

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 JENIS PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen merupakan metode penelitian yang bertujuan untuk mengetahui hubungan sebab akibat antara variabel bebas dengan variabel terikat, dimana variabel bebas dikontrol dan dikendalikan untuk dapat menentukan pengaruh yang ditimbulkan pada variabel terikat (Danuri dkk., 2019).

3.2 WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada 18 Maret sampai 22 Maret 2024. Penelitian dilakukan di Laboratorium Analisis Makanan dan Minuman Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang Jl. Besar Ijen No.77, Oro-Oro Dowo, Kecamatan Klojen, Kota Malang, Jawa Timur.

3.3 BAHAN DAN ALAT

3.3.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kubis ungu, HCl 37%, akuades, metanol, etanol 96%, etanol 96% + HCl 0,1%, metanol + HCl 0,1%, kertas saring, aluminium foil, tisu.

3.3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pisau & talenan, beaker glass 50 mL (pyrex), beaker glass 100 mL (pyrex), beaker glass 150 mL (pyrex), gelas ukur 100 mL (iwaki), labu ukur 100 mL (pyrex), labu ukur 250 mL (iwaki), tabung reaksi dan rak tabung, corong gelas, pipet tetes, batang pengaduk, spatula, pipet ukur 10 mL, pipet ukur 5 mL, bola pump, botol gelap, neraca analitik (radwag), spektrofotometer UV-Vis (biobase BK-D590).

3.4 VARIABEL PENELITIAN

3.4.1 Variabel Independen (Variabel Bebas)

Variabel independen atau variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel dependen (terikat). Dalam penelitian ini, yang bertindak sebagai variabel independen atau variabel bebas adalah variasi jenis pelarut.

3.4.2 Variabel Dependen (Variabel Terikat)

Variabel dependen atau variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau akibat karena adanya variabel independen atau variabel bebas. Dalam penelitian ini, yang bertindak sebagai variabel dependen atau variabel terikat adalah kadar antosianin dalam ekstrak kubis ungu.

3.5 DEFINISI OPERASIONAL

Definisi operasional adalah mendefinisikan variabel yang telah diidentifikasi, agar dapat dioperasionalkan. Definisi operasional umumnya berupa penjelasan/spesifikasi terkait variabel yang telah diidentifikasi sehingga menjadi ukuran yang dapat diukur atau diamati secara konsisten dalam konteks penelitian (Anshori & Iswati, 2019). Definisi operasional pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Metode	Alat Ukur	Skala Ukur
1	Kadar antosianin dalam ekstrak kubis ungu	Kadar dari suatu senyawa pemberi warna dalam ekstrak kubis ungu	Melakukan pengukuran kadar antosianin total dalam ekstrak kubis ungu dengan metode pH diferensial spektrofotometri	Spektrofotometer UV-Vis	Rasio

3.6 PROSEDUR PENELITIAN

3.6.1 Preparasi Kubis Ungu

Kubis ungu dipisahkan setiap helai dan dicuci hingga bersih untuk menghilangkan kotoran atau residu yang masih menempel. Setelah dilakukan pencucian, kubis ungu diangin-anginkan pada suhu ruang lalu dipotong kecil-kecil dan tipis. Selanjutnya kubis ungu siap dilakukan prosedur selanjutnya, yaitu ekstraksi (Do dkk., 2020)

3.6.2 Ekstraksi Antosianin Kubis Ungu dengan Variasi Pelarut

Kubis ungu yang telah dipotong kecil-kecil dan tipis ditimbang sebanyak 5 gram, dimasukkan dalam wadah, kemudian ditambahkan pelarut akuades sebanyak 50 mL. Proses maserasi dilakukan selama 2 jam. Selama proses ekstraksi, wadah maserasi ditutup dan disimpan di tempat gelap atau terhindar dari sinar matahari langsung. Proses pengadukan dilakukan secara berkala untuk memastikan semua kubis ungu larut dengan sempurna dalam pelarut. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan ekstrak dengan residu. Filtrat yang diperoleh dari maserasi disimpan dalam vial atau botol gelap (Humairoh & Firdaus, 2023). Untuk prosedur ekstraksi kubis ungu menggunakan pelarut etanol 96%, metanol dilakukan prosedur yang sama.

Sedangkan prosedur ekstraksi kubis ungu dengan pelarut etanol 96% dan metanol yang diasamkan dengan HCl 0,1% sampai pH 3 diawali dengan melakukan pengukuran pH awal etanol 96% dan metanol menggunakan pH meter untuk memperkirakan jumlah HCl 0,1% yang akan ditambahkan untuk mencapai pH 3. Proses pengasaman pelarut dilakukan dengan menambahkan HCl 0,1% ke dalam pelarut etanol 96% dan metanol hingga mencapai pH 3, untuk mengasamkan etanol 96% hingga pH 3 ditambahkan HCl 0,1% sebanyak 40 tetes atau kurang lebih 2 mL, sedangkan untuk mengasamkan metanol hingga pH 3 ditambahkan HCl 0,1% sebanyak 8 tetes. Setelah persiapan pelarut, kubis ungu yang telah dipotong kecil-kecil diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dan metanol yang diasamkan dengan HCl 0,1% sampai pH 3. Prosedur

ekstraksi yang dilakukan sama seperti ekstraksi kubis ungu menggunakan pelarut akuades, etanol 96%, dan metanol.

3.6.3 Penetapan Kadar Antosianin Total dengan Metode pH Diferensial Spektrofotometri

Langkah pertama pengukuran kadar antosianin dalam kubis ungu adalah melakukan pengenceran ekstrak menggunakan buffer pH 1,0 dan pH 4,5. Masing-masing ekstrak kubis ungu dari pelarut yang berbeda dilarutkan dengan larutan buffer berdasarkan faktor pengenceran yang sudah ditentukan sebelumnya (AOAC, 2005).

Ekstrak kubis ungu yang telah dilarutkan menggunakan larutan buffer pH 1,0 dan pH 4,5 didiamkan selama 20-50 menit sebelum ditentukan absorbansi. Panjang gelombang yang akan digunakan untuk melakukan pembacaan absorbansi yaitu pada panjang gelombang (520 dan 700 nm). Lamda optimum pada sianidin-3-glukosida adalah 520 nm, dan lamda 700 nm bertujuan untuk memastikan kejernihan larutan uji dan mengoreksi endapan yang masih terdapat pada larutan uji. Jika larutan uji terlihat keruh, maka larutan uji perlu dilakukan sentrifugasi atau penyaringan (AOAC, 2005). Apabila absorbansi pada panjang gelombang 700 nm adalah 0 maka sampel benar-benar jernih (Laga dkk., 2021). Absorbansi dari setiap larutan ekstrak pada panjang gelombang 520 dan 700 nm diukur dengan akuades sebagai blankonya (AOAC, 2005).

3.6.4 Identifikasi Formalin Menggunakan Ekstrak Kubis Ungu

Ekstrak kubis ungu yang digunakan untuk mengidentifikasi formalin adalah ekstrak yang mengandung kadar antosianin tertinggi. Prosedur pengujian diawali dengan mempersiapkan larutan formalin dengan konsentrasi 0%, 0,1%, 0,5%, 1%, 5%, 10%, 40%. Selanjutnya tabung reaksi yang telah diberi label konsentrasi formalin diletakkan ke dalam rak tabung. Larutan formalin dengan variasi konsentrasi 0%, 0,1%, 0,5%, 1%, 5%, 10%, 40% dimasukkan ke dalam tabung reaksi sesuai dengan label yang tertera pada tabung reaksi sebanyak 2 mL. Kemudian masing-masing konsentrasi formalin ditambahkan ekstrak

kubis ungu sebanyak 2 mL kemudian diamati perubahan warna yang terjadi.

3.7 PENGOLAHAN, PENYAJIAN, DAN ANALISIS DATA

Nilai absorbansi yang diperoleh dari pengukuran absorbansi larutan uji menggunakan spektrofotometer UV-Vis selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus berikut untuk mencari nilai A :

$$A = ((A_{520} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{pH\ 4,5})$$

Kadar antosianin total ekstrak kubis ungu dengan variasi jenis pelarut dinyatakan sebagai sianidin-3-glukosida yang dapat dilakukan perhitungan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Antosianin } \left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{(\epsilon \times I)}$$

Keterangan :

- A = Absorbansi dari sampel yang telah dilarutkan
- ϵ = Absorptivitas molar Sianidin-3-glukosida = 26.900 L/ (mol.cm)
- DF = Faktor Pengenceran
- I = Lebar Kuvet = 1 cm
- MW = Berat molekul Sianidin-3-glukosida = 449,2 g/mol
- 1000 = faktor g ke mg

Hasil penetapan kadar antosianin ekstrak kubis ungu yang diperoleh kemudian disajikan dalam bentuk tabel seperti di bawah ini :

Tabel 3.2 Kadar Antosianin Total Ekstrak Kubis Ungu

Pelarut	Kadar Antosianin Total (mg/L)
Akuades	
Etanol 96%	
Metanol	
Etanol 96% + HCl 0,1%	
Metanol + HCl 0,1%	

Setelah diperoleh hasil perhitungan kadar antosianin total ekstrak kubis ungu dari berbagai variasi pelarut, kemudian hasil tersebut dibandingkan untuk mengetahui pelarut yang memiliki kandungan kadar antosianin paling tinggi sehingga dapat menentukan pelarut yang optimal untuk mengekstrak antosianin dalam kubis ungu sebagai bahan dasar tes kit uji formalin.

Ekstrak kubis ungu yang mengandung kadar antosianin tertinggi selanjutnya dilakukan pengujian untuk mengetahui kemampuan antosianin

ekstrak kubis ungu dalam mengidentifikasi formalin. Hasil pengujian formalin menggunakan ekstrak kubis ungu berdasarkan perubahan warna selanjutnya dilakukan analisis menggunakan software Image J untuk mengetahui perbedaan intensitas warna yang tidak terlihat jelas jika diamati menggunakan indera penglihatan secara langsung. Data intensitas warna yang diperoleh selanjutnya dilakukan perhitungan absorbansi pada aplikasi microsoft excel menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Absorbansi} = \log \frac{I_0}{I}$$

Hasil perhitungan nilai absorbansi yang diperoleh akan disajikan pada tabel di bawah ini :

Tabel 3.3 Nilai Absorbansi Pengolahan Warna (RGB) Menggunakan Image J

Absorbansi			
Konsentrasi	Red	Green	Blue
Formalin 0,1%			
Formalin 0,5%			
Formalin 1%			
Formalin 5%			
Formalin 10%			
Formalin 40%			

Berdasarkan nilai absorbansi dari hasil pengolahan warna (RGB) menggunakan software Image J maka dapat mengetahui perubahan nilai absorbansi ekstrak kubis ungu setelah direaksikan dengan formalin. Ekstrak kubis ungu dapat disimpulkan memiliki kemampuan mengidentifikasi formalin apabila nilai absorbansi ekstrak kubis ungu semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi formalin. Dengan adanya perubahan nilai absorbansi tersebut, maka dapat menentukan apakah ekstrak kubis ungu memiliki kemampuan mengidentifikasi formalin atau tidak.