BAB III
METODOLOGI

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental yaitu penelitian dengan pengambilan data menggunakan perilaku terhadap subyek uji dengan mengontrol variabel yang diteliti dan mengendalikan situasi penelitian dari ancaman yang dapat mempengaruhi hasil.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Analisis Obat dan Narkotika Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang. Sampel yang digunakan adalah bunga eceng gondok yang segar dan berwarna ungu terang. Pengambilan sampel diambil langsung dari permukiman di sekitar sungai brantas Desa Ngares Kidul Kecamatan Gedeg Kabupaten Mojokerto.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah gelas ukur 100 ml, gelas ukur 10 ml, spatula, talenan, pisau, corong, batang pengaduk, labu ukur 100 ml, labu takar 50 ml, mortar, alu, penggaris, pipet tetes, pipet volume, tabung reaksi, neraca analitik, rak tabung reaksi, penjepit kayu.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah bunga eceng gondok segar, aquadest, kertas saring, etanol 96%, 86%, 76%, dan 66%, larutan baku formalin 37%, sampel tahu.

3.4 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas (Independent Variable)

Variabel bebas terkait dalam penelitian ini adalah pengaruh komposisi variasi konsentrasi pelarut bunga eceng gondok.

b. variabel terikat (Dependent Variable)

Variabel terikat dari penelitian ini adalah hasil reaksi antara formalin dengan antosianin pada bunga eceng gondok.

3.5 Definisi Operasional

Tabel 2 *Definisi Operasional*

Variabel	Definisi Operasional	Metode	Skala Ukur
Variasi konsentrasi pelarut bunga eceng gondok	Pemastian variasi konsentrasi pelarut bunga eceng gondok 96%, 86%, 76%, dan 66% terhadap tahu yang diduga berformalin	Metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol	Rasio
Hasil reaksi formalin dengan antosianin pada bunga eceng gondok	Pengujian ekstrak etanol bunga eceng gondok pada sampel tahu yang diduga berformalin dengan adanya perbedaan warna saat direaksikan keduanya	Pengujian dilakukan dengan melihat secara visual perubahan warna ekstrak dan sampel tahu yang diduga positif formalin	Nominal

3.6 Prosedur

3.6.1 Pembuatan Ekstrak Eceng Gondok

Disortir basah bunga eceng gondok segar dan ditimbang sebanyak 25 gram, kemudian tumbuk kasar menggunakan mortar dan alu. Selanjunya ditambah pelarut etanol (96%, 86%, 76%, dan 66%.) dengan perbandingan antara bunga eceng gondok dan pelarut adalah 1:4. Campuran tersebut kemudian dimaserasi selama 24

jam dengan suhu ruang yaitu 25ºC (Tazar et al., 2018). Setelah 24 jam dilakukan penyaringan sehingga hanya filtratnya yang akan digunakan.

3.6.2 Preparasi Sampel Tahu

Disiapkan sampel tahu, setiap sampel dibagi menjadi dua kelompok perlakuan, yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Pada kontrol positif, sampel direndam dalam larutan formalin 37% selama 30 menit, sedangkan pada kontrol negatif dilakukan perendaman dengan aquadest. Dihaluskan sampel tahu yang sudah direndam dan ditambahkan dengan aquadest lalu disaring untuk mendapatkan filtratnya (Suryadnyani et al., 2021).

3.6.3 Pengujian Ekstrak Eceng Gondok Pada Sampel Tahu

Larutan filtrat tahu diletakkan dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 2 ml, dimasukkan larutan ekstrak etanol bunga eceng gondok sebanyak 2 ml. Amati perubahan warna yang terjadi pada kontrol positif dan kontrol negatif (Sulfiani & Sukmawati, 2020).

3.6.4 Penentuan Konsentrasi Optimum

Ekstrak etanol bunga eceng gondok dengan variasi konsentrasi etanol mulai 66%, 76%, 86%, dan 96% masing-masing sebanyak 2 ml ditambahkan dengan larutan formalin konsentrasi 37% sebanyak 2 ml. Amati perubahan warna yang terjadi, lalu dibandingkan untuk menentukan pada konsentrasi etanol berapa perubahan warna paling jelas terlihat.

3.6.5 Uji Komparasi Warna

Dibuat variasi pH dari 1-14 dengan cara masing-masing larutan pH dibuat dalam volume total 10 mL dalam tabung reaksi bersih. pH 1 hingga pH 6 disiapkan dengan menambahkan larutan HCl 1 M secara bertahap ke dalam akuades, dan pH diukur menggunakan kertas indikator universal hingga mencapai nilai yang diinginkan. Untuk pH netral (pH 7), digunakan akuades tanpa penambahan asam atau basa. Sementara itu, pH 8 hingga pH 14 dibuat dengan cara menambahkan larutan NaOH 1 M secara bertahap ke dalam akuades, kemudian dilakukan pengukuran pH untuk memastikan setiap variasi telah sesuai. Kemudian sampel tahu direndam dalam larutan pH variasi pH 1-14 selama 30 menit. Dilanjutkan dengan diambil larutan filtrat sampel tahu dan diletakkan dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 2 ml, kemudian ditambahkan dengan larutan ekstrak

bunga eceng gondok masing-masing sebanyak 2 ml. Hasil perubahan warna tiap tabung dibandingkan dengan kontrol positif.

3.6.6 Uji Limit Deteksi

Direndam tahu yang sudah dihancurkan dalam larutan formalin dengan konsentrasi 1%, 5%, dan 10% masing-masing sebanyak 10 mL selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, ekstrak tahu yang sudah direndam formalin diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan etanol bunga eceng gondok dengan konsentrasi 96% masing-masing sebanyak 2 ml. Perubahan warna yang terjadi dibandingkan dengan kontrol negatif, hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna ekstrak menjadi merah muda.