

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini ialah penelitian non-eksperimental (deskriptif) dengan metode kualitatif dan metode kuantitatif. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan formalin terhadap tahu di Pasar Tradisional Prawirotaman. Penelitian ini akan mengidentifikasi formalin pada tahu dengan uji organoleptis dan uji kualitatif untuk mengamati perubahan warna ada atau tidaknya formalin serta uji kuantitatif untuk penetapan kadar formalin pada tahu dengan metode Spektrofotometri UV-Visibel.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta. Waktu penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Agustus 2024.

C. Populasi Sampel dan Objek Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tahu putih yang dijual pada Pasar Tradisional Prawirotaman.

2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tahu berwarna putih yang diambil 4-5 tahu pada 8 pedagang tahu di Pasar Tradisional Prawirotaman. Kriteria inklusi pada tahu yakni berwarna putih, mentah, kondisi segar dan berbentuk persegi, sedangkan kriteria eksklusi meliputi tahu kuning/ coklat, tahu dalam proses penggorengan dan tahu dalam kondisi rusak.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Tahu putih berasal dari Pasar Tradisional Prawirotaman
2. Variabel terikat : Kadar formalin dan perubahan warna pada sampel tahu

3. Variabel terkontrol : Tahu sesuai kriteria inklusi sampel yakni berwarna putih, mentah, kondisi segar, dan berbentuk persegi

E. Definisi Operasional

1. Analisis kualitatif dengan metode KMnO_4 , Pereaksi Schiff, Pereaksi Fehling A dan Fehling B serta *scanning* panjang gelombang untuk menentukan keberadaan formalin pada sampel tahu berdasarkan perubahan warna dan panjang gelombang yang muncul.
2. Analisis kuantitatif dianalisis dengan metode Spektrofotometri UV-Visibel untuk mendapatkan kadar formalin pada sampel tahu putih dinyatakan dalam % b/b (persentase berat/berat).

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Spektrofotometer UV-Visibel (Thermo Scientific Genesys 10S), centrifuge (Hettich EBA 200), timbangan analitik semimikro (Ohaus), baskom, gelas beker 500 ml, batang pengaduk, gelas ukur 100 ml, *hotplate stirrer* (Ika C-Mag HS 7), mortir dan stemper, mikropipet (Ohaus) dengan volume 100-1000 μL , pipet tetes, pipet volume 50 ml (Iwaki), spatula besi, vortex, tabung reaksi (Iwaki), *magnetic stirrer* dan berbagai alat-alat gelas kimia lainnya.

2. Bahan

Tahu putih, Alumunium foil, Asam kromatofat (p.a, Merck), akuades (teknis), formalin (p.a, Mallinckrodt), Fehling A (teknis) dan Fehling B (teknis), H_2SO_4 (p.a, Mallinckrodt), KMnO_4 0,1 N (p.a), pereaksi Schiff (teknis), tabung sentrifugasi/*conical tube* 15 mL dan spiritus.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Pengambilan Tahu Putih

Sampel tahu putih sejumlah 4-5 tahu dari setiap pedagang tahu di Pasar Tradisional Prawirotaman, disimpan selama 3 hari di suhu ruang untuk uji organoleptis sedangkan disimpan di dalam freezer (-1 sampai -18°) untuk uji

kualitatif dan uji kuantitatif. Kemudian sampel tahu dihaluskan menggunakan mortir untuk analisis selanjutnya.

2. Uji Organoleptis Sampel Tahu (01-SNI 3142-1998)

Sampel tahu putih diamati warna, bau, tekstur dan didokumentasikan selama 3 hari pada suhu ruang.

3. Uji Kualitatif Kandungan Formalin

a. Penyiapan Sampel

Sampel tahu putih disiapkan menurut Kiroh *et al.*, (2019) dengan modifikasi pada pemanasan, pencampuran menggunakan *hotplate stirrer* dan sentrifugasi. Sebanyak 10 g tahu dihaluskan menggunakan mortir dan ditimbang. Sampel dimasukkan ke dalam gelas beaker 25 mL, ditambahkan akuades sebanyak 20 mL dan ditambahkan *magnetic stirrer*. Setelah itu campuran dipanaskan dan dicampurkan menggunakan *hotplate stirrer* pada suhu 100°C selama 20 menit. Sampel tahu dipindahkan ke tabung sentrifugasi 15 mL, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Hasil supernatan digunakan untuk analisis selanjutnya. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali pada masing-masing sampel.

b. Uji Kualitatif Kandungan Formalin menggunakan Pereaksi Warna

1) Uji Kandungan Formalin dalam Sampel Tahu menggunakan Pereaksi Schiff

Sebanyak 5 mL supernatan dari sampel tahu dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Melalui dinding tabung, sampel tahu ditambahkan 5 tetes pereaksi Schiff. Munculnya perubahan dari warna bening menjadi ungu menunjukkan sampel tahu positif mengandung formalin, jika sampel tahu negatif formalin menunjukkan warna bening. Kontrol positif yang digunakan adalah formalin p.a dan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali (Kiroh *et al.*, 2019).

- 2) Uji Kandungan Formalin dalam Sampel Tahu menggunakan Perekasi KMnO_4 0,1 N

Pembuatan KMnO_4 0,1 N dapat dilihat pada **Lampiran 5**. Sebanyak 5 mL supernatan dari sampel tahu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan larutan KMnO_4 0,1 N sebanyak 5 tetes. Munculnya perubahan dari warna ungu menjadi cokelat menunjukkan sampel tahu positif mengandung formalin. Sampel tahu negatif formalin menunjukkan warna ungu yang tidak berubah. Kontrol positif yang digunakan adalah formalin p.a dan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali (Kiroh *et al.*, 2019).

- 3) Uji Kandungan Formalin dalam Sampel Tahu menggunakan Perekasi Fehling A dan Fehling B sampel

Sebanyak 1 mL supernatan dari sampel tahu, lalu ditambahkan 1 mL larutan Fehling A berwarna biru dan 1 mL Fehling B berwarna bening sehingga campuran kedua pereaksi dengan supernatan dapat meningkatkan warna biru pada campuran. Lalu campuran dipanaskan menggunakan api bunsen dan diamati perubahan warna. Setelah dipanaskan munculnya perubahan dari warna biru menjadi endapan merah bata menunjukkan sampel tahu positif mengandung formalin, Negatif formalin pada sampel ditunjukkan dengan tidak berubahnya warna biru. Kontrol positif yang digunakan adalah formalin p.a. dan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali (Sammulia *et al.*, 2020).

- 4) Uji Kandungan Formalin dalam Sampel Tahu menggunakan Perekasi Asam Kromatofat

Sebanyak 5 mL supernatant dari sampel tahu, lalu ditambahkan larutan asam kromatofat 0,5 % sejumlah 5 mL di dalam tabung reaksi campurkan menggunakan *hotplate stirrer* hingga homogen. Lalu campuran dipanaskan pada suhu 100° C selama 20 menit di *hotplate stirrer*. Munculnya perubahan dari warna bening agak kecoklatan

menjadi ungu menunjukkan sampel tahu positif mengandung formalin, jika sampel tahu negatif formalin menunjukkan warna bening agak kecoklatan. Kontrol positif yang digunakan adalah forma.lin p.a dan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali (Male *et al.*, 2017 dengan modifikasi).

c. Uji Kualitatif *Scanning* Panjang Gelombang

1) Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutan formalin 20 ppm diambil 2 mL, lalu ditambahkan pereaksi asam kromatofat 0,5 % sejumlah 5 mL di dalam tabung reaksi campurkan menggunakan *hotplate stirrer* hingga homogen. Larutan tersebut dipanaskan pada suhu 100° C selama 20 menit di *hotplate stirrer* munculnya perubahan dari warna bening menjadi ungu. Larutan ditambahkan akuades hingga tanda batas di dalam labu takar 25 mL. Kemudian blanko yang digunakan akuades dan diukur absorbansi dilihat panjang gelombang maksimal pada rentang 400-800 nm dengan interval 1 nm (Anindita, 2019 dengan modifikasi).

2) Penentuan *operating time*

Larutan sampel dibuat mengikuti prosedur poin c1. lalu larutan tersebut dibaca absorbansi yang stabil untuk penentuan *operating time* selama 30 menit pada interval 1 menit. *operating time* yang digunakan berdasarkan nilai absorbansi yang paling stabil (Anindita, 2019 dengan modifikasi).

3) *Scanning* Panjang Gelombang

Sebanyak 2 mL supernatan dari sampel tahu, lalu ditambahkan pereaksi asam kromatofat 0,5 % sejumlah 5 mL di dalam tabung reaksi campurkan menggunakan *hotplate stirrer* hingga homogen. Lalu campuran dipanaskan pada suhu 100° C selama 20 menit di *hotplate stirrer*. Larutan tersebut ditambahkan akuades hingga tanda batas pada labu takar 25 mL. Kemudian diukur absorbansi dan dilihat panjang gelombang maksimal pada rentang 400-800 nm (Anindita, 2019 dengan modifikasi).

4. Uji Kuantitatif Kandungan Formalin

a. Pembuatan Asam Sulfat (H_2SO_4) 60 %

Asam sulfat pekat (H_2SO_4) 96 % diambil sebanyak 62,5 mL dimasukkan kedalam labu takar dan ditambahkan akuades hingga tanda batas dengan labu takar 100 mL lalu digojog hingga homogen (Anindita, 2019).

b. Pembuatan Asam Kromatofat 0,5%

Sejumlah 0,5 gram asam kromatofat ditimbang dan masukan kedalam labu takar, dilarutkan dengan pelarut asam sulfat (H_2SO_4) 60% hingga tanda batas labu takar 100 mL lalu gojog hingga homogen (Anindita, 2019).

c. Pembuatan Larutan Baku Formalin 100 ppm

Pembuatan baku formalin 100 ppm dibuat dengan mengambil 27 μ L atau 0,027 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian ditambahkan akuades hingga mencapai tanda batas, lalu digojog hingga homogen (Niswah *et al.*, 2016 dengan modifikasi).

d. Panjang Gelombang

Larutan formalin 20 ppm diambil 2 mL, lalu ditambahkan pereaksi asam kromatofat 0,5 % sejumlah 5 mL di dalam tabung reaksi campurkan menggunakan *hotplate stirrer* hingga homogen. Larutan tersebut dipanaskan pada suhu $100^\circ C$ selama 20 menit dengan *hotplate stirrer*, lalu diamati perubahan warnanya. Larutan ditambahkan akuades hingga tanda batas di dalam labu takar 25 mL. Kemudian blanko yang digunakan akuades dan diukur absorbansi dilihat panjang gelombang maksimal pada rentang 400-800 nm dengan interval 1 nm (Anindita, 2019 dengan modifikasi).

e. *Operating Time*

Larutan sampel dibuat mengikuti prosedur poin d. lalu larutan tersebut dibaca absorbansi yang stabil untuk penentuan *operating time* selama 30 menit pada interval 1 menit. *operating time* yang digunakan

berdasarkan nilai absorbansi yang paling stabil (Anindita, 2019 dengan modifikasi)

f. Pembuatan kurva kalibrasi formalin

Pembuatan larutan standar dibuat dari berbagai konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm dari larutan formalin. Masing-masing larutan standar diambil 2 mL selanjutnya dimasukkan asam kromatofat 0,5 % sejumlah 5 mL di dalam tabung reaksi pencampuran menggunakan hotplate stirrer dan campuran tersebut dipanaskan pada suhu 100° C selama 20 menit di hotplate stirrer hingga homogen. Lalu campuran ditambahkan akuades hingga tanda batas ke dalam labu takar 25 mL. Blanko yang digunakan akuades, sampel dibaca absorbansinya dengan Spektrofotometri UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum antara 400-800 nm (Anindita, 2019 dengan modifikasi).

g. Preparasi formalin dalam sampel tahu

Sampel tahu putih disiapkan menurut Kiroh *et al.*, (2019) dengan modifikasi pada pemanasan dan pencampuran menggunakan *hotplate stirrer* dan alat sentrifugasi. Sebanyak 10 g tahu dihaluskan menggunakan mortir dan ditimbang. Sampel dimasukkan ke dalam gelas beker 25 mL, ditambahkan akuades sebanyak 20 mL dan ditambahkan *magnetic stirrer*. Setelah itu campuran dipanaskan dan dicampurkan hingga homogen menggunakan *hotplate stirrer* pada suhu 100° selama 20 menit. Sampel tahu dipindahkan ke tabung sentrifugasi 15 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit, hasil supernatan digunakan untuk analisis selanjutnya. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali pada masing-masing sampel.

h. Uji kadar formalin dalam sampel tahu

Hasil ekstraksi sampel tahu sebesar 2 mL, kemudian ditambahkan pereaksi asam kromatofat 0,5 % sejumlah 5 mL di dalam tabung reaksi dan divortex hingga homogen. Sampel dipanaskan di dalam waterbath pada suhu 100°C selama 20 menit. Lalu sampel ditambahkan akuades hingga tanda batas ke dalam labu takar 25 mL. Setelah itu sampel dibaca

absorbansinya dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum antara 400-800 nm. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali (Anindita, 2019 dengan modifikasi).

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

Data kualitatif diolah dalam bentuk tabel berisi hasil perubahan warna pada setiap penambahan berbagai reagen. Data sampel tahu diamati dari pengukuran absorbansi sampel kuantitatif dengan metode Spektrofotometri UV-Visibel. Nilai tersebut dimasukkan di dalam persamaan regresi linear yang dinyatakan sebagai kadar formalin pada tahu putih. Data kadar formalin dijelaskan dalam bentuk tabel dan dilakukan replikasi 2 kali sehingga dapat dihitung kadar formalin, kadar formalin sesungguhnya, rata-rata kadar formalin, SD, CV dan LE dengan Persamaan 3-6 (Rohman, 2018).

1. Perhitungan kadar formalin

$$y = b x + a \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan

- a = tetapan regresi (intersep)
- b = koefisien regresi (kemiringan)
- x = kadar sampel (ppm)
- y = absorbansi

2. Kadar formalin sesungguhnya

$$\% \text{ kadar formalin sesungguhnya} = \frac{\text{kadar sampel} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times \text{Volume (L)} \times \text{FP}}{\text{berat sampel (mg)}} \times 100\% \dots (2)$$

Keterangan

- % Kadar formalin sesungguhnya = kadar sampel dengan satuan % b/b
- FP = faktor pengenceran

3. Rata-rata kadar formalin sesungguhnya

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan

- \bar{x} = rata-rata
 X = data yang akan dicari rata-ratanya
 n = banyaknya data

4. Perhitungan SD (Standar Deviasi)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{(N-1)}} \dots\dots\dots(4)$$

Keterangan

- X = nilai dari masing-masing pengukuran
 \bar{X} = rata-rata (mean)
 N = banyaknya data
 $N - 1$ = derajat kebebasan

5. Perhitungan CV (Koefisien Variasi)

$$\% CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \dots\dots\dots(5)$$

Keterangan

- $\% CV$ = koefisien variasi
 SD = standart deviation
 \bar{x} = rata-rata

6. Perhitungan LE (Limit Error)

$$LE = t \text{ tabel} \times \frac{SD}{\sqrt{n}} \dots\dots\dots(6)$$

Keterangan

- LE = *limit error*
 $t \text{ tabel}$ = jenis tabel distribusi
 SD = Standar Deviasi
 n = Jumlah Sampel