

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam waktu 6 bulan terhitung dari bulan Januari sampai Maret untuk tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific 33-PPPTS2017-L205-0006*), Neraca Analitik (*ae-ADAM*), plat KLT (*TLC Silica gel 60 F₂₅₄ MERCK 1.05554.0001*), Chamber, Lampu UV, Pipa Kapiler, *Rotary Evaporator* (*EYELA OSB-2100-CE*), Pinset, Vial coklat, Penggaris, Pensil, dan alat-alat yang lazim digunakan di laboratorium.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekstrak Buah stroberi dengan pelarut metanol p.a (*Emsure*), Aluminium foil, Aquadest, Vitamin C p.a (*Coated Ascorbic Acid Type Ec, Code 0425117, Analysis 06202961*), DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) D9132-16, Metanol p.a (*MERCK*), Kloroform p.a (*MERCK*), Aceton (1090), Asam Formiat (*MERCK*).

3.3 Ekstraksi

Sampel diekstraksi dengan pelarut metanol p.a dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan 3 kali pengulangan. Hasil dari ekstraksi berupa ekstrak cair. Ekstrak cair selanjutnya dikentalkan dengan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut yang terkandung di dalam ekstrak cair.

3.4 Skrining Fitokimia

1. Uji Antosianin

Sebanyak 5 mL larutan sampel ditambahkan HCl 2M lalu dipanaskan selama 5 menit dan diamati perubahan warna pada larutan sampel tersebut. Hasil uji positif akan terjadi perubahan warna menjadi merah (Wijayanti, 2016).

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 5 mL larutan sampel ditambahkan serbuk Mg sesepora, kemudian ditambahkan 3 mL HCl 2N dan amil alkohol lalu dikocok. Diamati perubahan warna. Jika terjadi perubahan warna dan tertarik oleh amil alkohol maka positif mengandung flavonoid.

1. Uji Polifenol

Sebanyak 5 mL larutan sampel dalam tabung reaksi ditambahkan FeCl_3 sebanyak 3 sampai 5 tetes, diamati warna yang terjadi. Jika timbul warna biru-merah-hitam, maka positif mengandung senyawa fenolik.

2. Uji Terpenoid

Sebanyak 2 mL larutan sampel dalam tabung reaksi ditambahkan 2 mL kloroform dan 3 mL H_2SO_4 pekat kemudian diamati reaksi yang terjadi. Hasil positif mengandung senyawa terpenoid menunjukkan warna merah kecoklatan.

3. Uji Kuinon

Sebanyak 5 mL larutan sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan larutan KOH 5% dan amoniak sebanyak 3 sampai 5 tetes kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Jika menunjukkan perubahan warna menjadi merah maka positif mengandung senyawa kuinon.

3.5 Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Stroberi Menggunakan KLT

Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Stroberi dengan KLT menggunakan fase gerak kloroform, aseton, asam asetat dan asam formiat (10 : 13 : 1 : 1). Untuk mengetahui bercak mana yang memiliki aktivitas antioksidan, maka digunakan pereaksi semprot yaitu larutan DPPH 0,2 %, senyawa yang dinyatakan dapat menangkal radikal bebas ditandai dengan menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu.

3.6 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Stroberi Dengan Metode DPPH Menggunakan Spektro UV-VIS

Ekstrak Buah Stroberi diuji aktivitas antioksidan dengan metode Blois. Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi dengan beberapa konsentrasi yaitu 50, 70, 90, 130 dan 200 ppm. Pembanding yang digunakan yaitu vitamin C dengan konsentrasi 2,4,6,8, dan 10 ppm.

3.7 Penghitungan Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan presentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorban blanko-sampel}}{\text{absorban blanko}} \times 100\%$$

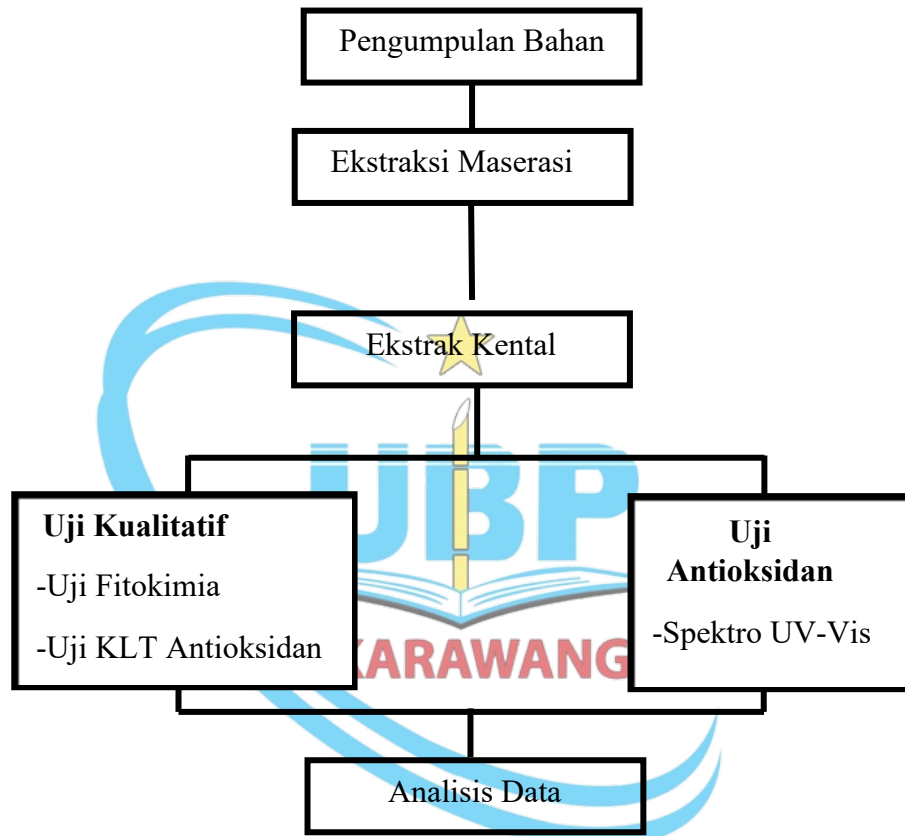
Setelah didapatkan presentasi inhibisi dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan $y = a + bx$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) dan y adalah presentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration* 50% (IC_{50}).

IC_{50} yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$. Dari persamaan $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC_{50}

dengan menggunakan rumus :

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

3.8 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian