

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 JENIS PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan pada percobaan kali ini yaitu penelitian eksperimental, dimana penelitian ini digunakan untuk mengetahui sebab akibat dari keadaan yang dialami. Sebab akibat yang terjadi akan dilakukan pengujian untuk mengetahui apakah sebab akan mempengaruhi akibat. Terdapat 6 unit percobaan dimana masing-masing unit tidak dilakukan replikasi.

3.2 WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN

Waktu dilakukannya penelitian pada 25 Maret-01 April 2024. Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Analisis Makanan dan Minuman Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 ALAT DAN BAHAN

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu pisau, talenan, coper, alu dan mortar, toples, tabung reaksi (Iwaki), rak tabung, pipet tetes, pipet ukur 10 ml (Iwaki), bola pump, spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu), kuvet, sentrifuse (Hettich), sonikator, beaker glass 50 ml (Pyrex), beaker glass 100 ml (Iwaki), gelas ukur 100 ml (Iwaki), labu ukur 50 ml (Pyrex), batang pengaduk, spatula, corong gelas, neraca analitik (Ohaus), plat tetes, box foto, mikropipet 10-100 μ L, mikropipet 20-200 μ L, tabung polipropilena, syringe, pipa logam, serta botol gelap.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu ubi jalar ungu, tepung tapioka, es batu, bawang putih goreng, garam, telur, formalin 37%, etanol 96% p.a, HCl pekat 37% p.a, aquades, kertas saring, blue tip, yellow tip, label, tissue, filter membranes, dan alumunium foil.

3.4 VARIABEL PENELITIAN

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas (*Independent variable*) yang terkait dalam penelitian ini adalah konsentrasi formalin.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat (*Dependent variable*) dalam penelitian ini yaitu absorbansi dari campuran formalin yang terdapat di dalam supernatan sampel bakso dengan ekstrak ubi jalar ungu.

3.5 DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL

Tabel 3.1 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

No.	Nama Variabel	Definisi	Metode Pengujian	Alat Pengukuran	Skala Pengukuran
1.	Konsentrasi formalin	Konsentrasi formalin yang digunakan untuk pengujian kualitatif dengan ekstrak ubi jalar ungu	-	-	Rasio
2.	Absorbansi	Diperoleh dari campuran formalin yang terdapat di dalam supernatan sampel bakso dengan ekstrak ubi jalar ungu	Supernatan hasil sentrifugasi masing-masing sampel bakso dilakukan uji sensitivitas menggunakan ekstrak ubi jalar ungu dan dilihat intensitas warna yang dihasilkan. Setelah itu, dilakukan pembacaan absorbansi untuk dibuat kurva kalibrasi	Spektrofotometri UV-Vis	Rasio

3.6 PROSEDUR PENELITIAN

3.6.1 Pembuatan Bakso

Proses pembuatan bakso dimulai dengan menghaluskan 500 g daging ayam yang telah ditambahkan dengan es batu menggunakan coper. Setelah dirasa daging ayam benar-benar halus maka ditambahkan dengan 100 g tepung tapioka, 1 butir telur, 1 sendok makan bawang putih goreng, dan garam secukupnya untuk dilakukan proses penghalusan kembali. Proses pelumatan daging ayam dengan bahan-bahan tambahan lain dilakukan hingga diperoleh adonan bakso yang homogen. Setelah itu, adonan bakso dibentuk bulat-bulat dan direbus di dalam air mendidih hingga matang. Bakso yang telah matang ditandai dengan bakso mengapung ke permukaan.

3.6.2 Pembuatan Larutan HCl 1,5 M

Dipipet HCl pekat sebanyak 6,2 ml kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml yang sebelumnya telah diisi dengan sedikit aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades ke dalam labu ukur 50 ml hingga tanda batas dan digojog agar homogen.

3.6.3 Pembuatan Ekstrak Antosianin Ubi Jalar Ungu Menggunakan Pelarut HCl 1,5 M dengan Etanol 96% (1:4)

Proses ekstraksi ubi jalar ungu dimulai dengan mengupas kulit ubi jalar ungu kemudian mencucinya menggunakan air yang mengalir hingga bersih. Ubi jalar ungu kemudian dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan coper.

Langkah selanjutnya, menimbang 10 gram ubi jalar ungu yang telah dihaluskan untuk dilakukan proses ekstraksi menggunakan pelarut HCl 1,5 M dengan etanol 96% (1:4) sebanyak 100 ml. Proses ekstraksi maserasi dilakukan selama 24 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residunya sehingga siap untuk digunakan sebagai tes kit pengujian kandungan formalin (Rismiarti, 2022). Ekstrak yang digunakan berupa ekstrak cair tanpa ada proses pengentalan ekstrak.

3.6.4 Pembuatan Larutan Sampel Bakso yang Ditambahkan Formalin

Bakso dipotong kecil-kecil untuk ditimbang sebanyak 10 gram dan dihaluskan menggunakan alu mortar. Selanjutnya, bakso yang telah halus dimasukkan ke dalam beaker glass 100 ml untuk ditambahkan aquades hingga diperoleh volume 100 ml. Sampel bakso yang telah bercampur dengan pelarut aquades kemudian diaduk dan dibagi ke dalam beberapa tabung polipropilena untuk disentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 6000 rpm (Seran et al., 2021). Supernatan yang diperoleh dimasukkan ke dalam satu wadah yang sama dan dihomogenkan. Jika supernatan sampel tidak jernih maka dilakukan proses penyaringan menggunakan filter membran hingga diperoleh supernatan yang benar-benar jernih.

Setelah itu, supernatan dibagi ke dalam 6 wadah yang berbeda dengan volume pengambilan yang sama, yaitu sebanyak 10 ml. Setiap wadah supernatan bakso harus diberikan label sebagai penanda antara satu dengan yang lainnya agar tidak terjadi kesalahan penambahan formalin. Satu wadah supernatan dengan kode 0% tidak ditambahkan dengan larutan formalin, sedangkan lima wadah yang lain dengan kode 0,10%, 0,15%, 0,20%, 0,50%, dan 0,75% ditambahkan dengan larutan formalin masing-masing sebanyak 0,01 ml (10 μ L); 0,015 ml (15 μ L); 0,02 ml (20 μ L); 0,05 ml (50 μ L); dan 0,075 ml (75 μ L). Tahapan terakhir, dilakukan proses penghomogenan larutan dengan menggunakan sonikator agar supernatan dan larutan formalin benar-benar tercampur dengan baik.

3.6.5 Pengujian Tes Kit Ubi Jalar Ungu pada Sampel Bakso untuk Uji Selektivitas Formalin Secara Visual

Diambil 2 ml ekstrak ubi jalar ungu kemudian dimasukkan ke dalam 6 tabung reaksi yang berbeda dan telah diberikan label. Selanjutnya masing-masing tabung reaksi ditambahkan 4 ml supernatan bakso yang tidak mengandung formalin (konsentrasi 0%) dan supernatan bakso yang mengandung formalin dengan konsentrasi 0,10%, 0,15%, 0,20%, 0,50%, serta 0,75%. Setelah itu, ekstrak ubi jalar ungu yang telah bercampur dengan supernatan bakso dihomogenkan dengan menggunakan sonikasi dan dilakukan pengamatan intensitas warna yang terjadi. Adanya HCHO

ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah pudar (Setyawan & Hanizar, 2021).

3.6.6 Uji Selektivitas dengan Spektrofotometer UV-Vis

Sebelum dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum maka dilakukan proses *baseline* (mengkali nol-kan) pada spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan larutan blanko, yaitu ekstrak ubi jalar ungu dan aquades dengan perbandingan 1:2 serta ekstrak ubi jalar ungu-supernatan bakso dengan konsentrasi 0%.

Diambil larutan ekstrak ubi jalar ungu yang telah bercampur dengan supernatan bakso yang mengandung formalin dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol negatif dan supernatan bakso yang mengandung formalin dengan konsentrasi 0,10% sebagai kontrol positif. Selanjutnya, masing-masing kontrol dimasukkan ke dalam kuvet untuk ditetapkan panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebelum kuvet dimasukkan ke dalam spektrofotometer UV-Vis dipastikan bahwa bagian luar kuvet benar-benar kering. Pengeringan tersebut menggunakan tissue yang dilakukan secara searah. Pengukuran panjang gelombang maksimum pada kontrol positif dan kontrol negatif dilakukan pada rentang panjang gelombang 400-700 nm (Almajid et al., 2021)

3.6.7 Pembacaan Absorbansi Larutan Ekstrak Ubi Jalar Ungu-Supernatan Bakso Berformalin dengan Spektrofotometer UV-Vis

Masing-masing larutan ekstrak ubi jalar ungu yang telah bercampur dengan supernatan bakso yang mengandung formalin dengan konsentrasi 0%, 0,10%, 0,15%, 0,20%, 0,50%, dan 0,75% dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum kontrol positif yang telah didapatkan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.6.8 Penetapan Batas Deteksi Ekstrak Ubi Jalar Ungu dalam Mendeteksi Formalin pada Sampel Bakso

Absorbansi yang telah diperoleh dari enam larutan ekstrak ubi jalar ungu dengan supernatan bakso yang mengandung formalin dalam konsentrasi 0%, 0,10%, 0,15%, 0,20%, 0,50%, dan 0,75% kemudian dibuat kurva standar yang menyatakan hubungan antara konsentrasi (%) dengan absorbansi (A). Dari pembuatan kurva standar tersebut akan diketahui regresi linear yang dinyatakan dengan persamaan $y = bx + a$. Batas deteksi ditentukan dengan menggunakan perhitungan secara statistik melalui persamaan regresi linear dari kurva standar. Perhitungan tersebut berdasarkan pada nilai simpangan baku (SD) respon dan kemiringan (*slope*, *S*) kurva baku pada level yang mendekati LoD sesuai dengan rumus, $LoD = 3,3 (SD/ S)$ (Rohman, 2022).

3.7 METODE ANALISIS

Metode analisis yang dipergunakan dalam penelitian ini yaitu analisis kualitatif untuk uji selektivitas kandungan formalin dalam sampel bakso dengan memanfaatkan ekstrak antosianin ubi jalar ungu dan analisis kuantitatif untuk mengkonfirmasi uji selektivitas dengan penetapan panjang gelombang maksimum kontrol positif serta kontrol negatif. Analisis kuantitatif juga dilakukan untuk mengidentifikasi batas konsentrasi terkecil formalin pada bakso yang dapat terdeteksi oleh indikator alami ekstrak ubi jalar ungu menggunakan uji lanjutan dengan spektrofotometri UV-Vis.

3.8 PENGOLAHAN DAN PENYAJIAN DATA

Data yang diperoleh berupa data kualitatif dari uji selektivitas berbagai konsentrasi formalin pada bakso dengan menggunakan tes kit dari ubi jalar ungu. Untuk data kuantitatif diperoleh dari nilai panjang gelombang maksimum kontrol positif dan kontrol negatif hasil konfirmasi uji selektivitas serta absorbansi ekstrak ubi jalar ungu-supernatan bakso dengan berbagai konsentrasi formalin yang diperoleh setelah dilakukan uji lanjutan dengan spektrofotometri UV-Vis. Penyajian data yang telah diperoleh dilakukan dalam bentuk tabel .

Tabel 3.2 Hasil Absorbansi Ekstrak Ubi Jalar Ungu Terhadap Berbagai Konsentrasi Formalin Pada Sampel Bakso

No.	Konsentrasi Formalin	Absorbansi
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		