

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif eksperimental yaitu memberikan gambaran adanya formalin pada tahu mentah yang telah diuji dan diperdagangkan di pasar Babadan, dengan menggunakan metode kualitatif dan kuantitatif.

B. Teknik Pengambilan Sampel

Sampel diambil secara *accidental sampling* atau sampel diambil berdasarkan pedagang tahu yang kebetulan dijumpai di pasar Babadan.

C. Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Pasar Babadan Kab. Semarang dan penelitian dilakukan di laboratorium Instrumen Universitas Ngudi Waluyo.

D. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah sampel tahu yang dijual di Pasar Babadan.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini diambil menggunakan metode *accidental sampling* atau sampel diambil dari setiap pedagang tahu yang dijumpai. Sampel yang diambil sebanyak 8 yang diberi label A, B, C, D, E, F, G dan H.

Adapun kriteria dalam penelitian ini yaitu:

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi merupakan kriteria umum subjek penelitian pada populasi. Adapun kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah sampel tahu putih mentah yang diambil masih utuh, berwarna putih, bertekstur kenyal, tidak mudah hancur, awet lebih dari tiga hari pada suhu kamar, dan beraroma yang menyengat (Sari, *et all.*, 2021).

3. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah kriteria anggota populasi yang tidak dapat atau tidak memenuhi sebagai sampel. Adapun kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah pedagang tahu yang tidak berjualan pada saat pengambilan sampel, anggota populasi tidak bersedia menjadi subjek penelitian.

E. Definisi Operasional

1. Tahu merupakan makanan yang dibuat dengan bahan baku kedelai berbentuk padatan dan memiliki tekstur lunak yang diperoleh dari Pasar Babadan.
2. Formalin adalah larutan formaldehid yang telah ditambahkan air yang kemudian ditambahkan pada tahu yang dijual di Pasar Babadan agar tahu menjadi lebih awet.
3. Analisis formalin adalah cara pemeriksaan secara kualitatif maupun kuantitatif menggunakan metode pereaksi asam kromatofat dan penentuan kadar formalin dalam tahu menggunakan spektrofotometri UV-Vis

4. Validasi metode analisis adalah suatu proses penilaian terhadap metode analisis tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa metode tersebut memenuhi persyaratan untuk digunakan dengan menggunakan parameter linieritas, presisi, akurasi serta LOD dan LOQ.

F. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah 8 sampel tahu yang dijual di pasar Babadan

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kandungan formalin dalam tahu dengan metode spektrofotometri UV-Vis dan validitas.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah panjang gelombang maksimum, *operating time* dan data kurva kalibrasi.

G. Prosedur Penelitian

1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah labu ukur, kertas saring, corong, erlenmeyer, gelas ukur, spatula besi, cawan petri, pipet volumetri, ball pipet, timbangan analitik, masker, sarung tangan disposable, waterbath, tabung reaksi, rak tabung reaksi, dan spektrofotometer UV-Vis.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tahu mentah, formalin (Merck) mengandung 37% formaldehid dalam air, asam sulfat (Merck), aquadest, asam kromatofat (Merck)

3. Prosedur Kerja

a. Uji Organoleptis

Uji organoleptis sampel tahu meliputi tekstur, aroma dan warna diuji pada masing-masing sampel tahu.

b. Penyiapan Sampel Kontrol Negatif

Untuk penyiapan sampel kontrol negatif digunakan tahu yang sudah memiliki ijin Pangan Industri Rumah Tangga (PIRT) yang diambil dari Pasar Swalayan (Superindo).

c. Penyiapan Sampel Positif

Diambil sampel tahu negatif kemudian dibagi menjadi 3 bagian tambahkan formalin dengan konsentrasi 6 ppm, 8ppm dan 10 ppm.

d. Uji Kualitatif

1) Preparasi Sampel

Ditimbang sampel tahu mentah sebanyak 15 gram kemudian masukkan ke dalam mortir dan gerus sampai halus, ditambahkan 30 ml aquadest, kemudian disaring menggunakan kertas saring (Wuisan *et all.*, 2020).

2) Pembuatan Pereaksi Asam Kromatofat 0,5%

Ditimbang asam kromatofat sebanyak 0,5 gram, selanjutnya dilarutkan menggunakan asam sulfat 60% dan diencerkan dalam labu ukur 100ml sampai tanda batas (Lestari *et all.*, 2022).

3) Uji Pereaksi Asam Kromatofat

Dimasukkan 2 ml filtrat sampel dan 5 ml asam kromatofat 0,5% dalam tabung reaksi, kemudian panaskan larutan pada suhu 100°C selama 15 menit. Jika mengandung formalin larutan akan berwarna merah keunguan (Lestari *et all.*, 2022).

1) Pembuatan larutan induk baku formalin 1000 ppm

Dipipet formalin (mengandung 37 % formaldehid dalam air) sebanyak 0,27 ml, dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml. Lalu dicukupkan menggunakan aquades sampai tanda batas.

2) Pembuatan larutan standar formalin

Dari larutan baku induk formaldehid 1000 ppm kemudian dibuat konsentrasi 100 ppm dengan mengukur sebanyak 10 ml larutan induk dicukupkan menggunakan aquades sampai 100 ml. Kemudian dikocok hingga homogen.

3) Penentuan *Operating Time* (OT)

Sebanyak 2 ml larutan standar 10 ppm diambil menggunakan pipet volume kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 5 ml pereaksi asam kromatofat goyang-goyangkan hingga homogen, kemudian panaskan selama 15 menit pada suhu

100°C . Kemudian dinginkan dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan sebelumnya, pengukuran *operating time* dilakukan selama 30 menit.

4) Uji Kuantitatif

Diambil 2 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan sebanyak 5 ml pereaksi Asam Kromatofat, goyang-goyangkan tabung hingga homogen. Panaskan larutan selama 15 menit pada suhu 100°C. Dinginkan pada suhu ruang . Diambil sedikit larutan dimasukkan dalam kuvet dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang optimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Muadifah *et all.*, 2019).

e. Validasi Metode

1) Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Penentuan Linearitas

Larutan standar 100 ppm yang telah dibuat diambil 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml, dan 1 ml untuk membuat larutan standar dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Kemudian di tambahkan aquadest sampai tanda batas pada gelas ukur 10 ml. Kemudian diambil sebanyak 2 ml dari masing-masing konsentrasi dan ditambahkan 5 ml pereaksi asam kromatofat 0,5% dalam tabung reaksi dan dipanaskan selama 15 menit pada suhu 100°C, lalu dinginkan larutan Larutan standar dan larutan blanko diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 480 – 800 nm dan kemudian dibuat kurva kalibrasi sehingga didapatkan persamaan y

= a + bx. Linearitas dari kurva kalibrasi dapat dilihat dengan cara menghitung koefisien korelasi (r) dari persamaan garis regresi linier.

2) Penentuan Batas Deteksi / Limit Of Detection (LOD) dan Batas Kuantitasi / Limit Quantitation (LOQ)

LOD dihitung menggunakan persamaan garis regresi linier dari kurva kalibrasi, dengan menggunakan rumus:

$$\text{LOD} = \frac{3 (S^{y/x})}{b}$$

Sedangkan untuk nilai batas kuantitasi (LOQ) diperoleh dengan menggunakan rumus :

$$\text{LOQ} = \frac{10 S^{y/x}}{b}$$

Dimana $S^{y/x}$ merupakan simpangan baku residual, dan b adalah slope dari persamaan regresi.

3) Uji Perolehan Kembali/ Kecermatan (Akurasi)

a) Uji Akurasi

Sampel dengan konsentrasi 6 ppm dipipet sebanyak 1 ml + 3 ml larutan baku formaldehid + 5 ml asam kromatofat dalam tabung reaksi. Dipanaskan selama 15 menit pada suhu 100°C. Larutan didinginkan kemudian serapannya diukur menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Lakukan cara yang sama pada konsentrasi 8 ppm dan 10 ppm. Dilakukan 3 kali replikasi pada masing-masing sampel.

b) Perhitungan Nilai UPK

Nilai perolehan kembali dihitung dengan membandingkan konsentrasi yang diperoleh dari hasil formaldehid hasil ekstraksi tahu simulasi dengan konsentrasi formaldehid yang sebenarnya ditambahkan pada tahu simulasi dan dikalikan dengan 100 %

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

4) Uji Presisi

Diambil 1 ml larutan seri 4 ppm + 2,5 ml asam kromatofat dalam tabung reaksi. Dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit, kemudian didinginkan. Diambil sedikit dimasukkan kedalam kuvet, dibaca absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dilakukan 6 kali replikasi. Presisi yang baik jika nilai RSD \leq 2% (Muadifah, *et al.*, 2019).

H. Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan adalah data primer yang didapatkan dari hasil pemeriksaan formalin pada tahu yang dilakukan di Laboratorium Instrumen Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo

I. Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif kuantitatif, analisis deskriptif ini digunakan untuk mendeskripsikan hasil dari penelitian yang telah dilakukan di laboratorium. Data-data yang didapatkan

dideskripsikan serta dijelaskan, kemudian data diolah sedemikian rupa sehingga dari data-data tersebut bisa menjawab rumusan masalah yang ada.

J. Penyajian Data

Data yang telah dianalisis disajikan dalam bentuk tabel dan kurva kemudian di jelaskan dalam bentuk narasi.