

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium, desain penelitian yang digunakan adalah *true experimental design*. Eksperimen laboratorium menurut Roger (2006) adalah jenis eksperimen yang dilakukan didalam ruangan, peserta eksperimen dikumpulkan atau ditempatkan dalam suatu ruangan dan diberikan perlakuan (treatment). Metode eksperimen memperbolehkan replikasi dari hasil penelitian sebelumnya (Roger, Dominick: 2006, hlm. 232). Menurut Sugiyono (2012:107) dikatakan *true experimental* (eksperimen yang sebenarnya/betul-betul) karena dalam desain ini peneliti dapat mengontrol semua variabel luar yang mempengaruhi jalannya eksperimen. Dengan demikian validitas internal (kualitas pelaksanaan rancangan penelitian) dapat menjadi tinggi

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2021. Penelitian dilakukan di Laboratorium Akademi Farmasi Jember yang berlokasi di Jl. Pangandaran No.42, Plinggan, Antirogo, Kec. Sumbersari, Kabupaten Jember.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, pipet ukur, bola hisap, labu ukur, batang pengaduk, spatula, plat tetes, *mini box* hitam, kamera Hp, computer atau laptop dengan aplikasi Image J, beaker glass, tissue, aquadest.

3.3.2 Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam praktikum ini adalah susu sapi, larutan povidone iodine, tepung terigu, tepung kanji, laktosa.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas adalah variabel yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat. Variabel terikat adalah faktor yang diobservasi atau yang

diukur untuk mengetahui adanya pengaruh variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu kandungan pati dan untuk variabel terikat yaitu nilai RGB.

3.5 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
Nilai RGB	Nilai intensitas masing-masing warna merah, hijau, dan biru yang dicampurkan. Warna ini dituliskan dalam bentuk <i>triplet</i> RGB (r, g, b), setiap bagiannya dapat bervariasi dari nol sampai nilai maksimum yang ditetapkan.	pencitraan digital yang dilanjutkan dengan mengkonversi nilai intensitas warna menjadi absorbansi sehingga didapat kadar pati	Nilai mean dari masing-masing intensitas warna	Rasio
Kandungan pati	Jumlah kandungan pati total yang terdapat dalam susu sapi dalam satuan (ppm)	uji dengan metode kolorimetri secara pencitraan digital imageJ	Kandungan pati dinyatakan dalam bentuk ppm	Rasio

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Pembuatan larutan induk tepung terigu 10.000 ppm

Ditimbang tepung terigu sebanyak 1000 mg dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml. Ditandabatkan dengan larutan susu sapi dan dikocok hingga homogen.

3.6.2 Pembuatan larutan baku tepung terigu 1000 ppm

Dipipet larutan induk tepung terigu 10.000 ppm sebanyak 5 ml ke dalam labu ukur 50 ml, kemudian tambahkan larutan susu sapi hingga tepat tanda batas dan dihomogenkan.

1.6.3 Optimasi Jumlah Tetesan

Optimasi jumlah tetesan larutan povidone iodine dilakukan untuk membandingkan perubahan warna yang terjadi agar tidak terlalu pekat ataupun tidak terlihat. Langkah yang dilakukan yaitu mengambil larutan susu 40 ppm tepung terigu sebanyak 2 ml ke dalam 2 tabung reaksi, setelah itu tabung pertama ditetesi dengan 1 tetes indikator dan tabung kedua ditetesi dengan 2 tetes larutan indikator. Kemudian masing masing larutan dipindahkan ke dalam plat tetes lalu difoto. Kemudian dihitung nilai Δ mean RGB dengan program imageJ.

1.6.4 Waktu Respon

Waktu respon tetesan larutan povidone iodine dilakukan untuk mengukur waktu mulai larutan povidone iodine ditetaskan ke dalam sampel hingga terjadi perubahan warna secara sempurna dan konstan. Langkah yang dilakukan yaitu mengambil larutan susu 40 ppm tepung terigu sebanyak 2 ml ke dalam tabung reaksi, setelah itu ditetaskan 2 tetes larutan indikator ke dalam tabung reaksi lalu dipindahkan ke dalam plat tetes. Kemudian dihitung nilai Δ mean RGB tiap menit sampai menit ke-5. Untuk meningkatkan ketelitian waktu diukur menggunakan *stopwatch*. Waktu respon ditentukan dari waktu yang menghasilkan nilai Δ mean RGB yang stabil.

3.6.5 Linieritas

Penentuan linieritas dilakukan dengan cara memipet dipindahkan ke dalam plat tetes memipet sebanyak 2 ml larutan susu sapi yang mengandung 10 ppm,

20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm dan 80 ppm larutan tepung terigu kedalam masing masing tabung reaksi. Kemudian diteteskan 2 tetes larutan indikator kedalam masing masing tabung reaksi lalu dipindahkan kedalam plat tetes. Selanjutnya diamati perubahan warna yang terjadi. Kemudian dihitung nilai Δ mean RGB dengan program imageJ. Data yang diperoleh pada pengujian linieritas selanjutnya dianalisis menggunakan program *microsoft excel* (Indrayanto et al., 2003) sehingga diperoleh kurva linieritas antara konsentrasi dengan Δ mean RGB. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan hubungan linieritas adalah koefisien korelasi (r) dan nilai V_{x0} . Hubungan linier akan ideal bila harga r mendekati +1 atau -1 (Harmita, 2004) dan nilai $V_{x0} < 5\%$ (Ermer dan Miller, 2005).

Konsentrasi larutan yang diambil (ppm)	Jumlah larutan yang diambil (ml)	Volume labu ukur	Konsentrasi larutan (ppm)
100	5	50	10
100	10	50	20
100	15	50	30
100	20	50	40
100	25	50	50
100	30	50	60
100	35	50	70
100	40	50	80

Table 3. 1Pembuatan larutan kerja Linieritas LOD dan LOQ

3.6.6 Batas Kuantitasi dan Batas Deteksi

Penentuan batas deteksi dan batas kuantitas dilakukan dengan membuat sejumlah larutan susu sapi dengan penambahan tepung terigu dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm dan 80 ppm. Kemudian diteteskan larutan povidone iodine beberapa konsentrasi

tersebut dan dihitung nilai Δ mean RGB dengan program imageJ. Data yang diperoleh pada pengujian linieritas kemudian dianalisis menggunakan program *microsoft excel*. Sehingga diperoleh kurva linieritas konsentrasi berbanding dengan nilai Δ mean RGB. Dari hasil analisis data akan diperoleh nilai X_p . X_p ini menunjukkan nilai batas deteksi yang dihitung dari persamaan regresi (Wulandari et al, 2012). Sedangkan batas kuantitasi dapat dihitung dengan persamaan di bawah ini :

$$LOQ = 10 \times LOD$$

3.6.7 Selektivitas

Penentuan selektivitas yaitu dengan membandingkan hasil analisis larutan susu sapi yang mengandung komponen pengganggu dengan hasil pengukuran larutan susu sapi tanpa penambahan komponen pengganggu. Komponen pengganggu pada penentuan selektivitas adalah tepung kanji dan laktosa. Awalnya diambil 2 ml larutan susu sapi dengan konsentrasi 40 ppm tepung terigu kedalam 3 tabung reaksi kemudian ditambahkan larutan susu dengan komponen pengganggu konsentrasi 40 ppm dengan perbandingan 1:1 lalu ditetesi larutan povidone iodine pada masing masing tabung reaksi dan diukur Δ mean RGBnya. Setelah didapatkan Δ mean RGB, dihitung nilai % interferensinya.

3.6.8 Presisi

Penentuan presisi dapat ditentukan dengan menghitung standar deviasi relatif (RSD) dari 3 kali pengukuran dimana pada setiap pengukuran digunakan tetesan larutan povidone iodine pada larutan susu yang berbeda. Penentuan presisi dilakukan dengan mengambil larutan susu sapi konsentrasi 40 ppm sebanyak 2 ml lalu ditetesi dengan 2 tetes larutan povidone iodine. Setelah itu data diukur menggunakan program imageJ, sehingga akan didapat nilai Δ mean RGB. Kriteria penerimaan presisi untuk konsentrasi yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2.2.

3.6.9 Akurasi

Penentuan akurasi dilakukan dengan penambahan standar adisi yaitu dengan menghitung % recovery dari tiap pengulangan pengukuran terhadap larutan standar dengan konsentrasi 20ppm, 40ppm dan 60ppm. Awalnya diambil 2 ml larutan susu sapi dengan konsentrasi 20, 40, 60 ppm tepung terigu masing masing kedalam 3 tabung reaksi. Kemudian ditambahkan larutan povidone iodine sebanyak 2 tetes kedalam larutan tersebut dan hitung nilai Δ mean RGB nya. Kemudian nilai Δ mean RGB hasil pengukuran dimasukkan ke dalam persamaan regresi sehingga diperoleh konsentrasi pati dalam sampel. Dari konsentrasi pati yang diperoleh akan dapat ditentukan massa pati yang terdapat dalam sampel. Masa pati hasil pengukuran tersebut dibandingkan dengan massa pati secara teoritis, sehingga dapat ditentukan harga % recovery menggunakan persamaan 3.2 di bawah ini :

$$\% Recovery = \frac{\text{Konsentrasi analit yang didapat}}{\text{Konsentrasi Teoritis}} \times 100\%$$

Kriteria penerimaan % recovery untuk konsentrasi yang berbeda dapat dilihat pada tabel 2.3.