# 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 kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dengan variasi konsentrasi pelarut etanol 50%, etanol 70% dan etanol 96% dan waktu ekstraksi selama 24, 36, dan 48 jam

## 3.2 TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada 14 April – 9 Mei 2025 di Laboratorium Amami Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

## 3.3 ALAT DAN BAHAN

### 3.3.1 Alat

Alat yang digunakan yaitu neraca analitik (Ohaus pioneer), kaca arloji, pisau, talenan, oven, waterbath, beaker glass 50ml (pyrex), gelas ukur 100 ml (iwaki), labu ukur 150 ml (pyrex), pipet ukur 1 ml (iwaki), pipet ukur 10 ml (iwaki), labu ukur 250ml (pyrex), pipet tetes, bola hisap, batang pengaduk, botol gelap, toples kaca,labu ukur 5ml (iwaki) , spektrofotometer UV-Vis ( biobase BK-D590), grinder, pH meter (Eutech pH 700)

### 3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kulit buah naga, Merck kalium klorida (KCl), HCL 37%, etanol 96% P.A , aquades,kertas saring whatman no 1, aluminium foil, tisu

## 3.4 VARIABEL PENELITIAN

### 3.4.1 Variabel Bebas (Independen Variabel)

Variabel bebas dalam penelitian adalah konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi.

### 3.4.2 Variabel Terikat (Dependen Variabel)

Variabel dependen atau variabel terikat adalah kadar antosianin total dalam ekstrak kulit buah naga

### 3.5 Definisi Operasional Variabel

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 Variabel

| Variabel | Definisi | Metode | Satuan dan Alat Pengukuran | Skala Pengukuran |
|---|---|---|---|---|
| Konsentrasi pelarut ekstraksi 50%,70% dan 96% (Variabel terikat) | Perbandingan jumlah zat terlarut dengan jumlah pelarut dalam suatu larutan. | Pengujian dilakukan dengan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi antosianin dengan metode maserasi | %,(absorbansi), Spektrofotometri UV | Rasio |
| Waktu ekstraksi 24jam,36jam dan 48jam (Variabel terikat) | Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai keseimbangan dalam proses ekstraksi | Uji waktu ekstraksi maserasi dengan rentang waktu 24,36 dan 48 jam | menit/jam (absorbansi),Spektrofotometri UV | Interval |
| Kadar antosianin (Variabel bebas) | Kadar dari suatu senyawa pemberi warna dalam ekstrak kulit buah naga | Melakukan pengukuran kadar antosianin total dalam ekstrak kulit buah naga dengan metode pH diferensial spektrofotometri | mg/L( absorbansi), Spektrofotometri UV | Rasio |

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Preparasi Kulit Buah Naga

Buah naga dikupas lalu diambil kulitnya.Kulit buah naga lalu dicuci kemudian dipotong kecil-kecil dan ditimbang kembali untuk memperoleh bobot basah. Selanjutnya, potongan kulit tersebut dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C selama 6–7 jam. Setelah proses pengeringan selesai, ekstrak kulit buah naga dihaluskan menggunakan grinder ( A Widyasanti et al., 2021).

#### 3.6.2 Pembuatan Etanol 50% dan 70%

Etanol 50% dibuat dengan cara mengencerkan 52 mL etanol 96% menggunakan rumus pengenceran dalam labu ukur 100 mL. Sebanyak 52 mL etanol 96% dipipet kemudian diencerkan dengan aquadest hingga hingga mencapai tanda batas.

Etanol 70% dibuat dengan cara mengencerkan 73 mL etanol 96% menggunakan rumus pengenceran dalam labu ukur 100 mL. Sebanyak 73 mL etanol 96% dipipet, kemudian diencerkan secara perlahan dengan aquadest hingga mencapai tanda batas volume pada labu ukur.

#### 3.6.3 Ekstraksi Antosianin dengan berbagai konsentrasi

Sebanyak 3 gram ekstrak kulit buah naga merah ditimbang, lalu maserasi dilakukan menggunakan pelarut etanol 96 % dalam wadah tertutup yang disimpan di tempat gelap. Dilakukan pengadukan secara berkala untuk memastikan kelarutan sempurna,kemudian hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan ekstrak dan residu. Filtrat yang diperoleh disimpan dalam *vial* gelap.

Prosedur yang sama diulangi menggunakan pelarut etanol 70 %, di mana ekstrak kulit buah naga merah sebanyak 3 gram ditimbang, lalu proses maserasi , kemudian dilakukan pengadukan secara berkala untuk memastikan kelarutan sempurna,hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan ekstrak dan residu. Filtrat yang diperoleh disimpan dalam *vial* gelap

Tahap yang sama juga diterapkan dengan pelarut etanol 50 %, di mana ekstrak kulit buah naga merah sebanyak 3 gram ditimbang, dilakukan maserasi, Kemudian diaduk secara berkala untuk memastikan kelarutan sempurna,lalu hasil

maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan ekstrak dan residu. Filtrat yang diperoleh disimpan dalam *vial* gelap

### 3.6.4 Ekstraksi Antosianin pada berbagai variasi waktu

Ekstraksi maserasi dilakukan dengan pelarut etanol 50 % yaitu dengan waktu 24, 36, dan 48 jam. Ekstrak kemudian disaring, dan dilakukan pemekatan menggunakan waterbath pada suhu 50 °C hingga menjadi ekstrak kental. Selanjutnya, ekstrak dimasukkan ke dalam *vial* yang tertutup rapat.

Ekstraksi maserasi dilakukan dengan pelarut etanol 70 % yaitu dengan waktu 24, 36, dan 48 jam. Ekstrak kemudian disaring, dan dilakukan pemekatan menggunakan waterbath pada suhu 50 °C hingga menjadi ekstrak kental. Selanjutnya, ekstrak dimasukkan ke dalam *vial* yang tertutup rapat.

Ekstraksi maserasi dilakukan dengan pelarut etanol 96 % yaitu dengan waktu 24, 36, dan 48 jam. Ekstrak kemudian disaring, dan dilakukan pemekatan menggunakan waterbath pada suhu 50 °C hingga menjadi ekstrak kental. Selanjutnya, ekstrak dimasukkan ke dalam *vial* yang tertutup rapat.

### 3.6.5 Pembuatan Buffer pH 1 dan pH 4,5

Pembuatan larutan pH 1,0 yaitu menimbang sebanyak 0,465 gram KCl lalu dilarutkan dengan aquades dalam tabung volumetrik 250 ml sampai tanda batas. Selanjutnya ditambahkan HCl sampai pH mencapai 1,0 ± 0,1. Untuk pembuatan larutan pH 4,5. yaitu sebanyak 8,2 gram natrium asetat dilarutkan dengan aquades dalam tabung volumetrik 250 ml sampai batas selanjutnya ditambahkan larutan HCl sampai pH 4,5 ± 0,1 (Worlstad dkk,. 2005).

### 3.6.5 Penetapan Kadar Antosianin Total dengan Metode pH Diferensial Spektrofotometri (AOAC, 2005)

Sebanyak 1 mL dari masing-masing ekstrak disiapkan dan diencerkan menggunakan larutan buffer pH 1,0 dan pH 4,5 dalam labu ukur 5 mL hingga diperoleh sebanyak 27 sampel. Absorbansi dari setiap sampel kemudian diukur menggunakan uji spektrofotometri pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm dengan akuades sebagai blanko (AOAC,2005). Setelah data absorbansi diperoleh, perhitungan kadar total antosianin dilakukan sesuai metode AOAC (2005). Panjang

gelombang 520 nm ditetapkan sebagai λ maksimum senyawa sianidin-3-glukosida, sedangkan panjang gelombang 700 nm digunakan untuk mengoreksi kekeruhan larutan dan memastikan tidak terdapat endapan. Jika larutan uji terlihat keruh, maka dilakukan proses sentrifugasi atau penyaringan untuk memperoleh larutan jernih. Apabila absorbansi pada panjang gelombang 700 nm mencapai 0, maka larutan uji dipastikan jernih sempurna (Laga dkk., 2021).

### 3.7 PENGOLAHAN DAN PENYAJIAN DATA

Data yang diperoleh pada penelitian ini dikumpulkan dari hasil pengamatan uji laboratorium, untuk menentukan ada atau tidaknya perbedaan terhadap kadar total antosianin ekstrak kulit buah naga berdasarkan jenis pelarut dan waktu ekstraksi menggunakan metode pH diferensial. Hasil dari sampel tersebut ditentukan menggunakan data uji pada spektrofotometri. Hasil data akan dibandingkan untuk mengetahui perbedaan dari kadar total antosianin

Tabel 3. 2 Absorbansi konsentrasi pelarut ekstrak kulit buah naga

| **Pelarut** | **Absorbansi** | | |
|---|---|---|---|
| | **24jam** | **36jam** | **48jam** |
| Etanol 50% | | | |
| Etanol 70% | | | |
| Etanol 96% | | | |

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

A = ((A520 – A700)pH 1,0 – (A520 – A700)pH 4,5)

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

$$Total\ Antosianin = \frac{Ax\ MW\ x\ DF\ x\ 1000}{\varepsilon x\ l}$$

Keterangan :

A = absorbansi dari sampel

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

DF = Faktor Pengenceran = 5

Ɛ = Absortivitas molar Sianidin-3-glukosida = 26.900 L. (mol.cm)

I = lebar kuvet = 1cm

1000 = faktor g ke mg

Hasil penetapan kadar antosianin ekstrak kulit buah naga yang diperoleh kemudian disajikan dalam bentuk tabel seperti di bawah ini :

Tabel 3. 3 Kadar Antosianin total ekstrak kulit buah naga

| **Pelarut** | **Kadar Antosianin Total (mg/L)** | | |
|---|---|---|---|
| | **24 jam** | **36 jam** | **48 jam** |
| Etanol 50% | | | |
| Etanol 70% | | | |
| Etanol 96% | | | |