

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Penelitian ini menggunakan populasi yaitu semua tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) yang ada di Desa Ohoibadar, Kec. Hoat Sorbay, Kab. Maluku Tenggara, Provinsi Maluku.

2. Sampel

Penelitian ini menggunakan menggunakan sampel yaitu umbi Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) didapat di Desa Ohoibadar, Kec. Hoat Sorbay, Kab. Maluku Tenggara, Provinsi Maluku di bulan November.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah kadar sianida yang terkandung dalam sampel umbi singkong dari bahan segar dan tepung.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang sudah diidentifikasi selanjutnya dapat diklasifikasi menjadi 3 variabel berdasarkan hubungan sebab-akibat, yaitu variabel bebas, variabel terikat, dan variabel terkontrol.

Variabel Bebas yaitu variabel yang direncanakan akan diteliti pengaruhnya variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemilihan sampel segar dan tepung.

Variabel Terkontrol yaitu variabel tergantung sehingga perlu dinetralkan atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Dalam penelitian ini adalah peneliti, kondisi, waktu pengolahan dan peralatan di laboratorium.

Variabel Terikat yaitu titik persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Pada penelitian ini adalah sianida yang terkandung dalam sampel segar dan tepung.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, sampel singkong dan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi segar dan tepung.

Kedua, kadar sianida adalah kadar yang teridentifikasi dalam sampel singkong.

Ketiga, identifikasi sianida secara kauntitatif menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu neraca analitik, pipet volum, pipet ukur, labu ukur 100 mL, labu ukur 10 mL, mortar, pH meter, spektrofotometer UV-Vis, peralatan gelas, Loyang dan kain mori.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian umbi Singkong (*Manihot esculanta* Cranz.), KCN p.a, ninhidrin p.a, Na₂CO₃ p.a, NaOH p.a, asam tartrat dan aquades.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Umbi Singkong

Tahap awal penelitian ini untuk menentukan kebenaran sampel umbi singkong yang dibuktikan dengan uji determinasi di kampus Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Preparasi Sampel

2.1 Umbi Singkong

Umbi singkong 1 kg dikupas kemudian dipotong tipis-tipis, didapat umbi singkong yang memiliki ukuran lebih kecil. Singkong ditimbang 1 kg dihaluskan dan diambil airnya.

2.2 Tepung Singkong

Proses pembuatan tepung singkong yang dilakukan masyarakat setempat dengan cara umbi singkong dikupas kemudian direndam di air selama 30 menit dan 1 jam dengan 3x pencucian kemudian singkong diparut. Hasil parutan Singkong dimasukkan ke dalam kain mori dan diikat, kemudian ditumpuk dengan alat berat seperti kayu atau batu agar mempercepat proses keluarnya air \pm 12 jam. Kain mori dibuka kemudian ambil padatan tepung dan diayak agar mendapat ukuran tepung yang lebih kecil. Sebagian tepung Singkong yang sudah diayak akan disangrai lagi untuk diolah menjadi enbal (olahan siap saji) kemudian diuji kandungan sianida.

3. Organoleptis

Organoleptis dengan pengujian rasa, bau, tekstur dan warna pada umbi Singkong mentah, tepung Singkong dengan perlakuan perendama Singkong 30 menit dan 1 jam dan olahan Singkong yang siap dimakan.

4. Uji Kualitatif

Sampel umbi Singkong parut sebanyak 50 g masukkan ke dalam erlenmeyer kemudian tambahkan 50 ml aquades dan 10 ml larutan asam tartrat ($C_4H_6O_6$) 5%. Siapkan kertas saring ukuran $\pm 1 \times 7$ cm celupkan ke dalam larutan asam pikrat jenuh, kemudian dikeringkan di udara. Setelah kertas kering, dibasahi lagi dengan larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) 8% dan digantung pada leher erlenmeyer dalam keadaan tertutup rapat agar kertas saring tidak kontak dengan cairan dalam erlenmeyer. Larutan dipanaskan di atas *hot plate* dengan $70^\circ C$ selama 15 menit. Amati perubahan yang terjadi pada kertas pikrat. Apabila warna kuning dari kertas pikrat berubah menjadi warna merah positif mengandung sianida (Wulandari dan Zulfadli, 2017).

5. Pembuatan Larutan Standar

5.1 Pembuatan Larutan Induk Sianida (CN^-) 2500 ppm ppm 250 ml

Untuk mendapatkan larutan CN^- 2500,6 ppm ppm, dilarutkan 0,625 gram kristal KCN (BM = 65) dalam aquades sampai volume 250 ml, melalui pengenceran dibuat larutan sianida (CN^-) 1,2508 ppm kemudian diencerkan lagi menjadi 1,00064 ppm, 1,12572 ppm, 1,2508 ppm, 1,37588 ppm, 1,50096 ppm.

5.2 Pembuatan Larutan Ninhydrin 1 %

Sebanyak 1 gram kristal ninhydrin dilarutkan dalam aquades sampai batas menggunakan labu ukur 100 ml.

5.3 Pembuatan Larutan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 5 %

Sebanyak 5 gram kristal natrium karbonat (Na_2CO_3) dilarutkan dalam aquades sampai batas menggunakan labu ukur 100 ml.

5.4 Pembuatan Larutan Natrium Hidroksida ($NaOH$) 2,5 M

Sebanyak 100 gram kristal natrium hidroksida ($NaOH$) (BM = 40) dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 1 liter dan diencerkan sampai batas.

5.5 Pembuatan Asam Tartrat ($C_4H_6O_6$) 5 %

Sebanyak 5 gram kristal asam tartrat dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 100 ml dan diencerkan sampai tanda batas.

5.6 Pembuatan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 8 %

Sebanyak 8 gram kristal natrium karbonat dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 100 ml dan diencerkan sampai tanda batas.

6. Penentuan Optimasi Sianida (CN^-)

6.1 Penentuan Panjang Gelombang Optimum

Panjang gelombang optimum ditentukan dengan mengukur absorbansi sianida (CN^-) yang direaksikan dengan ninhydrin. Dalam menentukan panjang gelombang maksimum digunakan larutan CN^- 1,2508 ppm pada pH 12 yang direaksikan dengan 1,6 ml Na_2CO_3 5%, dikomplekskan dengan 1 ml ninhydrin 1% larutan digojog kemudian ditambahkan NaOH 2,5 M ad 10 ml larutan digojog agar homogen kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang antara 400 - 700 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Rahayu, 2003).

6.2 Penentuan Waktu Kestabilan Sianida (CN^-) Dengan Ninhydrin

Waktu kestabilan reaksi sianida dan ninhydrin ditentukan dengan menggunakan larutan CN^- 1,2508 ppm pada pH 12 yang direaksikan dengan 1 ml ninhydrin 1% dan 1,6 ml Na_2CO_3 5% larutan digojog kemudian ditambahkan NaOH 2,5 M ad 10 ml digojog homogen. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum selang waktu 0-3600 detik (Rahayu, 2003).

6.3 Penentuan Optimasi Volume Ninhydrin 1%

Optimasi penggunaan volume ninhydrin 1% dilakukan dengan menggunakan larutan CN^- 1,2508 ppm yang sudah diatur pada pH 12 sebanyak 5 larutan yang masing-masing ditambahkan ninhydrin 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml dan 5 ml. Tambahkan 1,6 ml Na_2CO_3 5% dan larutan NaOH 2,5 M sampai tanda batas. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (Rahayu, 2003).

6.4 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Untuk membuat kurva kalibrasi, dibuat larutan standar CN^- dengan konsentrasi 1,00064 ppm, 1,12572 ppm, 1,2508 ppm, 1,37588 ppm, dan 1,50096 ppm. Larutan ini dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang pH-nya telah diatur dengan NaOH 2,5 M. Pertama, ambil larutan CN^- masing-masing konsentrasi, kemudian tambahkan 1 ml ninhidrin 1% dan 1,6 ml Na_2CO_3 5%, kemudian tambahkan NaOH 2,5 M hingga labu ukur mencapai 10 ml. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum setelah senyawa yang terbentuk stabil. Data serapan yang diperoleh digunakan untuk membuat grafik serapan versus konsentrasi (Rahayu, 2003).

7. Penentuan Kandungan Sianida (CN⁻) Pada Singkong

7.1 Penentuan Kandungan Sianida Pada Umbi Singkong

Dari hasil persiapan sampel, diambil sebanyak 1 ml dan diencerkan sebanyak 1000 kali kemudian ambil 1 ml masukkan ke dalam labu ukur berukuran 10 mL. Tambahkan 1 ml ninhydrin 1% dan 1,6 ml Na₂CO₃ 5% hingga terbentuk warna merah dilanjutkan dengan penambahan NaOH 2,5 M hingga menciptakan warna biru sebanyak 10 ml. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum dan waktu optimal. Hasil absorbansi kemudian dibandingkan dengan kurva kalibrasi (Rahayu, 2003).

7.2 Penentuan Kandungan Sianida Pada Tepung Singkong

Sebanyak 25 gram tepung singkong dari hasil perendaman 30 menit dan 1 jam ditambahkan aquades 25 ml kemudian disaring (Pramitha dan Wulan, 2017). Sampel sebanyak 1 ml diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan 1 ml ninhidrin 1% dan 1,6 ml Na₂CO₃ 5% muncul warna merah. Selanjutnya ditambahkan 2,5 M NaOH muncul warna biru. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum dan waktu optimal. Hasil absorbansi dibandingkan dengan kurva kalibrasi absorbansi (Pramitha dan Wulan, 2017).

7.3 Penentuan kandungan Sianida Pada Enbal (Olahan Siap Saji)

Fkfk Sebanyak 25 gram enbal dari masing - masing perendaman dihaluskan pad mortir untuk mendapatkan ukuran partikel yang lebih kecil dan tambahkan aquades 25 ml kemudian disaring (Pramitha dan Wulan, 2017). Sampel sebanyak 1 ml diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan 1 ml ninhidrin 1% dan 1,6 ml Na₂CO₃ 5% muncul warna merah. Selanjutnya ditambahkan 2,5 M NaOH muncul warna biru. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum dan waktu optimal. Hasil absorbansi dibandingkan dengan kurva kalibrasi absorbansi (Pramitha dan Wulan, 2017).

8. Validasi Metode

8.1 Linearitas

Sediaan seri kalibrasi dibuat dengan menggunakan matriks blanko yang kemudian diperkaya dengan penambahan sejumlah analit standar yang telah diketahui. Konsentrasi sediaan yang dihasilkan meliputi lima tingkat, yang melibatkan konsentrasi uji 1,00064 ppm,

1,12572 ppm, 1,2508 ppm, 1,37588 ppm, dan 1,50096 ppm. Analisis kemudian dilakukan pada setiap sediaan dengan menggunakan metode yang akan divalidasi.

8.2 Ketelitian

Pengujian keterulangan dilakukan pada konsentrasi uji 1,2508 ppm menggunakan metode yang akan divalidasi. Tiga pengukuran diulang dengan alat analisis yang sama pada waktu yang hampir bersamaan, dengan menggunakan peralatan dan reagen yang identik. Berdasarkan hasil pengukuran berulang tersebut dihitung %RSD (% Standar Deviasi Relatif).

8.3 Ketepatan

Matriks sampel contoh disiapkan berdasarkan data pemulihan. Tiga konsentrasi yang berbeda (1,00064 ppm, 1,2508 ppm, dan 1,50096 ppm) dianalisis dengan menambahkan analit ke dalamnya. Hasil pengukuran kemudian dibandingkan dengan konsentrasi analit yang seharusnya. Keakuratan metode dianggap memadai jika persentase perolehan kembali sesuai dengan kriteria penerimaan yang ditetapkan.

8.4 Limit Deteksi dan Limit Kuantitasi

Analisis dilakukan dengan menggunakan tiga kali pengukuran pada blanko matriks. Untuk menentukan Limit Deteksi (LD) dan Limit Kuantifikasi (LK), konsentrasi yang diperoleh dari respons blanko matriks dihitung dengan menggunakan deret standar.

9. Analisis Hasil

Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik untuk mengetahui normalitas, homogenitas dan signifikansi perbedaan kadar sianida pada sampel umbi singkong terhadap variasi perendaman.