

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratorium.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Bulan Maret 2021 dan bertempat di Laboratorium Kimia Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Bahan dan Alat

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitik, neraca triple beam, pisau, *blender*, botol gelap, alumunium foil, gelas ukur *Iwaki* 100 mL, gelas kimia *Herma* 500mL, plat tetes, labu ukur *Pyrex* 100 mL, pipet ukur *Pyrex* 10 mL, batang pengaduk, spatula, pipet tetes, pH meter, tabung reaksi *Iwaki* 10 mL, tabung reaksi *Iwaki* 20 mL, spektrofotometer UV-Vis *Biobase BK-D590*, loyang, oven pengering, dan aplikasi ImageJ.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit buah naga merah (*Hylocereus Polyrhizus*) yang dibeli di Pasar Besar Kota Malang, larutan asam sitrat *Merck* dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 % 100 mL, aquades, larutan buffer pH 1 (Larutan KCl *Merck* 2 M dan HCl 0,2 M) 100 mL, larutan buffer pH 4,5 (Larutan Na-asetat *Merck* 0,2 M dan Larutan HCl 0,2 M) 100 mL, Larutan PVA *Sigma* 1% 100 mL, Larutan pH 1-4 (Larutan HCl pekat yang diencerkan) 100 mL, Larutan pH 5-9 (Larutan Na-asetat *Merck* 0,2M dan Larutan HCl 0,2 M) 100 mL, Larutan pH 10-14 (Larutan NaOH 1% yang diencerkan) 100 mL, membran *nata de coco*, serta sampel ikan lele.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel terikat : Konsentrasi optimum ekstrak antosianin kulit buah naga merah

Variabel bebas : Variasi konsentrasi pelarut asam sitrat (2, 4, 6, 8, dan 10 %).

Variabel Kontrol : Ekstraksi kulit buah naga merah segar dilakukan selama 2 hari dan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$.

3.5 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Metode dan alat ukur	Skala pengukuran
1.	Penentuan konsentrasi antosianin total	Pengujian yang dilakukan untuk mengetahui konsentrasi antosianin total dari ekstrak.	Metode pH <i>differential</i> , spektrofotometer UV-Vis	Rasio
2..	Rentang pH	Rentang perubahan warna dari indikator pada pH 1-14.	Intensitas warna, ImageJ	Interval

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (Hidayah, 2013).

Pembuatan ekstrak kulit buah naga merah dilakukan dengan cara menimbang 100 g kulit buah naga merah segar. Kulit buah naga merah yang telah ditimbang dihaluskan dengan *blender* hingga halus. Selanjutnya disaring menggunakan kain saring. Filtrat ditambahkan pelarut asam sitrat dengan variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10%. Lalu disimpan dalam botol gelap dan suhu lemari pendingin.

3.6.2 Penentuan Konsentrasi Antosianin Total Menggunakan Metode pH Diferensial Dengan Spektrofotometer UV-Visible

Ekstrak kulit buah naga merah yang telah dibuat, kemudian ditambahkan 1 ml bahan pengikat Larutan PVA 1% dan dihomogenkan. Ekstrak diambil masing-masing sebanyak 0,5 ml lalu dimasukkan dalam Tabung reaksi yang berisi larutan buffer pH 1 dan buffer pH 4,5. Selanjutnya masing-masing larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible dan dihitung konsentrasinya.

3.6.3 Pembuatan Membran Selulosa Bakterial *Nata De Coco*

Ditimbang 150 g *nata de coco* tawar lalu dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. Direndam *nata de coco* menggunakan akuades selama 30 menit. Selanjutnya *nata de coco* dihaluskan dengan menggunakan *blender* hingga menjadi bubur. Dicetak bubur *nata de coco* ke dalam loyang dan dikeringkan hingga membentuk lembaran kertas dalam oven pengering dengan suhu 85°C.

3.6.4 Imobilisasi Reagen Antosianin dalam Membran *Nata De Coco*

Nata de coco yang telah berbentuk kertas kemudian dipotong membentuk persegi dengan panjang sisi 1 cm. Selanjutnya direndam *nata de coco* ke dalam larutan ekstrak antosianin yang telah diketahui konsentrasi pelarut optimalnya selama 60 menit. Dikeringkan ekstrak antosianin terimobilisasi dalam *nata de coco* dengan cara diangin-anginkan dalam suhu ruang.

3.6.5 Pembuatan Rentang pH

Disiapkan larutan pH 1-14 ke dalam tabung reaksi dengan volume masing-masing 7 ml. Kemudian diteteskan ekstrak antosianin kulit buah naga merah yang telah diketahui konsentrasi pelarut optimalnya sebanyak 3 tetes. Dilakukan pengambilan foto dengan menggunakan *smartphone* berbasis *android*. Dilakukan pengamatan perubahan warna secara visual dengan aplikasi *ImageJ* dan dibuat rentang pH.

3.6.6 Pengujian Ekstrak Antosianin Terimobilisasi dalam Nata De Coco Pada Ikan Lele

Disiapkan sampel ikan lele lalu ditempelkan ekstrak antosianin kulit buah naga merah terimobilisasi dalam nata de coco pada sampel ikan. Lalu diamati perubahan warna pada ekstrak dan dibandingkan dengan rentang pH yang telah dibuat.

3.7 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

Pengolahan data penelitian menggunakan metode deskriptif, dimana data hasil pengamatan ditampilkan dalam bentuk tabel untuk mempermudah dalam menginterpretasi data. Adapun tabel hasil pengukuran dibuat sebagai berikut:

Tabel 3. 2 *Blind Table* Data Absorbansi dan Konsentrasi Antosianin Total

No.	Sampel	A _{510nm}	A _{700nm}	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					

Konsentrasi antosianin total pada ekstrak dihitung dengan menggunakan rumus pada metode pH differential sebagai senyawa sianidin 3-glukosida dengan rumus:

$$A = (A_{\lambda_{max}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{\lambda_{max}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

$$\text{Antosianin} = \frac{(A \times Mr \times Fp \times 1000)}{\epsilon \times l}$$

Dimana : A = Absorbansi antosianin

Mr = Berat molekul antosianin

Fp = Faktor pengenceran

ϵ = Koefisien ekstingsi molar (29600L/cm⁻¹)

Kemudian data yang dihasilkan dari pengaplikasian indikator pH pada ikan segar akan dikelompokkan menjadi kategori segar atau tidak segar dalam bentuk tabel sebagai berikut:

Tabel 3. 3 *Blind Table* Data Hasil Pengujian Ekstrak Antosianin Terimobilisasi dalam Nata De Coco pada Sampel Ikan Lele

No.	Sampel	Replikasi	Warna Kertas Indikator		Rentang pH	Kategori	
			Sebelum	Sesudah		Segar	Tidak Segar