

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorium, percobaan pengaruh variasi pelarut ekstraksi dan lama ekstraksi terhadap kadar antosianin ekstrak bunga mawar merah (*Rosa Damascena Mill*) memberikan variasi jenis pelarut yaitu etanol 96% dan metanol serta lama ekstraksi selama 12 jam dan 24 jam.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai dengan Maret 2021 yang bertempat di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang dan di Laboratorium Farmasi Universitas Ma Chung Malang.

3.3 Bahan dan Alat

A. Alat

Alat yang digunakan yaitu Neraca Triple Beam type MB2610, neraca analitik type Ohaus AdventurePro AV264C, kaca arloji, pisau, talenan, wadah kaca untuk maserasi, alumunium foil, kain mori, rotary evaporator merk IKA type 10 basic D (Diagonal), gelas kimia 50 ml merk pyrex, gelas ukur 100 ml merk pyrex, labu ukur 10 ml merk pyrex, pipet ukur 2 ml merk pyrex, pipet tetes, tabung reaksi merk pyrex, bola hisap, batang pengaduk, botol gelap untuk wadah ekstrak, pH meter type Eutech, kamera handphone, dan aplikasi Adobe Photoshop CS2.

B. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu kelopak bunga mawar merah yang di jual di toko bunga splindit Kota Malang, etanol 96%, metanol teknis, larutan HCl pekat 37%, padatan NaOH, dan aquades.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis pelarut serta lama ekstraksi

3.4.2 Variabel Terikat

Pada penelitian ini variable terikat yang digunakan adalah kadar antosianin

3.4.3 Variabel Kontrol

Pada penelitian ini variable kontrol yang digunakan adalah larutan asam dan basa dengan pH 1-14

3.5 Definisi Operasional Variabel

No.	Nama Variabel	Definisi	Satuan dan Alat Pengukuran	Skala Pengukuran
1.	Bunga Mawar Merah	Tanaman bunga berwarna merah yang mengandung pigmen antosianin	Gram, neraca analitik	Nominal
2.	Pengaruh jenis pelarut	Untuk mengetahui pelarut yang mampu mengekstrak antosianin terbaik	Cm/cm (absorbansi), pencitraan digital dengan aplikasi <i>photoshop CS4</i>	Interval
3.	Lama ekstraksi larutan ekstrak antosianin	Untuk mengetahui waktu ekstraksi terbaik dalam mengekstrak antosianin	Cm/cm (absorbansi), pencitraan digital dengan aplikasi <i>photoshop CS4</i>	Interval

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Preparasi sampel

Metode penelitian yang dilakukan yaitu pertama menimbang kelopak bunga mawar sebanyak 80 gram menggunakan neraca triple beam. Kemudian dilakukan perajangan untuk memeluas permukaan ekstraksi. Selanjutnya dimasukkan masing-masing 20 gram kelopak bunga tersebut kedalam 4 wadah gelap yang berbeda untuk kemudian dilakukan prosedur selanjutnya.

3.6.2 Pembuatan Larutan berpH 1-14

Pembuatan larutan pH 1 (Larutan HCl 0,1 M) yaitu, dimbil 1 ml larutan HCl pekat 1 M dengan pipet tetes. Kemudian dimasukkan larutan tersebut kedalam labu ukur bervolume 10 ml, ditambahkan aquades ke dalam labu ukur sampai tanda batas. Dikocok labu ukur sampai larutan tercampur merata. diuji pH larutan menggunakan Ph meter. Larutan pH 1 siap digunakan. Pembuatan larutan pH 2 dengan dilakukan pengenceran pada larutan HCl pH 1 yaitu, diambil 1 ml larutan pH 1 dengan pipet ukur. Kemudian dimasukkan larutan ke dalam labu ukur bervolume 10 ml. Ditambahkan aquades ke dalam labu ukur sampai tanda batas. Dikocok labu ukur sampai larutan tercampur merata. Dituang kedalam gelas kimia 50 ml dan diuji pH larutan menggunakan pH meter. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Dilakukan prosedur sama seperti pembuatan larutan pH 1 dan 2 untuk pembuatan larutan pH 3 hingga larutan pH 7.

Pembuatan larutan pH 14 (larutan NaOH 1M) yaitu ditimbang padatan NaOH sebanyak 1 gram. Kemudian dimasukkan kristal NaOH ke dalam beaker glass dan larutkan dengan sedikit aquades. Dimasukkan larutan ke dalam labu ukur bervolume 25 ml. Ditambahkan aquades ke dalam labu ukur sampai tanda batas. Kocok labu ukur sampai larutan tercampur merata. Dituang kedalam gelas kimia 50 ml dan diuji pH larutan menggunakan pH meter. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Pembuatan larutan pH 13 dengan dilakukan pengenceran pada larutan NaOH pH 14

yaitu diambil 1 ml larutan pH 14 dengan pipet ukur. Kemudian dimasukkan larutan ke dalam labu ukur bervolume 10 ml. Ditambahkan aquades ke dalam labu ukur sampai tanda batas. Dikocok labu ukur sampai larutan tercampur merata. Dituang ke dalam gelas kimia 50 ml dan diuji pH larutan menggunakan kertas indikator universal. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

Pembuatan larutan pH 12 dengan dilakukan pengenceran pada larutan NaOH pH 13 yaitu diambil 1 ml larutan pH 13 dengan pipet ukur. Kemudian dimasukkan larutan ke dalam labu ukur bervolume 10 ml. Diambahkan aquades ke dalam labu ukur sampai tanda batas. Dikocok labu ukur sampai larutan tercampur merata. Dituang ke dalam gelas kimia 50 ml dan diuji pH larutan menggunakan kertas indikator universal. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Dilakukan prosedur sama seperti pembuatan larutan pH 13 dan larutan pH 12 untuk pembuatan larutan pH 11 hingga larutan pH 8.

3.6.3 Pengaruh jenis pelarut dalam ekstraksi antosianin

Setelah dilakukan preparasi sampel, ditambahkan 2 ml larutan HCl 1% ke dalam masing-masing pelarut. Dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol dan pelarut metanol masing-masing sebanyak 300 ml. Kemudian ekstrak disaring dan residu dicuci hingga berwarna putih menggunakan 100 ml etanol. Dilakukan pemekatan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 55°C hingga volume $\frac{1}{2}$ kali volume awal (sekitar 2 jam), dan ekstrak dimasukkan ke dalam botol gelap.

3.6.4 Pengaruh lama ekstraksi dalam ekstraksi antosianin

Setelah dilakukan preparasi sampel, ditambahkan 2 ml larutan HCl 1% ke dalam masing-masing pelarut. Dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol masing-masing sebanyak 300 ml selama 12 jam dan 24 jam. Dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol masing-masing sebanyak 300 ml selama 12

jam dan 24 jam. Kemudian ekstrak disaring dan residu dicuci hingga berwarna putih menggunakan 100 ml etanol. Dilakukan pemekatan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 55°C hingga volume ½ kali volume awal (sekitar 2 jam), dan ekstrak di masukkan kedalam botol gelap.

3.6.5 Penetapan Total Antosianin Menggunakan Pencitraan Digital

Dilakukan penetapan total antosianin bertujuan untuk menentukan jenis pelarut dan lama ekstraksi yang paling optimum yang selanjutnya akan diujikan pada larutan asam basa dengan pH 1-14 untuk melihat perubahan warna yang dihasilkan. Penetapan total antosianin menggunakan pencitraan digital dengan cara dimasukkan sampel kedalam tabung dengan diameter ±1cm yang kemudian di foto menggunakan kamera smartphone dan dibaca warna RGB menggunakan aplikasi *photoshop* CS2. Nilai yang diperoleh diaggap sebagai nilai absorbansi ekstrak yang kemudian di konversikan menggunakan rumus total antosianin.

3.6.6 Pengolahan dan penyajian data

Nilai RBG akan digunakan untuk mencari nilai absorbansi dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

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

Nilai absorbansi yang di peroleh kemudian di konversikan kedalam rumus total antosianin sebagai berikut:

$$\text{Total Antosianin} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Keterangan :

A = absorbansi dari sampel

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

DF = Faktor Pengenceran

1000 = factor g ke mg

ϵ = Absorptivitas molar Sianidin-3-glukosida = 26.900 L. (mol.cm)

I = lebar kuvet

Jenis analisis data yang digunakan adalah analisis ragam (Analisis of varian) untuk menguji perlakuan (jenis pelarut yang digunakan dan lama waktu ekstraksi) terhadap total antosianin apakah ada pengaruhnya atau tidak.

3.6.7 Penentuan trayek pH pada sampel

Hasil perhitungan kadar antosianin yang paling optimum akan digunakan sebagai penguji pada larutan yang memiliki nilai pH 1 hingga 14. Pengujian pada masing- masing larutan dilakukan 9 tetes ekstrak terhadap 9 ml masing-masing larutan. Pengujian dilakukan secara triplo.