

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian yang dilakukan di laboratorium berupa penelitian eksperimental dengan analisa kualitatif dan kuantitatif. Analisa kualitatif digunakan untuk mengetahui apakah ada kandungan formalin pada mie basah dan dilanjutkan dengan analisa kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui kadar formalin pada mie basah di Pasar Beringharjo dan Pasar Kotagede Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Prodi Farmasi Fakultas Sains, Teknologi dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta pada bulan Februari – Maret Tahun 2023.

#### **3.2 Populasi dan Sampel**

##### **3.2.1. Populasi**

Populasi menurut Sugiyono (2009) adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas objek/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 mie basah di Pasar Beringharjo dan Pasar Kotagede Yogyakarta.

##### **3.2.2. Sampel**

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono, 2009). Penelitian ini dalam

menentukan sampel menggunakan teknik total sampling yang merupakan teknik penentuan sampel dengan mengambil seluruh anggota populasi sebagai sampel (Sugiyono, 2009). Sampel yang digunakan dari penelitian ini adalah seluruh mie basah di Pasar Beringharjo dan Pasar Kotagede Yogyakarta.

### **3.3 Instrumen Penelitian**

#### **3.3.1 Alat**

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat – alat gelas (Pyrex, Herma), sendok tanduk, pipet volume (Iwaki), mikro pipet (DLab), penangas air (Memmert), timbangan analitik (AND GF – 300) dan spektrofotometri *UV – Vis* (Genesys).

#### **3.3.2 Bahan**

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mie basah di Pasar Beringharjo dan Pasar Kotagede Yogyakarta, larutan formalin 37 % (Brataco),  $H_3PO_4$  10% (Merck), ammonium asetat p.a (Merck), asam asetat glasial (Merck), asetil aseton p.a (Merck), aquadest (Mitra medika), alumunium foil, kertas saring.

### **3.4. Variabel Penelitian**

#### **a. Variabel Bebas**

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau menghasilkan sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat (Sugiyono,

2009). Penelitian ini memiliki variabel bebas yaitu mie basah di Pasar Beringharjo dan Pasar Kotagede Yogyakarta.

#### **b. Variabel Terikat**

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menghasilkan akibat karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2009). Penelitian ini memiliki variabel terikat yaitu kadar formalin dalam satuan mg/kg. Analisis kualitatif formalin dengan reagen *nash* dan analisis kuantitatif dengan metode Spektrofotometri *UV-Vis*.

### **3.5. Definisi Operasional**

- a. Mie basah adalah makanan berbahan dasar tepung yang dijual di Pasar Beringharjo dan Pasar Kotagede Yogyakarta
- b. Kandungan formalin merupakan adanya formalin sebagai zat tambahan pangan yang terdapat pada sampel mie basah dengan tujuan sebagai pengawet di Pasar Beringharjo dan Pasar Kotagede Yogyakarta.
- c. Kadar formalin merupakan jumlah formalin yang terdapat pada sampel mie basah yang diukur dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* dan dinyatakan dalam satuan mg/kg di Pasar Beringharjo dan Pasar Kotagede Yogyakarta.
- d. Spektrofotometri *UV-Vis* adalah metode yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas *sinar ultraviolet* serta cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel.

- e. Pasar Beringharjo dan Pasar Kotagede adalah pasar tradisional yang terletak di Yogyakarta dan kedua pasar tersebut menjual mie basah.

### 3.6. Jalannya Penelitian

#### 3.6.1. Pembuatan Larutan Pereaksi

##### a. Pembuatan Larutan Asam Fosfat 10 %

Asam fosfat (85%) diukur sebanyak 58,82 mL dilarutkan dengan aquadest sampai larut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL. Ditambahkan aquades sampai garis tanda (Umbingo dkk., 2015).

##### b. Pembuatan Reagen *Nash*

Ammonium asetat sebanyak 150 gram dilarutkan dalam 700 mL air. Ditambahkan 3 mL asam asetat glasial dan 2 mL asetil aseton, dipindahkan dalam labu ukur 1000 mL dan diencerkan menggunakan aquades hingga tepat tanda batas. Disimpan terlebih dahulu dalam botol gelap selama 12 jam sebelum digunakan (Yulianti dan Safira, 2020).

#### 3.6.2. Uji Kualitatif

##### a. Preparasi sampel untuk analisa formalin pada sampel

Sampel mie basah ditimbang masing-masing sebanyak  $\pm 5$  gram, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades 40 mL dan  $H_3PO_4$  10 % sebanyak 10 mL, kemudian erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil untuk mencegah uap formalin keluar. Panaskan selama  $\pm 1$  jam pada suhu  $40 \pm 2^\circ C$ , sambil dikocok selama 1 menit tiap 5 menit, dinginkan dan disaring. Prosedur ini dilakukan replikasi tiga

kali tiap sampel. Replikasi digunakan sebagai menjamin hasil yang didapatkan (Khasanah dan Rusmalina, 2019). Masing-masing filtrat selanjutnya dilakukan analisis secara kualitatif dan kuantitatif (Yulianti dan Safira, 2020).

b. Analisa secara Kualitatif dengan Reagen *Nash*

Sebanyak 5 mL filtrat dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 mL pereaksi *nash*. Setelah itu dipanaskan dalam penangas air pada suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Dinginkan selama  $\pm 30$  menit, dan diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif mengandung formalin ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning (Yulianti dan Safira, 2020).

### 3.6.3. Uji Verifikasi Metode

a. Uji Presisi

Formalin dengan konsentrasi 1 ppm diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 413 nm dengan 6 kali replikasi. Presisi dihitung dengan cara sebagai berikut (Aswad dkk., 2011) :

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

Simpangan baku relatif atau koefisien variansi (KV) adalah :

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

b. Uji Linieritas

Uji ini dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi standar dengan 5 macam konsentrasi yaitu untuk standar formalin adalah 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm dan 4 ppm kemudian diukur serapannya pada panjang

gelombang maksimum. Koefisien relasi ( $r$ ) dihitung dari analisis regresi linier  $Y = a + bX$  pada kurva kalibrasi (Aswad dkk., 2011).

#### c. Uji Akurasi

Larutan formalin dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm dan 3 ppm sebanyak 5 mL ditambahkan pada masing-masing mie basah yang tidak mengandung formalin sebanyak  $\pm 5$  gram, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan aquadest 40 mL dan  $H_3PO_4$  10 % sebanyak 10 mL. Panaskan selama  $\pm 1$  jam pada suhu  $40 \pm 2^\circ C$  sambil dikocok selama 1 menit tiap 5 menit lalu dinginkan dan disaring. Sebanyak 5 mL filtrat dipipet dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 5 mL pereaksi *nash* hingga tanda batas setelah itu dipanaskan dalam penangas air pada suhu  $\pm 40^\circ C$  selama 30 menit kemudian didinginkan selama  $\pm 30$  menit. Campuran tersebut dikocok kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum. Akurasi dapat dihitung melalui % perolehan kembali (% *recovery*) dengan rumus:

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

(Aswad dkk., 2011)

#### d. Uji Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Setelah kurva kalibrasi diperoleh, konsentrasi terkecil yang masih dapat terdeteksi (LOD) dan terdeteksi secara kuantitatif (LOQ) dihitung secara statistik melalui garis linier dari kurva standar, 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 :

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \sigma}{b}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \sigma}{b}$$

Keterangan :

$\sigma$  = 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

Larutan induk formalin dibuat dengan cara memimpet formalin yang mengandung (37% formalin dalam air) sebanyak 1,62 mL dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan aquades hingga garis tanda, sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 6000 ppm (Umbingo dkk., 2015). Selanjutnya dari larutan induk diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquades hingga garis tanda, sehingga didapatkan larutan formalin dengan konsentrasi 60 ppm.

##### b. Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Baku Formalin

Seri konsentrasi larutan baku dibuat dari larutan induk yaitu dibuat menjadi 0,5, 1, 2, 3 dan 4 ppm dan masing – masing di masukan kedalam labu ukur 50 mL (Aswad dkk., 2011).

### c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Penentuan panjang gelombang maksimal dilakukan dengan cara mengambil salah satu seri konsentrasi larutan baku yang telah dibuat yaitu dengan konsentrasi 3 ppm sebanyak 5 mL dan ditambahkan pereaksi *Nash* sebanyak 5 mL lalu dipanaskan dengan penangas air pada suhu 37 °C selama 30 menit, setelah dingin kemudian diukur absorbansi dengan metode spektrofotometri *UV – Vis* dengan rentang panjang gelombang 400 – 500 nm. Pemilihan metode spektrofotometri *UV-Vis* dikarenakan formalin memiliki serapan pada daerah sinar tampak. Daerah sinar tampak berada pada panjang gelombang 400 - 500 nm (Umbingo dkk., 2015). Diperoleh panjang gelombang maksimal 413 nm.

### d. Optimasi Waktu Kestabilan (*Operating Time*)

*Operating time* diukur dengan cara mengamati serapan pada panjang gelombang maksimal pada konsentrasi 1 ppm dan pada waktu 0 – 20 menit kemudian dibuat kurva hubungan antara waktu dan absorbansi (Umbingo dkk., 2015).

### e. Pembuatan Kurva Baku Formalin

Kurva baku larutan formalin yaitu dibuat 0,5, 1, 2, 3 dan 4 ppm. Masing-masing larutan dipipet 5 mL, setelah dipipet masing – masing larutan kemudian ditambahkan 5 mL reagen *Nash* pada labu ukur volume 10 mL lalu dipanaskan selama 30 menit pada suhu  $40 \pm 2^{\circ} \text{C}$ , kemudian dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan alat

spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum yang di dapat dari pengukuran panjang gelombang maksimum sebelumnya. Kurva baku dibuat dengan membuat regresi linier antara konsentrasi dengan absorbansi sehingga diperoleh persamaan  $y = bx + a$  (Aswad dkk., 2011).

#### f. Penetapan Kadar Formalin

Sampel mie basah ditimbang masing-masing sebanyak  $\pm 5$  gram, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan aquadest 40 mL dan  $H_3PO_4$  10 % sebanyak 10 mL kemudian erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil untuk mencegah uap formalin keluar. Panaskan selama  $\pm 1$  jam pada suhu  $40 \pm 2^\circ C$  sambil dikocok selama 1 menit tiap 5 menit. Dinginkan, lalu disaring. Sebanyak 5 mL filtrat dipipet dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 mL pereaksi *nash* setelah itu dipanaskan dalam penangas air pada suhu  $\pm 40^\circ C$  selama 30 menit kemudian didinginkan selama  $\pm 30$  menit, jika hasil positif yaitu berubah warna menjadi kuning kemudian dimasukkan kedalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer *UV- Vis* pada panjang gelombang maksimal dan dicatat absorbansinya serta dihitung kadar formalinnya (Yulianti and Safira, 2020).

### 3.7. Analisa Data

Penelitian ini pada masing – masing sampel akan mendapatkan 3 kali perlakuan atau 3 kali replikasi. Sampel yang diujikan akan diberi insial dengan huruf seperti A,B,C,D,E,F. Perhitungan kadar formalin pada sampel uji dengan cara membuat persamaan regresi linier yang dimana regresi linier adalah hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi dengan rumus :

$$y = bx + a$$

$$x = c = \frac{y-a}{b}$$

Keterangan :

y = absorbansi

x (c) = konsentrasi (ppm)

b = koefisiensi regresi (menyatakan *slope/* kemiringan)

a = tetapan regresi (menyatakan *intersep*)

Perhitungan kadar formalin (Fauzy, 2016) =

$$\text{Kadar formalin (mg/kg)} = \frac{C \times V \times Fp}{\text{berat sampel (mg)}} \times 10^6$$

C = konsentrasi (ppm)

V = Volume total sampel (L)

Fp = faktor pengenceran

Data yang didapatkan setelah pengujian akan disajikan menggunakan tabel kemudian seluruh informasi akan dijelaskan secara deskriptif yaitu dengan cara menjelaskan hasil proses yang dilakukan dengan uji kualitatif dan uji kuantitatif.