

BAB III

METODEOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimen yang bertujuan untuk mengembangkan dan menguji efektivitas paper test kit berbasis ekstrak ubi ungu dalam mendeteksi keberadaan formalin pada makanan. Desain penelitian ini melibatkan proses ekstraksi antosianin dari ubi ungu, pembuatan kertas saring, dan uji coba deteksi formalin. Terdapat dua variabel yaitu variabel bebas adalah formalin yang akan diperiksa menggunakan *PaperKit* yang menggunakan ekstrak ubi ungu. Lalu variabel terikatnya adalah ekstrak ubi ungu dan reaksi warna dengan dilakukan pengujian terhadap sampel makanan dengan membandingkan hasil perubahan warna pada paper kit dengan kontrol positif dan negatif.

B. Lokasi dan Waktu penelitian

1. Lokasi

Lokasi penelitian ini adalah Laboratorium Kimia Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

2. Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2025

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah Ubi Jalar yang didapat dari penjual ubi.

2. Sampel

Sampel penelitian ini yaitu ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*)

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel Dan Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
Independen						
1.	Formalin	zat yang akan diperiksa menggunakan <i>PaperKit Test</i> Ekstrak Ubi Ungu	Uji Kualitatif	Visual (indera mata)	Positif (+) Biru Negatif (-) Tetap ungu	Nominal
Dependen						
1.	Ekstrak Ubi ungu	Ubi ungu yang diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut Etanol 96%.	Maserasi	Neraca Analitik Elektrik	Ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental.	Nominal
2.	Reaksi Warna	Reaksi warna yang dilihat dengan <i>Paperkit</i> yang telah direndam dalam ekstrak antosianin dari ubi ungu	Direndam	Visual (indera mata)	Positif (+) Biru Negatif (-) Tetap ungu	Nominal
3.	Uji Validitas					Rasio
a.	Presi (Reapitibilty)	Uji yang dilakukan dengan 7x Pengulangan	Direndam	Visual (indera mata)	a. Uji Presisi Tidak terjadi perubahan warna sampai 10x percobaan	
b.	Limit Of Detection (Sensitivitas)	Uji yang dilakukan sampai konsentrasi terkecil			b. Uji sensitivitas Sampai konsentrasi terendah.	
c.	Selectificity (Selektivitas)	Uji yang dilakukan pada formalin dan zat lain			c. Uji Selektivitas Perubahan warna hanya terjadi pada formalin	
4.	Panjang gelombang (λ maksimum)	Menentukan panjang gelombang dari reaksi warna	Spektrofotometri	Spektrofotometri Uv-Vis	nm	Rasio

E. Teknik Pengumpulan Data

1. Pengambilan sampel

Sebelum pengambilan sampel, peneliti mengajukan usulan surat izin penelitian ke Direktorat Politeknik Kesehatan Tanjungkarang, setelah mendapatkan surat izin penelitian, Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari. Peneliti melakukan pengambilan sampel dengan cara sampel dibeli dari pedagang ubi ungu. Lalu sampel dimaserasi.

2. Pemeriksaan Laboratorium

a. Pengambilan Sampel

1) Alat yang digunakan:

- a. Spidol
- b. Label
- c. Wadah penyimpanan

2) Bahan yang digunakan:

a. Proses Pemeriksaan

1) Alat

- a. beaker glass 1000mL; 100 mL
- b. pinset
- c. corong kaca
- d. blender
- e. gunting
- f. kertas saring fiber glass
- g. labu ukur 100 mL
- h. oven laboratorium
- i. penggaris
- j. pipet volume 20 mL; 10 mL; 5mL
- k. pipet ukur 25 mL; 10 mL; 5 mL
- l. vacum pump
- m. tabung reaksi
- n. pipet tetes
- o. buret titrasi 25 mL
- p. rak tabung

2) Bahan

- a. Ubi ungu pekat
- b. Etanol 96%
- c. Kertas saring Whattman no.41
- d. Larutan baku formalin 37%

3. Pembuatan Reagen Formalin

a) Pembuatan Larutan Formalin Baku Standar

$$1\% = 1.000 \text{ ppm}$$

$$37\% = 370.000 \text{ ppm}$$

Untuk membuat 100mL larutan 10.000 ppm, menggunakan rumus pengenceran $V_1 \times \text{ppm}_1 = V_2 \times \text{ppm}_2$

$$V_1 \times 370.000 = 1000 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1000.000}{370.000} = 2,7 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2,7 \text{ mL}$$

Memipet formalin 37% sebanyak 2,7 mL menggunakan buret titrasi ukuran 25 mL ke labu ukur 100 mL, lalu menambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

b) Pembuatan Larutan Formalin 1.000 ppm

Dari larutan induk 10.000 ppm , buat 1.000 ppm dalam 100 mL

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 1.000 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}} = 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

Memipet 10 mL larutan 10.000 ppm menggunakan pipet volume ukuran 10 mL ke labu ukur 100 mL, lalu menambahkan aquades sampai tanda batas dan homogenkan

c) Pembuatan Larutan Formalin 100 ppm

Dari larutan 1.000 ppm, buat 100 ppm dalam 100 mL

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{1.000 \text{ ppm}} = 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

Memipet 10 mL larutan 1000 ppm menggunakan pipet volume ukuran 10 mL ke labu ukur 100 mL, lalu menambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

d) Pembuatan Larutan Formalin 10 ppm

Dari larutan 100 ppm, buat 10 ppm dalam 100 mL

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

Memipet 10 mL larutan 100 ppm menggunakan pipet volume ukuran 10 mL ke labu ukur 100 mL, lalu menambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan

e) Pembuatan Larutan Formalin 1 ppm

Dari larutan 10 ppm, buat 1 ppm dalam 100 mL

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 1 \text{ ppm}}{10 \text{ ppm}} = 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

Memipet 10 mL larutan 10 ppm menggunakan pipet volume ukuran 10 mL ke labu ukur 100 mL, lalu menambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan

4. Prosedur Kerja

a. Uji Determinasi Ubi Ungu dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung.

Proses ini bertujuan untuk memastikan bahwa bahan yang digunakan benar adalah ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*).

b. Maserasi Ubi Ungu (Octavianti,2025)

- 1) Ubi ungu sebanyak 500gr dibersihkan di air mengalir agar menghilangkan tanah dan kotoran. Ubi ungu dipotong tipis $\pm 1\text{cm}$
- 2) Ubi ungu dikeringkan dengan sinar matahari langsung selama 3 hari dengan suhu $\pm 37^\circ\text{C}$
- 3) Ubi ungu kering kemudian dihancurkan menjadi serbuk menggunakan blender kering.
- 4) Serbuk ubi ungu direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 1L pada suhu kamar selama 3x24 jam (maserasi).
- 5) Rendaman ubi ungu disaring dan pelarut dapat diuapkan dengan teknik evaporasi vakum untuk mendapatkan filtrat pekat.

c. Proses Pemekatan Filtrat Dengan Evaporasi Vakum

Dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung. Filtrat cair hasil maserasi kemudian diproses dengan evaporasi vakum, untuk memekatkan ekstrak sambil menjaga kestabilan antosianin dan menghilangkan pelarut etanol secara optimal sehingga menghasilkan filtrat pekat.

d. Uji Reaksi Warna Filtrat Ubi Ungu Pelarut Etanol 96% Pada Formalin

- 1) Menyiapkan filtrat ubi ungu yang telah diperoleh dengan etanol 96%.
- 2) Meneteskan filtrat pada formalin dengan masing masing konsentrasi 1000 ppm; 100 ppm; 10 ppm; 1 ppm;
- 3) Mengamati perubahan warna yang terjadi pada filtrat setelah kontak dengan formalin

4) Interpretasi Hasil

Jika sampel mengandung formalin, ekstrak ubi ungu akan mengalami perubahan warna dari merah gelap menjadi merah pekat. Hal ini disebabkan oleh sifat antosianin yang berubah warna pada lingkungan asam kuat, seperti yang ditimbulkan oleh formalin (Setyawan & Hanizar, 2021)

e. Pembuatan *Paperkit* (Made et al., 2021)

Paper kit test dibuat dengan memotong kertas Whattman No.41 menjadi berukuran 1x3,5 cm. Kertas tersebut direndam pada filtrat ubi ungu selama 40 menit dan dikeringkan dengan oven pengering bersuhu 50°C selama 30 menit. Kertas Whattman tersebut selanjutnya ditempelkan pada kertas mika yang berfungsi sebagai area pegangan.

f. Uji Reaksi Warna *Paper Kit Testi* Filtrat Ubi Ungu Pelarut Etanol 96% Pada Formalin

Sebanyak 2 ml formalin dengan konsentrasi masing masing 1000 ppm; 100 ppm; 10 ppm; 1 ppm dimasukkan ke tabung reaksi. Pada tabung reaksi tersebut, dimasukkan paper kit test filtrat ubi ungu sampai mengenai area deteksi paper kit test dan diamati selama 10 menit dan mencatat waktu pengamatan. Kandungan formalin ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah kecoklatan (Fitriani et al., 2022)

g. Uji Validitas *PaperKit Test*

a) Uji Presisi (Repeatability) *Paper Kit*

Uji Repeatability adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek (Riyanto, 2020).

Tujuannya adalah memastikan bahwa alat tersebut memberikan hasil yang stabil dan dapat diandalkan tanpa variasi signifikan antar pengujian berulang (Zuri Rismiati, 2024).

1) Preparasi Sampel

Menyiapkan sampel formalin dan 7 strip *testkit*.

2) Aplikasi *Paperkit*

Mencelupkan berulang pada konsentrasi larutan formalin yang sama (10 ppm)

3) Pengamatan

Mengamati perubahan warna pada *paper kit* setelah jangka waktu 10 menit. Membandingkan perubahan warna.

4) Interpretasi Hasil

Jika sampai 7x pengulangan *PaperKit* tidak berubah ke warna lain selain merah kecoklatan maka uji ini dapat dikatakan presisi (Riyanto, 2020).

b) Uji Limit Batas Deteksi (Sensitivitas) *Paperkit* (Ummah, 2019)

1) Preparasi Larutan Formalin Standar

Membuat larutan standar formalin dengan konsentrasi dari tertinggi - rendah yaitu 100 ppm; 10 ppm; 1 ppm; 0,1 ppm; 0,01 ppm dengan 3x pengulangan (Ummah, 2019).

2) Aplikasi *Paperkit*

Mencelupkan atau mengaplikasikan *paper kit* pada larutan standar formalin dengan konsentrasi yaitu 100 ppm; 10 ppm; 1 ppm; 0,1 ppm; 0,01 ppm dengan 3x pengulangan selama 10 menit.

3) Pengamatan

Mengamati perubahan warna yang terjadi pada paper kit setelah 10 menit. Membandingkan intensitas warna yang dihasilkan.

4) Interpretasi Hasil

Paperkit dapat mendeteksi pada konsentrasi formalin terkecil yang memberi perubahan warna menjadi merah kecoklatan (Fitriani et al., 2022)

c) Uji Specificity (Selektivitas) *Paperkit*

Secara visual, uji selektivitas menunjukkan perubahan warna dari ungu menjadi biru cerah ketika ekstrak berinteraksi dengan formalin (Ummah, 2019).

1) Persiapan Sampel

Menyiapkan sampel yang mengandung formalin dengan masing-masing konsentrasi 100 ppm; 10 ppm; 1 ppm; 0,1 ppm serta sampel kontrol yang tidak mengandung formalin yaitu aquades dengan 3x pengulangan.

2) Pengamatan Perubahan Warna

Mengamati perubahan warna yang terjadi pada paperkit atau larutan pereaksi. Warna khas hanya muncul pada sampel formalin dibandingkan dengan aquades yang menjadi indikator selektivitas.

3) Interpretasi Hasil

Paperkit yang selektif akan menunjukkan perubahan warna hanya pada sampel yang mengandung formalin dan tidak menunjukkan perubahan warna pada sampel selain formalin.

h. Pembacaan panjang gelombang maksimum pereaksi ubi ungu untuk deteksi formalin

a. Persiapan Sampel

1. Menyiapkan filtrat ubi ungu yang sudah dimaserasi dengan pelarut Etanol 96% dan formalin dengan konsentrasi 10 ppm.
2. Menyalakan spektrofotometer UV-Vis dan membiarkan alat stabil selama 30-60 menit agar sumber cahaya dan elektroniknya siap

digunakan.

3. Membersihkan kuvet dan memastikan tidak ada kontaminasi pada permukaan alat pengukur (Prihhapso et al., 2020)

b. Pengukuran (λ maksimum)

Melakukan pengukuran spektro UV-Vis dengan rentang (400-800nm) dari ekstrak yang dicampur dengan formalin dengan cara memipet 1 mL ekstrak ubi ungu dan menambahkan 10 mL larutan formalin dengan konsentrasi 10ppm kedalam labu ukur 50 mL (Zuri Rismiarti, 2020). Pengukuran dilakukan sebanyak 3x pengulangan.

c. Interpretasi Hasil

Absorbansi yang tinggi menunjukkan serapan panjang gelombang maksimum untuk campuran filtrat ubi ungu dan formalin ada pada panjang gelombang dengan rentang (400-800nm).

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

- a) Editing yaitu mengkaji dan meneliti data yang telah diperoleh.
- b) Tabulating yaitu setelah data tersebut masuk kemudian dirangkap dan disusun dalam bentuk tabel agar dapat dibaca dengan mudah.
- c) Entry yaitu memasukkan data yang diperoleh dan dikelompokkan kedalam komputer untuk diolah lebih lanjut.

2. Analisa Data

Analisa data yang dilakukan adalah Analisa kualitatif melalui observasi perubahan warna pada *PaperKit* dan menggambarkan hasil uji dengan uji statistik deskriptif.

G. Ethical Clearence (Persetujuan Etik)

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