

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yaitu eksperimen. Uji analisis kadar senyawa akrilamida pada singkong goreng yang diberi perlakuan blansir dan tanpa perlakuan. Penetapan kadar senyawa akrilamida dalam singkong goreng setelah diberi perlakuan blansir secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

1. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah singkong mentah yang dijual bebas di Kota Surakarta.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah singkong mentah yang digoreng dengan perbedaan metode yaitu singkong goreng yang diberi perlakuan blansir dan tanpa perlakuan.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Februari – Juni 2023 dan dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta

C. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah kadar akrilamida yang terkandung dalam sampel singkong goreng.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel bebas, variabel terikat, dan variabel terkontrol merupakan tiga jenis variabel utama yang sebelumnya telah diidentifikasi berdasarkan hubungan sebab-akibat.

3. Variabel Terkendali dalam penelitian ini adalah peneliti, kondisi dan peralatan di laboratorium

4. Variabel Terikat pada penelitian ini adalah akrilamida yang terbentuk dalam perbedaan perlakuan pada saat pengolahan singkong goreng.

D. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), neraca analitik, pengaduk ultrasonik, shaker, centrifuge, penangas air (heater), labu takar, erlenmeyer, pipet volume, pipet tetes, batang pengaduk, beaker glass, tabung reaksi, kertas saring whatman, corong kaca, dan penggorengan.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah singkong segar, minyak goreng, standar baku akrilamida pro analisis, aquadest pro analisis, asetonitril pro analisis, diklorometan pro analisis, etanol pro analisis, asam fosfat pro analisis dan kertas saring.

E. Jalannya Penelitian

1. Preparasi Sampel

Pembuatan singkong goreng dilakukan dengan dua perlakuan yaitu pengolahan dengan blansir sebelum penggorengan dan langsung dilakukan penggorengan. Pembuatan singkong goreng diawali dengan penimbangan bahan yang akan digunakan, timbang singkong masing-masing sebesar 150 gr, kemudian siapkan air panas. Singkong A diberi perlakuan blansir dengan cara merendam singkong dengan air panas selama 10 menit. Masukkan minyak kedalam wajan penggorengan, lalu masukkan kedua sampel singkong secara bersamaan, kemudian angkat dan tiriskan singkong yang sudah matang.

2. Pembuatan Fase gerak

Siapkan 50 mL asetonitril dan 950 mL aquabidest diukur menggunakan pipet dan ditransfer ke dalam labu ukur berkapasitas 1000 ml. Kemudian, ditambahkan 0,2 mL asam fosfat 85% ke dalam campuran tersebut, diaduk hingga homogen, dan disaring. Proses selanjutnya melibatkan penghilangan gas menggunakan ultrasonik.

3. Kondisi Optimum Analisa

Kondisi optimal untuk analisis ditentukan berdasarkan hasil uji kesesuaian sistem, dengan parameter yang mengacu pada metode OSW EPA (Environmental Protection Agency 316).

Tabel 6. Kondisi Optimum Analisa

Spesifikasi kolom	Supercolsil C18
Detektor	UV
Panjang gelombang	210nm
Fase gerak	Asetonitril : air (5:95)
Laju alir	0,5 mL/menit
Volume injeksi	20 µL
Mode elusi	Isokratik

(OSW EPA Method, 316)

4. Pembuatan Larutan Standar Baku Akrilamida 100 ppm.

5,0 mg akrilamida standar ditambahkan ke dalam labu ukur berkapasitas 50,0 mL dan dilarutkan menggunakan fase gerak (campuran asetonitril dan aquabides) hingga mencapai tanda batas. Setelah itu, campuran dikocok hingga merata. Selanjutnya, dilakukan pembuatan larutan seri akrilamida dengan konsentrasi berturut-turut 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8ppm, dan 10 ppm.

5. Pembuatan Larutan Akrilamida Seri Konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.

Menggunakan pipet dengan volume masing-masing 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1 mL, larutan induk Akrilamida 100 ppm ditransfer ke dalam labu ukur berkapasitas 10 mL yang berbeda. Setiap labu ukur kemudian diisi dengan fase gerak hingga mencapai tanda batas. Larutan seri pengenceran yang dihasilkan memiliki konsentrasi berturut-turut 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Selanjutnya, larutan seri konsentrasi ini dimasukkan ke dalam kolom yang telah dipilih dan digunakan untuk mengevaluasi nilai linieritas, sebagaimana dijelaskan oleh Butue et al. pada tahun 2019.

6. Validasi Metode

6.1. Linieritas Membuat sebuah kurva standar yang menggambarkan keterkaitan antara konsentrasi dan luas area. Konsentrasi larutan standar diwakili pada sumbu x, sementara luas area diwakili pada sumbu y. Persamaan regresi ditemukan dari kurva tersebut, menghasilkan persamaan berikut:

$$y = a + bx$$

Keterangan =

b = Slope

a = Intercept

y = Nilai luas area pada sumbu y

x = Kadar larutan standar pada sumbu x

Berdasarkan kurva tersebut didapatkan nilai koefisien korelasi (r).

6.2. LOD dan LOQ. Batas deteksi dan batas kuantitasi dihitung melalui persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi yang dihasilkan.

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \times \text{Sy}/x}{b}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{Sy}/x}{b}$$

Keterangan:

LOD = Batas Deteksi

LOQ = Batas Kuantitas

B = nilai slope (b) pada persamaan regresi linear = a + bx

6.3. Presisi. Uji keterulangan (presisi) dilakukan dengan menyuntikkan larutan seri konsentrasi 4 ppm sebanyak 20 μL ke dalam kolom yang telah dipilih. Prosedur ini diulang sebanyak enam kali. Setelah setiap suntikan, luas area direkam dan simpangan baku relatifnya dihitung sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh Iswandi dkk pada tahun 2018. Berdasarkan data diatas dapat dicari nilai standar deviasi (SD) dengan cara

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{N-1}}$$

Keterangan =

SD = Standar Devisiasi

N = Jumlah Replikasi

x = Kadar

\bar{x} = Nilai rata – rata kadar

Selanjutnya presisi dihitung sebagai simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV), ditentukan dengan cara :

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

Keterangan

SD = Standar devisiasi

\bar{x} = Nilai rata – rata kadar

6.4. Akurasi. Akurasi menggambarkan seberapa dekat nilai estimasi dengan nilai sebenarnya. Untuk menguji akurasi, larutan akrilamida yang memiliki konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, dan 6 ppm disuntikkan ke dalam kolom yang telah dipilih sebanyak 20 μL . Pengulangan eksperimen dilakukan sebanyak tiga kali, sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh Iswandi. I. pada tahun 2018.

7. Penentuan Kadar Sampel

Singkong yang telah digoreng dengan diblansir dan tanpa dihaluskan dengan menggunakan blender. Selanjutnya, sebanyak 5 gram singkong ditimbang dan dilarutkan dalam 20 mL diklormetan, kemudian ditambahkan 3 mL etanol. Larutan sampel dicuci dua kali dengan 3 mL diklormetan dan disaring. Pengocokan dilakukan menggunakan shaker pada kecepatan 250 rpm selama 60 menit untuk homogenisasi sampel yang telah disaring. Filtrat yang telah disaring kemudian diencerkan dengan penambahan fase gerak hingga mencapai volume 50 mL. Diklormetan dan etanol diuapkan menggunakan penangas air pada suhu 70 derajat Celsius. Selanjutnya, sampel mengalami proses sentrifugasi selama tiga puluh menit dengan kecepatan 8.000 rpm, dan kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman. Filtrat sampel kemudian disuntikkan ke dalam kolom Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) sebanyak 20 μ L, dan luas area dicatat dalam tiga pengulangan. Kadar akrilamida dihitung dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi.

$$\text{Kadar Akrilamida} = \frac{C \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) \times Fb \text{ (ml)}}{Bs \text{ (mg)}} \times 100\%$$

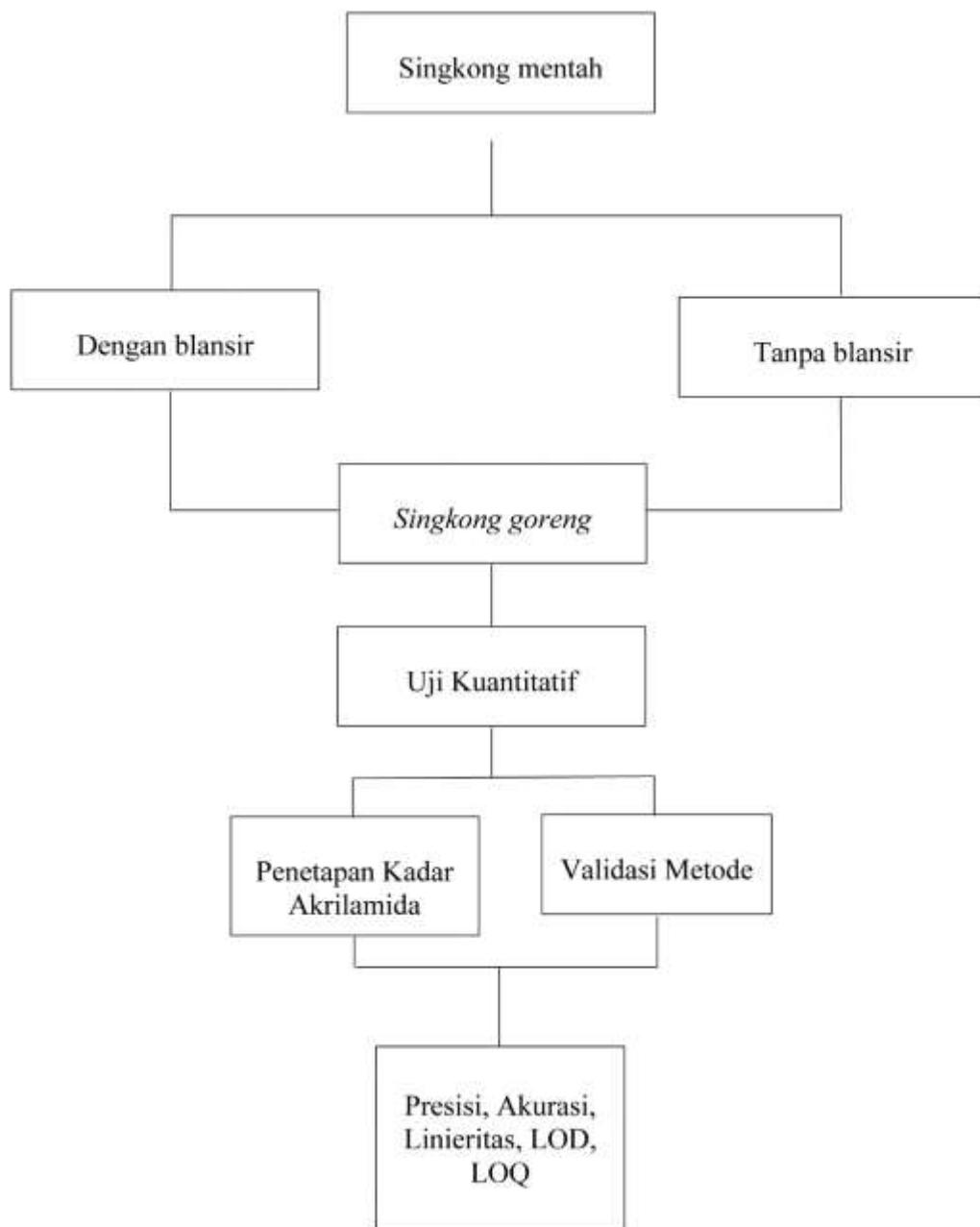
Keterangan =

- C = Kadar akrilamida dalam sampel yang dihitung dari kurva baku $\left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right)$
 Fb = Faktor pembuatan larutan sampel (mL)
 Bs = Berat sampel (mg)

8. Analisis Statistik

Setelah memperoleh data, analisis dilakukan dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk untuk mengevaluasi distribusi normal dan homogenitas. Selanjutnya, dilakukan uji *Mann-Whitney Test* untuk menentukan apakah terdapat perbedaan signifikan dalam kadar akrilamida antara berbagai jenis variasi metode pengolahan, yakni menggunakan blansir dan tanpa, pada sampel singkong.

F. Skema Penelitian



Gambar 7. Skema Penelitian