

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah non eksperimen dengan desain penelitian yang digunakan adalah komparatif. Pada penelitian ini, peneliti membuat test kit vitamin C dengan bahan dasar biji alpukat yang akan dibandingkan efektivitasnya dengan test kit vitamin C yang dijual dipasaran.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan Maret-April 2021 di Laboratorium Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang

#### **3.3 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.3.1 Alat**

Peralatan yang digunakan adalah wadah plastik, pisau, telenan, blender, oven, loyang, ayakan, saringan, sendok, timbangan, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet ukur, pipet volume, pipet tetes, erlenmeyer, gelas beaker, labu takar

##### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan adalah ekstrak amilum biji alpukat (amilum 1%), aquades, serbuk vitamin C BPHI (SAP Chemicals), larutan iodine 1%, test kit komersil (Merk B), natrium metabisulfite.

#### **3.4 Variabel Penelitian**

##### **3.4.1 Variabel Independen**

Pada penelitian ini variabel independen adalah larutan standar vitamin C, test kit vitamin C ekstrak amilum biji alpukat dan test kit komersil

### 3.4.2 Variabel Dependen

Pada penelitian ini variabel dependen adalah perbandingan efektivitas test kit vitamin C secara kualitatif

### 3.5 Definisi Operasional Variabel

| No. | Variabel                  | Definisi                                                                                                                      | Cara Ukur                                                                                         | Hasil Ukur                                                                                                                                           | Skala Data |
|-----|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 1   | Larutan standar vitamin C | Larutan yang mengandung suatu zat yang konsentrasinya sudah diketahui secara pasti                                            | Uji kualitatif larutan standar vitamin C yang direaksikan dengan reagen test kit A dan test kit B | Larutan standar vitamin C dinyatakan dalam bentuk positif (+) apabila tidak terjadi perubahan warna atau negatif (-) apabila terjadi perubahan warna | Nominal    |
| 2.  | Test kit vitamin C        | Suatu metode pengujian kualitatif secara sederhana untuk mengidentifikasi ada atau tidaknya kandungan vitamin C dalam sampel. | Uji efektivitas test kit yang telah dibuat dengan test kit yang sudah ada                         | Vitamin C dinyatakan dalam bentuk positif (+) atau negatif (-)                                                                                       | Nominal    |

## **3.6 Metode Penelitian**

### **3.6.1 Pembuatan Larutan**

#### **3.6.1.1 Pembuatan Larutan Natrium Metabisulfit ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) 3000ppm**

Serbuk  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ditimbang sebanyak 6gram dimasukkan kedalam gelas beaker kemudian ditambahkan aquades dan diaduk hingga homogen. Setelah itu dimasukkan kedalam gelas beaker 2000mL ditambahkan aquades hingga larutan menjadi 2000mL dan diaduk hingga homogen.

#### **3.6.1.2 Pembuatan Reagen Amilum 1%**

Serbuk ekstrak amilum biji alpukat sebanyak 1gram dimasukkan kedalam gelas beaker yang sebelumnya sudah diisi dengan aquades. Kemudian larutan diaduk hingga homogen dan dimasukkan kedalam labu takar 10mL, ditandabatkan menggunakan aquades lalu dikocok hingga homogen

#### **3.6.1.3 Pembuatan Larutan Uji 0ppm**

Aquades disiapkan dalam gelas beaker dipipet sebanyak 5mL dimasukkan dalam tabung reaksi

#### **3.6.1.4 Pembuatan Larutan Induk Vitamin C 1000ppm**

Serbuk vitamin C ditimbang sebanyak 0,25gram dimasukkan dalam gelas beaker kemudian ditambahkan aquades dan diaduk hingga homogen. Lalu dimasukkan kedalam labu takar 250mL ditandabatkan menggunakan aquades dan dikocok hingga homogen.

#### **3.6.1.5 Pembuatan Larutan Standar 10-100ppm**

Larutan baku vitamin C 1000ppm dipipet sebanyak 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5 dan 5mL dimasukkan kedalam labu takar 50mL kemudian ditandabatkan menggunakan aquades dan dikocok hingga homogen.

### **3.6.1.6 Pembuatan Larutan Standar 100-1000ppm**

Larutan baku vitamin C 1000ppm dipipet sebanyak 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 dan 50mL dimasukkan kedalam labu takar 50mL kemudian ditandabatkan menggunakan aquades dan dikocok hingga homogen.

### **3.6.1.7 Pembuatan Larutan Uji (sampel)**

Minuman kemasan yang diduga mengandung vitamin C disiapkan dalam erlenmeyer kemudian dipipet sebanyak 5mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi.

## **3.6.2 Ekstraksi Amilum dari Biji Alpukat**

Langkah pertama yang dilakukan adalah pengumpulan sampel biji alpukat. Setelah biji alpukat terkumpul, dipisahkan antara kulit biji alpukat dengan biji alpukat kemudian dicuci dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang terdapat pada biji alpukat. Ditimbang biji alpukat sebanyak 500gram dan dipotong kecil-kecil, setelah itu direndam menggunakan larutan Natrium Metabisulfit ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) selama 3 hari. Perendaman menggunakan larutan Natrium Metabisulfit ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) bertujuan untuk menghambat reaksi pencoklatan pada biji alpukat, karena Natrium Metabisulfit ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) berfungsi sebagai agen anti pencoklatan enzimatik (browning).

Setelah direndam, biji alpukat dibilas menggunakan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan bau dari larutan Natrium Metabisulfit ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ). Biji alpukat digiling menggunakan blender lalu ditambahkan aquades 1:1 untuk menghaluskan dan mempermudah mendapatkan amilum dari biji alpukat.

Setelah biji alpukat menjadi bubur dan halus, kemudian disaring dan filtrat ditampung dalam gelas beaker. Penyaringan bertujuan untuk memisahkan filtrat dan ampas dari proses penggilingan. Filtrat yang didapat ditutup dan didiamkan selama 24jam agar fasa air dengan fasa amilum dalam larutan terpisah. Fasa amilum diambil dan diratakan diatas kertas saring kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu  $40^\circ\text{C}$  selama 6jam yang bertujuan untuk menghilangkan air yang terdapat pada ekstrak biji alpukat.

Ekstrak biji alpukat yang sudah kering dihaluskan menggunakan mortar dan alu untuk mendapatkan ekstrak biji alpukat yang berupa serbuk. Kemudian serbuk ekstrak biji alpukat diayak untuk memisahkan serbuk dari kotoran dan mendapatkan ukuran serbuk ekstrak biji alpukat yang seragam. Setelah itu serbuk ekstrak biji alpukat ditimbang untuk mengetahui bobot akhir serbuk yang dihasilkan.

### **3.6.3 Pengujian Kualitatif Ekstrak Amilum Biji Alpukat**

Serbuk ekstrak biji alpukat ditimbang sebanyak 1gram dimasukkan kedalam gelas beaker dan dilarutkan dengan 100mL aquades. Dipipet sebanyak 5mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1tetes iodin 1% diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif amilum ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu

### **3.6.4 Pengujian Vitamin C menggunakan Test Kit A (Ekstrak Amilum Biji Alpukat)**

Test kit ekstrak amilum biji alpukat terdiri dari reagen iodin dan reagen amilum yang telah dibuat. Disiapkan larutan baku vitamin C pada rentang konsentrasi 0-1000ppm yang telah dibuat kemudian dipipet masing-masing larutan sebanyak 5mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditetaskan reagen iodin 1% sebanyak 1tetes dan reagen amilum sebanyak 35tetes untuk mencapai hasil yang optimal, diamati perubahan warna yang terjadi.

### **3.6.5 Pengujian Vitamin C menggunakan Test Kit B (Komersil)**

Test kit B terdiri reagen A dan reagen B yang telah tersedia pada test kit komersil. Disiapkan larutan baku vitamin C pada rentang konsentrasi 0-1000ppm yang telah dibuat kemudian dipipet masing-masing larutan sebanyak 5mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditetaskan reagen A sebanyak 4tetes dan reagen B sebanyak 4tetes, diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna dari bening menjadi ungu kemerahan (violet).

### **3.7 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data**

#### **3.7.1 Uji Kualitatif Amilum dari Biji Alpukat**

Ekstrak amilum biji alpukat diuji secara kualitatif. Hasil positif (+) amilum ditunjukkan dengan perubahan warna dari bening menjadi ungu dan hasil negatif (-) ditunjukkan dengan tidak terjadinya perubahan warna.

#### **3.7.2 Uji Kualitatif Vitamin C menggunakan Test Kit A (Ekstrak Biji Alpukat)**

Data uji test kit vitamin C yang diuji secara kualitatif dibuat dan disajikan dalam bentuk tabel. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna pada larutan dari ungu menjadi bening dan hasil negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada larutan.

#### **3.7.3 Uji Kualitatif Vitamin C menggunakan Test Kit B (Komersil)**

Data uji test kit vitamin C yang diuji secara kualitatif dibuat dan disajikan dalam bentuk tabel. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna pada larutan dari bening menjadi ungu kemerahan dan hasil negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada larutan.