

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu eksperimental dan metode yang digunakan yaitu kualitatif

3.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Februari di Laboratorium Analisis Obat dan Narkoba, Prodi Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang JL. Besar Ijen No. 77C, Oro – Oro Dowo, Kec. Klojen, Kota Malang, Jawa Timur.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Pisau, talenan, neraca analitik *OHAUS* PX244E, gelas corong, batang pengaduk, tabung reaksi, bola hisap, rak tabung, spatula, kaca arloji, gelas ukur *Iwaki* 100 ml, labu ukur *Pyrex* 10 ml, pipet volume 5 ml, beaker glass *Pyrex* 250 ml, beaker glass *Pyrex* 50 ml, Erlenmeyer *Iwaki* 250 ml, isolasi label, aluminium foil, kertas saring, *Smartphone*.

3.3.2. Bahan

Ubi jalar ungu (*Ipomoea Batatas L. Poir*), methanol, etanol 96%, hidrokuinon (*Eastman*), buffer fosfat pH 12, HCl 10%, aluminium foil (*Best fresh*).

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau dianggap menentukan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini jenis pelarut pada ekstraksi ubi jalar ungu dan konsentrasi larutan hidrokuinon.

3.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang berubah karena variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah metode pencitraan digital yang menghasilkan nilai absorbansi pada intensitas warna.

3.5. Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Metode	Hasil Ukur	Skala
Jenis pelarut ekstrak ubi jalar ungu	Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi ubi jalar ungu adalah etanol 96% serta campuran pelarut etanol 96% dan HCL 10% dengan perbandingan 4:1.	Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi	pelarut yang telah digunakan ekstraksi	Ordinal
Hidrokuinon	Hidrokuinon yang digunakan pada deteksi cepat dengan konsentrasi 5%, 4%, 3%, 2%, dan 1%	Analisis menggunakan deteksi cepat berdasarkan metode kolorimetri berbasis pencitraan digital	intensitas warna dan absorbansi RGB	Nominal
Pencitraan Digital	Pengolahan pada software dengan pengambilan gambar serta	Pengambilan gambar dianalisis menggunakan software	Nilai intensitas warna RGB yang akan dikonversi	Rasio

	menentukan komponen warna RGB.	Adobe Photoshop dan dihasilkan data intensitas cahaya komponen warna RGB	menjadi absorbansi.	
--	--------------------------------	--	---------------------	--

3.6. Metode Penelitian

3.6.1. Persiapan Ubi Jalar Ungu

Pembuatan ekstrak ubi jalar ungu dilakukan dengan cara menyiapkan sampel ubi jalar ungu sebanyak 500 gram, kemudian dikupas dan dicuci bersih dan selanjutnya dipotong - potong. Setelah itu, ubi jalar ungu blender hingga halus.

3.6.2. Pembuatan Ekstrak Ubi Jalar Ungu Metode Maserasi

- Ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%

Ubi jalar ungu yang sudah dihaluskan ditimbang sebanyak 100 gram dan dimaserasi dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 200 ml selama 1x24 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan. Ekstrak yang didapat kemudian disaring menggunakan kertas saring dan ditampung pada Erlenmeyer yang sudah tertutup alumunium foil.

- Ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% yang diasamkan dengan HCl 10% (4:1)

Ubi jalar ungu yang sudah dihaluskan ditimbang sebanyak 100gram dan dimaserasi dengan menggunakan pH asam sebanyak 200 ml. Dibutuhkan etanol 96% sebanyak 160 ml dan HCL 10% sebanyak 40 ml dengan sesekali dilakukan pengadukan selama 1x24 jam. Ekstrak yang didapat kemudian disaring menggunakan kertas saring dan ditampung pada Erlenmeyer yang sudah tertutup alumunium foil.

3.6.3. Uji Selektivitas Pada Pelarut Ekstrak Antosianin Ubi Jalar Ungu Sebagai Indikator Warna Hidrokuinon

- Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Hidrokuinon

Dibuat larutan standar hidrokuinon dengan konsentrasi 5%, 4%, 3%, 2%, dan 1% dengan menimbang hidrokuinon sebanyak 500 mg, 400 mg, 300 mg, 200 mg, dan 100 mg dengan seksama, dimasukkan ke dalam gelas beaker 50 ml dan dilarutkan dengan sedikit pelarut metanol hingga larut sempurna. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Selanjutnya di ad dengan metanol sampai dengan tanda batas dan dikocok hingga homogen.

- Analisis Indikator Warna Hidrokuinon dengan Ekstrak Antosianin

Menyiapkan 6 tabung reaksi dan dimasukkan ekstrak antosianin ubi jalar ungu hasil maserasi dengan masing – masing sebanyak 3 ml. selanjutnya ditambahkan 2 ml buffer fosfat pH 12 pada masing – masing tabung. Kemudian pada tabung 2 sampai tabung 6 ditambahkan larutan standar hidrokuinon konsentrasi 5%, 4%, 3%, 2%, dan 1% yang telah dibuat. Tabung 1 sebagai kontrol negatif dan tabung 2 sampai tabung 6 sebagai kontrol positif. Dikocok dan diamati perubahan warna. Selanjutnya difoto menggunakan kamera smartphone. Hasil foto diolah menggunakan aplikasi *Photoshop CS3*.

3.7. Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

Hasil foto yang telah diolah menggunakan aplikasi *Adobe Photoshop* dapat dilihat dari intensitas warna dan nilai absorbansi lebih tinggi yang optimum. Hasil intensitas warna menggunakan *Adobe Photoshop* akan diperoleh data sebagai berikut.

Tabel 3. 2 Tabel Intensitas Warna

Konsentrasi (ppm)	Intensitas Warna		
	Red (R)	Green (G)	Blue (B)

Masing-masing nilai intensitas RGB yang diperoleh pada Photoshop CS3 dikonversikan menjadi absorbansi dengan menggunakan rumus persamaan Lambert-Beert.

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

Dimana:

A: Absorbansi

I: Intensitas warna (R/G/B)

I_0 : Intensitas warna blanko (ekstrak ubi jalar ungu + buffer fosfat pH 12)

Hasil absorbansi yang telah dihitung sebagai berikut.

Tabel 3. 3 Tabel Hasil Absorbansi

Konsentrasi (%)	Absorbansi		
	Red (R)	Green (G)	Blue (B)

Berdasarkan pengolahan data tersebut, data kemudian disajikan dalam bentuk gambar dan tabel. Selanjutnya data absorbansi dibuat kurva kalibrasi untuk mengetahui kadar hidrokuinon yang didapat dari pencitraan digital. Hasil pengujian dengan metode kolorimetri berbasis pencitraan digital dilakukan validasi meliputi parameter linieritas, batas deteksi dan batas kuantitasi, presisi, dan akurasi.

3.7.1. Linieritas

Dari uji linieritas didapatkan persamaan sebagai berikut :

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = nilai absorbansi

x = kadar hidrokuinon

a = slope

b = intersep

Kriteria nilai linieritas yang baik apabila nilai r mendekati +1 atau -1 dan hasil ρ value kurang dari α (0,01)

3.7.2. Limit Deteksi dan Batas Kuantitas

Dari uji batas deteksi dan batas kuantitas dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut.

$$LOD = \frac{3 \times SD}{b}$$
$$LOQ = \frac{10 \times SD}{b}$$

3.7.3. Presisi

Dari uji presisi didapatkan nilai standar deviasi (s), baik standar deviasi relatif (RSD) maupun koefisien variasi (KV). Kriteria penerimaan presisi diberikan pada metode yang memberikan nilai RSD 2% atau untuk konsentrasi yang berbeda, dapat dilihat pada Tabel 2. 1 *Konsentrasi* analit dengan presisi . Penentuan parameter presisi dapat ditentukan dengan persamaan berikut.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x_1 - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$KV(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

Keterangan:

SD = Standar Deviasi

KV = Koefisien Variasi

\bar{X} = Rata-rata sampel

3.7.4. Akurasi

Dari uji akurasi didapatkan % recovery yang diperoleh dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ recovery} = \frac{\textit{konsentrasi hasil percobaan}}{\textit{konsentrasi teoritis}} \times 100\%$$

Metode pengembangan memiliki nilai akurasi yang tinggi jika memiliki % recovery pada rentang 80% – 110% ataupun termasuk dalam kriteria penerimaan % recovery terhadap konsentrasi analit dalam sampel pada Tabel 2. 2 Rentang % recovery pada konsentrasi yang berbeda