

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Rancangan analisis di bawah dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan pendekatan analitik secara *cross sectional*. Menentukan kadar vitamin C dari kulit pepaya California (*Carica papaya* L.) menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode spektrofotometri UV – Vis.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian

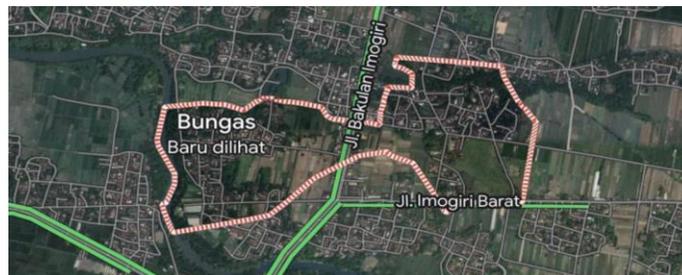
Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Juni 2023 hingga Juli 2023.

C. Sampel Penelitian

Penelitian menggunakan sampel dari kulit buah pepaya berjenis california yang diperoleh di Dusun Bungas, Kecamatan Jetis, Kabupaten Bantul, Yogyakarta yang berada pada ketinggian 45 meter di atas permukaan laut, dimana suhu tertinggi di kecamatan ini adalah 30°C dengan suhu terendah 25°C. Sampel kulit pepaya dibuat ekstrak dengan pelarut etanol 70% kemudian diidentifikasi dengan KLT lalu ditetapkan kandungannya menggunakan metode spektrofotometri UV – Vis. Peta lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 1. Peta Daerah Pengambilan Sampel

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas (*independent variable*)
Kulit pepaya California (*Carica papaya* L.) sudah masak dan belum masak.
2. Variabel terikat (*dependen variable*)
Tingkat kematangan dari kulit pepaya California (*Carica papaya* L.) sudah masak dan belum masak.
3. Variabel terkontrol
Suhu pengeringan simplisia 50°C dengan menggunakan oven, simplisia diayak menggunakan ayakan 40 mesh, maserasi dengan pelarut etanol 70%, lama maserasi 24 jam, dilakukan remaserasi 1 kali.

E. Definisi Operasional Variabel

1. Sampel yang digunakan adalah kulit pepaya California yang diperoleh dari Dusun Bungas, Kecamatan Jetis, Kabupaten Bantul, Yogyakarta.
2. Pengeringan simplisia pada suhu 50°C menggunakan oven, simplisia kering dihaluskan dan diayak dengan ayakan 40 mesh, maserasi dilakukan selama 24 jam pada kulit pepaya masak dan belum masak dengan pelarut etanol 70%.
3. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, dengan membandingkan kandungan vitamin C dari kulit pepaya California yang sudah masak dengan yang belum masak.
4. Identifikasi vitamin C pada kulit pepaya California dengan KLT dan menentukan kadar asam askorbat dengan spektrofotometer UV – Vis menggunakan panjang gelombang 200 – 400 nm.

F. Alat dan Bahan

1. Alat
Timbangan analitik (*Ohaus*) oven (*Memmert UN55*), blender (*Sharp*), batang pengaduk, ayakan mesh 40, alat – alat gelas laboratorium, *moisture balance*,

peralatan maserasi, peralatan KLT, dan spektrofotometer UV – Vis (*Genesys 10S*).

2. Bahan

Kulit pepaya California yang sudah masak dengan yang belum masak masing – masing 5 buah, etanol 70% teknis *grade A*, etanol p.a (*Merck*), kertas saring, pembanding vitamin C p.a. (*Merck*).

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Determinasi sampel

Dilakukan determinasi kulit pepaya bertujuan untuk mengetahui kebenaran, ciri-ciri, dan spesies dari kulit pepaya. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan.

2. Penyiapan sampel

Pepaya yang digunakan adalah pepaya yang sudah masak dengan yang belum masak yang diperoleh dari Dusun Bungas, Kecamatan Jetis, Kabupaten Bantul. Pepaya yang diteliti berjenis california, bagian yang diberi perlakuan adalah kulit pepaya yang belum masak dengan yang sudah masak. Kemudian kulit pepaya dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai benar – benar kering dan dicek kadar lembabnya menggunakan alat *moisture balance*. Setelah itu, dihaluskan dengan menggunakan blander hingga menjadi serbuk simplisia dan diayak dengan ayakan 40 mesh (Rahayu *et al.*, 2009). Uji kandungan lembab menggunakan alat *moisture balance*. Dimasukkan 1 gram simplisia kering dalam wadah, ditara dan di ukur dengan menekan tombol start. Depkes RI (2008) menyatakan bahwa batas kadar air yang ditetapkan adalah $\leq 10\%$.

3. Penyiapan Ekstrak Kulit Pepaya

Serbuk simplisia kulit pepaya yang telah dikeringkan dimaserasi dengan cara diambil masing – masing 20 gram direndam dalam etanol 70% sebanyak 200 mL (1 : 10), selama 24 jam serta sesekali dilakukan pengadukan. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dengan residunya. Dilakukan

remaserasi pada residu hasil penyaringan sebanyak 1 kali dengan pelarut etanol 70% sebanyak 100 mL agar mengantisipasi jika masih terdapat kandungan vitamin C dari sampel yang belum tersari. Filtrat yang diperoleh hasil dari maserasi dan remaserasi dipiekatkan di waterbath dengan suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental dan dihitung rendemennya. Rumus perhitungan rendemen:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental (gram)}}{\text{Bobot simplisia awal (gram)}} \times 100 \% \text{ (Depkes, 2000).}$$

4. Analisis Kualitatif

a. Uji Organoleptis

Uji organoleptis merupakan salah satu cara pengujian dengan menggunakan indera manusia untuk melihat daya penerimaan terhadap suatu produk. Dalam penilaian suatu produk, sifat yang menentukan diterima atau tidaknya adalah sifat indrawinya. Indra yang digunakan untuk menilai adalah pengelihatannya, peraba, pembau, dan pengecap (Suryono *et al.*, 2018).

b. Identifikasi C pepaya dengan menggunakan reaksi warna KMnO_4 .

Sampel diambil sebanyak 0,5 mL direaksikan dengan 5 mL KMnO_4 1% dan 2 mL air suling. Keberadaan asam askorbat atau vitamin C dibuktikan dengan perubahan warna ungu menjadi coklat.

c. Identifikasi vitamin C kulit pepaya dengan menggunakan metode KLT.

Plat KLT G 60 F254 sebagai fase diam di oven pada suhu 100°C selama 30 menit, standar dan sampel kemudian diaplikasikan dengan cara ditotolkan pada plat KLT yang sudah diaktifkan. Plat yang sudah ditotolkan kemudian di letakkan dalam sebuah *chamber* yang sebelumnya berisi fase gerak yang telah dijenuhkan. Dalam penelitian ini digunakan fase geraknya berupa butanol: asam asetat glasial: akuades (8 : 2 : 10 v/v/v) yang tidak didiamkan selama 24 jam. Setelah itu pembuatan fase gerak mengikuti penelitian Priyanto & Islamiyati (2018). Sebanyak 20 mL dengan cara diambil butanol sebanyak 8 mL, asam asetat 2 mL, dan air 10 mL, dihomogenkan dan dilakukan proses pemisahan fase air dan butanol menggunakan corong pisah, kemudian butanol

yang telah dipisahkan diambil 5 mL dan dituang kedalam *chamber*. Setelah standar dan sampel terelusi hingga tanda batas, plat dikeringkan dan dilakukan indentifikasi bercak menggunakan sinar UV 254. Kemudian plat disemprot dengan larutan iodine 1%.

5. Analisis Kuantitatif Penetapan Kadar C pepaya menggunakan Spektrofotometri UV – Vis.
 - a. Penyiapan Larutan Induk Vitamin C 1000 ppm
Dibuat larutan induk vitamin C 1000 ppm dengan cara menimbang seksama 100,0 mg vitamin C yang dilarutkan dengan etanol p.a hingga tanda batas di labu *volume* 100,0 mL.
 - b. Penyiapan Larutan Induk Vitamin C 100 ppm
Dibuat vitamin C 100 ppm dari pengenceran larutan induk vitamin C 1000 ppm dengan diambil 1,0 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a di labu *volume* 10 mL.
 - c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum
Dimasukkan sebanyak 1,0 mL larutan vitamin C 100 ppm ke dalam labu *volume* 10 mL (konsentrasi 10 ppm) diberi etanol p.a hingga tanda tera kemudian dihomogenkan. Diukur serapan maksimum pada panjang gelombang 200 – 400 nm menggunakan blanko etanol p.a dan dihasilkan panjang gelombang maksimum vitamin C 267 nm.
 - d. Penyiapan Kurva Kalibrasi
Diambil larutan induk vitamin C 100 ppm ke dalam labu *volume* 10 mL masing – masing sebesar 0,1 mL; 0,25 mL; 0,3 mL; 0,35 mL; 0,4 mL; 0,5 mL; dan 0,55 mL sehingga mempunyai konsentrasi 2 ppm, 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 11 ppm. Diberi dengan etanol p.a sampai tanda tera lalu dihomogenkan. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum vitamin C 267 nm dengan menggunakan blanko etanol p.a.
 - e. Penetapan Kadar Sampel
Penetapan kadar sampel mengikuti acuan dari penelitian Aptika *et al.*, (2020).

Ekstrak kulit pepaya belum masak (1500 ppm) dan kulit buah pepaya sudah masak (1500 ppm) diukur serapannya pada panjang gelombang 267 nm. Jika nilai hasil absorbansi tinggi dapat dilakukan pengenceran. Pengukuran dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Setelah di dapatkan hasil absorbansi dihitung kadarnya kemudian dilanjutkan dengan analisa SPSS.

6. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Analisis data menggunakan rumus Rf

Jarak yang ditempuh total pada permukaan plat dapat diukur dan dihitung dengan menggunakan persamaan besarnya nilai Rf, sebagai berikut (Rosamah, 2019):

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{jarak yang ditempuh zat}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

2. Analisis Kadar dengan Spektrofotometri UV-Vis

Analisis Kualitatif dalam identifikasi vitamin C pada sampel kulit pepaya California dilakukan dengan menggunakan metode KLT. Penetapan kandungan vitamin C yang terdapat di sampel dilakukan dengan cara memasukkan nilai absorbansi sampel pada persamaan regresi linier kurva kalibrasi vitamin C, lalu dihitung kandungan vitamin C pada sampel (Rini Lestari & Darmayanti, 2021).

Dapat dilihat persamaan regresi linier seperti berikut:

$$y = a + bx$$

Keterangan:

y = variabel respon atau variabel akibat (*Dependen*)

x = variabel *predictor* atau variabel faktor penyebab (*Independen*)

a = konstanta

b = *slope*; besaran respon yang ditimbulkan

Hal ini dikemukakan oleh Sudewi & Pontoh (2018) bahwa hasil regresi linier dapat dikonversikan dengan % RSD. Dapat dilihat rumus % RSD seperti berikut:

$$\text{RSD} = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

Keterangan:

RSD= *Relative Standar Deviation*

SD = Standar Deviasi

X = Kadar rata – rata vitamin C dalam sampel

3. Analisis Data dengan SPSS

Perhitungan dilakukan menggunakan SPSS 26 dengan perangkat *Windows*. Kemudian hasil data penelitian di uji homogenitas dan normalitas dilanjutkan dengan Uji *Independent* (T Test). Uji T digunakan untuk membandingkan nilai rata – rata dari dua populasi dengan selang waktu kepercayaan tertentu. Pengujian dua kelompok data tersebut memberikan informasi bahwa terdapat adanya perbedaan bermakna atau tidak dari kedua varian data yang diuji (Rohman, 2014).

PEPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL
YOGYAKARTA