

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimen dengan desain penelitian yaitu deskriptif. Terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas yaitu perendaman menggunakan air garam dan variabel terikat yaitu kadar sianida pada singkong karet. Pada penelitian ini menggunakan pemeriksaan metode uji kertas pikrat untuk uji kualitatif dan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer *UV-Visible*.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Lokasi penelitian ini adalah Pekon Pahayu Jaya Kecamatan Pagar Dewa Kabupaten Lampung Barat, pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2024.

C. Subyek Penelitian

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman singkong karet di Pekon Pahayu Jaya Kecamatan Pagar Dewa Kabupaten Lampung Barat.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini yaitu singkong karet yang diambil di Pekon Pahayu Jaya Kecamatan Pagar Dewa Kabupaten Lampung Barat. Besar sampel untuk menentukan banyaknya pengulangan dapat dihitung dengan menggunakan rumus federer sebagai berikut :

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan :

r : replication (jumlah pengulangan)

t : treatment (jumlah perlakuan)

15 : nilai derajat kebebasan

Perhitungan :

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

$$(r-1)(5-1) \geq 15$$

$$(r-1)(4) \geq 15$$

$$4r-4 \geq 15$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75$$

$$r \geq 5 \text{ kali pengulangan}$$

Berdasarkan perhitungan banyaknya pengulangan yaitu 5 kali pengulangan.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Independen					
a. Singkong karet	Singkong yang diambil di perkebunan Kabupaten Lampung Barat	Diukur diameter dan Panjang	Penggaris	Sampel singkong dengan ukuran diameter 5-10 cm dan panjang 50-80 cm	Nominal
b. Perendaman air garam	Air garam adalah air yang dibuat dari aquades yang ditambahkan garam 250 gr dalam 1000 mL		Neraca elektrik	%	Rasio
c. Waktu perendaman	Waktu yang digunakan untuk merendam singkong karet dengan variasi waktu 30, 60, 90 dan 120 menit.	Observasi	Stopwatch	Menit	Rasio
Dependen					
a. Kadar Sianida	Mengukur kadar sianida pada singkong karet sebelum dan setelah mengalami perlakuan	Spektrofotometri	Spektrofotometer <i>UV-Visible</i>	mg/kg	Rasio

E. Pengumpulan Data

1. Persiapan Alat dan Bahan

a) Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, neraca analitik, rak tabung reaksi, batang pengaduk, hot plate, corong, Erlenmeyer (250 mL, 5 mL), beaker glass (500 mL), bulb pipet, spektrofotometer *UV-Visible*, aluminium foil, cawan porselin, pipet ukur (5 mL, 25 mL, 50 mL), gelas ukur (250 mL), label, perangkat destilasi sederhana (labu destilasi, kondensor, klem dan statif, heating mantel, ember (penampung air), selang air masuk, selang air keluar, erlenmeyer).

b) Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah asam pikrat ($C_6H_3(NO_2)_3$) 8%, Asam tartrat ($C_4H_6O_6$) 5%, aquades, kalium sianida (kcn), natrium karbonat 8%, larutan ninhydrin 1%, larutan NaCl 25%, sampel umbi singkong karet.

2. Persiapan Reagen

a. Pembuatan Larutan Asam Pikrat ($C_6H_3(NO_2)_3$) 8%

Ditimbang 8 gram ($C_6H_3(NO_2)_3$) kemudian masukkan ke dalam labu takar 100 mL tambahkan aquades sedikit demi sedikit hingga tanda batas 100 mL kemudian tutup hingga rapat dan homogenkan larutan asam pikrat tersebut. Simpan larutan asam pikrat 8% dalam botol reagen tertutup rapat, beri label sesuai konsentrasinya.

b. Pembuatan Larutan Asam tartrat ($C_4H_6O_6$) 5%

Ditimbang 5 gram ($C_4H_6O_6$) kemudian masukkan ke dalam labu takar 100 mL tambahkan aquades sedikit demi sedikit hingga tanda batas 100 mL kemudian tutup hingga rapat dan homogenkan larutan asam tartrat tersebut. Simpan larutan asam tartrat 5% dalam botol reagen tertutup rapat, beri label sesuai konsentrasinya.

c. Pembuatan Larutan Natrium karbonat 8%

Ditimbang 8 gram (Na_2CO_3) kemudian masukkan ke dalam labu takar 100 mL, tambahkan aquades sedikit demi sedikit hingga tanda batas 100 mL kemudian tutup hingga rapat dan homogenkan larutan natrium karbonat tersebut. Simpan larutan natrium karbonat 8% dalam botol reagen tertutup rapat, beri label sesuai konsentrasinya.

d. Pembuatan Larutan Ninhidrin 1%

Ditimbang 1 gram ninhidrin kemudian masukkan ke dalam labu takar 100 mL, tambahkan aquades sedikit demi sedikit hingga tanda batas 100 mL kemudian tutup hingga rapat dan homogenkan larutan ninhidrin tersebut. Simpan larutan ninhidrin 1% dalam botol reagen tertutup rapat, beri label sesuai konsentrasinya.

e. Pembuatan Larutan Standar Sianida

a. Pembuatan larutan baku KCN konsentrasi 100 ppm

KCN ditimbang 0,2409 gram ke dalam labu takar 100 mL, lalu diencerkan dengan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

b. Pembuatan deret standar 1, 4, 8, 10, 20 ppm

Setelah 100 ppm diencerkan untuk larutan standarnya dibuat konsentrasi yang berbeda yaitu 1, 4, 8, 10, 20 ppm. Kemudian dipipet berturut turut sebanyak 1 mL, 4 mL, 8 mL, 10 mL dan 20 mL. Lalu dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL yang sudah diberi label dan diencerkan dengan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

c. Prosedur Pengambilan Sampel

Sebelum pengambilan sampel, peneliti mengajukan usulan surat izin penelitian ke Direktur Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang. Setelah mendapatkan surat izin penelitian, peneliti dapat melakukan pengambilan sampel singkong karet yang diambil dari lahan perkebunan warga di Desa Pahayu Jaya Kecamatan Pagar Dewa Kabupaten Lampung Barat.

Berikut ini cara pengampilan sampel :

- 1) Siapkan alat yang digunakan untuk pengambilan sampel, alat yang digunakan yaitu pisau, spidol, label dan wadah penyimpanan.

- 2) Singkong karet diambil dengan cara dicabut lalu dipisahkan antara umbinya menggunakan alat pemotong. Kemudian masukkan sampel ke dalam kantong plastik yang telah diberi label nama/kode sampel, tanggal dan waktu pengambilan sampel, lalu sampel siap dibawa ke Laboratorium Penelitian Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk dilakukan pemeriksaan.

d. Prosedur Kerja

- 1) Uji kualitatif dengan kertas pikrat

Prinsip : Diamati perubahan yang terjadi pada kertas pikrat. Apabila warna kuning dari kertas pikrat berubah menjadi warna merah menunjukkan bahwa sampel positif mengandung sianida.

Prosedur kerja mengacu pada Zulfadli (2017) dengan modifikasi sebagai berikut :

- a) Disiapkan alat dan bahan
- b) Ditimbang sampel sebanyak 10 gr, lalu dihaluskan
- c) Tambahkan aquades sebanyak 20 mL, lalu disimpan selama 1 jam
- d) Kemudian sampel disaring dan diambil filtratnya, lalu ditambahkan larutan asam tartrat 5% sebanyak 1 mL
- e) Selanjutnya, disiapkan kertas pikrat berukuran 1x7 cm kemudian celupkan ke dalam larutan asam pikrat 8% kemudian keringkan dan direndam kembali dalam larutan natrium karbonat, setelah itu kertas saring dikeringkan kembali.
- f) Kemudian gantungkan kertas saring tersebut dileher labu erlenmeyer dan tutup menggunakan karet
- g) Selanjutnya, sampel dipanaskan pada hotplate dengan suhu 50°C selama 15 menit dan amati perubahan warna kertas pikrat tersebut.

Kontrol (+) : Kcn, aquades, asam tartrat, asam pikrat dan natrium karbonat.

Kontrol (-) : Aquades, asam tartrat, asam pikrat dan natrium karbonat.

Sampel Uji : Sampel singkong karet, aquades, asam tartrat, asam pikrat dan natrium karbonat.

Interpretasi hasil :

Positif (+) : Terjadi perubahan warna pada kertas pikrat menjadi merah bata

Negatif (-) : Tidak terjadi perubahan warna pada kertas pikrat tersebut

2) Persiapan perendaman

- a. Membuat larutan garam 25% dengan cara ditimbang 250 gr garam lalu dilarutkan dalam 1000 mL air biasa dan dimasukkan ke dalam 4 beaker glass 500 mL. Masing-masing dengan volume 250 mL dan diberi label nomor 1-4.

rumus :

$$\% = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\text{Volume larut}} \times 100$$

Keterangan :

% : Konsentrasi

w: massa garam yang akan ditimbang (gr)

v : volume zat pelarut garam (mL)

$$\text{Perhitungan : } \% = \frac{w}{v} \times 100$$

$$\% = \frac{250 \text{ gr}}{1000 \text{ ml}} \times 100$$

$$\% = 25\%$$

3) Uji kuantitatif dengan spektrofotometer *UV-Vis*

4) Proses penelitian

1. Proses perendaman air garam

- a. Potong-potong singkong karet kemudian timbang singkong karet sebanyak 50 gr, masukkan ke dalam beaker glass 500 mL yang berisi air garam sebanyak 250 mL yang sudah diberi label. Lakukan sampai ke 4 beaker glass 500 mL tersebut berisi dengan masing-masing 50 gr singkong karet
- b. Kemudian direndam dengan waktu 30, 60, 90 dan 120 menit, setelah selesai direndam sampel singkong karet dari masing-masing beaker glass 50 mL diambil dan dihaluskan.

2. Penentuan Panjang gelombang maksimum sianida
 - a. Pengukuran Panjang Gelombang Larutan Hidridantin Merah

Diambil sebanyak 5 mL larutan standar KCN 20 ppm, kemudian ditambahkan dengan 1 mL ninhidrin 1% hingga terbentuk larutan hidridantin berwarna merah. Dilakukan pengukuran Panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada rentang panjang gelombang 481 nm.
 - b. Pengukuran kurva kalibrasi standar sianida

Pembuatan larutan standar untuk kurva kalibrasi dibuat standar sianida dengan konsentrasi 1, 4, 8, 10, 20 ppm. Diambil masing-masing 5 mL dan masukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 1 mL ninhidrin 1% dan didiamkan selama 40 menit hingga terbentuk warna larutan menjadi merah. Dilakukan pengukuran nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* dari pengukuran diperoleh persamaan regresi liner $y=0,0405x + 0,1015$.
3. Pengukuran kadar sianida sebelum direndam air garam
 - a. Sampel singkong karet ditimbang sebanyak 20 gr, lalu dihaluskan
 - b. Kemudian dimasukkan ke dalam labu destilat, tambahkan 50 mL aquades dan didestilasi hingga mendapatkan 5 mL hasil destilat
 - c. Hasil destilat 5 mL dilakukan pengenceran dengan menambahkan 50 mL aquades yang dimasukkan ke dalam gelas ukur 50 mL
 - d. Diambil 5 ml hasil pengenceran kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi
 - e. Tambahkan 1 ml ninhidrin 1% hingga membentuk warna kemerahan
 - f. Diukur kadar sianida dengan spektrofotometer *UV-Vis*.
4. Pengukuran kadar sianida setelah perendaman air garam
 - a. Sampel singkong karet yang telah dilakukan dengan perendaman air garam ditimbang sebanyak 20 gr, lalu dihaluskan
 - b. Kemudian dimasukkan ke dalam labu destilat, tambahkan 50 mL aquades dan didestilasi hingga mendapatkan 5 mL hasil destilat
 - c. Hasil destilat 5 mL dilakukan pengenceran dengan menambahkan 50 mL aquades yang dimasukkan ke dalam gelas ukur 50 mL

- d. Diambil 5 ml hasil pengenceran kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi
 - e. Tambahkan 1 mL ninhydrin 1% hingga membentuk warna kemerahan
 - f. Diukur kadar sianida dengan spektrofotometer *UV-Vis*
 - g. Dilakukan sebanyak 5 kali
5. Perhitungan kadar sianida

Rumus perhitungan kadar sianida mg/kg adalah sebagai berikut :

$$\text{Kadar sianida mg/kg} = \frac{c \cdot v \cdot (fp)}{m}$$

Keterangan : c : konsentrasi sianida (mg/L)

v : volume larutan (L)

m : berat sampel (gram)

fp : factor pengenceran

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data
 - a. *Coding* yaitu memberikan kode pada sampel singkong karet yang diteliti untuk memudahkan dalam memasukkan ke program computer.
 - b. *Editing* yaitu mengkaji dan meneliti data yang telah diperoleh.
 - c. *Tabulating* yaitu setelah data tersebut masuk kemudian dirangkap dan disusun dalam bentuk table agar dapat dibaca dengan mudah.
 - d. *Entry* yaitu memasukkan data yang diperoleh dan dikelompokkan ke dalam computer untuk diolah lebih lanjut.

Tabel 3.2 Pengolahan Data

No	Waktu Perendaman dengan NaCl 25% (menit)	Penurunan Kadar Sianida (ppm)					Rata-rata
		P(1)	P (II)	P (III)	P(IV)	P (V)	
1.	0 menit						
2.	30 menit						
3.	60 menit						
4.	90 menit						
5.	120 menit						

Berdasarkan data di atas, berikut ini tahap-tahap analisis datanya :

1. Analisis univariat (*Descriptive*)

Pada tahap ini dilakukan perhitungan statistik deskriptif yang menampilkan mean, standar deviasi (sd), nilai maksimum dan minimum untuk masing-masing kelompok perlakuan. Uji univariat akan menguji normalitas data tiap variabel pada data, dan menghasilkan hasil uji normalitas sebanyak variabel yang diujikan. Untuk sampel data kurang dari 50 sampel maka menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dalam pengujian, suatu data dikatakan berdistribusi normal apabila nilai signifikansi > 0.05 .

2. *Test of homogeneity of variances*

Jika data terdistribusi normal $p \text{ value} > 0,05$ maka selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui apakah data itu homogen atau tidak, mempunyai varians yang sama atau tidak. Uji homogenitas dapat dilakukan menggunakan uji *Levene's*. Apabila $p > 0,05$ berarti data memiliki variansi yang homogen sehingga dapat dilakukan uji *One Way Anova* dan jika nilai $p < 0,05$ maka data dinyatakan tidak memiliki variansi yang homogen sehingga dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.

3. *Test of analysis of varians (Anova)*

Jika data homogen maka selanjutnya dilakukan analisis menggunakan uji F pada anova untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata kadar sianida yang signifikan antar kelompok perlakuan. Jika nilai uji $F < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima, artinya semua variabel independent/bebas memiliki pengaruh secara signifikan terhadap variabel dependen/terikat. Oleh karena itu, dilakukan pengujian selanjutnya yaitu *Post Hoc Test* untuk mengetahui kelompok mana yang memberikan perbedaan. Sebaliknya, Jika nilai signifikan $F > 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak artinya semua variabel independent/bebas tidak memiliki pengaruh secara signifikan terhadap variabel dependen/terikat, sehingga tidak perlu dilakukan pengujian *Post Hoc Test*.

4. *Test of post of hoc test (Multiple Comperison)*

Jika hasil uji Anova menunjukkan perbedaan signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* (missal Tukey's HSD) untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda secara signifikan. Jika nilai sig. < 0,05 (signifikan) maka bisa disimpulkan terdapat perbedaan signifikan. Jika nilai sig. > 0,05 maka bisa disimpulkan tidak terdapat perbedaan signifikan.

G. *Ethical Clearence (Persetujuan Etik)*

Penelitian yang dilakukan atas izin komisi etik, walaupun penelitian ini tidak menggunakan subyek manusia, namun tetap dilakukan secara etik, naskah proposal diserahkan ke Komite Etik Poltekkes Tanjungkarang untuk dievaluasi kelayakannya. Hasil tinjauan etik menunjukkan bahwa penelitian layak secara etik.