

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian secara experiental dengan desain penelitian true experimental design. Menurut (Restu, 2014) true experimental design adalah penelitian yang menyelidiki sebuah hubungan sebab akibat dimana peneliti dapat mengembangkan variabel- variabel luar yang dapat mempengaruhi jalanya penelitian sehingga diperoleh perbandingan hasil dari penelitian yang dilakukan.

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

Penelitian ini dilakukan pada bulan juni tahun 2022 di Laboratorium Farmasi Universitas Machung.

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

##### **3.3.1 Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, mikro pipet, botol semprot, sentrifuge, tabung sentrifuge, beaker glas, kertas saring, gelas ukur, labu ukur, pipet tetes, bola hisab, pipet volume, batang pengaduk, spatula, corong, seperangkat alat maserasi, spektrofotometer Uv-Vis.

##### **3.3.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk simplisia daun kelor, asam askorbat, aquadest,  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a, ammonium molibdat 5%,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5%, etanol 96% dan asam oksalat 0,4%.

#### **3.4 Variabel Penelitian**

Variabel merupakan karakteristik atau ciri-ciri yang dimiliki oleh subjek yang diteliti dengan variasi dari hasil pengukuran. Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang berubah karena variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah

perbandingan metode preparasi . Vabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar vitamin C.

### 3.5 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Metode	Skala Data
Kadar vitamin C	Kadar vitamin C pada daun kelor dengan variasi preparasi larutan uji yang berbeda	-	Spektrofotometri Uv-Vis	Rasio

### 3.6 Metode Penelitian

Metode penelitian prosedur kerja analisis vitamin C pada daun kelor menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis ini merujuk pada Khadijah., dkk (2021) dengan judul analisis kandungan vitamin C ekstrak daun kelor pada ketinggian berbeda di kota baubu dan merujuk pada Rahmawati., dkk (2016) dengan judul analisis kandungan vitamin C dan  $\beta$ - karoten dalam daun kelor dengan metode spektrofotometri Uv-Vis.

#### 3.6.1 Metode 1 (Khadijah., dkk, 2021)

##### 3.6.1.1 Pembuatan larutan Natrium Oksalat 0,01N

Ditimbang 0,1675 gram padatan  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  kemudian diencerkan dengan asam sitrat 0,1M sebanyak 121,25ml dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,2M sebanyak 128,75ml kedalam labu ukur 250ml kemudian larutan di homogenkan.

### **3.6.1.2 Preparasi sampel**

Serbuk simplisia ditimbang masing-masing sebanyak 1gram dan diekstraksi menggunakan 4ml larutan  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  0,01N, selanjutnya larutan disentrifugasi dan didekantasi kemudian filtrat di pisah. Sentrifugasi diulang hingga residu tidak berwarna.

### **3.6.1.2 Pembuatan Larutan Baku Induk 1000ppm**

Asam askorbat ditimbang 50mg dimasukan kedalam labu ukur 50ml kemudian dilarutkan dengan natrium oksalat 0,01N ditanda batasakan dan dihomogenkan.

### **3.6.1.3 Pembuatan Larutan Baku Induk antara 500ppm**

Larutan baku induk 1000ppm dipipet 12,5ml dimasukan kedalam labu ukur 25ml, ditanda batasakan dengan natrium oksalat 0,01 N dan dihomogenkan..

### **3.6.1.4 Pembuatan Larutan Kurva Kalibrasi (2ppm, 4ppm, 6ppm, 8ppm, dan 10ppm)**

Larutan induk baku antara 500ppm dipipet masing-masing 0,04ml, 0,08ml, 0,12ml, 0,16ml, dan 0,2ml kedalam labu ukur 10ml , masing-masing larutan ditanda batasakan dengan natrium oksalat 0,01N dan di homogenkan, kemudian diukur absorbansinya pada gelombang maksimum dengan spektrofotometri Uv-Vis.

### **3.6.1.5 Penentuan panjang gelombang maksimum**

Penentuan panjang gelombang maksimum dengan memipet 0,2ml larutan baku induk antara 500ppm kemudian dimasukan kedalam labu ukur 10ml dan ditandabatasan dengan natrium oksalat 0,01N dan dihomogenkan. Kemudian di masukan kedalam kuvet dan di ukur serapannya menggunakan spektrofotometri Uv-Vis rentang 200-400 nm.

### **3.6.1.6 Penetapan kadar vitamin C daun kelor**

Larutan uji yang sudah dipreparasi di masukan kedalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dengan pengulangan 3kali replikasi menggunakan spektrofotometri Uv-Vis.

### **3.6.2 Metode 2 (Rahmawati., dkk, 2016)**

#### **3.6.2.1 Preparasi Sampel**

Serbuk daun kelor ditimbang 500mg dan diencerkan dengan etanol 95% hingga serbuk terendam kedalam bejana tertutup tanpa paparan sinar cahaya matahari selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Kemudian simplisia disaring dan ampasnya di rendam dengan penyari baru dengan perlakuan sebanyak 3 kali. Filtrat yang diperoleh di uapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya ditimbang 1gram ekstrak etanol dan ditandabatkan dengan etanol 96% kedalam labu ukur 25ml. Larutan di pipet 1ml dan ditambahkan dengan 4ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5% kedalam labu ukur 10ml kemudian ditanda bataskan menggunakan ammonium molibdat 5% dikocok dan dihomogenkan, kemudian larutan diinkubasi selama 30menit.

#### **3.6.2.2 Pembuatan Larutan Baku Induk 1000ppm**

Asam askorbat ditimbang 25mg kedalam labu ukur 25ml kemudian dilarutkan dengan asam oksalat 0,4% ditanda bataskan dan di homogenkan.

#### **3.6.2.3 Pembuatan Larutan Kurva Kalibrasi (20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm, 60ppm, 70ppm dan 80ppm)**

Larutan induk baku 1000ppm dipipet masing-masing 0,2ml, 0,3ml, 0,4ml, 0,5ml, 0,6ml, 0,7ml dan 0,8ml kedalam labu ukur 10ml , masing-masing larutan ditambahkan 4ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5% dan ditanda bataskan dengan ammonium moblidat 5% kemudian dihomogenkan, kemudian larutan diinkubasi selama 30menit dan diukur serapan panjang gelombang maksimumnya.

#### **3.6.2.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Larutan baku induk 1000ppm dipipet 0,8ml kedalam labu ukur 10ml kemudian ditambahkan 4ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5% dan ditanda bataskan dengan ammonium moblidat 5% kemudian di homogenkan. Larutan di inkubasi selama 30 menit dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometri Uv-Vis.

#### **3.6.2.5 Penetapan kadar vitamin C daun kelor**

Larutan uji yang sudah dipreparasi di masukan kedalam kuvet dan diukur serapan panjang gelombang dengan pengulangan 3kali replikasi menggunakan spektrofotometri Uv-Vis.

#### **3.6.3 Perbandingan kadar vitamin C daun kelor**

Dilakukan perbandingan kadar vitamin C untuk mengetahui metode yang lebih efektif dalam penentuan kadar vitamin C menggunakan spektrofotometri Uv-Vis.