

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental. Jenis penelitian ini dilakukan untuk mengetahui batas keberterimaan validasi dan penetapan kadar boraks pada kerupuk puli yang dijual di Pasar Ngemplak Tulungagung dengan metode test kit ekstrak kulit ubi jalar ungu.

#### **3.2 Waktu dan tempat penelitian**

Penelitian dilakukan pada 13-22 Januari 2025 di Laboratorium Kimia Poltekkes Kemenkes Malang.

#### **3.3 Populasi dan Sampel**

##### **3.3.1 Populasi**

Populasi yang dimanfaatkan dalam penelitian ini adalah kerupuk puli mentah bermerek yang dijual di Pasar Ngemplak Tulungagung.

##### **3.3.2 Sampel**

Sampel yang digunakan yaitu 5 sampel kerupuk puli mentah dengan merek berbeda di pasar Ngemplak Tulungagung.

#### **3.4 Alat dan Bahan**

##### **3.4.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam proses penelitian ini antara lain neraca analitik (*Ohaus*), timbangan analitik (*CAMRY*), batang pengaduk (*Pyrex*), spatula, pisau, telanan, grinder (*Getra Multi Function Disintegrator IC-06B*), blender (*Miyako*), *centrifuge* (*Guahua*), alat gelas (*Pyrex*), botol semprot, labu ukur 10 dan 100 mL (*Pyrex*), rak tabung reaksi, tabung reaksi (*Pyrex*), botol gelap, bola hisap (*D&N*), pipet volume 10 mL (*Pyrex*), pipet tetes (*Pyrex*), Spektrofotometer *UV-Vis* (*SHIMADZU UV-1780*), kuvet (*QUARTZ*), Drying Oven (*Memmert*), pH meter (*Eutech Instrumental*), peralatan memasak, dan alat tulis.

### 3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses penelitian ini antara lain sampel kerupuk puli mentah yang dijual di pasar Ngemplak Tulungagung, kulit ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L*), etanol 96% (teknis), asam hidroklorida (HCl) (p.a), aquadest (H<sub>2</sub>O), natrium tetraborat, uyah bleng, dan beras.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas merupakan variabel yang memberikan pengaruh dan tidak bergantung pada variabel lainnya. Variabel bebas pada penelitian ini adalah kerupuk puli yang dijual di pasar Ngemplak Tulungagung

#### 3.5.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat merupakan variabel yang hasilnya dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kandungan boraks pada kerupuk puli yang dijual di pasar Ngemplak Tulungagung

### 3.6 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Skala Data
1.	Kerupuk puli	Kerupuk berbahan dasar beras yang dijual di Pasar Ngemplak kabupaten Tulungagung	Pengamatan Fisik a) Warna b) Tekstur c) Bentuk d) Aroma e) Rasa	Ordinal
2.	Kadar boraks pada kerupuk Puli yang dijual di Pasar Ngemplak	Penetapan jumlah senyawa boraks pada kerupuk puli yang dijual di Pasar Ngemplak dengan memanfaatkan ekstrak kulit ubi jalar ungu dengan uji kualitatif dan kuantitatif	a) Uji kualitatif dilakukan dengan pengamatan perubahan warna dengan komparator warna. b) Uji kuantitatif dengan menggunakan instrumen Spektrofotometer <i>UV-Vis</i>	Ordinal dan Rasio

### **3.7 Prosedur Penelitian**

#### **3.7.1 Ekstraksi Kulit Ubi Jalar Ungu**

##### **3.7.1.1 Pembuatan Larutan HCl 1% (v/v%)**

Larutan asam hidroklorida 37% (v/v %) diambil sebanyak 2,7 mL dan dicampurkan aquades ke dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas. Dihomogenkan hingga terlarut sempurna. Disimpan dalam botol gelap dan di lemari asam.

##### **3.7.1.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Ubi Jalar Ungu**

Pembuatan ekstrak berdasarkan metode yang merujuk pada penelitian sebelumnya yang menghasilkan kadar antosianin ekstrak kulit ubi jalar ungu dengan maksimal (Lifanny, 2024). Metode ini juga merupakan metode modifikasi dari penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa antosianin dapat stabil pada campuran etanol 96% dan HCl 1% sebanyak 9:1 (Afandy, Nuryanti, & Diah, 2017). Kulit ubi jalar ungu yang telah dipisahkan dari daging umbi kemudian dicuci dan ditimbang sebanyak 200 g. Ekstraksi dilakukan dengan penghalusan kulit ubi jalar ungu dengan blender dan dilarutkan dengan pelarut. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% dan HCl 1% dengan perbandingan 9:1 sebanyak 600 mL. Ekstraksi dilakukan secara maserasi selama 24 jam. Hasil maserasi kemudian disaring dan filtratnya diambil. Filtrat disimpan dalam botol gelap di kulkas.

##### **3.7.2 Pengamatan Fisik**

Pengujian awal yang dilakukan pada sampel yaitu pengamatan fisik pada kerupuk puli. Pengamatan fisik yang dilakukan meliputi bentuk, tekstur, warna, aroma dan rasa. Pengujian bentuk dan warna dilakukan dengan pengamatan secara visual. Pengujian tekstur dilakukan pada kondisi mentah dan matang yaitu dengan cara mematahkan kerupuk puli menjadi dua bagian. Pengujian aroma dilakukan dengan cara memanfaatkan indera penciuman secara langsung pada kerupuk puli. Pada pengujian rasa dilakukan dalam kondisi kerupuk puli matang. Ciri-ciri

kerupuk puli mengandung boraks yaitu tekstur yang renyah dan aroma menyengat dengan cita rasa getir di akhir pengujian (Earnestly, et al., 2023).

### **3.7.3 Pembuatan Komparator Warna**

Pembuatan komparator warna dibuat untuk perbandingan secara kualitatif deteksi boraks menggunakan ekstrak kulit ubi jalar ungu. Pembuatan komparator warna dilakukan dengan membuat seri konsentrasi larutan boraks sebesar 0,05%; 0,1%; 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8%; 1,0%. Setiap seri konsentrasi diambil sebanyak 4 mL dan 2 mL ekstrak kulit ubi jalar ungu dipindahkan ke tabung reaksi lalu dihomogenkan dan diamati perubahan warna yang terjadi (Zubaydah, Andriani, Sahumena, & Irnawat, 2020). Kemudian dilakukan pengukuran pH pada setiap seri larutan.

### **3.7.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Larutan boraks 0,6% diambil sebanyak 4 mL dan ditambahkan 2 mL ekstrak kulit ubi jalar ungu lalu dihomogenkan. Larutan homogen diencerkan dengan diambil 5 mL larutan kemudian ditanda bataskan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL. Larutan uji diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400-700 nm.

### **3.7.5 Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif**

Kontrol positif dibuat dengan penimbangan boraks sebanyak 0,1 g terlebih dahulu dan ditambahkan ke nasi 100 g yang kemudian dihomogenkan. Sedangkan kontrol negatif dibuat dengan menimbang 100 g nasi tanpa ditambahkan boraks. Kedua adonan dikukus selama 10 menit. Adonan panas segera dihaluskan dan dibentuk pipih. Adonan tersebut dikeringkan pada *drying oven* untuk pengeringan yang maksimal.

Kontrol positif dan negatif masing-masing dihaluskan dan ditimbang sebanyak 2 g. Masing-masing penimbangan ditambahkan aquades sebanyak 12 mL. Kemudian dihomogenkan dan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Larutan bening yang diperoleh dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 4 mL dan ditambahkan 2 mL ekstrak kulit ubi jalar ungu. Dihomogenkan

dan diamati perubahan warna yang terjadi. Sebelum dilakukan uji kuantitatif dengan Spektrofotometer *UV-Vis*, dilakukan pengenceran dengan mengambil 2 mL larutan uji dan ditanda bataskan di labu ukur 10 mL dengan aquades. Larutan uji dibaca dengan Spektrofotometer *UV-Vis* dengan panjang gelombang 588 nm.

### **3.7.6 Validasi Metode**

#### **3.7.6.1 Linieritas**

Larutan komparator warna yang telah dibuat diberikan perlakuan masing-masing yaitu diambil sebanyak 5 mL dan ditanda bataskan dengan aquadest di dalam labu ukur 10 mL. Larutan komparator warna yang telah diencerkan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum 588 nm. Absorbansi yang diperoleh kemudian dibuat kurva standar dan diperoleh persamaan regresi linier  $y = ax \pm b$  dan koefisien determinasi. Linieritas yang baik dilihat dari nilai koefisien determinan yang mendekati nilai 1.

#### **3.7.6.2 *LoD* dan *LoQ***

Penetapan nilai *LoD* dan *LoQ* menggunakan hasil dari persamaan regresi linier (ICH, 2005). Hasil yang diperoleh kemudian dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus persamaan 2.3 dan 2.5

#### **3.7.6.3 Akurasi**

Penetapan nilai akurasi menggunakan metode adisi dengan penambahan baku standar ke dalam sampel (ICH, 2005). Kerupuk puli positif mengandung boraks yang telah halus ditimbang sebanyak 3 g dan ditambahkan 18 mL aquadest. Larutan kontrol positif yang telah dibuat kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1500 RPM selama 10 menit. Filtrat kontrol positif yang didapatkan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 4 mL dan ditambahkan variasi larutan boraks pada masing-masing tabung reaksi dengan konsentrasi 0,6%; 0,8% & 1% sebanyak 6 mL. Kemudian larutan homogen diambil 4 mL dan ditambahkan 2 mL larutan ekstrak kulit ubi jalar ungu. Larutan uji tersebut diencerkan kembali dengan diambil sebanyak 5 mL dan ditanda bataskan dengan labu ukur 10 mL. Larutan uji akurasi yang homogen diukur

absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan. Nilai akurasi dihitung dengan persamaan 2.1. Nilai akurasi yang baik disesuaikan dengan tabel AOAC yaitu pada rentang 97% - 103%.

#### **3.7.6.4 Presisi**

Penentuan nilai presisi menggunakan konsentrasi baku boraks terbesar yang telah dibuat (ICH, 2005). Konsentrasi terbesar menggambarkan tingginya konsentrasi boraks. Larutan boraks 1% diambil sebanyak 4 mL ke tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL ekstrak kulit ubi jalar ungu. Larutan uji diencerkan dengan diambil sebanyak 5 mL yang kemudian ditanda bataskan dengan aquadest dalam labu ukur 10 mL. Perlakuan ini dilakukan dengan pengulangan 6 kali. Seluruh larutan uji presisi diukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum. Nilai presisi yang baik dinyatakan sesuai dengan tabel 2.3 AOAC yaitu kurang dari 2.8%.

### **3.7.7 Penetapan Kadar Boraks Pada Sampel**

#### **3.7.7.1 Uji Kualitatif Pada Kerupuk Puli**

Sampel kerupuk puli yang dijual di pasar Ngemplak Tulungagung sebanyak 5 merek yang berbeda. Sampel kerupuk puli dihaluskan terlebih dahulu dengan grinder hingga berbentuk serbuk. Sampel yang telah halus ditimbang sebanyak 3 g dan ditambahkan 18 mL akuades. Larutan uji disentrifugasi dengan kecepatan 1500 RPM selama 10 menit. Kemudian larutan disaring dengan kertas saring untuk memperoleh filtrat bening. Filtrat uji sebanyak 4 mL diambil dan dipindahkan ke tabung reaksi yang telah diisi 2 mL ekstrak kulit ubi jalar ungu. Dihomogenkan dan diamati perubahan warna yang terjadi untuk dibandingkan dengan komparator warna sebagai uji kualitatif ada tidaknya boraks pada sampel.

#### **3.7.7.2 Uji Kuantitatif Pada Kerupuk Puli**

Sampel yang memiliki kesamaan dengan komparator warna dilanjutkan uji kuantitatif. Larutan uji diencerkan terlebih dahulu sebelum dilakukan pengukuran absorbansi yaitu dengan diambil sebanyak 2 mL

Larutan uji yang kemudian ditanda bataskan dengan aquadest dalam labu ukur 10 mL. Larutan uji tersebut dapat diukur absorbansi dengan panjang gelombang maksimum untuk memperoleh kadar sebenarnya pada sampel.

### 3.8 Penyajian dan Pengolahan Data

#### 3.8.1 Penyajian data

Penyajian data dilakukan setelah memperoleh data dari hasil pengujian yang selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel, sebagai berikut:

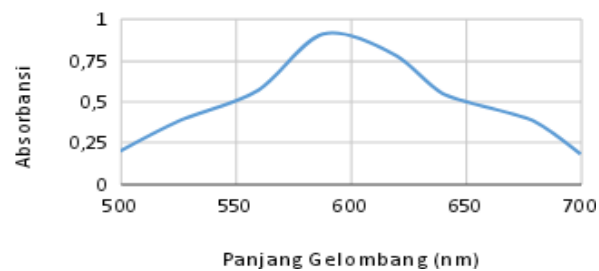
**Tabel 3.1 Data organoleptik**

Kode	Bentuk	Tekstur	Warna	Aroma	Rasa	Dokumentasi

**Tabel 3.2 Data komparator warna**

Konsentrasi (%)	Warna Larutan Sebelum Ditambahkan Ekstrak	Warna Larutan Sesudah Ditambahkan Ekstrak	pH	Dokumentasi
0.05				
0.1				
0.2				
0.4				
0.6				
0.8				
1.0				

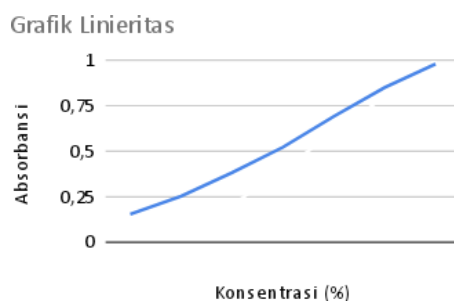
**Grafik Panjang Gelombang**



**Gambar 3.1 Grafik panjang gelombang maksimum**

**Tabel 3.3 Data absorbansi komparator warna**

Konsentrasi Boraks (%)	Absorbansi
0.05	
0.1	
0.2	
0.4	
0.6	
0.8	
1.0	



**Gambar 3.2 Grafik linieritas**

**Tabel 3.4 Data akurasi**

Konsentrasi (%)	Absorbansi			Konsentrasi			Recovery (%)
	Blanko + sampel	Adisi	Sampel + adisi	Blanko + sampel	Adisi	Sampel + adisi	
<b>Rata-rata</b>							

**Tabel 3.5 Data presisi**

Pengulangan	Absorbansi
1	
2	
3	
4	
5	
6	
<b>RSD</b>	

**Tabel 3.6 Data uji kualitatif kerupuk puli**

Kode	Warna larutan sebelum ditambahkan ekstrak	Warna larutan sesudah ditambahkan ekstrak	Dokumentasi

**Tabel 3.7 Data uji kuantitatif kerupuk puli**

Kode	Absorbansi	Kadar (%)
Kontrol Negatif		
Kontrol Positif		
A		
B		
C		
D		
E		

### 3.8.2 Pengolahan Dan Analisis Data

Pengolahan data dilakukan dengan bantuan *software Microsoft excel* dan disajikan dalam bentuk tabel atau grafik untuk mempermudah dalam analisis. Dari hasil linieritas yang disajikan dalam bentuk kurva regresi dan diamati hasil persamaan regresi dan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ). Persamaan regresi linier dinyatakan dalam bentuk persamaan:

$$y = ax \pm b \dots\dots\dots (3.1)$$

Nilai persamaan regresi linier dapat dimanfaatkan dalam penentuan *LoD* dan *LoQ* dengan rumus yang ditetapkan.

$$LoD = \frac{3 \times SD \text{ blanko}}{\text{slope}} \dots\dots\dots (3.2)$$

$$LoQ = \frac{10 \times SD \text{ blanko}}{\text{slope}} \dots\dots\dots (3.3)$$

Dari hasil pengukuran akurasi yang digunakan persamaan regresi dalam penetapan konsentrasi sehingga data dapat diolah dengan rumus:

$$\%Recovery = \frac{[C]_{sampel+spike} - [C]_{sampel}}{[C]_{spike}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.4)$$

Data presisi yang diperoleh dengan rumus persamaan regresi linier kemudian dinyatakan nilai RSD dalam bentuk persentase dengan menggunakan rumus:

$$SD = \frac{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2}}{n - 1}$$

$$RSD = \frac{SD}{x} \times 100\% \dots\dots\dots (3.5)$$

Data penetapan kadar pada seluruh sampel kerupuk puli yang dijual di Pasar Ngemplak Tulungagung beserta kontrol positif dan negatif dapat dihitung menggunakan persamaan linier yang diperoleh. Kemudian data diolah dengan persamaan berikut untuk memperoleh kadar boraks pada sampel:

$$\text{Kadar} = \frac{\text{Konsentrasi } (\frac{mg}{L}) \times \text{Volume larutan (L)} \times fp}{\text{Berat penimbangan (mg)}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.6)$$