

BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2022 s/d Agustus 2022 dan dilaksanakan di Kecamatan Marbau Kabupaten Labuhan Batu Utara, Selanjutnya di uji di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Sumatera Utara Medan.

Tabel 3.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No	Rancangan Kegiatan	Bulan															
		Januari				Februari				Maret				April			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2		
1.	Persiapan																
	a. Observasi																
	b. Identifikasi																
	c. Pengajuan judul																
	d. Bimbingan proposal																
2.	Pelaksanaan																
	a. Seminar proposal																

3.2 Alat Dan Bahan

3.2.1 Alat

Ada beberapa alat yang telah digunakan dalam penelitian ini yaitu kantong plastik, kamera, belender, beaker gelas, gelas ukur, pipet tetes, mikropipet, labu tentukur, timbangan, kaca arloji, corong, kertas saring, spatula dan alat spektrofometri Uv-Vis.

3.2.2 Bahan

Bahan yang telah digunakan dalam penelitian ini berupa buah segar dari tanaman jambu biji merah (*Psidium guajava* L.), minuman dalam kemasan, aquades, metanol, dan larutan/serbuk DPPH.

3.3 Metode Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan metode kuantitatif pada radikal bebas DPPH. Tujuan dari metode ini adalah untuk menemukan parameter konsentrasi yang setara dengan memberikan efek IC₅₀ 50%. DPPH akan memberikan serapan yang kuat jika terdapat elektron yang tidak berpasangan, tetapi jika terdapat elektron yang berpasangan, absorbansi yang dihasilkan akan menurun atau rendah. Tetapi Dpph ungu akan berubah menjadi kuning oranye jika ada antioksidan pada buah.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Larutan Vitamin C

Bahan tanaman yang dipergunakan kali ini dalam penelitian saya yaitu buah jambu biji merah (*Psidium guajava* L.) yang masih segar dan buah jambu biji merah dalam kemasan. Buah pada jambu biji merah (*Psidium guajava* L.) dibersihkan dari kotoran yang melekat pada buah menggunakan air mengalir, lalu dihaluskan bahan tersebut dengan menggunakan belender.

Larutan vitamin C lalu ditimbang diatas timbangan digital dengan berat sebanyak 10 mg, setelah itu dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml yang ditelah ditutupi dengan alumunium foil, selanjutnya diberi cairan berupa akuades sampai terlihat tanda batas lalu dihomogenkan sehingga di temukan konsentrasi sebesar 100 ppm.

Ada beberapa tahapan-tahapan dalam pembuatan larutan Vitamin C sebagai berikut:

1. Pembuatan Larutan Kurva Kalibrasi

Diukur absorbansi larutan kurva kalibrasi untuk 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm dengan memipet larutan vitamin C 100 ppm ke labu ukur 5 mililiter yang dibungkus dengan aluminium foil masing-masing 0,1 mililiter, 0,2 mililiter, 0,3 mililiter, 0,4 mililiter, dan 0,5 mililiter. Selanjutnya, akuades ditambahkan hingga tanda batas dan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm dihomogenkan.

2. Penentuan Panjang Gelombang Vitamin C

Setelah larutan kurva kalibrasi dengan konsentrasi 2 ppm diekstraksi dan dimasukkan ke dalam kuvet, panjang gelombang diukur dengan blanko akuades. pada 200-400 Hz..

3. Penentuan Kadar Vitamin C pada Buah Jambu Biji Merah dan Produk Olahan Jambu Biji Merah

Untuk mendapatkan sari buah jambu biji, buah jambu dihaluskan terlebih dahulu sebelum disaring. 100 mg sari buah ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mililiter. Setelah itu, ditambahkan akuades hingga ada tanda batas dan digabungkan secara homogen. Setelah larutan sampel dimasukkan ke dalam kuvet, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Selanjutnya, kadar vitamin C dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi ke dalam persamaan regresi linear.

3.4.2 Pembuatan Larutan Antioksidan DPPH

Ditimbang 10 mg serbuk DPPH dengan methanol hingga 50 ml, dan larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm dihasilkan.

1. Pembuatan Larutan Uji Buah Jambu biji merah

Ditimbang 100 mg ekstrak kental dan dicampur dengan akuades hingga 10 ml, larutan dengan konsentrasi 1000 ppm dihasilkan. Diambil 0,0125 mL, 0,0025 mL, 0,05 mL, 0,1 mL, dan 0,2 mL dari larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian, pada masing-masing konsentrasi, ditambahkan 1 mililiter larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm, dan ditambahkan dengan methanol hingga

batas tanda (labu tentukur 5 mL). Setelah diinkubasi selama 30 menit, absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 515 nm.

2. Pengukuran Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Dipipet larutan baku dpph 1 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL, dan kemudian ditambahkan metanol sampai batas tanda sehingga larutan memiliki konsentrasi 40 ppm. Panjang gelombang maksimum diukur dengan spektrofotometer UV-Vis (400 nm–800 nm). Hasilnya adalah 515 nm.

3. Penentuan Proses Pemerangkapan Radikal bebas DPPH

Metode pemerangkapan radikal bebas DPPH digunakan untuk menentukan proses pemerangkapan radikal bebas sampel uji. Proses ini dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Aktivitas Perendaman (\%)} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{abs.sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100 \%$$

Keterangan: Abs. kontrol = Absorbansi tidak mengandung sampel

Abs. sampel = Absorbansi sampel

4. Perhitungan Nilai IC₅₀

Sebanyak 100 mg dan dilarutkan hingga 10 ml dengan akuades untuk menghasilkan larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Diambil 0,0125 mL, 0,0025 mL, 0,05 mL, 0,1 mL, dan 0,2 mL larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian, pada masing-masing konsentrasi, ditambahkan 1 ml larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm, dan ditambahkan dengan methanol hingga batas tanda (labu tentukur 5 mL). Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 515 nm setelah diinkubasi selama 30 menit.

Secara umum, nilai IC₅₀ digunakan untuk menggambarkan kemampuan antioksidan suatu senyawa. Nilai IC₅₀ yang lebih rendah menunjukkan kemampuan antioksidan yang lebih besar. Tabel berikut menunjukkan salah satu penggolongan tingkat aktivitas antioksidan;

Tabel 3.2 Penggolongan Tingkat Aktivitas Antioksidan (Himawan, 2020).

Intensitas Antioksidan	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)
Sangat kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	100-250
Lemah	250-500
Tidak aktif	>500



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
SUMATERA UTARA MEDAN