

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental di laboratorium dengan analisa kualitatif dan kuantitatif. Penelitian ini dilakukan dengan memberikan gambaran atau deskripsi dimana tidak adanya kontrol dan manipulasi variabel penelitian sedangkan data ataupun hasil diperoleh dengan melakukan eksperimen di laboratorium (Arikunto, 2005).

Analisa kualitatif dilakukan di laboratorium untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan formalin pada tahu kemudian diteruskan dengan analisa kuantitatif untuk mengetahui kadar formalin pada tahu yang beredar di Pasar Arjowinangun Kabupaten Pacitan. Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Fakultas Sains, Teknologi dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta pada bulan Maret sampai bulan April Tahun 2022.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1. Populasi

Populasi adalah semua obyek menjadi sasaran penelitian. Menurut Sugiyono (2014), populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas obyek, subyek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh tahu yang beredar di Pasar Arjowinangun Kabupaten Pacitan.

3.2.2. Sampel

Penelitian ini menggunakan teknik *non probability sampling* dengan jenis *total sampling* atau teknik sampel jenuh. Menurut Sugiyono (2014) mengatakan bahwa *total sampling* adalah teknik penentuan sampel bila semua anggota populasi digunakan sebagai sampel. Sampel ini digunakan jika jumlah populasi relatif kecil yaitu tidak lebih dari 30 sampel, total sampling disebut juga sensus, dimana semua anggota populasi dijadikan sebagai sampel.

Dari uraian di atas, maka sampel yang digunakan adalah semua anggota populasi tahu dan didapat 7 sampel tahu dari 5 pedagang tahu yang berbeda di Pasar Arjowinangun Kabupaten Pacitan.

3.3 Instrumen Penelitian

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah labu ukur (*Pyrex*), sendok tanduk, corong kaca (*Herma*), pipet volume (*Iwaki*), mikro pipet (*DLab*), penangas air (*Memmert*), alumunium foil, timbangan analitik (*AND GF - 300*), batang pengaduk (*Pyrex*), kertas saring, spektrofotometri *UV-Vis* (*Genesys*).

3.3.2 Bahan

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tahu yang beredar di Pasar Arjowinangun Kabupaten Pacitan, larutan formalin 37 % (*Merck*), H_3PO_4 10 %, ammonium asetat p.a (*Merck*), asam asetat glasial (*Merck*), asetil aseton p.a (*Merck*) dan aquadest.

3.4 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau menghasilkan akibat pada variabel lain, biasanya menurut urutan waktu kemunculannya pertama kali (Y. P. Susanti dkk., 2016). Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebasnya adalah tahu di Pasar Arjowinangun Kabupaten Pacitan.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang diakibatkan atau dipengaruhi oleh variabel bebas. (Susanti dkk., 2016). Dalam penelitian ini variabel terikatnya adalah kadar formalin dalam satuan ppm ($\mu\text{g/mL}$).

3.5 Definisi Operasional

- a. Tahu adalah produk makanan dengan bahan baku kedelai berbentuk padatan dan bertekstur lunak yang beredar di Pasar Arjowinangun dari berbagai pedagang dan memiliki perbedaan di setiap produknya.
- b. Formalin merupakan bahan beracun dan berbahaya bagi kesehatan manusia jika kandungannya dalam tubuh tinggi, dapat bereaksi secara kimia dengan hampir semua zat di dalam sel sehingga dapat mempengaruhi fungsi sel dan menyebabkan kematian sel serta menyebabkan keracunan pada tubuh. Kadar formalin dinyatakan dalam satuan ppm ($\mu\text{g/mL}$).
- c. Uji kualitatif adalah suatu uji untuk mengetahui adanya kandungan zat atau senyawa - senyawa tertentu yang terkandung dalam sampel uji berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Yulianti & Safira., 2020.
- d. Uji kuantitatif adalah suatu uji untuk menentukan besarnya kadar zat atau senyawa - senyawa tertentu yang terkandung dalam sampel uji

menggunakan metode spektrofotometri *UV-Vis* berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Yulianti & Safira., 2020.

3.6 Jalannya Penelitian

3.6.1 Pembuatan Larutan Pereaksi

a. Pembuatan Larutan Asam Fosfat 10%

Sebanyak 11,8 mL asam fosfat (85%) ditambahkan pada labu ukur 100 mL, kemudian dilarutkan dengan aquades sampai larut dan homogen. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai garis tanda (Umbingo dkk., 2015).

b. Pembuatan Reagen *Nash*

Sebanyak 150 gram ammonium asetat dilarutkan dalam 700 mL air kemudian ditambahkan 3 mL asam asetat glasial dan 2 mL asetil aseton. Selanjutnya ditepatkan volumenya hingga 1000 mL menggunakan aquades (Yulianti & Safira, 2020).

3.6.2 Uji Kualitatif

a. Preparasi Sampel untuk Analisa Formalin pada Sampel

Sampel tahu ditimbang masing – masing sebanyak ± 5 g, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 40 mL aquades dan 10 mL H_3PO_4 10%. Selanjutnya erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan dipanaskan selama ± 1 jam pada suhu $40 \pm 2^\circ C$ di atas penangas air sambil dikocok selama 1 menit tiap 5 menit. Selanjutnya sampel kemudian didinginkan dan disaring sehingga didapatkan filtrat dari sampel yang selanjutnya digunakan untuk analisa

kualitatif (Yulianti & Safira, 2020).

b. Analisis Secara Kualitatif dengan Reagen *Nash*

Sebanyak 5 mL filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL pereaksi *nash* lalu dipanaskan diatas penangas air pada suhu 40 ± 2 °C selama 30 menit kemudian didinginkan selama 30 menit, dan diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif mengandung formalin ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning (Yulianti & Safira, 2020).

3.6.3 Verifikasi Metode

a. Uji Akurasi

Larutan formalin dengan konsentrasi 1,5; 2,5; dan 3,5 ppm masing - masing sebanyak 5 mL ditambahkan pada 5 g bahan tahu yang tidak mengandung formalin, kemudian dihomogenkan. Campuran dipanaskan selama 1 jam di penangas air pada suhu 40 ± 2 °C kemudian didinginkan dan disaring ke dalam labu ukur 100 mL. Larutan dipipet sebanyak 5,0 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambah pereaksi *nash* hingga tanda batas. Campuran tersebut dikocok kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Akurasi dapat dihitung melalui % perolehan kembali (% *recovery*) dengan rumus:

$$\text{Nilai UPK} = \frac{\text{Konsentrasi yang diperoleh}}{\text{Konsentrasi yang sebenarnya}} \times 100 \%$$

(Aswad et al., 2011).

b. Uji Presisi

Formalin dengan konsentrasi 1,0 ppm diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan 6 kali replikasi. Presisi dihitung dengan cara sebagai berikut

1. Hasil analisa adalah $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$, maka simpangan baku adalah

$$SD = \sqrt{\frac{(x_2 - x_1)^2}{N - 1}}$$

2. Simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) adalah

$$\% SD = \frac{SD}{x} \times 100 \%$$

Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang (Aswad et al., 2011).

c. Uji Linieritas

Linearitas dari kurva kalibrasi dilihat dengan menghitung koefisien korelasi (r) dari persamaan garis linier $y = a + bx$. Linearitas dapat tercapai apabila nilai koefisien korelasi (r) semakin mendekati 1 ($r = +1$ atau $r = -1$) (Aswad dkk., 2011).

d. Batas Deteksi (*Limit Of Detection, LOD*) dan Batas Kuantitasi (*Limit Of Quantification, LOQ*)

Setelah kurva diperoleh, konsentrasi terkecil yang masih dapat terdeteksi (*LOD*) dan terdeteksi secara kuantitatif (*LOQ*) dihitung secara statistik melalui garis linear dari kurva baku, setelah diperoleh data simpangan baku respon analitik dari blanko dan *slope*

(b) pada persamaan garis $y = a + bx$. Batas deteksi dan batas kuantitas dihitung berdasarkan rumus:

$$Q = \frac{kx\sigma}{b}$$

Keterangan:

$k = 3$ untuk batas deteksi atau 10 untuk batas kuantitas

σ = simpangan baku respon analitik dari blanko

$b = slope$ persamaan garis $y = a + bx$

(Aswad dkk., 2011).

3.6.4 Uji Kuantitatif

a. Pembuatan Larutan Baku Formalin (60 ppm)

Larutan induk formalin dibuat dengan konsentrasi 6000 ppm terlebih dahulu. Sebanyak 1,62 mL formalin (mengandung 37 % formalin dalam air) dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan dengan aquades hingga garis tanda (Umbingo dkk., 2015). Selanjutnya dari larutan induk tersebut diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan dengan aquades hingga garis tanda sehingga didapat larutan formalin dengan konsentrasi 60 ppm.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur serapan larutan dengan konsentrasi 1,0 ppm yang dibuat dari larutan baku 60 ppm pada panjang gelombang 400 – 500 nm. Sebanyak 5 mL larutan formalin konsentrasi 1,0 ppm dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan pereaksi *nash* hingga batas tanda.

Larutan kemudian dipanaskan dalam penangas air pada suhu 40 ± 2 °C selama 30 menit. Kemudian didinginkan pada suhu kamar selama 30 menit dan setelah dingin diamati panjang gelombang maksimalnya menggunakan alat spektrofotometri *UV-Vis* pada panjang gelombang 400 – 500 nm. Untuk larutan blanko digunakan campuran 5 mL aquades dengan pereaksi *nash* hingga batas di dalam labu ukur 10 mL (Aswad dkk., 2011).

c. Optimasi Waktu Kestabilan (*Operating Time*)

Tujuan penentuan waktu operasional (*Operating Time*) adalah untuk mengetahui jangka waktu pengukuran yang stabil. Kemudian dibuat suatu kurva hubungan antara waktu dan absorbansi. Pencarian *operating time* diukur pada panjang gelombang 412 nm pada konsentrasi 1,0 ppm dan diamati serapannya dengan waktu 0 – 10 menit (Umbingo dkk., 2015).

d. Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Baku Formalin Dengan Konsentrasi 0,5 - 4,0 ppm

Seri konsentrasi larutan baku dibuat dari larutan induk formalin 60 ppm dan dibuat seri konsentrasi sebesar 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; dan 4,0 ppm. Untuk membuat seri konsentrasi larutan induk dengan konsentrasi 0,5 ppm yaitu dengan cara mengambil 0,083 mL larutan induk formalin 60 ppm kemudian ditambahkan dengan aquades sampai 10 mL, untuk konsentrasi 1,0 ppm dengan cara mengambil 0,17 mL larutan induk 60

ppm kemudian ditambahkan dengan aquades sampai 10 mL, lalu dibuat konsentrasi 2,0 ppm dengan mengambil 0,33 mL larutan induk 60 ppm dan ditambahkan dengan aquades sampai 10 mL, kemudian dibuat konsentrasi 3,0 ppm dengan mengambil 0,5 mL larutan induk 60 ppm dan ditambahkan dengan aquades sampai 10 mL, dan terakhir dibuat konsentrasi 4,0 ppm dengan mengambil 0,67 mL larutan induk 60 ppm dan ditambahkan dengan aquades sampai 10 mL (Aswad dkk., 2011).

e. Pembuatan Kurva Baku Formalin

Larutan baku formalin dengan konsentrasi 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 dan 4,0 ppm masing – masing dipipet 5 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL H₃PO₄ 10 % dan ditambahkan dengan pereaksi *nash* hingga tanda batas. Campuran dikocok dan dipanaskan pada penangas air pada suhu $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit, lalu didinginkan pada suhu kamar selama 30 menit. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang didapat dari pengukuran panjang gelombang maksimum sebelumnya. Kurva baku dibuat dengan membuat regresi linier antara konsentrasi dengan absorbansi. Untuk larutan blanko digunakan campuran 5 mL air suling dengan pereaksi *nash* hingga tanda batas di dalam labu ukur 10 mL (Aswad dkk., 2011).

f. Penetapan Kadar Formalin

Sampel tahu ditimbang masing – masing sebanyak ± 5 g, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 40 mL aquades dan 10 mL 10%. Selanjutnya erlenmeyer ditutup dengan

aluminium foil dan dipanaskan selama ± 1 jam pada suhu $40 \pm 2^\circ\text{C}$ di atas penangas air sambil dikocok selama 1 menit tiap 5 menit. Selanjutnya sampel didinginkan dan disaring. Sebanyak 5 mL filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL pereaksi *nash* lalu dipanaskan di atas penangas air pada suhu $\pm 40^\circ\text{C}$ selama 30 menit kemudian didinginkan selama ± 30 menit. Setelah dingin sampel larutan kemudian dimasukkan dalam kuvet dan absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometri *UV - Vis* pada panjang gelombang maksimal dan dicatat serta dihitung kadar formalinnya (Yulianti & Safira, 2020).

3.7 Analisa Data

Perhitungan kadar formalin pada sampel uji adalah dengan membuat persamaan regresi. Regresi linier merupakan hubungan antara konsentrasi (sumbu x) dengan absorbansi (sumbu y). Regresi linier dibuat dengan rumus:

$$y = bx + a$$

Dimana:

y = menyatakan absorbansi

x = konsentrasi

b = koefisien regresi (menyatakan *slope* = kemiringan)

a = tetapan regresi (menyatakan *intersep*)

Sampel dalam penelitian ini akan mendapatkan 3 kali perlakuan pada masing - masing sampel. Sampel yang diujikan sebanyak 7 sampel ini akan diinisialkan dengan huruf A, B, C, D, E, F, dan G. Data yang didapatkan setelah pengujian dengan spektrofotometri *UV-Vis* disajikan menggunakan analisis data berupa tabel kemudian keseluruhan informasi akan dibahas secara deskriptif yaitu menguraikan dan menjelaskan hasil dari proses pengamatan yang dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif.