

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental untuk mengetahui kadar vitamin C pada buah apel Manalagi (*Malus sylvestris*) kupas dan utuh, dan disimpan pada suhu ruang (28°C), suhu dingin (6°C) selama 5 jam dan masa tanpa penyimpanan (suhu normal).

Kadar Vitamin C (%)		
Suhu	Kupas	Utuh
Tanpa Penyimpanan (Suhu normal)		
Ruang (28°C)		
Dingin (6°C)		

B. Waktu dan Tempat penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2022

2. Tempat Penelitian

- a. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Fakultas Sains dan Matematika Biologi Universitas Diponegoro Semarang.
- b. Pembuatan jus buah apel Manalagi dan penentuan kadar vitamin C pada sampel buah apel Manalagi dilakukan di laboratorium Instrumen Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah apel jenis Manalagi yang berasal dari Kota Malang dan diperoleh dari toko buah, Jl. Sukun Raya No. 30, Sron dol Wetan, Kec. Banyumanik, Kota Semarang, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah apel Manalagi yang diberi perlakuan dikupas dan utuh tanpa penyimpanan (suhu normal), dan disimpan pada suhu ruang (28°C) dan suhu dingin (6°C) selama 5 jam.

D. Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini meliputi :

Tabel 3. 1 Definisi operasional

Variabel	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Kadar Vitamin C	Spektrofotometer Uv-Vis	%	Rasio
Buah apel Manalagi yang dikupas (Suhu Normal, Suhu Ruang, Suhu Dingin)	Thermometer	°C	-
Buah apel Manalagi utuh (Suhu Normal, Suhu Ruang, Suhu Dingin)	Thermometer	°C	-

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah buah Apel jenis Manalagi (*Malus sylvestris*) yang diberi perlakuan dikupas dan utuh, tanpa

penyimpanan (suhu normal), penyimpanan pada suhu ruang (28°C) dan suhu dingin (6°C).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pengukuran kadar vitamin C dalam buah apel Manalagi.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah oksidasi, suhu penetapan.

F. Pengumpulan Data

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

- a. Alat-alat gelas laboratorium (*beaker glass*, corong, batang pengaduk, labu ukur 100 ml, labu ukur 50 ml, labu ukur 5 ml, pipet ukur 10 ml, pipet ukur 1 ml , pipet volume 10 ml, pipet volume 5 ml, pipet volume 2 ml)
- b. Pisau
- c. Mesin blender
- d. Neraca analitik
- e. Kertas saring
- f. Pipet tetes
- g. Alumunium foil
- h. Kuvet dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800)

2. Bahan

a. Bahan simplisia

Penelitian ini menggunakan sampel buah apel jenis Manalagi (*Malus sylvestris*) berasal dari Kota Malang yang diperoleh dari toko buah, Jl. Sukun Raya No. 30, Srdol Wetan, Kec. Banyumanik, Kota Semarang, Jawa Tengah.

b. Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah vitamin C (*ascorbic acid for analysis*) dari distributor Nittra Kimia, aquadestilata p.i (PT. Ikapharmindo Putramas).

G. Prosedur Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Sampel buah apel jenis Manalagi yang berasal dari Kota Malang didapatkan pada bulan November dari toko buah, Jl. Sukun Raya No. 30, Srdol Wetan, Kec. Banyumanik, Kota Semarang, Jawa Tengah. Sampel buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris*) dilakukan determinasi tanaman di laboratorium Ekologi dan Biosistemik Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang.

2. Penyiapan Bahan

Buah apel Manalagi yang diperoleh selanjutnya dilakukan sortasi untuk memisahkan buah dari kotoran atau bahan asing lainnya sehingga dapat mengurangi pengotor yang ikut terbawa. Buah apel dicuci bersih menggunakan air mengalir. Buah apel Manalagi diberi perlakuan dikupas

dan tidak dikupas (utuh). Buah apel Manalagi disimpan selama 5 jam dalam suhu ruang (28°C) dan suhu dingin (6°C) (Maajid *et al.*, 2018).

3. Pembuatan Sampel Buah Apel

Buah apel Manalagi segar yang telah dibuang bijinya, dikupas dan tidak dikupas, kemudian dipotong kecil-kecil dan dimasukkan kedalam blender sampai diperoleh slurry. Dibuat larutan sampel dengan menimbang sebanyak 50 gr slurry dan dilarutkan dengan aquadestilata sampai tanda batas dalam labu ukur 100 ml. Larutan sampel lalu disaring menggunakan kertas saring. Sampel yang didapat kemudian dipipet sebanyak 5 ml dalam labu ukur 50 ml. Penentuan kadar pada sampel buah apel Manalagi dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 264 nm, kemudian larutan sampel dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan, nilai absorbansi yang diperoleh dimasukkan ke persamaan kurva baku sehingga nilai x atau konsentrasi vitamin C dalam sampel dapat dihitung.

4. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C 100 ppm

Vitamin C ditimbang sebanyak 0,01 gr dan dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml yang sebelumnya telah dilapisi alumunium foil kemudian dilarutkan dengan aquadest sampai tanda batas dan dihomogenkan (Herlina & Muzdalifa, 2020).

5. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Larutan Vitamin C

Dipipet 5 ml larutan vitamin C 100 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml (konsentrasi 10 ppm), lalu ditambahkan aquadest sampai tanda batas dan dihomogenkan. Ukur serapan pada panjang gelombang 200-400 nm dan ditentukan panjang gelombang serapan maksimum (Herlina & Muzdalifa, 2020).

6. Penentuan *Operating Time*

Dilakukan dengan cara mengambil larutan induk asam askorbat sebanyak 5ml dan dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml kemudian ditambahkan aquadestilata sampai tanda batas dan dihomogenkan (konsentrasi 10 ppm). Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yang telah diperoleh dengan interval waktu 1 menit dan dilakukan pembacaan absorbansi selama 30 menit.

7. Pengukuran Kurva Kalibrasi dari Larutan Standar Vitamin C

Mengencerkan larutan induk vitamin C 100 ppm kedalam labu ukur 5 ml masing-masing sebanyak 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml, dan 0,6 ml (konsentrasi 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm) ditambahkan aquadest hingga tanda batas lalu dihomogenkan, kemudian dimasukkan kedalam kuvet dan diukur nilai serapannya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebelumnya 264 nm. Analisis data dilakukan dengan absorbansi sample ke kurva kalibrasi dengan menggunakan persamaan regresi linier $Y = bx+a$. Persamaan ini digunakan untuk menghitung kadar vitamin C dalam sampel, dimana (Y) menyatakan nilai

pengukuran absorbansi, dan (x) menyatakan kadar vitamin C dalam sampel (Herlina & Muzdalifa, 2020).

8. Validasi metode

a. Presisi

Pengujian presisi dilakukan dengan metode pengulangan (*repeability*) yang dilakukan pada larutan konsentrasi 8 ppm dengan 6 kali pengulangan, masing-masing diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Setelah itu dicari rata-rata dari hasil pembacaan absorbansi yang diperoleh. Presisi ditentukan sebagai simpangan baku (SD) dan %RSD (Nasution *et al.*, 2021).

b. Linearitas

Penentuan nilai linearitas ditentukan dengan mengukur absorbansi seri konsentrasi larutan baku vitamin C yaitu 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm pada panjang gelombang maksimum. Hasil pengukuran absorbansi dihitung dari persamaan garis linier dan perhitungan koefisien korelasinya.

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y : Absorbansi sampel

a : Intersep

x : Konsentrasi sampel

b : Slope

c. LOD dan LOQ

Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) dihitung dari persamaan garis regresi linier kurva kalibrasi yang telah diperoleh dengan menggunakan rumus :

$$\text{Limit Of Detection (LOD)} = \frac{3 \times SD}{\text{slope}} .$$

$$\text{Limit Of Quantitation (LOQ)} = \frac{10 \times SD}{\text{slope}} .$$

Dengan slope (b) dari persamaan garis $Y = bx+a$ (Nasution *et al.*, 2021).

d. Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan metode penambahan baku dan ditentukan dengan menghitung persen *recovery*. Larutan sampel yang telah ditambahkan analit dilakukan pembacaan absorbansi dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Hasil akurasi dapat dihitung dengan memasukkan rumus :

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{konsentrasi sampel}}{\text{penambahan larutan baku (ppm)}} \times 100\%$$

Dalam penelitian ini larutan baku yang ditambahkan adalah konsentrasi 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm masing-masing dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

9. Analisis Kuantitatif Vitamin C Pada Buah Apel Manalagi

Sampel buah apel manalagi yang telah diberi perlakuan dikupas dan tidak dikupas, *sebelum* penyimpanan dan setelah penyimpanan pada suhu suhu ruang (28°C) dan suhu dingin (6°C) selama 5 jam ditetapkan

kadar vitamin C nya dengan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 264 nm.

H. Analisis Data

Analisis data penetapan kadar vitamin C pada buah apel Manalagi dengan mengamati hasil pengukuran kadar vitamin C buah apel Manalagi dengan suhu penyimpanan suhu ruang (28°C) dan suhu dingin (6°C) selama 5 jam, tanpa penyimpanan (suhu normal). Hasil analisis kadar vitamin C dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$K = \frac{C \times Fp \times V}{W} \times 100\%$$

Keterangan :

C = Konsentrasi yang diperoleh dari persamaan regresi kurva kalibrasi (mg/L)

Fp = Faktor pengenceran

V = Volume labu ukur (L)

W = Bobot Sampel (mg)

Hasil penelitian diperoleh data meliputi hasil presisi, linearitas, LOD dan LOQ, akurasi, serta perhitungan penetapan kadar yang kemudian diolah dengan *software Microsoft excel* yang disajikan dalam bentuk tabel maupun grafik dan analisis statistik menggunakan *Statistica Product and Service Solution* (SPSS) bertujuan untuk memudahkan dalam menganalisis dan menentukan kesimpulan.