

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Pengujian kualitas dan mutu tahu melalui studi deskriptif non eksperimental dengan menggunakan metode kualitatif dan jika terdapat sampel yang positif mengandung formalin maka dilanjutkan uji kuantitatif. Metode kualitatif dilakukan dengan uji organoleptis dan uji tabung. Uji organoleptis meliputi tekstur, bau dan warna pada tahu untuk melihat fisik dari tahu yang berciri-ciri mengandung formalin atau tidak. Uji tabung dengan pereaksi  $\text{KMnO}_4$ , Schiff, dan Fehling A dan B serta asam kromatofat dengan scanning panjang gelombang yang digunakan untuk menguji ada tidaknya keberadaan formalin dalam sampel tahu. Apabila terdapat sampel yang positif dilanjutkan analisa kuantitatif. Metode kuantitatif dengan Spektrofotometri UV-Visibel yang digunakan untuk menganalisis kadar formalin dalam tahu. Hasil analisis kuantitatif selanjutnya dihitung dengan menghitung nilai kadar, rata-rata, SD, CV (%) dan LE.

#### **B. Lokasi dan Waktu**

1. Lokasi sampling tahu

Lokasi pengambilan sampel uji dilakukan di pasar Semin, pasar Wonosari, pasar Patuk, pasar Panggang, dan pasar Girisubo Kabupaten Gunungkidul, Daerah Istimewa Yogyakarta.

2. Lokasi pelaksanaan

Tempat dilaksanakan uji sampel penelitian di Laboratorium Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta. Penelitian dilakukan pada bulan Mei hingga Juni 2024.

### C. Populasi dan Sampel

#### 1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini yaitu tahu putih mentah yang diperoleh dari 5 pasar tradisional di daerah Kabupaten Gunungkidul, Daerah Istimewa Yogyakarta.

#### 2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini yaitu sebanyak 200 gr tahu putih mentah setiap pasar yang didapatkan dalam sejumlah 5 pasar tradisional di Kabupaten Gunungkidul. Teknik pengambilan sampel tahu menggunakan teknik *purposive sampling* dengan kriteria sebagai berikut:

##### a. Kriteria inklusi:

- 1) Tahu putih yang mentah
- 2) Tahu putih yang berbentuk persegi
- 3) Tahu putih yang berwarna cerah dan bertekstur kenyal
- 4) Tahu putih yang tidak bermerk/dijual dalam drum/ember

##### b. Kriteria eksklusi:

- 1) Tahu putih yang digoreng/matang
- 2) Tahu putih yang dengan kondisi tidak layak
- 3) Tahu putih yang berjamur dan berwarna kekuningan
- 4) Tahu putih yang berbusa/berlendir

### D. Variabel Penelitian

#### 1. Variabel bebas

Tahu yang berasal dari berbagai pasar tradisional di daerah Kabupaten Gunungkidul sebagai tempat pengambilan sampel.

#### 2. Variabel terkontrol

Jenis tahu putih, warna tahu, tekstur tahu, bau tahu.

#### 3. Variabel terikat

Ada tidaknya kandungan formalin dalam tahu dan kadar formalin dalam tahu putih.

### E. Definisi Operasional

1. Analisis kualitatif dengan pereaksi  $\text{KMnO}_4$ , Schiff, Fehling A dan B untuk menentukan ada tidaknya kandungan formalin di dalam tahu putih dari pasar tradisional Kabupaten Gunungkidul.
2. Analisis kuantitatif dianalisis dengan Spektrofotometri UV-Visibel untuk mendapatkan kadar formalin pada sampel tahu putih dari pasar tradisional Gunungkidul yang dinyatakan dalam satuan % b/b. Analisis kuantitatif hanya dilakukan pada sampel positif.

### F. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer Visible (*Genesys 10S UV-Vis*), alat sentrifugasi (*Centrifuge Hettich EBA 200*, kecepatan 6000 rpm), timbangan analitik (Semi Mikro, Ohaus PAJI0003), mikropipet (Ohaus dengan volume 100-1000  $\mu\text{L}$  dan kepekaan 0,0001 g), tabung reaksi, rak tabung reaksi, mortar dan stamper, kuvet, cawan porselin, spatula, labu takar 10 ml dan 100 ml (*Pyrex*), beaker glass (*Pyrex*), dan batang pengaduk.

#### 2. Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah tahu putih dari berbagai pasar, pereaksi  $\text{KMnO}_4$  0,1 N,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  P (*p.a.* Mallinckrodt), aquadest (teknis), formalin (*p.a.* Malinckrodt), pereaksi Schiff, Pereaksi Fehling A (Tembaga (II) atau  $\text{CuSO}_4$ ) dan Fehling B (KOH dan Natrium Kalium Tartarat, teknis), Asam Kromatofat (*p.a.* Merck), tabung sentrifugasi/*conical tube* 15 ml, *microtube*, alumunium foil, kertas saring, pipet tetes.

### G. Prosedur Kerja Penelitian

#### 1. Uji organoleptis

Dilakukan uji organoleptis pada sampel tahu putih dengan diuji ciri fisik pada sampel menurut SNI (1998). Uji organoleptik meliputi tekstur tahu, bau

pada tahu, dan warna pada tahu. Pada tahu yang mengandung formalin memiliki ciri fisik yaitu berwarna putih cerah, bau seperti obat, tekstur keras, kenyal dan tidak mudah hancur. Tahu yang non-formalin memiliki warna putih kusam, beraroma kedelai dan memiliki tekstur yang mudah hancur dan lembut (SNI, 1998).

## 2. Analisis kualitatif

### a. Preparasi sampel

Tahu ditimbang 2 gr kemudian dihaluskan dengan mortar dan ditambahkan aquadest 10 mL. Sampel tersebut selanjutnya dimasukkan dalam *conical tube* 15 mL dan dimasukkan dalam sentrifugasi diatur dalam kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Supernatant diambil sejumlah 1 ml dari hasil sentrifugasi menggunakan mikropipet secara hati-hati agar endapan tidak ikut terambil. Replikasi dilakukan sebanyak 2x pada sampel tersebut (Sari *et al.*, 2021).

### b. Uji pereaksi $\text{KMnO}_4$

Hasil dari supernatant diambil sejumlah 1 ml menggunakan mikropipet, dimasukkan dalam tabung reaksi dan diteteskan sebanyak 3 tetes larutan  $\text{KMnO}_4$  0,1 N. Perubahan warna diamati pada sampel uji yang telah ditetesi dengan  $\text{KMnO}_4$  0,1 N. Jika terjadi perubahan warna sampel dari bening menjadi coklat menandakan sampel yang diujikan positif (+) berformalin sedangkan jika warna tidak menunjukkan adanya perubahan maka sampel tersebut tidak mengandung formalin (-). Replikasi dilakukan sebanyak 2x kemudian dibandingkan dengan standar negatif (aquadest) dan standar positif (formalin *p.a.*) (Sari *et al.*, 2021).

### c. Uji pereaksi Schiff

Hasil dari supernatant diambil sejumlah 1 ml menggunakan mikropipet, dimasukkan dalam tabung reaksi dan tambahkan 3 tetes pereaksi Schiff. Jika sampel uji berubah warna dari bening menjadi ungu menandakan sampel tahu putih yang diuji mengandung positif formalin (+). Jika warna tidak mengalami perubahan warna (bening) maka sampel tidak mengandung formalin (-). Replikasi dilakukan sebanyak 2x,

kemudian dibandingkan dengan standar negatif (aquadest) dan standar positif (formalin *p.a.*) (Sari *et al.*, 2021).

d. Uji pereaksi Fehling A dan Fehling B

Hasil dari supernatant diambil sejumlah 1 ml menggunakan mikropipet, dimasukkan di dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes pereaksi Fehling A (Tembaga (II) atau  $\text{CuSO}_4$ ) dan Fehling B (KOH dan Natrium Kalium Tartarat). Perubahan warna diamati dari sampel uji yang telah ditetesi dengan pereaksi tersebut. Jika terjadi perubahan warna dari bening jadi terbentuk endapan merah bata menandakan sampel tersebut positif (+) formalin. Jika sampel tidak terbentuk endapan merah bata maka sampel tidak mengandung formalin (-). Replikasi dapat dilakukan sebanyak 2x dibandingkan dengan standar negatif (aquadest) dan standar positif (formalin *p.a.*) (Salsabila, 2024).

e. *Scanning* panjang gelombang

Filtrat sampel diambil sebanyak 0,4 mL dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan asam kromatofat 0,5% dan dipanaskan dengan suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 20 menit. Setelah itu diamati perubahan yang terjadi setelah pemanasan apabila sampel mengalami perubahan menjadi warna ungu maka sampel tersebut positif formalin namun jika sampel tidak mengalami perubahan warna setelah dipanaskan maka sampel tersebut negatif formalin. Selanjutnya dimasukkan dalam labu takar 5 mL dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas ukur. Kemudian dibaca pada menggunakan Spektrofotometer UV-Visibel dalam panjang gelombang 500-700 nm (Anindita, 2019).

3. Analisis Kuantitatif (Hanya dilakukan jika sampel positif formalin)

a. Pembuatan Larutan Baku Formalin 1000 ppm

Larutan induk baku formalin (1000 ppm) dibuat dengan mengambil 0,27 ml dari Formalin 37% b/v (37 g dalam 100 mL), kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, dan ditambahkan aquadest sampai

batas ukur 100 ml pada labu ukur, dan digojog hingga homogen (Sari *et al.* 2021 dengan modifikasi).

b. Pembuatan Larutan Baku Formalin 100 ppm

Larutan standar tahu dibuat dengan larutan formalin 100 ppm yang diambil dari larutan induk 1000 ppm sebanyak 10 ml, selanjutnya dituangkan ke dalam labu ukur 100 ml, dan ditambahkan dengan aquadest hingga batas ukur 100 ml, lalu divortex hingga homogen (Sari *et al.*, 2021 dengan modifikasi).

c. Pembuatan Asam Sulfat 60%

Asam sulfat pekat 96% sebanyak 62,5 ml dituangkan dalam labu takar 100 ml, dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas sehingga dibuat asam sulfat 60% (Male *et al.*, 2017).

d. Pembuatan Asam Kromatofat 0,4% b/v

Asam kromatofat ditimbang sejumlah 0,4 g dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan asam sulfat pekat hingga garis tanda, dihomogenkan dengan vortex (Male *et al.*, 2017 dengan modifikasi).

e. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

2 ml larutan standar formalin dengan konsentrasi 4 ppm dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi, lalu ditambahkan dengan 0,2 mL asam kromatofat dan 3 mL asam sulfat pekat. Larutan tersebut di vortex lalu dipanaskan dengan suhu 100°C selama 15-20 menit (terjadi perubahan warna bening menjadi ungu). Blanko yang digunakan adalah aquadest. Setelah dingin, campuran tersebut diukur absorbansi dengan alat Spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang pada rentang 500-700 nm (Suseno, 2021 dengan modifikasi).

f. Penentuan *Operating Time*

*Operating time* digunakan untuk memastikan kestabilan reaksi antara formalin dengan asam kromatofat pada panjang gelombang tertentu. Pengukuran *operating time* didapatkan dengan mengambil 2 ml larutan standar formalin dipipet masukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL asam kromatofat, dipanaskan sampai warna berubah menjadi ungu.

Kemudian dimasukkan dalam labu takar 25 mL dan ditambahkan dengan aquadest hingga tanda batas. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum diamati tiap interval 1 menit dari menit ke-0 hingga menit ke-60 serta dicatat masing-masing hasil absorbansinya (Anindita, 2019 dengan modifikasi).

g. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pembuatan seri konsentrasi untuk kurva kalibrasi dengan konsentrasi 10; 20; 30; 40 dan 50 ppm dari larutan standar 100 ppm yang di tambahkan aquadest hingga 10 mL diambil 1; 2; 3; 4 dan 5 mL. Selanjutnya masing-masing seri konsentrasi ditambahkan dengan 0,2 mL pereaksi asam kromatofat 0,4% b/v dan 3 mL larutan asam sulfat pekat, lalu dipanaskan dengan suhu 100°C selama 15-20 menit hingga berwarna ungu. Blanko yang digunakan adalah aquadest. Absorbansi larutan standar dan larutan blanko diukur pada panjang gelombang yang terpilih. Pada kurva regresi yang didapatkan dari absorbansi larutan standar dengan menghubungkan konsentrasi (x) dan absorbansi (y) sehingga didapatkan rumus  $y = bx+a$  (Suseno, 2021 dengan modifikasi).

h. Pembuatan Sampel Tahu

Masing-masing tahu dikelompokkan untuk setiap pasar yang berbeda. Tahu ditimbang sejumlah 5 g dimasukkan dalam *conical tube* 15 mL dan di tambahkan aquadest hingga 10 mL, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Sehingga terjadi pemisahan antara endapan dengan supernatant. Hasil supernatant disimpan di dalam *microtube* baru untuk analisis selanjutnya (Suseno, 2021 dengan modifikasi).

i. Pengukuran Kadar Sampel Tahu

Pembuatan kadar sampel tahu diambil sebanyak 2 mL larutan sampel (supernatan) lalu ditambahkan 2 mL asam kromatofat 0,4% b/v dan ditambahkan 3 mL asam sulfat pekat. Larutan ini lalu di vortex agar homogen lalu larutan ditempatkan dalam penangas air bersuhu 100°C selama 15 sampai 20 menit. Setelah selesai dipanaskan, larutan dinginkan

selama 10 menit dalam suhu ruang selanjutnya diukur absorbansi dengan Spektrofotometri UV-Visibel pada panjang gelombang maksimal. Blanko yang digunakan adalah aquadest. Perlakuan dilakukan replikasi dua kali pengulangan pada masing-masing sampel (Suseno, 2021 dengan modifikasi).

#### 4. Analisis Data

Data penelitian tahu putih di pasar tradisional Kabupaten Gunungkidul yang diperoleh data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif yang didapatkan hasil positif (+) dan negative (-) formalin di dalam sampel tahu dengan berbagai pereaksi, meliputi Uji  $\text{KMnO}_4$ , Schiff, fehling A dan Fehling B. Sedangkan data kuantitatif dilakukan pengukuran absorbansi formalin pada sampel tahu, selanjutnya dianalisis dengan menghitung nilai kadar sesungguhnya (%), rata-rata, SD, CV (%), dan LE (Muryanto, 2020).

##### a. Perhitungan Kadar Formalin pada Tahu

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y = absorbansi

b = gradien/kemiringan

x = kadar sampel

a = intersep/perpotongan

##### b. Perhitungan kadar sesungguhnya

$$\% \text{ Kadar sesungguhnya} = \frac{\text{konsentrasi (ppm)} \times \text{volume sampel (mL)} \times \text{fp}}{\text{mg sampel}} \times 100 \%$$

##### c. Perhitungan Rata-rata Kadar Formalin pada Tahu

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n}$$

Keterangan :

$\bar{x}$  = rata-rata kadar sampel tahu

x = data kadar sampel tahu

n = banyaknya data sampel yang replikasi

##### d. Standar Deviasi (SD)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

Keterangan :

SD = Standar deviasi

$x_i$  = data ke i

$\bar{x}$  = nilai rata-rata

n = banyak data

e. Koefisien Variasi (% CV)

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

Keterangan :

% CV = Koefisien variasi (%)

SD = standar deviasi

$\bar{x}$  = rata-rata

f. *Limit Error*/Batas Kesalahan (LE)

$$LE = t. \text{ tabel} \times \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Keterangan:

t. tabel = jenis tabel distribusi

n = jumlah sampel

SD = standar deviasi