

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, steroid, dan tanin pada buah sirsak gunung dan minuman probiotik dari buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*). Metode penelitian ini menggunakan uji metabolit sekunder analisa kualitatif dengan metode skrining fitokimia dari fermentasi buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*).

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini mengenai tahap persiapan, tahap pelaksanaan, dan tahap akhir. Pada tahap persiapan yaitu determinasi tanaman dan membuat produk minuman probiotik dari buah *Annona Montana Macf.* pada tahap pelaksanaan yaitu menguji metabolit sekunder dari buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) dan minuman probiotik *Annona Montana Macf.* Pada tahap akhir yaitu mengumpulkan data hasil penelitian tersebut.

3.2 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah minuman probiotik dari buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*). sampel dalam penelitian ini adalah sebagian minuman probiotik dari buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) yang akan diuji metabolit sekundernya.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pemanenan buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) dan Pembuatan minuman hasil fermentasi buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) dan pengujian metabolit sekunder yang dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai Maret 2021.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Variabel dalam penelitian ini adalah metabolisme sekunder buah sirsak gunung (*annona Montana Macf.*) dan minuman probiotik buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*).

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Subvariabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Minuman probiotik sirsak gunung (<i>Annona montana macf.</i>)	-	Minuman hasil fermentasi buah sirsak gunung yang mengandung sejumlah bakteri probiotik	Visual	Bau khas	Nominal
Metabolit sekunder pada minuman probiotik sirsak gunung (<i>Annona Montana macf.</i>)		Suatu senyawa hasil metabolisme proses fermentasi minuman probiotik sirsak gunung.	Visual	Terjadi perubahan warna	Nominal
	Flavonoid	senyawa golongan polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 ,	Visual.	Merah atau jingga	Nominal
	Terpenoid	senyawa turunan lipid yang tidak terhidrolisis	Visual	Cincin merah kecoklatan	Nominal

	Alkaloid	senyawa dasar yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dan biasanya sistem siklik. golongan metabolit sekunder dijumpai pada sebagian besar golongan tumbuhan.	Visual	Terjadi adanya endapan	Nominal
	Saponin	mempunyai senyawa aktif permukaan yang bersifat seperti sabun yaitu pada saat diguncang akan menghasilkan buih / busa karena terbentuknya larutan koloidal dalam air.	Visual	Terjadi adanya busa	Nominal
	Tanin	Senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan.	Visual	Hijau kehitaman	Nominal

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass 100 mL dan 400 mL, gelas ukur 10 mL dan 100 mL, timbangan analitik, pipet tetes, tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, batang pengaduk, erlenmeyer, corong gelas, kertas saring, aluminium foil.

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*), gula sukrosa untuk pembuatan minuman. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, HCl pekat, serbuk Mg, pereaksi Lieberman-Buchard, larutan H₂SO₄ pekat kloroform, etanol.

3.6 Prosedur Penelitian

Beberapa tahap yang perlu dilakukan untuk memperoleh data dalam pengujian metabolit sekunder flavonoid, terpenoid pada minuman probiotik dari buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) adalah sebagai berikut:

3.6.1 Preparasi buah sirsak gunung (Fidyasari, 2017)

1. Dipanen buah sirsak gunung yang sudah matang.
2. Dilakukan sortasi pada buah sirsak gunung.
3. Dilakukan pencucian buah sirsak gunung.
4. Dipisahkan daging buah dengan bijinya.

3.6.2 Pembuatan Minuman Probiotik Buah Sirsak Gunung (*Annona Montana Macf.*) (Fidyasari, 2017)

1. Ditimbang daging buah yang telah terpisah dari bijinya sebanyak ± 100 g
2. Dimasukkan kedalam blender dan ditambahkan air 200 mL
3. Diambil sari menggunakan kain saring.

3.6.3 Fermentasi Minuman Probiotik Sari Buah Sirsak Gunung
(*Annona Montana Macf.*) (Fidyasari, 2017)

1. Disiapkan sari buah sisak gunung sebanyak 200 mL
2. Dimasukkan dalam dalam panci kemudian dilakukan proses pasteurisasi dengan suhu 72⁰C selama 15 menit
3. Ditambahkan gula sebanyak 7 gram kedalam panci yang berisi sari sirsak gunung
4. Dimasukan starter bakteri *Lactobacillus casei* subsp 65 mL
5. Diinkubasi pada suhu 37⁰C dalam inkubator selama 24 jam.

3.6.4 Uji Metabolit Sekunder metode Skrining Fitokimia

Analisis fitokimia merupakan pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan memberi gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia yang dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Jones dan Kinghorn, 2006).

3.6.4.1 Uji Alkaloid (Jones dan Kinghorn, 2006).

1. Minuman Probiotik dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N
2. Dibagi ke dalam 3 tabung reaksi
3. Ditambahkan pereaksi Dragendorff ± 1 mL ke dalam tabung reaksi 1, positif jika berwarna merah/jingga
4. Ditambahkan pereaksi Wagner ± 1 mL ke dalam tabung reaksi 2, positif jika berbentuk endapan coklat
5. Ditambahkan pereaksi Mayer ± 1 mL ke dalam tabung reaksi 3, positif jika terbentuk endapan putih

3.6.4.2 Uji Flavonoid (Jones dan Kinghorn, 2006).

1. Minuman Probiotik diarutkan dalam aquades, dipanaskan selama 5 menit, disaring
2. Filtrat ditambahkan serbuk magnesium 500 mg, 1 mL HCl pekat
3. Positif jika terbentuk warna merah atau jingga

3.6.4.3 Uji Terpenoid dan steroid (Jones dan Kinghorn, 2006).

1. Minuman Probiotik dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform
2. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi
3. Ditetesi dengan pereaksi Liebermen-Bouchard
4. Ditetesi dengan larutan H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung reaksi
5. Positif steroid jika terbentuk warna hijau kebiruan
6. Positif terpenoid jika terbentuk cincin merah.

3.6.4.4 Uji Saponin (Jones dan Kinghorn, 2006).

1. Minuman Probiotik dilarutkan dalam aquades kemudian dipanaskan
2. Didinginkan sebentar kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi
3. Dikocok selama 10 detik, diamati busa yang terbentuk
4. Ditambahkan 2 tetes HCl 2N
5. Positif jika busa stabil setinggi 1-10 cm selama 10 menit

3.6.4.5 Uji Tanin (Jones dan Kinghorn, 2006).

4. Minuman Probiotik dilarutkan dengan etanol 70%
5. Ditetesi 2 mL asam asetat 10% dan 1 mL larutan Pb asetat 10%
6. Ditunggu 5 menit
7. Positif jika ada endapan

3.7 Analisis Data

Analisis data yang dilakukan secara deskriptif, yaitu dengan cara menyimpulkan hasil data yang diperoleh dalam mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder pada buah sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*).