

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Jenis penelitian ini yang akan dilakukan adalah jenis penelitian eksperimental.

B. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada April 2020 dan dilakukan pada laboratorium PT Balatif, jalan telaga tengah No. 5 kota malang.

C. Alat dan bahan penelitian

1. Alat-alat penelitian

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik Balance kern ABJ 220 - 40NM, pisau, pH meter Toledo, batang pengaduk, kaca arloji Supertek 10 mm, pipet volume Iwaki 1 ml, pipet tetes, beaker glass Iwaki 500 ml, Spektrofotometri UV-Vis Shimadzu.

2. Bahan-bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel ikan laut yang dibeli di pasar tradisional kota Kediri, jantung pisang *cavendish* yang didapat di kota Kediri, aquadest, Merck kalium clorida, Merck etanol 96% pa, larutan asam Merck HCL 37% dan basa Merck NaOH.

D. Populasi dan sampling

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah kadar antosianin dalam jantung pisang jenis *cavendish*, yang diperoleh di desa kota Kediri. Dikarenakan tanaman pisang jenis *cavendish* banyak ditemui kota Kediri dan jantung pisang *cavendish* kurang di manfaatkan.

2. Sampel penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah ikan laut yang dijual di pasar tradisional kota Kediri dengan ketentuan tingkat kesegaran tertentu. Metode sampling pada penelitian ini adalah purposive sampling, karena melakukan pengambilan sampling dengan ketentuan yang sudah

ditetapkan dan agar hasil yang diperoleh sesuai dengan tujuan penelitian.

E. Variabel penelitian

1. Variabel bebas

Pada penelitian ini variabel bebas yang digunakan adalah jantung pisang jenis Cavendish yang diketahui memiliki kandungan antosianin

2. Variabel terikat

Pada penelitian ini variabel terikat adalah kadar antosianin yang didapatkan dan kadar pH sampel ikan laut yang dipengaruhi dengan lama penyimpanan.

F. Devinisi operasioal variabel

Tabel 3. 1 Devinisi operasional variabel

Variabel	Devinisi	Cara ukur	Hasil ukur
Jantung pisang jrenis <i>cavendish</i> .	Jantung pisang adalah bunga dari pohon pisang yang mana jantung pisang memiliki kandungan antosianin yang dapat dimanfaatkan.	Ditimbang menggunakan neraca analitik.	Massa
Kadar antosianin dan kadar pH pada ikan terhadap lama penyimpanan.	Kadar pH pada ikan adalah salah satu indikator tiingkat kesegaran pada ikan.	Sampel ditambahkan ekstrak antosianin dan diamati perubahan warna yang didapatkan. Kemudian di ukur hasil perubahan	Kadar antosianin, warna dan kadar pH.

	Antosianin adalah pigmen warna pada tumbuhan yang di manfaatkan sebagai indikator perubahan warna pada tingkat kesegaran ikan tuna.	warna menggunakan pH meter. Diukur kadar antosinanan menggunakan spektrofotometer UV-VIS.	
--	---	---	--

G. Metode penelitian

1. Pembuatan ekstrak jantung pisang Cavendish

Jantung pisang disiapkan dibersihkan kulit luarnya dengan cara dilap sampai bersih, dipotong kecil-kecil dikeringkan dan dihaluskan. Disiapkan 50 gram simplisia dan dilakukan maserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan (1:5)(b/v) dan di sonikasi selama 60 menit. (Yusuf, 2018).

2. Pembuatan buffer pH 1 dan pH 4,5

Pembuatan buffer pH 1 dengan cara melarutkan 1,49 g KCl dalam 100 ml aquadest, selanjutnya diatur pH dengan HCl sampai $1 \pm 0,1$. Kemudian untuk larutan buffer pH 4,5 dengan cara melarutkan 1,64 gram natrium asetat ke dalam 100 ml aquadest, selanjutnya diatur pH menggunakan HCl pekat sampai $pH 4,5 \pm 0,1$ (Lydia, 2009).

3. Pembuatan larutan pH 1-14

Pembuatan pH 1 dilakukan dengan cara menyiapkan HCL pekat 75 ml dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan dengan aquades sampai tanda batas, uji pH larutan menggunakan pH meter. Pembuatan pH 2 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 1 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH

menggunakan pH meter. Pembuatan pH 3 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 2 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH menggunakan pH meter. Pembuatan pH 4 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 3 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH menggunakan pH meter. Pembuatan pH 5 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 4 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH menggunakan pH meter. Pembuatan pH 6 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 5 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH menggunakan pH meter. Untuk larutan pH 7 diambil dari larutan aquades yang telah diuji kandungannya. Pembuatan larutan pH 14 dilakukan dengan cara menimbang kristal NaOH sebanyak 0,4 gram, dilarutkan dengan sedikit aquades kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml, ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH menggunakan pH meter.

Pembuatan pH 13 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 14 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH menggunakan pH meter. Pembuatan pH 12 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 13 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH menggunakan pH meter. Pembuatan pH 11 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 12 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH menggunakan pH meter. Pembuatan pH 10 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 11 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH

menggunakan pH meter. Pembuatan pH 9 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 10 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH menggunakan pH meter. Pembuatan pH 8 dilakukan dengan cara mengambil 1 ml pH 9 yang telah dibuat dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan kedalam 10 ml labu takar dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, uji pH menggunakan pH meter (Indira, 2015).

4. Penentuan total antosianin

Untuk menguji indikator alami yang didapatkan, disiapkan larutan uji dengan pH 1 – 14. Larutan uji berguna untuk membuktikan perubahan warna dari indikator bahan alam (Indria, 2015). Penentuan total kadar antosianin menggunakan metode pH differential, berdasarkan perubahan struktur kromofor antosianin antara pH 1 dan 4,5. Perlakuan yang pertama disiapkan sampel sebanyak 1 ml dan dencerkan menggunakan larutan buffer pH 1 dan pH 4,5 dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Kemudian absorbansi sampel pada kedua perlakuan pH dengan diukur menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm (Raharjo dkk, 2015). Kemudian setelah data absorbansi didapatkan dimasukkan kedalam rumus perhitungan kadar total antosianin.

5. Pengujian pH pada ikan

Disiapkan sampel ikan laut dengan variasi lama penyimpanan 1 hari, 2 hari, 4 hari, 6 hari dan 8 hari dalam suhu dingin. Kemudian setiap sampel diambil sebanyak 2 gram untuk dihaluskan. Selanjutnya setiap sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan diberi label. Kemudian setiap sampel di tetesi larutan ekstrak antosianin yang didapat. Diamati perubahan warna yang terjadi dan diukur hasil pengamatan dengan menggunakan pH meter.

H. Pengolahan penyajian dan analisis data

Data yang didapatkan pada penelitian ini adalah kadar pH yang didapatkan pada variasi lama penyimpanan sampel. Data diperoleh dengan cara

mengamati perubahan warna yang didapatkan pada variasi lama penyimpanan pada sampel ikan laut. Kemudian perubahan warna yang didapatkan dibandingkan dengan perubahan warna pada larutan pH 1-14 untuk mengetahui kadar pH pada sampel.

Tabel 3. 2 Penyajian data

No	Lama penyimpanan	Warna	pH

Kemudian untuk mengetahui kadar total antosianin dalam ekstrak jantung pisang *cavendish*, data absorbansi ekstrak antosianin yang didapatkan, dimasukkan kedalam rumus perhitungan kadar total antosianin dengan penyajian data sebagai berikut :

$$A = [(A_{500} - A_{700})_{pH\ 1} - (A_{500} - A_{700})_{pH\ 4,5}]$$

Keterangan :

A₅₀₀ = absorbansi panjang gelombang 500 nm

A₇₀₀ = absorbansi panjang gelombang 700 nm

Kandungan antosianin total dihitung dengan rumus :

$$\% \frac{b}{b} = \frac{A}{(\epsilon x L)} \times MW \times DF \times \frac{V}{WT} \times 100\%$$

Keterangan :

%b/b = kandungan antosianin dalam %

ϵ = koefisien ekstingsi molar sianidin-3-rutinosida = 28.800 L/cm. mol

L = lebar kuvet (1 cm)

- MW = berat molekul sianidin-3-rutinosida = 445,2 g/mol
DF = factor pengenceran
V = volume akhir/volume ekstrak pigmen (L)
WT = berat sampel (g)