 5% (CH₃COOH), dan asam sitrat 5% pada berbagai waktu ekstraksi yaitu 30 menit, 45 menit, dan 60 menit. Setelah proses ekstraksi, ekstrak yang diperoleh disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat (ekstrak bunga) dengan residu (bunga telang).

3.4.3. Uji Intensitas Ekstrak Bunga Telang

Intensitas ekstrak bunga telang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Sampel ekstrak bunga telang diambil dan dimasukkan dalam kuvet, kemudian nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum.

3.4.4. Uji Total Residu (AOAC, 1984)

Uji total residu bertujuan untuk menunjukkan total residu yang terdapat dalam ekstrak. Ekstrak bunga telang yang telah difiltrasi dimasukkan dalam wadah kosong yang telah ditimbang, kemudian ditimbang kembali dengan ekstrak. Lalu ekstrak dalam wadah diuapkan menggunakan penangas air pada suhu 55°C hingga kihat. Setelah itu wadah beserta ekstrak kental ditimbang untuk dianalisis total residunya.

3.4.5. Uji Fitokimia Ekstrak Bunga Telang (Modifikasi Tiwari, 2011)

Uji Fitokimia merupakan suatu cara untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel. Adapun uji fitokimia terdiri atas :

1. Alkaloid

Sebanyak 1 ml atau 0,5 gram sampel ditambahkan 5 tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Mayer. Terbentuk endapan putih mengindikasikan adanya senyawa alkaloid.

2. Flavonoid

Sebanyak 1 ml atau 0,5 gram sampel ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan 10 ml HCl. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

3. Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 ml atau 0,5 gram sampel ditambahkan 1 ml CH_3COOH glacial dan 1 ml H_2SO_4 pekat. Terbentuknya warna merah mengindikasikan adanya senyawa terpenoid sedangkan terbentuknya warna biru atau ungu mengindikasikan adanya steroid.

4. Saponin

Sebanyak 1 ml atau 0,5 gram sampel ditambahkan air sampai sampel terendam, kemudian dididihkan selama 2-3 menit, didinginkan, dan dikocok. Terbentuknya busa yang terstabil mengindikasikan adanya senyawa saponin.

5. Fenolik

Sebanyak 1 ml atau 0,5 gram sampel ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 . Terbentuknya warna hitam kebiruan/ hijau mengindikasikan adanya senyawa fenolik.

6. Tanin

Sebanyak 1 ml atau 0,5 gram sampel ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Terbentuknya warna coklat kehitaman mengindikasikan adanya senyawa tanin.

3.4.6. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Telang

Pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak bunga telang dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Adapun tahapan-tahapan yang dilakukan sebagai berikut :

1. Pembuatan Larutan DPPH 0,15 mM

Serbuk DPPH 2,95 mg dilarutkan dengan metanol pro analisa kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Volume Larutan DPPH dicukupkan dengan etanol pro analisa sampai tanda batas.

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,15 mM sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 2 mL larutan etanol pro analisa dan dihomogenkan. Selanjutnya, dituang ke dalam kuvet sebanyak 3 mL dan diukur

pada panjang gelombang 400 – 800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3. Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH mengikuti prosedur Zackiyah dkk (2014). Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan kemudian ditambahkan etanol sampai tanda batas. Larutan sampel kemudian diambil sebanyak 4 mL dan ditambahkan 2 mL DPPH. Lalu larutan diinkubasi selama 30 menit kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas Antioksidan dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

4. Penentuan Nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*)

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya pada masing-masing sumbu x dan y pada persamaan regresi linier. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel dinyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀.

5. Analisis Data Statistik

Hasil penelitian pengaruh jenis pelarut dan pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap zat warna bunga telang dianalisis secara kuantitatif menggunakan Microsoft Excel. Data uji menggunakan ANOVA dengan $\alpha < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikansi.

1) Pengujian Hipotesis dan Pengambilan Keputusan

a. Hipotesis

H₀ : perlakuan tidak berpengaruh secara signifikan

H_i : perlakuan berpengaruh secara signifikan

b. Pengambilan Keputusan

Dasar pengambilan keputusan dilakukan dengan membandingkan hasil statistik

- 1). Bila $F_{\text{hitung}} < F_{\text{tabel}}$, H₀ diterima, maka perlakuan tidak berpengaruh secara signifikan.

Bila $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$, H_i diterima, maka perlakuan berpengaruh secara signifikan.