

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi adalah keseluruhan dari unit atau individu dalam ruang lingkup yang ingin diteliti. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan lele yang dijual oleh pedagang di Pasar Gede Surakarta.

##### **2. Sampel**

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele yang dijual di dalam dan di luar Pasar Gede Surakarta.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama dalam penelitian ini adalah antibiotik kloramfenikol yang dijual di Pasar Gede Surakarta..

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Klasifikasi diperlukan untuk menentukan alat pengambilan data dan metode analisis data yang sesuai berdasarkan pada hubungan sebab akibat menjadi variabel tergantung disuatu pihak dan variabel bebas, kendali dan tergantung dipihak lain.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung, dimana variabel bebas dalam penelitian ini adalah sampel ikan lele yang dijual di Pasar Gede Surakarta. Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara tepat. Variabel kendali pada penelitian ini adalah penelitian, waktu penelitian, kondisi alat spektrofotometer UV-Vis. Variabel tergantung dalam penelitian ini berupa hasil dari analisis kadar antibiotik kloramfenikol pada sampel ikan lele yang dijual di Pasar Gede Surakarta.

### **3. Definisi Operasional**

Definisi operasional pada penelitian ini adalah ikan lele yang dijual di Pasar Gede Surakarta. Ikan lele adalah jenis air tawar yang mempunyai nilai protein yang tinggi, ikan ini mempunyai rata-rata bobot sebesar 90-120 gram. Pada penelitian ini digunakan ikan lele segar yang telah dimatikan kurang lebih selama 30 menit. Metode yang digunakan untuk penetapan kadar kloramfenikol pada ikan lele segar adalah Spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan panjang gelombang yang sesuai.

## **C. Bahan dan Alat**

### **1. Alat**

Pada penelitian ini digunakan beberapa alat antara lain gelas kimia, labu ukur, gelas ukur, pipet volume, pipet tetes, vial, batang pengaduk, corong kaca, kertas saring, blender, timbangan analitik, sonikator, Spektrofotometri UV-Vis.

## **2. Bahan**

Pada penelitian ini digunakan bahan sebagai berikut, metanol, aquades, baku pembanding kloramfenikol, dan daging ikan lele segar.

### **D. Jalannya Penelitian**

#### **1. Pengambilan Sampel**

Sampel diambil dari ikan lele segar yang diperoleh dari penjual ikan lele yang berada Pasar Gede Surakarta, secara random terkendali. Pilih ikan lele segar yang sudah dimatikan kurang lebih 30 menit dengan bobot 90-120 gram.

#### **2. Preparasi Sampel**

Ikan lele segar dibersihkan dan dipisahkan dari duri serta kulitnya, kemudian diblender sampai halus dan homogen. Ditimbang dengan seksama kurang lebih 10 gram daging ikan lele, lalu ditambahkan 25 mL metanol ke dalam larutan dan dikocok selama 2 menit kemudian diamkan selama 10 menit, saring menggunakan kertas saring sampai didapat filtrat jernih. Jika filtrat yang didapat kurang jernih lalu sonikasi selama 5 menit.

Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam labu takar 25 mL, lalu tambahkan larutan metanol : air (80:20) sampai tanda batas. Filtrat ini siap untuk di baca absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

#### **3. Penyiapan Larutan Baku Pembanding**

Larutan baku pembanding kloramfenikol dibuat dengan cara ditimbang 5 mg baku kloramfenikol pada labu ukur 50 mL, lalu ditambahkan 2 mL metanol aduk hingga homogen, kemudian ditambah metanol : aquadestilata (80 :20) sampai

tanda batas (100 ppm). Kemudian dibuat seri kadar dengan konsentrasi larutan standard 0,6 ; 0,8 ; 1 ; 1,2 ; 1,4 dan 1,6 ppm.

#### **4. Penentuan Panjang Gelombang**

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada panjang gelombang 200-400 nm, sebagai blanko digunakan metanol : aquadestilata (80:20). Kemudian dibuat larutan masing-masing dengan 1 konsentrasi yaitu 2 ppm, dengan mengencerkan 0,2 mL larutan baku menggunakan metanol : aquadestilata (80:20) ke dalam labu ukur 10 mL hingga tanda batas. Larutan di scan pada panjang gelombang 200–400 nm menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Nilai  $\lambda$  maksimum dipilih yang memberikan serapan terbesar dan sama pada setiap konsentrasi.

#### **5. Penentuan *Operating Time***

Dari larutan baku kloramfenikol dengan konsentrasi 100 ppm, diambil 0,2 mL dan diencerkan menggunakan metanol : aquadestilata (80:20) ke dalam labu ukur 10 mL hingga tanda batas. Kemudian dibaca absorbansinya pada menit 0, 1, 2, 3, 4, 5 sampai 30 dengan selang waktu 1 menit, dibaca pada panjang gelombang maksimum.

#### **6. Penetapan Kadar**

Supernatan dibaca absorbansinya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Pada pengujian kadar dilakukan replikasi preparasi sampel sebanyak 3 kali. Perhitungan kadar kloramfenikol dalam daging ikan lele dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva baku (Wibowo,2010).

## 7. Metode Validasi

Residu kloramfenikol dalam ikan merupakan analit yang diharapkan berada dalam jumlah sangat kecil atau bahkan tidak ada sama sekali. Penentuan kadar kloramfenikol dalam ikan digolongkan ke dalam kategori analisis kadar kecil. Validasi metode yang perlu dilakukan dalam analisis kuantitatif diantaranya adalah penentuan kelinearan, presisi, dan akurasi, LOD dan LOQ (Swartz.1997).

**7.1. Linieritas atau Kurva Kalibrasi.** Kurva kalibrasi dibuat dengan memvariasikan konsentrasi larutan standar 0,6 ; 0,8 ; 1 ; 1,2 ; 1,4 dan 1,6 ppm. Dengan mengencerkan 0,06 ; 0,08 ; 0,1 ; 0,12 ; 0,14 dan 0,16 mL pada labu ukur 10 mL, ditambah metanol : aquadestilata dengan perbandingan 80:20 sampai tanda batas. Kemudian dari larutan tersebut masing-masing konsentrasi dibaca absorbansinya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Setelah itu dibuat kurva kalibrasi dengan persamaan garis linear ( $y=a+bx$ ). Dihitung koefisien korelasi ( $r$ ) dari kurva tersebut.

**7.2. Presisi.** Presisi merupakan ukuran kedekatan antara serangkaian hasil analisis yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran pada sampel homogen yang sama (Nafisa, 2015). Larutan standar kloramfenikol 1 ppm dibaca absorbansinya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, ulangi sebanyak 10 kali (Anonim, 2012).

**7.3 Akurasi.** Larutan kloramfenikol dengan konsentrasi (0,8; 0,1; dan 1,2 ppm) masing-masing dianalisis dengan prosedur yang sama yaitu dibaca absorbansinya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Diulangi sebanyak tiga kali untuk setiap konsentrasi. Absorbansi yang

diperoleh digunakan untuk menentukan kadar terukur. Persen akurasi ditentukan dengan menentukan berapa persen larutan standar yang ditambahkan dapat ditemukan (Harmita, 2004).

### **E. Analisa Hasil**

Data yang diperoleh dari pengukuran ikan lele segar dibuat kurva kalibrasinya. Konsentrasi pada ikan lele segar dihitung berdasarkan kurva kalibrasi larutan standar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan spektrofotometer UV-VIS, sehingga kadar kloramfenikol dapat dihitung dengan persamaan regresi linear sebagai berikut :

$$Y = a + bx \quad \dots\dots\dots(3)$$

Keterangan :

a = tetapan regresi (intersep)

b = koefisien regresi (slope)

Y = Luas area

X = Konsentrasi

## F. Skema Penelitian

