

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-April 2025 di Laboratorium Kimia Farmasi Program Studi S-1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi.

3.2 Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spektrofotometri UV-Vis (*Shimadzu*), timbangan analitik (*Ohaus*), pipet mikro (*Dragon Lab*), alat-alat gelas (*pyrex*) antara lain batang pengaduk, tabung raksi, pipet tetes, pipet ukur, pipet volume, labu ukur, gelas beaker, gelas ukur, erlenmeyer, corong, rak tabung reaksi dan sendok tanduk.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu empat spesies jenis mangga antara lain yaitu mangga arumanis, mangga golek, mangga madu, dan mangga apel yang diambil dari perkebunan di Desa Cipelem Kecamatan Bulakamba Kabupaten Brebes, aquadest, FeCl_3 , NaOH 10%, FeSO_4 5%, AgNO_3 1%, dan iodium.

3.3 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan penelitian eksperimental.

1. Variabel Bebas

Variabel bebas yaitu variabel yang hasilnya mempengaruhi variabel terikat (purwanto, 2019). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah empat spesies mangga

2. Variabel terikat

Variabel terikat yaitu variabel yang hasilnya dipengaruhi oleh variabel bebas (Purwanto, 2019). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar vitamin C.

3. Variabel terkontrol

Variabel terkontrol adalah variabel yang dikendalikan agar pengaruh dari variabel bebas kepada variabel terikat tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak dianalisis (Purwanto, 2019) variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah metode spektrofotometri UV-Vis, pengambilan sampel dan waktu panen.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan di ambil dari Perkebunan di Desa Cipelem Kecamatan Bulakamba Kabupaten Brebes dengan koordinat 6°54'56", 108°56'39"E.

3.4.2 Preparasi Sampel Buah Mangga

Sampel yang digunakan adalah empat spesies buah mangga yaitu mangga arumanis, mangga manalagi (madu), mangga golek, mangga apel. Buah mangga dikupas sampai bersih dan dibuang bijinya, kemudian dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 200 gram, kemudian dihaluskan dengan cara di blender, kemudian mangga yang sudah di blender ditimbang lagi sebanyak 10 gram, kemudian dimasukan ke dalam gelas ukur 100 mL, kemudian ditambahkan aquadest sebanyak 100 mL, kemudian di saring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residunya, kemudian filtrat dimasukan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian tambahkan aquadest sampai tanda batas, sampel siap untuk diuji (Mulyani, 2021).

3.4.3 Uji Kualitatif Vitamin C

1. Uji dengan larutan NaOH dan FeSO₄

Larutan sampe 1 mL di tambahkan dengan 2 tetes NaOH 10% kemudian di tambahkan 2 mL FeSO₄ 5%, setelah itu amati perubahan warna yang terjadi, jika terbentuk warna kuning maka sampel mengandung vitamin C (Noviyanty et al., 2021).

2. Uji dengan larutan AgNO₃ 1%

Masing-masing larutan sampel sebanyak 1 ml ditambahkan 10 ml AgNO₃ 1% sebanyak 10 ml dan 4 ml aquadest kemudian dipanaskan diatas api kecil sampai berubah warna. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna hitam (Sari et al., 2021).

3. Uji dengan larutan iodium

Masing-masing larutan sampel sebanyak 2 mL ditambahkan dengan larutan pereaksi iodium sebanyak 1-3 tetes, kemudian dipanaskan diatas api kecil. Hasil positif ditunjukkan dengan warna iodium berubah menjadi lebih muda atau hilang (Kartikawati & Yudi, 2019).

3.4.4 Validasi Metode

1. Uji Akurasi

Akurasi pada penelitian ini dilakukan dengan metode penambahan baku (standard addition method). Perbandingan antara ekstrak dan baku standar adalah 7:3 dengan rentang 80, 100, dan 120%. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum dan percobaan dilakukan sebanyak 3 kali (Yunita et al, 2019).

2. Uji Presisi

Larutan baku seri dengan konsentrasi 6 ppm ditentukan absorbansinya pada gelombang maksimum. Pengujian dilakukan dengan enam kali

pengulangan dan dianalisis pada waktu yang bersamaan untuk mendapatkan keterulangan. Kemudian ditentukan RSD nya (Kurniawati & Lestari, 2024)

3. Uji Linearitas

Penentuan linearitas dilakukan bersamaan dengan pembuatan kurva baku pada deret larutan baku seri yang sama, yaitu pada kadar 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Absorbansi ditentukan dengan menggunakan gelombang maksimum dan kemudian ditentukan nilai r (Kurniawati & Lestari, 2024).

3.4.5 Uji Kuantitatif Vitamin C

1. Pembuatan larutan baku Vitamin C 100 ppm

Vitamin C ditimbang 50 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL dan dilarutkan dengan aquadest sampai tanda batas (Karinda et al., 2013).

2. Penentuan panjang gelombang maksimum Vitamin C

Ambil masing-masing larutan baku vitamin C sebanyak 6 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL (12 ppm). Kemudian tambahkan aquadest bebas CO₂ sampai tanda batas dan homogenkan. Diukur serapan maksimum pada panjang gelombang 200-400 nm dan menggunakan blanko aquadest (Yulianto et al., 2022).

3. Penentuan kurva baku vitamin C

Ambil larutan vitamin C 100 ppm masukan ke dalam labu ukur 50 mL kemudian tambahkan aquadest sampai tanda batas. Kemudian di masukan dalam labu ukur sebanyak 1 mL, 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm), tambahkan aquadest sampai tanda batas lalu diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Karinda et al., 2013).

4. Penentuan kadar vitamin C

Ambil larutan sampel vitamin C sebanyak 3 mL. Kemudian dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan dilakukan replikasi uji sebanyak 3 kali pengulangan (Hapsari et al., 2023).

Kadar vitamin C dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier berdasarkan kurva kalibrasi hasil pengukuran instrumen spektrofotometri UV Vis. Data absorbansi yang diperoleh dari penetapan kadar sampel vitamin C pada buah mangga digunakan sebagai y dalam persamaan regresi linier. Dengan demikian akan diperoleh nilai x sebagai kadar vitamin C dalam larutan sampel.

Rumus persamaan regresi linier yaitu:

$$Y = bx + a$$

Keterangan :

X = konsentrasi (ppm)

Y = absorbansi (serapan)

B = koefisien regresi (slope atau kemiringan kurva)

A = intersep

(Herawan, 2019).

3.5 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan IBM SPSS Statistic (*Statistical Proceduct and Service Solutions*). Hasil data yang diperoleh akan diuji dengan menggunakan uji one way ANOVA. Analisis data diawali dengan uji normalitas (*Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas.