

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen (experimental research) dengan desain penelitian yang digunakan adalah true experimental desain. Pada penelitian ini peneliti membuat test kit vitamin C dengan bahan dasar biji nangka yang nantinya akan dibandingkan efektivitasnya dengan test kit vitamin C yang sudah beredar di pasaran.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari – Maret 2020 di Laboratorium Teknologi Tepat Guna (TTG) Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit (BBTKLPP) Surabaya.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya pisau, baskom plastik, talenan, timbangan analitik, blender, ayakan, oven, saringan, sendok, loyang, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet ukur, pipet volume, pipet tetes, erlenmeyer, gelas kimia, labu takar.

3.3.2. Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak amilum biji nangka (Amilum 1%) , aquadest, serbuk vitamin C BPHI, padatan iod, KI, test kit merk B.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Independen (Bebas)

Pada penelitian ini variabel independen adalah test kit vitamin C komersial dan test kit vitamin C ekstrak amilum biji nangka.

3.4.2. Variabel Dependen (Terikat)

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

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
1	Ekstraksi amilum biji nangka	Memastikan ada tidaknya kandungan amilum pada biji nangka	Uji kualitatif kandungan amilum biji nangka direaksikan dengan reagen iodin 1%	Amilum biji nangka dinyatakan dalam bentuk positif (+) atau negatif (-) perubahan warna	Nominal
1.	Kandungan Vitamin C	Memastikan kandungan vitamin C pada sampel makanan atau minuman	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 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) 2500 ppm

Serbuk $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ditimbang sebanyak 5 gram dimasukkan dalam beaker glass kemudian ditambahkan sedikit aquadest dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya dimasukkan dalam baskom, ditambahkan aquadest hingga volume larutan menjadi 2000 ml dan aduk hingga homogen.

3.6.1.2. Pembuatan reagen amilum 1%

Serbuk ekstrak amilum biji nangka sebanyak 1 gram dimasukkan dalam beaker glass yang sudah ditambahkan dengan aquadest yang sudah dipanaskan sebelumnya. Larutan kemudian diaduk dan dihomogenkan. Kemudian larutan amilum dimasukkan dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan aquadest panas hingga tanda batas, dikocok hingga homogen.

3.6.1.3. Pembuatan reagen iodine 1%

Padatan Iod (I_2) sebanyak 3,175 gram dimasukkan dalam beaker glass ditambahkan dengan aquadest dan ditambahkan sedikit demi sedikit padatan Kalium Iodida (KI) sebanyak 10 gram. Masukkan larutan iodine dalam labu takar 250 ml dan tambahkan dengan aquades hingga tanda batas, kocok hingga homogen dan masukkan dalam botol gelap.

3.6.1.4. Pembuatan larutan induk vitamin C 1000 ppm

Serbuk vitamin C murni ditimbang sebanyak 0,25 gram dimasukkan dalam beaker glass dan dilarutkan dalam aquadest, aduk hingga homogen. Kemudian dimasukkan dalam labu takar 250 ml ditandabatkan menggunakan aquadest dan dikocok hingga homogen.

3.6.1.5. Pembuatan Larutan Standar 10 - 100 ppm

Larutan baku vitamin C 1000 ppm dipipet sebanyak 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, dan 5 ml dimasukkan dalam labu takar 50 ml dan dilarutkan menggunakan aquades hingga tanda batas kemudian kocok hingga homogen.

3.6.1.6. Pembuatan Larutan Standar 100 – 1000 ppm

Larutan baku vitamin C 1000 ppm dipipet sebanyak 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, dan 50 ml dimasukkan dalam labu takar 50 ml dan dilarutkan menggunakan aquades hingga tanda batas kemudian kocok hingga homogen.

3.6.1.7. Pembuatan larutan uji 0 ppm

Menyiapkan minuman kemasan yang diduga mengandung vitamin C masukkan dalam erlenmeyer. Pipet sebanyak 5 ml dan masukkan kedalam tabung reaksi.

3.6.2. Ekstraksi Amilum dari Biji Nangka

Proses pertama adalah pengumpulan biji nangka. Biji nangka yang terkumpul kemudian dicuci dengan air mengalir. Proses sortasi dilakukan dengan memisahkan buah nangka dengan biji nangka kemudian dicuci bertujuan untuk menghilangkan kotoran – kotoran yang terdapat pada biji nangka. Biji nangka dikeringkan dibawah sinar matahari selama 24 jam. Biji nangka yang sudah kering kemudian dipisahkan dari kulit luarnya.

Timbang biji nangka sebanyak 500 gram dan diredam menggunakan larutan Natrium Metabisulfit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) yang telah dibuat selama 24 jam. Natrium metabisulfit berfungsi sebagai agen anti pencoklatan enzimatik (browning) pada ekstrak biji nangka yang dihasilkan. Natrium metabisulfit sangat efektif digunakan untuk menghambat reaksi pencoklatan pada biji nangka. Selain sebagai anti pencoklatan, natrium metabisulfit juga berfungsi sebagai pengawet dan menghambat pertumbuhan mikroba.

Setelah diredam, biji nangka dipotong kecil – kecil dan dibilas menggunakan air mengalir untuk menghilangkan bau larutan natrium metabisulfit. Kupas kulit ari dari biji nangka, selanjutnya biji nangka dicuci untuk menghilangkan kotoran– kotoran yang masih menempel pada biji nangka. Setelah dicuci biji nangka ditimbang kembali.

Selanjutnya proses penggilingan dilakukan dengan cara biji nangka diblender dengan pelarut aquadest bertujuan untuk menghaluskan dan mempermudah mendapatkan amilum dari biji nangka. Blender biji nangka hingga menjadi bubur dan halus.

Tahapan selanjutnya adalah penyaringan. Saring larutan biji nangka dan tampung filtrat masukkan dalam beaker glass. Bubur biji nangka disaring bertujuan untuk memisahkan filtrat dan ampas, filtrat cair berwarna putih susu yang didapat kemudian ditutup dan didiamkan selama 24 jam agar fasa air dan fasa amilum dalam larutan terpisah.

Setelah 24 jam fasa air dan fasa amilum terpisah sempurna dapat dilihat dari terbentuknya dua fasa pada larutan. Bagian bawah berwarna putih susu adalah fasa amilum sedangkan pada bagian atas berwarna putih kekuningan adalah fasa air. Fasa amilum mengendap dibawah dikarenakan berat partikel dari fasa amilum lebih besar daripada fasa air.

Tahapan berikutnya adalah pengeringan. Fasa amilum dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 24 jam. Fasa amilum diambil dan diratakan di atas kertas saring kemudian dikeringkan menggunakan oven untuk menghilangkan air yang terdapat pada ekstrak biji nangka. Pengeringan dilakukan pada suhu 60°C selama 24 jam hingga ekstrak biji nangka benar-benar kering.

Ekstrak biji nangka yang sudah kering berupa padatan yang mudah rapuh sehingga perlu dihaluskan menggunakan alu mortar untuk mendapatkan hasil ekstrak yang berupa serbuk. Kemudian dihaluskan menggunakan mortar dan alu untuk menghasilkan serbuk biji nangka.

Serbuk ekstrak biji nangka selanjutnya melalui tahapan pengayakan untuk memisahkan serbuk dari kotoran dan untuk mendapatkan ukuran serbuk ekstrak biji nangka yang seragam. Tahapan terakhir yaitu serbuk ekstrak biji nangka ditimbang untuk mengetahui bobot akhir serbuk yang dihasilkan.

3.6.3. Pengujian Kualitatif Ekstrak Amilum Biji Nangka

Serbuk ekstrak amilum biji nangka ditimbang 1 gram dilarutkan dalam 100 ml aquades kemudian dipipet sebanyak 5 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Tambahkan 1 tetes iodine 1% yang telah dibuat. Amati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif amilum ditandai dengan perubahan warna putih susu menjadi biru gelap keunguan.

3.6.4. Pengujian vitamin C menggunakan Test Kit A (Test Kit Ekstrak Biji Nangka)

Test Kit A terdiri dari reagen amilum dan reagen iodine. Selanjutnya siapkan larutan baku vitamin C pada rentang konsentrasi 0 ppm - 1000 ppm yang telah dibuat, dipipet masing-masing 5 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Teteskan reagen iodine 1% sebanyak 1 tetes dan reagen amilum 1% sebanyak 5 tetes untuk mencapai optimasi hasil. Amati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif mengandung vitamin C ditandai dengan hilangnya warna iodine dan berubah menjadi bening.

3.6.5. Pengujian vitamin C menggunakan Test Kit B (Test Kit Komersial)

Test Kit B terdiri dari reagen A dan reagen B yang sudah tersedia pada test kit komersial yang digunakan. Selanjutnya siapkan larutan baku vitamin C 0 ppm - 1000 ppm yang telah dibuat, dipipet masing-masing 5 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Teteskan reagen A sebanyak 4 tetes dan reagen B sebanyak 4 tetes. Amati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif mengandung vitamin C 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 Nangka

Ekstrak biji nangka diuji secara kualitatif. Hasil positif (+) amilum ditunjukkan dengan perubahan warna dari bening menjadi biru keunguan dan hasil negatif (-) ditunjukkan dengan hasil tidak terjadi perubahan warna.

3.7.2 Uji Kualitatif vitamin C menggunakan Test Kit A

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

3.7.3 Uji Kualitatif vitamin C menggunakan Test Kit B

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