

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Peneltian

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen dan menggunakan desain penelitian eksperimental yaitu menganalisis pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap kadar vitamin C buah jeruk siam. Variabel terikat dari penelitian ini adalah kadar vitamin C, sedangkan variabel bebasnya adalah buah jeruk siam, suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang

2. Waktu

Waktu penelitian telah dilaksanakan pada bulan Mei 2025

C. Populasi Penelitian

1. Populasi Sampel Buah Jeruk Siam

Jeruk siam yang digunakan dalam penelitian ini memiliki tingkat kematangan II, ditandai dengan warna kulit hijau kekuningan yang menunjukkan buah telah matang. Diameter jeruk siam berkisar 6,0 hingga 8,5 cm, dengan berat 1 kg terdiri atas 10 hingga 15 buah. Kulit jeruk siam halus, tidak keriput yang menandakan bahwa jeruk siam dalam keadaan segar. Sampel diperoleh dari kebun milik Ibu Ana, seorang petani jeruk di Desa Pancur, Kecamatan Tegineneng, Kabupaten Pesawaran. Jeruk siam dipetik secara langsung dari pohon tanpa melalui proses penyimpanan. Untuk menjaga kualitas, sampel diangkut ke laboratorium kimia Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang menggunakan keranjang plastik berukuran besar. Susunan jeruk tidak ditumpuk guna mencegah kerusakan selama proses pengangkutan.

2. Kriteria Inklusi Sampel

Sampel penelitian ini adalah buah jeruk siam yang memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi merupakan sampel yang memenuhi syarat untuk diamati dalam penelitian, yaitu jeruk siam memiliki tingkat kematangan II dengan kulit berwarna hijau kekuningan/matang, tekstur kulit halus dan tidak keriput. Diameter jeruk siam berkisar 6,0 hingga 8,5 cm, dengan berat 1 kg terdiri atas 10 hingga 15 buah.

3. Rancangan Penelitian

Penelitian bersifat eksperimen menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang melibatkan 2 perlakuan. Perlakuan pertama adalah suhu penyimpanan yaitu suhu dingin ($2-10^{\circ}\text{C}$), suhu dibawah sinar matahari ($\geq 30^{\circ}\text{C}$) dan suhu ruang ($25-30^{\circ}\text{C}$). Perlakuan kedua adalah waktu penyimpanan yaitu 0 hari (kontrol), 2 hari, 4, hari dan 6 hari. Objek penelitian ini merupakan kadar vitamin C pada buah jeruk siam dengan 7 perlakuan dan 4 kali pengulangan yang didapat dari perhitungan federer 1977 dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 (t-1)(n-1) &\geq 15 \\
 (7-1)(n-1) &\geq 15 \\
 6(n-1) &\geq 15 \\
 n-1 &\geq 15 : 6 \\
 n-1 &\geq 2.5 \\
 n &\geq 3.5
 \end{aligned}$$

Karena n harus berupa bilangan bulat, maka $n = 4$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan sampel

n : Jumlah replikasi sampel

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1 Independen						
	Buah jeruk siam	Jeruk siam pada tingkat kematangan II dengan warna kulit hijau kekuningan, berdiameter 6,0-8,5 cm dengan berat 1 kg terdiri atas 10-15 buah	Observasi	Jangka sorong & neraca analitik	Diameter (cm)	Rasio
	Suhu penyimpanan	Jeruk siam dilakukan penyimpanan pada suhu dingin kulkas (2-10 °C), suhu dibawah sinar matahari pukul 11.00 s.d 13.00 WIB pada suhu (≥ 30 °C) dan suhu ruang di laboratorium (25-30 °C)	Menentukan suhu	Termometer	°C	Interval
	Waktu penyimpanan	Jeruk siam dilakukan penyimpanan 0 hari sebagai kontrol, 2 hari, 4 hari dan 6 hari	Durasi waktu	Kalender	Hari	Rasio
2 Dependental						
	Kadar vitamin C	Kadar vitamin C yang diperiksa sebelum dan sesudah perlakuan	Spektrofotometri	Spektrofotometer <i>UV Visible</i>	mg/kg	Rasio

E. Teknik Pengumpulan Data

Peneliti menentukan total populasi berupa buah jeruk siam yang diperoleh dari kebun jeruk di Desa Pancur, Kecamatan Tegineneng, Kabupaten Pesawaran.

1. Cara Pengambilan Sampel

Disiapkan wadah yang bersih (tupperware) lalu diberi kode tanggal pengambilan sampel, suhu dan waktu penyimpanan dan nomor sampel.

2. Pemeriksaan Kadar Vitamin C

Pemeriksaan kadar vitamin C pada buah jeruk siam yang diperoleh dari kebun jeruk Desa Pancur Kecamatan Tegineneng, Kabupaten Pesawaran.

a. Alat

1) Pengambilan Sampel

Wadah penyimpanan (tupperware), spidol dan buah jeruk siam.

2) Metode Kuantitatif

Alat tulis, neraca analitik, lembar observasi, spektrofotometer UV-Vis, thermohygrometer, cawan arloji, vacumpump, beaker glass, labu ukur, batang pengaduk, corong, pipet tetes, pipet volume, pemeras jeruk, tupperware dan jangka sorong.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu buah jeruk siam yang diperoleh dari kebun jeruk Desa Pancur Kecamatan Tegineneng Kabupaten Pesawaran, vitamin C (asam askorbat pro analisis) dan aquadest.

3. Cara Kerja Pemeriksaan

1) Persiapan bahan baku

a) Pembuatan Larutan Induk Vitamin C 100 mg/L.

- a. Ditimbang dengan akurat vitamin C sebanyak 10 mg.
- b. Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml.
- c. Ditambahkan sedikit aquadest (± 20 ml) untuk melarutkan vitamin C, dihomogenkan hingga larut.
- d. Setelah vitamin C larut, ditambahkan aquadest sampai tanda batas labu ukur 100 ml.
- e. Dipastikan larutan sudah homogen dengan cara membolak-balik labu ukur secara perlahan.

b) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Baku Vitamin C

- a. Dipipet larutan induk vitamin C 100 mg/L sebanyak 25 ml.
- b. Kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml.

- c. Lalu ditambahkan aquadest sampai tanda batas labu ukur 50 ml.
 - d. Dipastikan larutan sudah homogen dengan cara membolak-balik labu ukur secara perlahan.
 - e. Selanjutnya, melakukan pengukuran serapan pada panjang gelombang 200-400 nm.
 - f. Mencatat absorbansi pada setiap panjang gelombang yang dihasilkan
- c) Pembuatan Larutan Seri Standar Vitamin C dari Larutan Induk 100 mg/L
 - a. Membuat larutan standar vitamin C dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 mg/L.
 - b. Larutan standar vitamin C dibuat dengan cara dipipet larutan induk vitamin C 100 mg/L sebanyak 5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml dan 25 ml.
 - c. Kemudian masing-masing dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml, lalu ditambahkan aquadest secara perlahan hingga mencapai tanda batas labu ukur.
 - d. Kemudian larutan disimpan dengan dilapisi alumunium foil untuk melindungi dari cahaya yang dapat merusak vitamin C (Huda & Sa'diyah, 2024).
 - d) Penentuan Kurva Kalibrasi
 - a. Disiapkan blanko (aquadest tanpa vitamin C) untuk mengkalibrasi spektrofotometri UV-Vis.
 - b. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi masing-masing larutan seri standar vitamin C pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh menggunakan spektrofotometri UV-Vis.
 - c. Untuk pengukuran panjang gelombang maksimum dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

- d. Kemudian penetapan konsentrasi vitamin C dapat dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linier dengan rumus berikut.

$$y = b \cdot x + a$$

Keterangan :

y : Absorbansi vitamin C

x : Konsentrasi vitamin C(mg/L)

b : Koefisien regresi

a : Tetapan regresi

(Herlina & Muzdalifa, 2020).

4. Penentuan Kadar Sampel

a) Pengolahan Sampel

- Jeruk siam dicuci sampai bersih, lalu dikeringkan.
- Selanjutnya, membuat 4 perlakuan sampel, yaitu: sampel diuji langsung tanpa penyimpanan (kontrol), sampel disimpan selama 0 hari (kontrol), 2 hari, 4 hari dan 6 hari pada suhu dingin (2-10°C), suhu dibawah sinar matahari pada pukul 11.00 s.d 13.00 WIB dengan suhu $\geq 30^{\circ}\text{C}$, dan suhu ruang dengan rentang suhu 25-30°C.

b) Penentuan Kadar Vitamin C pada Jeruk Siam

1. Preparasi sampel

- Kulit jeruk siam dikupas secara perlahan.
- Kemudian jeruk siam diperas dengan alat peras jeruk yang sudah terdapat saringannya, sehingga didapatkan air perasan tanpa ampas/slurry.
- Kemudian air perasan ditampung ke dalam wadah (tupperware).
- Selanjutnya ditimbang dengan seksama 5 gram air perasan jeruk siam.
- Lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml.
- Ditambahkan aquadest sampai tanda batas maksimal labu ukur secara perlahan.

- g. Kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali lalu diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang didapat (Herlina & Muzdalifa, 2020).
5. Penentuan dan Perhitungan Vitamin C

Hasil pengukuran serapan larutan standar digunakan untuk membuat kurva kalibrasi. Selanjutnya, konsentrasi larutan sampel ditentukan berdasarkan kurva kalibrasi yang telah dibuat. Dengan demikian, kadar Vitamin C dapat dihitung menggunakan persamaan yang diperoleh sebagai berikut (Herlina & Muzdalifa, 2020).

$$\boxed{\text{Kadar Vit C (mg/kg) } = \frac{x \cdot y}{w} \times fp}$$

Keterangan:

- x : Konsentrasi vitamin C (mg/L)
 y : Volume larutan vitamin C (L)
 w : Berat sampel (kg)
 fp : Faktor pengenceran

F. Pengolahan Data

Pengolahan data yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari hasil perlakuan suhu dan waktu penyimpanan terhadap kadar vitamin C pada jeruk siam yang telah dilakukan penyimpanan selama 0, 2, 4 dan 6 hari di berbagai kondisi yaitu pada suhu dingin (2-10°C), suhu ruang (25-30°C) dan suhu dibawah sinar matahari ($\geq 30^{\circ}\text{C}$). Pengukuran kadar vitamin C dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

Berikut merupakan langkah pengolahan data:

- 1) *Coding* digunakan untuk memberikan kode pada sampel buah jeruk siam yang diteliti untuk mempermudah proses input data kedalam komputer.
- 2) *Editing* digunakan untuk meneliti dan mengkaji data.
- 3) *Tabulating* digunakan sebagai proses menyusun serta menganalisis data untuk mempermudah interpretasi hasil.
- 4) *Entry* merupakan proses memasukkan data yang akan diolah ke dalam komputer.

G. Analisa Data

Penelitian ini menggunakan analisis data bivariat digunakan untuk menganalisis 2 variabel dan mampu mengetahui adanya pengaruh kadar vitamin C buah jeruk siam terhadap suhu dan waktu penyimpanan. Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji Two-Way ANOVA untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan suhu dan waktu penyimpanan terhadap kadar vitamin C buah jeruk siam, yaitu dengan membandingkan dari hasil variasi suhu dan waktu penyimpanan antara kelompok perlakuan yang berbeda sehingga dapat menentukan apakah variasi kelompok signifikan atau tidak signifikan. Kemudian dilakukan uji regresi linier untuk melihat apakah terdapat pengaruh antara suhu dan waktu penyimpanan terhadap kadar vitamin C buah jeruk siam.

H. Ethical Clearence (Persetujuan Etik)

Penelitian ini dilakukan dengan persetujuan dari komisi etik dan dipastikan tidak menimbulkan bahaya bagi lingkungan. Limbah yang dihasilkan selama proses penelitian akan dikelola dan dimusnahkan sesuai dengan prosedur penanganan limbah. Limbah larutan akan uji dibuang langsung ke saluran pembuangan karena sifatnya yang tidak berbahaya bagi lingkungan. Sementara itu, limbah berupa serbuk uji dibuang ke tempat pembuangan limbah non-domestik dikarenakan limbah tersebut juga tidak berisiko mencemari lingkungan.