

BAB V

METODOLOGI

1.1 Alat dan bahan yang digunakan

1.1.1 Alat yang digunakan

1. Spektrofotometri *Visible*
2. Neraca Digital
3. Kaca Arloji
4. Pipet Tetes
5. 2 labu takar 100 ml
6. Gelas Ukur 10ml dan 100 ml.
7. 4 beaker glass 100 ml dan 1 beaker glass 250 ml
8. Corong

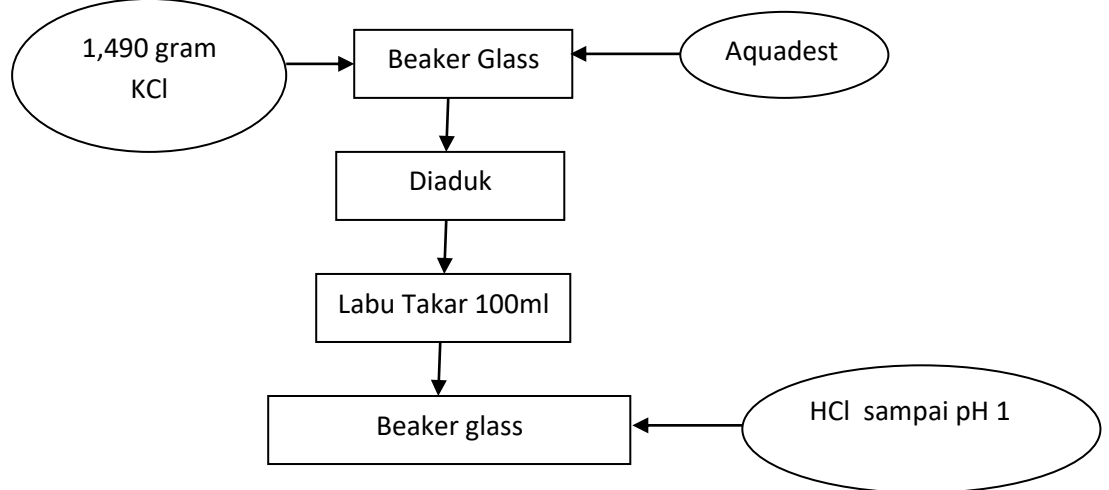
1.1.2 Bahan yang digunakan

1. Bunga Rosela
2. Aquadest
3. Etanol 70%
4. KCl
5. HCl
6. CH_3COONa

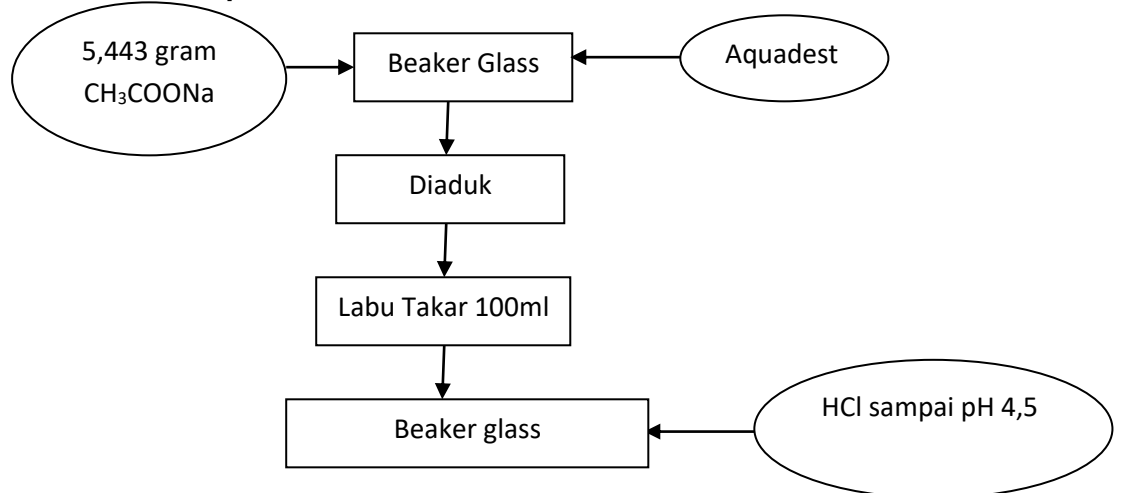
1.2 Diagram Alir Cara Kerja

1.2.1 Pembuatan Bahan untuk Uji Spektrofotometri *Visible*

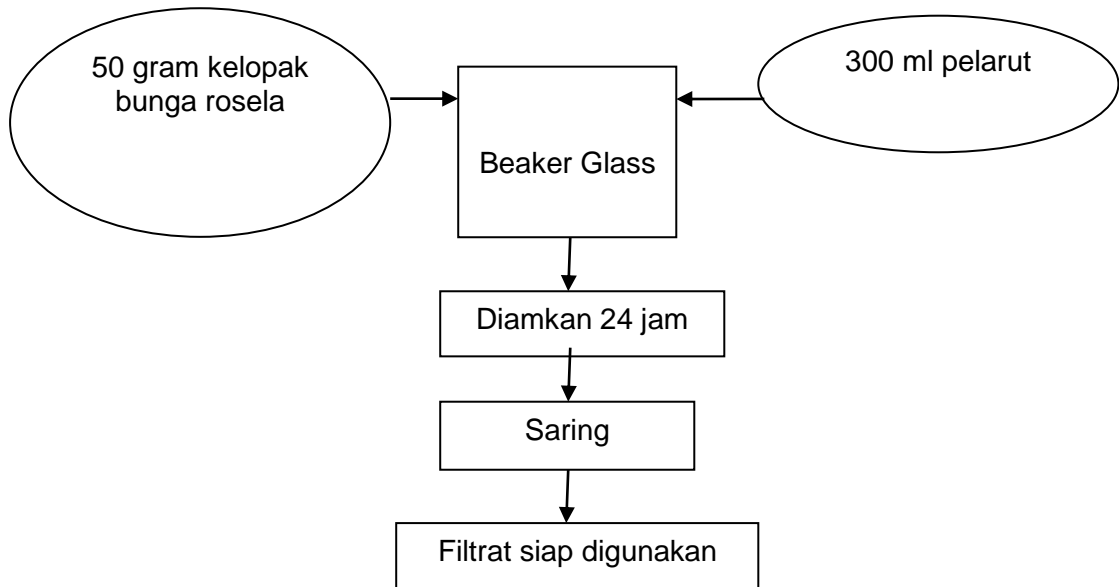
1. Larutan pH 1,0



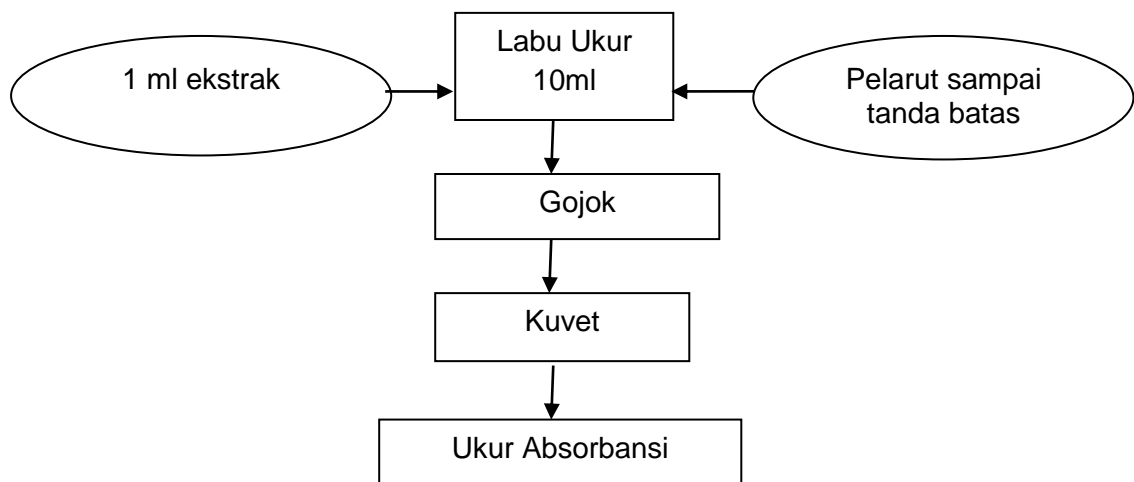
2. Larutan pH 4,5



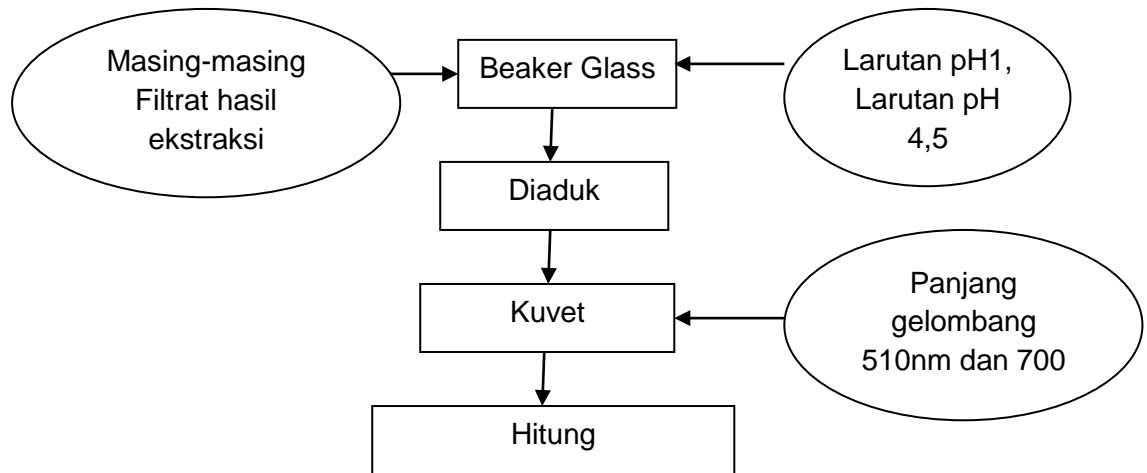
1.2.2 Ekstraksi pigmen antosianin



1.2.3 Penentuan panjang gelombang maksimum ekstrak



1.2.4 Penentuan Total Antosianin dengan Metode pH Differensial



- **Variabel Percobaan**

1. Variabel Tetap

Variabel tetap yang digunakan dalam percobaan ini adalah pH differensial 1 dan pH 4,5 panjang gelombang yang digunakan yaitu 510 dan 700 nm, serta suhu maserasi 25°C

2. Variabel Berubah

Variabel berubah yang digunakan dalam percobaan ini adalah variabel pelarut yang digunakan yaitu etanol 70%, Etanol 70% : Aquadest (1:1), dan Aquadest.

- **Cara Kerja**

1. Pembuatan Bahan

a. Larutan pH 1,0

Timbang 1,490 gr KCl. Larutkan dengan aquadest Masukkan dalam labu takar 100 mL. Tambahkan aquadest hingga tanda batas miniskus. Tambahkan HCl kembali jika perlu sampai pH mencapai $1,0 \pm 0,1$

b. Larutan pH 4,5

Timbang 5,443 gr Natrium asetat. Larutkan dengan aquadest. Masukkan dalam labu takar 100 mL. Tambahkan aquadest hingga tanda batas miniskus. Tambahkan larutan HCl sampai pH mencapai $4,5 \pm 0,1$

2. Ekstraksi pigmen antosianin

Isolasi pigmen antosianin dari bunga rosela dilakukan dengan metode maserasi pada suhu 25°C

Maserasi 25°C Sampel 1

Maserasi sampel dengan cara merendam 50 gram kelopak bunga rosela kering dengan 300 ml pelarut etanol 70% pada temperature 25°C selama 24 jam. Kemudian disaring dan diambil filtratnya.

Maserasi 25°C Sampel 2

Maserasi sampel dengan cara merendam 50 gram kelopak bunga rosela kering dengan 300 ml campuran etanol dan aquadest (150 ml pelarut etanol + 150 ml aquadest) pada temperature 25°C selama 24 jam. Kemudian disaring dan diambil filtratnya.

Maserasi 25°C Sampel 3

Maserasi sampel dengan cara merendam 50 gram kelopak bunga rosela kering dengan 300 ml aquadest pada temperature 25°C selama 24 jam. Kemudian disaring dan diambil filtratnya.

3. Penentuan panjang gelombang maksimum ekstrak

Penentuan panjang gelombang maksimum ekstrak kelopak bunga rosela dilakukan dengan metode spektrofotometri visible. Sekitar 1 ml dari masing-masing ekstrak hasil maserasi dilarutkan dalam pelarut masing-masing sesuai sampel menjadi 10 ml, selanjutnya absorbansi diukur pada panjang gelombang 400-800 nm.

4. Penentuan Total Antosianin dengan Metode pH Differensial

Penentuan antosianin dilakukan dengan metode perbedaan pH yaitu pH 1,0 dan pH 4,5. Pada pH 1,0 antosianin berbentuk senyawa oxonium dan pada pH 4,5 berbentuk karbinol tak berwarna. Hal tersebut dapat dilakukan dengan membuat suatu alikuot larutan

antosianin dalam air yang pH-nya 1,0 dan 4,5 untuk kemudian diukur absorbansinya.

Dua buah sampel disiapkan masing-masing filtrat, pada sampel pertama digunakan larutan pH 1,0 dan untuk sampel kedua digunakan larutan pH 4,5. Kemudian absorbansi dari setiap larutan diukur pada panjang gelombang 510 dan 700 nm.