

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental.

3.1.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilaksanakan sekitar bulan Mei-juni 2022 mulai dari tahap persiapan hingga tahap penelitian dan analisis data

3.1.2 Lokasi Penelitian

Lokasi pengambilan sampel dilakukan di wilayah Lowokwaru Malang, kemudian sampel diteliti di laboratorium Poltekkes Kemenkes Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik Balance kern ABJ 22040NM, pH meter Toledo, batang pengaduk, kaca arloji Supertek 10mm, pipet ukur Iwaki 10ml, pipet tetes, beaker glass Iwaki 250ml, spektrofotometer UV-Vis biobase BK-D590, mortar alu, toples kaca, botol gelap, labu ukur Iwaki 50ml

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah buah murbei, aquadest, Merck kalium clorida (kcl), Merck etanol 96% pa, larutan asam Merck (hcl) 37% dan basa Merck (NaOH).

3.3 Variabel Penelitian

1. Variabel Independen (bebas), Variabel bebas dari penelitian tersebut adalah tingkat kematangan buah murbei.

2. Variabel Dependen (terikat), Variabel terikat dari penelitian tersebut adalah kadar total antosianin.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi operasional	Metode	Alat ukur	Skala ukur
Murbei (Morus alba L.)	Buah murbei memiliki kandungan antosianin yang dapat dimanfaatkan	Mengacu pada analisis kuantitatif	Ditimbang menggunakan neraca analitik	Massa
Kadar total antosianin	Antosianin adalah pigmen warna tumbuhan yang dapat dimanfaatkan	Mengacu pada metode ph differensial	Spektrofotometri UV-Vis	Rasio

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Ekstraksi

Preparasi sampel dilakukan dengan pembuatan ekstrak buah murbei. Buah murbei segar disiapkan berdasarkan tingkat kematangan yaitu buah murbei mentah, buah murbei setengah matang, dan buah murbei matang. Masing-masing buah murbei ditimbang sebanyak 14gram, kemudian dihaluskan dan dilakukan maserasi dengan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 100 mL atau dengan perbandingan (1:7)(b/v). Dilakukan maserasi selama 24 jam pada suhu ruang. Kemudian disaring dan diambil filtratnya (AOAC, 2006)

3.5.2 Pembuatan Buffer pH 1 dan pH 4,5

Pembuatan buffer ph 1 dengan cara melarutkan 0,372gram kalium klorida (kcl) dalam 200 ml aquadest, selanjutnya diatur pH dengan larutan hcl hingga pH $1,0 \pm 0,1$ menggunakan pH meter. Kemudian pembuatan buffer pH 4,5 dengan cara melarutkan 10,886 gram natrium asetat dalam 200ml aquadest, selanjutnya diatur pH dengan larutan hcl hingga pH $4,5 \pm 0,1$ (AOAC, 2006)

3.5.3 Penentuan Kadar Total Antosianin

Penentuan kadar total antosianin ekstrak buah murbei mentah, setengah matang dan matang. Pertama menyiapkan sampel pada masing-masing ekstrak yaitu 10ml dan diencerkan dalam labu ukur 50ml menggunakan masing-masing larutan pH 1 dan pH 4,5 hingga tanda batas, sehingga didapatkan 6 sampel. Kemudian menentukan absorbansi sampel dengan dilakukan uji spektrofotometri pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm. Kemudian setelah data absorbansi didapatkan dilakukan perhitungan masing-masing kadar total antosianin (AOAC, 2006).

3.6 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini dikumpulkan dari hasil pengamatan uji laboratorium, untuk menentukan ada atau tidaknya perbedaan terhadap kadar total antosianin buah murbei berdasarkan tingkat kematangan menggunakan metode Ph differensial. Hasil dari sampel tersebut ditentukan menggunakan data uji pada spektrofotometri. Hasil data akan dibandingkan untuk mengetahui perbedaan dari kadar total antosianin.

NO.	Sampel	Absorbansi
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		

Kemudian untuk mengetahui kadar total antosianin dalam ekstrak buah murbei, pertama data absorbansi yang telah didapat dari metode spektrofotometri UV-Vis dimasukkan kedalam rumus perhitungan kadar total antosianin dengan penyajian data sebagai berikut :

$$A = [(A_{520} - A_{700})_{pH 1} - (A_{520} - A_{700})_{pH 4,5}]$$

Ket :

A₅₂₀ = absorbansi panjang gelombang 520nm

A₇₀₀ = absorbansi panjang gelombang 700nm

Data absorbansi buah murbei mentah, setengah matang, dan matang pH 1 pada panjang gelombang 520nm dan panjang gelombang 700nm dikurangi, kemudian pada pH 4,5 pada panjang gelombang 520nm dan panjang gelombang 700nm dikurangi. Lalu didapatkan masing masing hasil dari pH 1 dan pH 4 untuk kemudian dikurangi, hasil tersebut menjadi hasil rata-rata absorbansi yang akan dimasukkan dalam perhitungan kadar total antosianin.

Kandungan total antosianin dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Antosianin} = \frac{\text{Absorbansi} \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times L}$$

Ket :

MW = berat molekul sianidin-3-glukosida = 449,2 g/mol

DF = faktor kelarutan = (1:5) = 5

ϵ = absorptivitas molar sianidin-3-glukosida = 26900 L/(mol.cm)

L = lebar kuvet = 1cm

1000 = faktor g ke m

