

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini melibatkan pengujian secara kualitatif dan kuantitatif. Pelaksanaannya dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu tahap penyiapan sampel, tahap uji kualitatif fitokimia, uji kualitatif vitamin C, dan tahap uji kuantitatif aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Institut Agama Islam Negeri Walisongo Semarang pada tanggal 14 April 2013 dan dilanjutkan di Laboratorium Kimia Fisika Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 15 April 2013.

C. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- | | |
|---------------------------|------------------------------------|
| 1) Neraca analitik | 8) Termometer |
| 2) Botol vial 10 mL | 9) Pemanas listrik |
| 3) Gelas ukur 10 mL | 10) Vakum <i>rotary evaporator</i> |
| 4) Corong kaca | 11) Spektrofotometer UV-Vis |
| 5) Batang pengaduk | 12) Gelas Beker 200 mL |
| 6) Labu ukur 10 dan 50 mL | 13) Tabung reaksi |

7) Pipet tetes dan pipet ukur 5 mL 14) Inkubator

2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- | | |
|--------------------------------|--|
| 1) Sari jeruk pontianak 200 mL | 6) HCl pekat 3 tetes |
| 2) Serbuk DPPH 6 mg | 7) CH ₃ COOH |
| 3) Metanol <i>p.a</i> 150 mL | 8) H ₂ SO ₄ 3 mL |
| 4) Kloroform 2 mL | 9) Benedict 2 mL |
| 5) Beberapa serbuk Mg | 10) Kertas whatman no. 42 |

D. Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu:

1. Tahap preparasi sampel jeruk siam
2. Tahap uji kualitatif fitokimia
3. Tahap uji kualitatif vitamin C
4. Tahap uji aktivitas antioksidan

Uraian dari masing-masing tahapan adalah sebagai berikut:

1. Tahap preparasi sampel jeruk siam

Jeruk siam (*Citrus nobilis* LOUR var. *microcarpa* Hassk.) dikupas, kemudian diambil buahnya untuk mendapatkan sari jeruk siam. Sari jeruk tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Selanjutnya filtrat tersebut digunakan untuk tahapan uji kualitatif (fitokimia, dan vitamin C) serta digunakan untuk

tahap uji aktivitas antioksidan. Tahapan preparasi sampel dapat dilihat pada Gambar 3.1.

2. Uji Kualitatif Fitokimia

a. Uji Kualitatif Flavonoid

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara mengambil sari jeruk sampel masing-masing sebanyak 1 mL ditambah dengan beberapa tetes HCl pekat dan beberapa butir serbuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna orange sampai merah.¹ Gambar 3.2 menunjukkan prosedur kerja uji kualitatif flavonoid.

b. Uji Kualitatif Terpenoid

Pemeriksaan terpenoid dilakukan dengan cara mengambil sari jeruk siam, ditambahkan sebanyak 5 mL CH_3COOH , 2 kloroform, dan 3 mL H_2SO_4 . Uji positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah kecoklatan.² Gambar 3.3 menunjukkan prosedur kerja uji kualitatif terpenoid.

¹ Marham Sitorus, “*Kimia Organik Umum*”, (Yogyakarta: Graha Ilmu 2010), hlm. 194

² Miranda Novindar, “Uji Aktivitas Antioksidan Sirup Berbahan Dasar Rosela (*Hibiscus Sabdariffa*)”, *Skripsi*, (Bandung: Program Strata Satu Universitas Pendidikan Indonesia, 2010), hlm 20

3. Uji Kualitatif Vitamin C

Uji Kualitatif Vitamin C dilakukan dengan cara menambahkan pelarut benedict pada sari jeruk, setelah itu dipanaskan selama 5 menit. Uji positif ditandai dengan terbentuknya endapan merah bata. Gambar 3.4 menunjukkan prosedur kerja uji kualitatif Vitamin C.

4. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Kurva Standar Larutan DPPH

Pada tahap awal pengujian dibuat terlebih dahulu kurva kalibrasi untuk larutan DPPH. Sebanyak 5 mg DPPH dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan dengan pelarut metanol hingga tanda batas.

Larutan DPPH yang dibuat memiliki konsentrasi 100 ppm, kemudian diambil sejumlah larutan DPPH tersebut dan dilakukan pengenceran dalam labu ukur 10 mL sehingga didapat variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm. Gambar 3.5 menunjukkan prosedur kerja pembuatan kurva standar larutan DPPH.

b. Pembuatan Larutan DPPH

Untuk pembuatan larutan DPPH yang akan digunakan sebagai pereaksi pada sampel, diambil sebanyak 1 mg DPPH dilarutkan menggunakan metanol kedalam labu ukur 50 ml hingga tanda batas, sehingga konsentrasi DPPH yang digunakan adalah 20 ppm.

Gambar 3.6 menunjukkan prosedur kerja pembuatan larutan DPPH.

c. Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Sari Jeruk

Untuk uji aktivitas antioksidan pada sari jeruk, pertama-tama diambil sebanyak 4 mL sari jeruk siam dimasukkan dalam botol vial, ditambahkan 2 mL larutan DPPH dalam metanol, kemudian campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Campuran yang telah diinkubasi dimasukkan dalam kuvet dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Prosedur kerja pengujian aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 3.7

Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus:

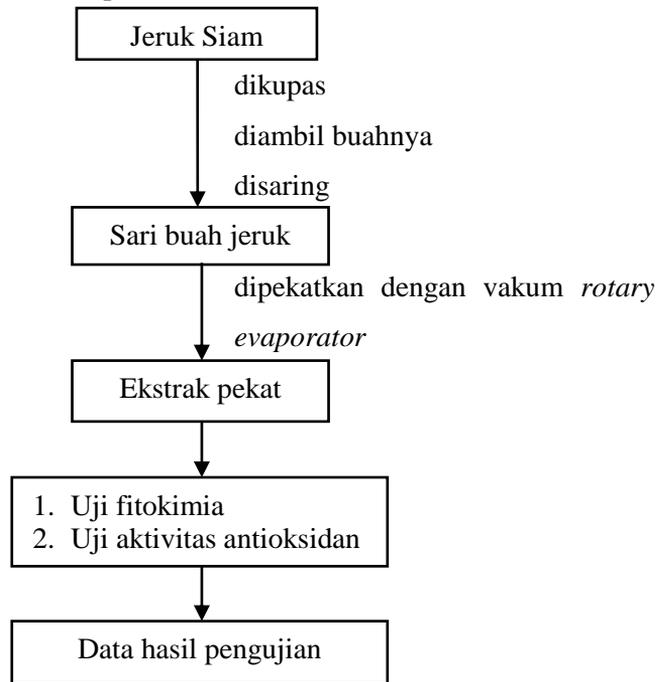
$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Abs DPPH kontrol} - \text{Abs DPPH sisa}}{\text{Abs DPPH kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs DPPH kontrol = Absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel.

Abs sisa DPPH = Absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan sampel.

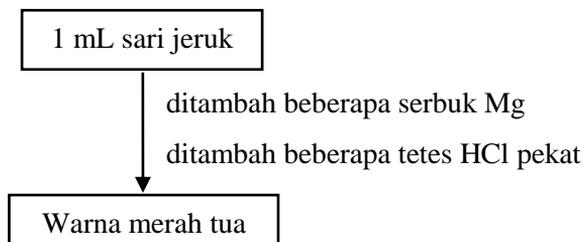
1. Tahap Preparasi Sampel Jeruk Siam



Gambar 3.1 Preparasi Sampel

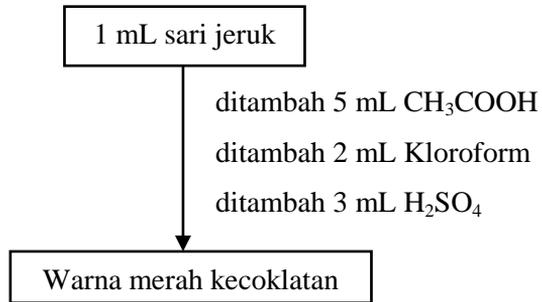
2. Tahap Uji Kualitatif Fitokimia

a. Uji Kualitatif Flavonoid



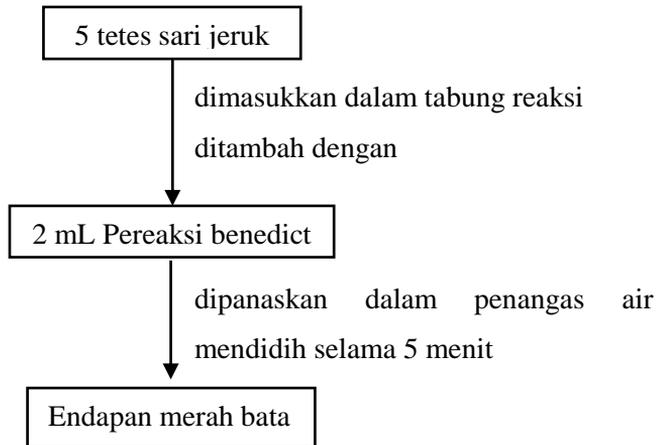
Gambar 3.2 Uji Kualitatif Flavonoid

b. Uji Kualitatif Terpenoid



Gambar 3.3 Uji Kualitatif Terpenoid

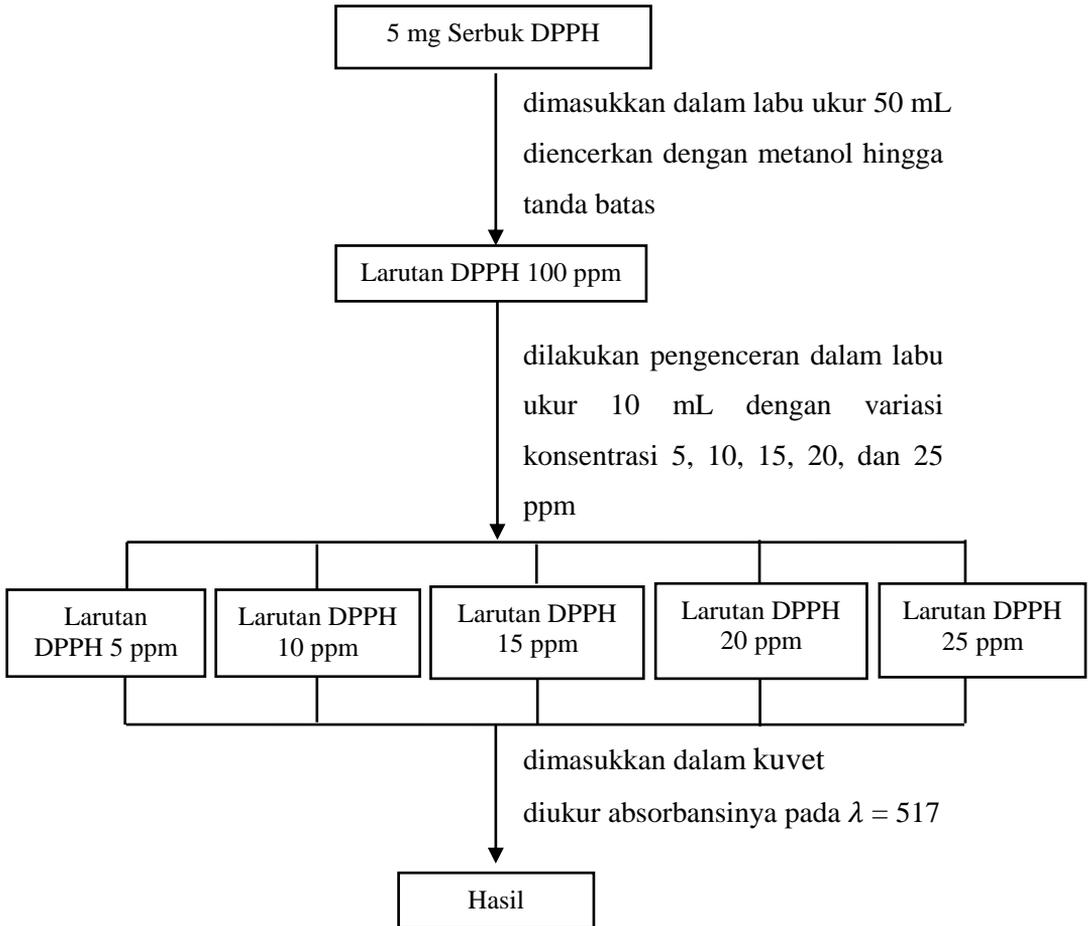
3. Tahap Uji Kualitatif Vitamin C



Gambar 3.4 Uji Kualitatif Vitamin C

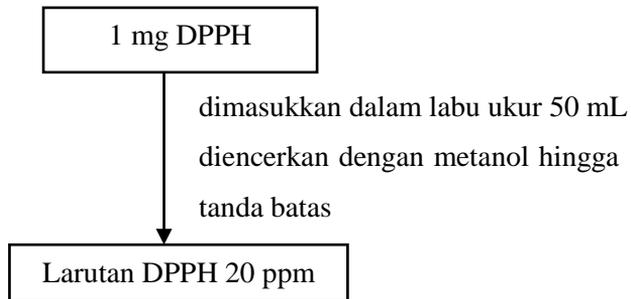
4. Tahap Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Kurva Standar Larutan DPPH



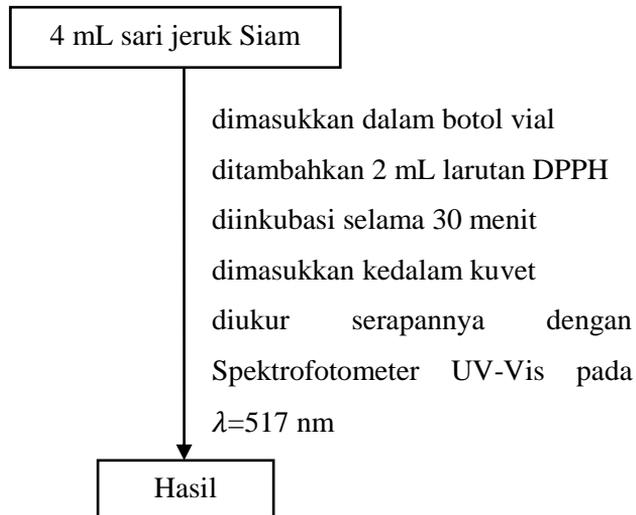
Gambar 3.5 Pembuatan Kurva Standar Larutan DPPH

b. Pembuatan Larutan DPPH



Gambar 3.6 Prosedur kerja pembuatan larutan DPPH

c. Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Sari Jeruk Siam



Gambar 3.7 Uji Aktivitas Antioksidan Sari Jeruk