

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Analisis deskriptif dan observasional digunakan dalam penelitian ini. Analisis kualitatif dilakukan menggunakan uji kertas kunyit (tumerik) dan uji larutan AgNO_3 serta analisis kuantitatif dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis. Tujuan kedua penelitian adalah untuk mengetahui berapa banyak boraks yang ditemukan pada kerupuk puli yang dijualbelikan di pasar tradisional Kota Yogyakarta.

B. Lokasi dan Waktu

1. Lokasi penelitian

Laboratorium Biofarmakologi Prodi Farmasi (S-1) Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai bulan Mei 2024.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi merujuk pada semua objek yang menjadi fokus penelitian. Kerupuk puli mentah yang diperjualbelikan di pasar tradisional Kota Yogyakarta, yakni terdapat 13 pasar besar tradisional Kota Yogyakarta antara lain, pasar Ngasem, pasar Lempuyangan, pasar Demangan, pasar Prawirotaman, pasar Legi Kota Gede, pasar Kranggan, pasar Gedongkuning, pasar Legi Patangpuluh, pasar Sentul, pasar Serangan, pasar Godean, dan pasar Beringharjo yang akan menjadi populasi pada penelitian kali ini.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah kerupuk puli mentah sebagai target sampel. Pengambilan sampel yang didasarkan pada faktor-faktor tertentu,

seperti karakteristik populasi atau karakteristik tertentu, dikenal sebagai pengambilan sampel *purposive* (Bukhari *et al.*, 2023).

Metode *purposive* sampling yang digunakan dengan karakteristik sampel, dari 13 pasar besar tradisional Kota Yogyakarta dengan menggunakan rumus $\sqrt{N+1}$ akan diperoleh 5 pasar sebagai sampel, yaitu pasar Ngasem, pasar Lempuyangan, pasar Demangan, pasar Sentul, pasar Beringharjo, terdapat 5 sampel dengan masing-masing pasar diambil 1 sampel dengan kriteria:

- a. Kriteria inklusi : Kerupuk puli yang tidak bermerek, tidak ada izin PIRT dengan kisaran harga mulai dari Rp 15.000 hingga Rp 35.000 yang dibeli di pasar tradisional Kota Yogyakarta.
- b. Kriteria eksklusi : Kerupuk puli yang bermerek, izin PIRT, bentuk yang tidak utuh serta telah melalui *expired date*.

D. Variabel Penelitian

Variabel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas

Pada penelitian ini variabel bebas dalam penelitian ini adalah pada kerupuk puli yang tidak bermerek yang diperoleh dari pasar Ngasem, pasar Lempuyangan, pasar Demangan, pasar Sentul, pasar Beringharjo tradisional di Kota Yogyakarta.

2. Variabel terikat

Pada penelitian ini variabel terikat yang digunakan adalah kandungan boraks dan kadar boraks yang terkandung pada kerupuk puli.

3. Variabel terkontrol

Pada penelitian ini menggunakan variabel terkontrol yaitu bentuk, kerupuk yang tidak bermerek, jumlah kerupuk, dan pelarut etanol.

E. Definisi Operasional

1. Kerupuk puli mentah yang dijual di pasar tradisional Kota Yogyakarta akan menjadi sampel yang akan diteliti untuk mengetahui kadar boraksnya pada kerupuk puli yang tidak bermerek
2. Proses ekstraksi dilakukan pada sampel yang diperoleh, dan hasilnya dilarutkan dalam etanol. Uji kertas kunyit (tumerik), uji larutan AgNO_3 digunakan untuk

melakukan analisis kualitatif, dan spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk melakukan analisis kuantitatif.

3. Kadar boraks dinyatakan dalam % b/b.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat gelas (*Iwaki*), mikropipet (*eppendorf*), oven, sentrifugasi, dan spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10*), dan timbangan analitik (*Ohaus*), Timbangan semi mikro (*Ohaus*), *Hot plate* dan *Magnetic stirrer*.

2. Bahan

Akuades, AgNO_3 , Natrium tetraborat *p.a* (BPFI), etanol *p.a* (*Merck*), kurkumin 0,125%, asam sulfat pekat (*Merck*), asam asetat glasial 100%, NaOH 10%, HCl pekat (*Merck*), kertas saring, etanol 70%, kunyit, *blue tip* dan sampel kerupuk puli mentah yang diambil dari beberapa penjual kerupuk di pasar Kota Yogyakarta.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Analisis Organoleptis

Sampel dianalisis menggunakan uji organoleptis yaitu meliputi pemeriksaan terhadap bau, bentuk, dan warna.

2. Identifikasi Kualitatif

- a. Pembuatan kertas kunyit (tumerik)

Disiapkan beberapa buah kunyit yang sudah dikupas, dicuci, diparut, dan diambil airnya, kemudian ditambahkan 10 mL etanol 70% diaduk sampai homogen. Setelah itu diambil kertas saring dan dibuat 6 lembar dengan ukuran 8x8 cm, kemudian celupkan kertas saring dalam air kunyit tersebut, dibiarkan selama 15 menit. Setelah 15 menit, kertas saring (kertas tumerik) dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian kertas tumerik simpan dalam wadah tertutup untuk digunakan (Juwita *et al.*, 2021).

- b. Uji kualitatif boraks dengan kertas tumerik

Disiapkan sampel kerupuk puli yang telah dihaluskan, dimasukkan pada gelas beker, ditambahkan 15 tetes HCl pekat, dan diaduk sampai sampai rata. Larutan tersebut diteteskan pada kertas tumerik yang telah

disiapkan. Jika warna kertas menjadi merah kecoklatan, maka positif (+) mengandung boraks (Anngela *et al.*, 2021).

c. Uji kualitatif boraks dengan AgNO_3

Ditimbang kurang lebih 200 mg sampel kerupuk puli yang telah dihaluskan, ditambahkan akuades sebanyak 10 mL, dan disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Hasil dari sentrifugasi disaring dan diambil filtratnya sebanyak 1-3 tetes, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi, dalam tabung reaksi ditambahkan 1-3 tetes larutan AgNO_3 dengan hati-hati hingga homogen. Jika larutan sampel terdapat endapan putih, maka positif (+) boraks (Jayadi *et al.*, 2023)

3. Identifikasi kuantitatif dengan Spektrofotometri UV-Vis

a. Pembuatan larutan induk natrium tetraborat 500 $\mu\text{g/mL}$

Untuk membuat larutan induk dibuat dengan cara timbang seksama 25 mg natrium tetraborat dan tambahkan etanol *p.a* ke labu ukur 50 mL hingga tanda batas. Selanjutnya ke dalam larutan tersebut dipipet 2,5 mL dan ditambahkan etanol *p.a* ke labu ukur 50 mL hingga tercapai tanda batas, maka konsentrasi natrium tetraborat menjadi 25 $\mu\text{g/mL}$ (Samsuar *et al.*, 2018).

b. Preparasi larutan baku natrium tetraborat

Larutan induk konsentrasi 25 $\mu\text{g/mL}$ digunakan sebagai bahan baku untuk membuat kurva baku larutan natrium tetraborat. Larutan ini diambil dengan mikropipet sebanyak 200 μL , 300 μL , 400 μL , 500 μL , dan 600 μL . Selanjutnya, masing-masing konsentrasi larutan dimasukkan ke dalam cawan porselin, ditambahkan 1 mL larutan NaOH 10%, dan dipanaskan pada penangas air hingga mengering. Setelah larutan mengering, ditambahkan 3 mL kurkumin 0,125% dan dipanaskan kembali selama 5 menit. Larutan didinginkan dan ditambahkan 3 mL asam sulfat-asetat dengan perbandingan (1:1) diikuti dengan pengadukan dan diamkan selama 15 menit, ditambahkan 5 tetes etanol *p.a* ke dalam campuran dan disaring melalui kertas saring. Filtrat yang dihasilkan dari penyaringan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan diencerkan dengan etanol *p.a* hingga tanda batas. Konsentrasi akhir pada

masing-masing larutan standar menjadi 0,2 µg/mL, 0,3 µg/mL, 0,4 µg/mL 0,5 µg/mL, dan 0,6 µg/mL.

c. Penentuan panjang gelombang maksimum

Konsentrasi larutan standar 0,2 µg/mL digunakan untuk mencari panjang gelombang maksimum natrium tetraborat. Diambil dengan mikropipet sebanyak 1,0 mL dan dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum diamati dan dicatat pada rentang 400–600 nm.

d. Penentuan kurva baku larutan natrium tetraborat

Larutan baku 0,2 µg/mL, 0,3 µg/mL, 0,4 µg/mL, 0,5 µg/mL, dan 0,6 µg/mL masing-masing diambil dengan mikropipet sebanyak 1,0 mL. Setelah itu, dimasukkan ke dalam kuvet dan panjang gelombang maksimumnya diukur.

e. Penetapan kadar boraks dalam kerupuk puli

Sampel kerupuk puli yang telah dihaluskan ditimbang 200,0 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, dan ditambahkan akuades hingga tanda batas. Setelah itu larutan disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Filtrat diambil sebanyak 1,0 mL kemudian ditambahkan 1 mL NaOH 10%, dipanaskan hingga mengering dan didinginkan. Selanjutnya ditambahkan 3 mL kurkumin 0,125%, dipanaskan kembali selama 5 menit, kemudian larutan didinginkan kembali. Setelah itu ke dalam campuran ditambahkan 3 mL asam sulfat-asetat dengan perbandingan (1:1) yang diikuti dengan pengadukan dan didiamkan selama 15 menit, etanol *p.a* ditambahkan sebanyak 5 tetes ke dalam campuran, disaring dan diambil filtratnya, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25,0 mL dan ditambahkan etanol *p.a* hingga tanda batas. Untuk mengukur absorbansi sampel dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan panjang gelombang maksimum yang sudah ditetapkan sebelumnya (Samsuar *et al.*, 2018).

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Analisis Data dengan Spektrofotometri UV-Vis

Untuk mengetahui konsentrasi boraks dalam sampel kerupuk, menggunakan persamaan regresi dengan spektrofotometri UV-Vis. Istilah "regresi linier" mengacu pada hubungan antara konsentrasi (sumbu x) dan serapan (sumbu y). Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan menggunakan rumus berikut:

$$Y = bx + a$$

Keterangan :

y = absorbansi

a = nilai a pada persamaan intersep

x = kadar analit

b = slope/nilai b pada persamaan (Dian *et al.*, 2017).

2. Analisis Kadar Boraks Pada Sampel Kerupuk Puli

Data hasil penelitian dianalisis dengan menghubungkan konsentrasi larutan sampel (x) dengan presentase absorbansi sampel (y) yang selanjutnya dilakukan perhitungan regresi linear $y = bx + a$, kemudian dihitung nilai penetapan kadar menggunakan rumus:

$$\text{Kadar} = \frac{(C \times V \times F)}{m} \times 100\%$$

Keterangan:

C= Konsentrasi

V= Volume larutan sampel

F= Faktor Pengenceran

m= massa penimbangan sampel (Lovianasari *et al.*, 2021)

3. Arithmetic Mean (Rata-rata)

Mean atau rerata, ialah jumlah nilai dari data keseluruhan yang kemudian dibagi dengan semua kejadian, yang dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\bar{x} = (\sum x) / N$$

Keterangan :

$\bar{x}$ = Nilai rata-rata

x = Nilai data dari $X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n$

N = Jumlah dari tiap kejadian atau jumlah dari tiap frekuensi (Bardja, 2017).

4. Standar deviasi (S)

Nilai standar deviasi menunjukkan seberapa panjang penyebaran yang dilakukan data dari tiap nilai rata-ratanya. Penyebaran data yang sangat besar akan memiliki nilai standar deviasi yang besar, sedangkan penyebaran data yang sangat kecil akan memiliki nilai standar deviasi yang kecil (Kasim, 2019).

5. *Coefficient variation* (CV)

Nilai yang membandingkan deviasi standar dengan nilai rata-rata hitung distribusi disebut koefisien variasi.

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Keterangan :

CV = *Coefficient Variation* atau koefisien variasi

SD = Standar deviasi

$\bar{x}$ = Nilai hitung rata-rata (Kasim, 2019).

6. Interval kepercayaan (LE)

Interval kepercayaan adalah salah satu tolak ukur untuk menghitung atau mengestimasi tingkat ketepatan rata-rata atau proporsi dari sebuah sampel yang merepresentasikan populasi sebenarnya. Perhitungan interval kepercayaan bergantung pada jenis data yang diamati (misalnya, data berdistribusi normal atau tidak), ukuran sampel, dan tingkat kepercayaan yang diinginkan. Rumus umum untuk menghitung interval kepercayaan adalah:

$$LE = t \times \frac{SD}{\sqrt{N}}$$

Keterangan :

LE = *limit of error*

t = nilai t tabel

SD = standar deviasi

N = banyak sampel (Hartland, 2020).