

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium dengan dua tahap yaitu analisis kualitatif dan kuantitatif. Penelitian ini dilakukan dengan mendeskripsikan atau memberi gambaran di mana tidak adanya kontrol dan manipulasi variabel penelitian sedangkan data ataupun hasil yang diperoleh dengan melakukan eksperimen di laboratorium (Arikunto, 2005).

Pengujian dilakukan dua tahap yaitu analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan dengan metode uji deteksi warna pada kertas turmeric untuk mengetahui ada tidaknya kandungan boraks pada jajanan sempol. Setelah itu sampel dengan hasil positif dilanjutkan dengan analisis kuantitatif yang dilakukan dengan metode Spektrofotometri *UV-Vis* untuk mengetahui kadar boraks pada jajanan sempol di Desa Gonilan Kartasura. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Sahid Surakarta.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas objek atau subjek yang mempunyai kuantitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Singkatnya, Populasi adalah seluruh objek yang

menjadi sasaran dalam penelitian (Sugiyono, 2019; Notoadmodjo, 2012). Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh jajanan sempol yang dijual di Desa Gonilan Kartasura.

3.2.2 Sampel

Teknik yang digunakan dalam pengambilan sampel yakni pengambilan sampel secara total (*total sampling*). Menurut Sugiyono (2019), *sampling total* adalah teknik penentuan sampel jika semua anggota populasi digunakan sebagai sampel. Hal ini sering dilakukan untuk penelitian dengan jumlah populasi yang relatif kecil, yaitu kurang dari 30. Dari uraian tersebut, maka sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh anggota populasi jajanan sempol di Desa Gonilan Kartasura yang berjumlah 7 sampel jajanan sempol dari pedagang yang berbeda dan diberi kode dengan huruf A, B, C, D, E, F dan G.

3.3 Instrumen Penelitian

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Spektrofotometer *UV-Vis (Genesys)*, alat-alat gelas (*Pyrex*), neraca analitik (*AND GF-300*), lemari es (*LG*), kompor listrik (*Miyako*), sentrifuge (*Gemmy PLC-05*).

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel jajanan sempol, boraks (*Merck*), larutan simplisia kunyit, HCl 5 N,

aquades (*Merck*), NaOH 10% (*Merck*), larutan kurkumin 0,125% (*Merck*), larutan asam sulfat (*Merck*), asam asetat pekat (*Merck*), etanol 96% p.a. (*Merck*), kertas *Whattman* No. 1, kertas saring.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel adalah ukuran atau ciri yang dimiliki oleh anggota-anggota suatu kelompok yang berbeda dengan yang dimiliki oleh kelompok lain (Notoadmodjo, 2012).

a. Variabel bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat (Sugiyono, 2019).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jajanan sempol yang ada di Desa Gonilan Kartasura.

b. Variabel terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2019). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil uji kualitatif dan kuantitatif boraks yang terdapat dalam jajanan sempol.

3.5 Definisi Operasional

- a. Sempol adalah jajanan yang terbuat dari daging ayam, ikan atau sapi yang dicampur dengan tepung, bumbu, dan bahan tambahan lainnya yang dijual di Desa Gonilan Kartasura.

- b. Hasil uji kualitatif adalah hasil uji adanya kandungan boraks dengan metode kertas turmerik yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna kemerahan pada kertas.
- c. Hasil uji kuantitatif boraks adalah kandungan boraks dalam jajanan sempol yang dijual di Desa Gonilan Kartasura dengan metode Spektrofotometri *UV-Vis* yang dinyatakan dalam satuan mg/g sampel.

3.6 Jalannya Penelitian

3.6.1 Uji kualitatif

- a. Pembuatan Kertas Turmerik

Pada pengujian ini dilakukan dengan metode uji kertas turmerik. Kertas turmerik terlebih dahulu dibuat dengan cara simplisia kunyit sebanyak 10 gram dibersihkan kemudian dimaserasi dalam 60 mL etanol 90% selama 7 hari lalu disaring. Kertas saring *Whatman* No.1 dicelupkan kedalam larutan kunyit hingga larutan kunyit tersebut terserap secara merata pada kertas lalu dikeringkan (Depkes RI, 1979; Oktaviani Rz. dan Yandra, 2017).

- b. Identifikasi Boraks Dengan Kertas Turmerik

Sebagai kontrol positif, boraks ditimbang sebanyak 100 mg kemudian ditambahkan 50 mL aquades. Larutan yang berisi campuran boraks dan air tersebut diteteskan di kertas turmerik dan dibiarkan hingga kering. Sedangkan sebagai kontrol negatif, dibuat sempol dengan bahan yang umum digunakan tanpa penambahan boraks.

10 gram sampel ditambahkan aquades 1:10, kemudian dihaluskan dan disaring dengan kertas saring. Filtrat dari sampel yang didapat diasamkan dengan HCl 5 N kemudian diteteskan pada kertas turmerik dan dibiarkan hingga kering. Setelah kering kemudian diamati apakah warna yang dihasilkan sama dengan kontrol positif, jika warna yang dihasilkan sama dengan kontrol positif maka sampel positif mengandung boraks (Fadilah dkk, 2018; Harimurti dan Setiyawan, 2019; Suseno, 2019).

3.6.2 Verifikasi Metode

a. Uji Linearitas

Dibuat larutan standar boraks dengan seri konsentrasi 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm, 35 ppm, dan 40 ppm. Dibaca absorbansi masing-masing konsentrasi pada spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum dan dilakukan 3 kali replikasi.

Hasil absorbansi masing-masing konsentrasi kemudian dihitung rata-ratanya. Dibuat kurva baku dengan memasukkan sumbu x (konsentrasi standar) dan sumbu y (absorbansi rata-rata) dan dicari nilai R^2 . Tingkat linieritas optimum apabila R^2 mendekati 1 (Fadilah dkk, 2018).

b. Uji Batas Deteksi (*Limit Of Detection, LOD*) dan Batas Kuantitasi (*Limit Of Quantification, LOQ*)

Kurva yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung batas deteksi (*Limit Of Detection, LOD*) dan batas

kuantitasi (*Limit Of Quantification, LOQ*) untuk mengetahui konsentrasi terkecil yang masih dapat terdeteksi secara kualitatif maupun kuantitatif. Menurut Harmita (2004), nilai *LOD* dan *LOQ* dapat dihitung dari data simpangan baku residual dan *slope* (*b*) pada persamaan garis $y = bx + a$ dengan rumus :

$$LOD = \frac{3. Sy/x}{slope (b)}$$

$$LOQ = \frac{10. Sy/x}{slope (b)}$$

c. Uji Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan menggunakan metode simulasi yaitu dengan cara menambahkan analit dalam konsentrasi 20 ppm, 30 ppm dan 40 ppm ke dalam sampel negatif dan diberi perlakuan seperti uji kuantitatif. Kemudian diukur absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum dan dihitung nilai *% recovery* (Harmita, 2004; Rusli, 2009; Azas, 2013). Pengukuran dilakukan 3 kali replikasi. Persyaratan uji akurasi yang baik yaitu apabila diperoleh nilai *% recovery* antara 80-120% (Fadilah dkk, 2018).

$$\% recovery = \frac{\text{konsentrasi dari persamaan regresi}}{\text{konsentrasi sebenarnya}} \times 100\%$$

d. Uji Presisi

Uji presisi dilakukan dengan menggunakan larutan standar boraks 30 ppm yang dipreparasi seperti uji kuantitatif kemudian dibaca absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang

gelombang maksimum dan dilakukan 6 kali replikasi. Data absorbansi yang didapat kemudian dihitung nilai relatif standar deviasi (RSD) (Harmita, 2004; Rusli, 2009; Azas, 2013). Uji presisi dapat dikatakan memenuhi persyaratan apabila diperoleh nilai RSD sebesar $\leq 2\%$ (Fadilah dkk, 2018).

$$\% RSD = \frac{\text{standar deviasi (SD)}}{\text{rata - rata}} \times 100\%$$

3.6.3 Uji Kuantitatif

a. Penyiapan Pereaksi

1) Pembuatan Larutan Kurkumin 0,125%

Ditimbang kurkumin sebanyak 125 mg, dimasukkan ke dalam beaker glass. Dilarutkan dengan asam asetat pekat 50 mL sampai larut. Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan asam asetat sampai tanda batas kemudian digojog sampai homogen (Fadilah dkk, 2018; Winarsih, 2018).

2) Pembuatan Larutan NaOH 10%

Ditimbang NaOH 10 gram di masukkan ke dalam beaker glass. Dilarutkan dengan 50 mL aquadest sampai larut. Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan di tambahkan aquadest sampai tanda batas kemudian digojog sampai homogen (Fadilah dkk, 2018; Winarsih, 2018).

3) Pembuatan Larutan Asam Asetat Pekat : Asam Sulfat (1:1)

Diambil 50 mL larutan asam asetat pekat. Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL di tambah 50 mL larutan asam sulfat

pekat. Dituang sedikit demi sedikit melalui dinding labu dan digojog perlahan sampai homogen (Fadilah dkk, 2018; Winarsih, 2018).

b. Pembuatan Larutan Standar Boraks 100 ppm

Ditimbang 100 mg boraks lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas.

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan cara mengukur absorbansi larutan boraks konsentrasi 30 ppm yang dibuat dari larutan standar boraks 100 ppm pada panjang gelombang 400-600 nm. Sebanyak 1 mL larutan boraks 30 ppm dimasukkan ke dalam cawan porselin, ditambah 1 mL NaOH 10 %. Cawan tersebut kemudian dipanaskan di atas penangas air sampai kering kemudian didinginkan dalam lemari es. Ditambah 3 mL larutan kurkumin 0,125% lalu dipanaskan sambil diaduk aduk selama 5 menit dan didinginkan pada lemari es.

Ditambah 3 mL asam sulfat : asam asetat (1:1) dipanaskan sambil diaduk aduk sampai tidak terdapat warna kuning pada cawan dan batang pengaduk dan didiamkan pada suhu ruang 15 menit.

Ditambah beberapa tetes etanol 96% dan disaring menggunakan kertas saring. Dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan etanol 96% hingga tanda batas. Kemudian

dibaca absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 400-600 nm (Fadilah dkk, 2018; Winarsih, 2018; Sudjarwo dkk, 2021).

d. Optimasi Waktu Kestabilan Warna (*Operating Time*)

Uji waktu kestabilan warna bertujuan untuk menjamin bahwa pengamatan dilakukan pada saat reaksi antara boraks dengan pereaksi telah berjalan dengan sempurna. Pencarian waktu kestabilan warna diukur pada larutan standar boraks konsentrasi 30 ppm dengan panjang gelombang maksimum yang didapat dan diamati absorbansinya pada rentang waktu 15-120 menit (Sudjarwo dkk, 2021).

e. Pembuatan Kurva Baku

Dibuat larutan standar boraks dengan seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm dengan cara pengenceran dari larutan standar boraks 100 ppm. Kemudian diambil 1 mL larutan boraks dari masing-masing konsentrasi. Kemudian dimasukkan ke dalam cawan porselin, ditambah 1 mL NaOH 10%. Cawan tersebut kemudian dipanaskan di atas penangas air sampai kering kemudian didinginkan dalam lemari es. Ditambah 3 mL larutan kurkumin 0,125% dipanaskan sambil diaduk aduk selama 5 menit dan didinginkan pada lemari es.

Ditambah 3 mL asam sulfat : asam asetat (1:1) dipanaskan sambil diaduk aduk sampai tidak terdapat warna kuning pada

cawan dan batang pengaduk dan didiamkan pada suhu ruang 15 menit.

Ditambah beberapa tetes etanol 96% dan disaring menggunakan kertas saring. Dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan etanol 96% hingga tanda batas. Dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum yang didapat dan dilakukan 3 kali replikasi.

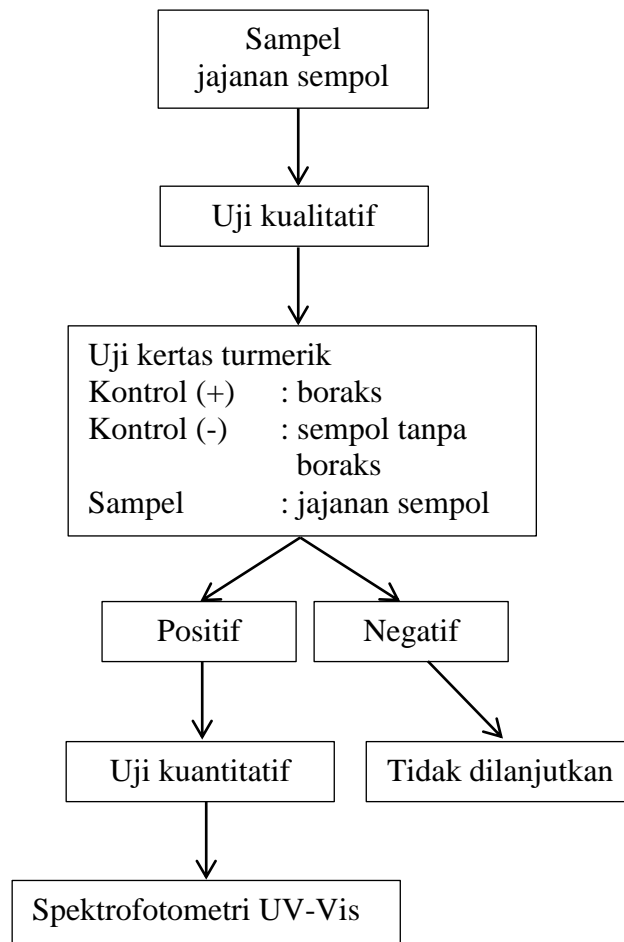
Hasil absorbansi masing-masing konsentrasi kemudian dihitung rata-ratanya. Dibuat kurva baku dengan memasukkan sumbu x (konsentrasi standar) dan sumbu y (absorbansi rata-rata) dan dicari R^2 . Tingkat linieritas optimum apabila R^2 mendekati 1. Persamaan kurva baku $y = bx + a$ digunakan untuk menghitung konsentrasi boraks dalam sampel (Fadilah dkk, 2018; Winarsih, 2018).

f. Pengukuran Absorbansi Sampel

Sampel diambil sebanyak 5 gram ditambahkan dengan 100 mL aquades kemudian dihaluskan. Dimasukkan dalam tabung sentrifusa dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit. Bagian supernatannya diambil sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam cawan porselin, ditambah 1 mL NaOH 10 %. Cawan tersebut kemudian dipanaskan di atas penangas air sampai kering kemudian didinginkan dalam lemari es.

Ditambah 3 mL larutan kurkumin 0,125% lalu dipanaskan sambil diaduk-aduk selama 5 menit dan didinginkan pada lemari es. Ditambah 3 mL asam sulfat : asam asetat (1:1) dipanaskan sambil diaduk aduk sampai tidak terdapat warna kuning pada cawan dan batang pengaduk dan didiamkan pada suhu ruang 15 menit.

Ditambah beberapa tetes etanol 96% dan disaring menggunakan kertas saring. Dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan etanol 96% hingga tanda batas. Dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum yang didapat dan dilakukan 3 kali replikasi (Fadilah dkk, 2018; Winarsih, 2018).



Gambar 3.1 Alur Jalannya Penelitian

3.6 Analisis Data

Data pengukuran absorbansi sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan kurva baku (sebagai faktor y), maka akan didapat nilai x yang merupakan konsentrasi regresi sampel (dalam satuan ppm). Yang mana rumus persamaan kurva baku yaitu :

$$y = bx + a$$

$$x = C = \frac{y-a}{b}$$

Di mana :

y = absorbansi

x = konsentrasi sampel (ppm)

b = koefisien regresi (menyatakan *slope* = kemiringan)

a = tetapan regresi (menyatakan intersep) (Fadilah dkk, 2018; Winarsih, 2018)

Konsentrasi regresi yang didapat kemudian dihitung kembali untuk mengetahui kadar boraks per gram sampel dengan rumus :

$$\text{kadar boraks (mg) per gram sampel} = \frac{C \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) xV}{\text{Berat sampel (g)}} xFp$$

Di mana :

C = konsentrasi regresi (nilai x)

V = volume larutan sampel (mL)

Fp = faktor pengenceran (Samsuar dkk, 2020)

Sampel dalam penelitian ini akan mendapatkan 3 kali replikasi pada masing-masing sampel. Data yang didapatkan setelah pengujian dengan

spektrofotometri *Visible* disajikan menggunakan analisis data berupa tabel kemudian keseluruhan informasi akan dibahas secara deskriptif yang menguraikan dan menjelaskan hasil dari proses pengamatan yang dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif.

