

## **BAB III METODE PENELITIAN**

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

Populasi adalah semua obyek atau subyek yang menjadi sasaran penelitian yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2011). Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan asin yang beredar di wilayah kecamatan Jebres Surakarta.

Sampel adalah sebagian dari populasi yang digunakan dalam penelitian ini yang dapat mencerminkan populasinya. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 sampel ikan asin yang diambil di pasar Jebres, pasar Panggung Rejo, pasar Gede, pasar Rejosari dan pasar Mojosongo daerah Kecamatan Jebres, Surakarta.

### **B. Variabel Penelitian**

#### **1. Identifikasi Variabel Utama**

Variabel utama dalam penelitian ini adalah kandungan formalin dalam sampel ikan asin.

#### **2. Klasifikasi Variabel Utama**

Variabel bebas penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel terikat. Pada penelitian ini, variabel bebasnya adalah sampel ikan asin yang beredar di Kecamatan Jebres Surakarta.

Variabel tergantung penelitian ini adalah variabel yang terpengaruh karena adanya variabel bebas, variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar formalin dalam ikan asin.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara cepat, variabel terkontrol pada penelitian ini adalah proses penelitian, waktu penelitian dan kondisi alat penelitian.

#### **3. Definisi Operasional Variabel Utama**

Pertama, sampel ikan asin adalah ikan yang telah diawetkan dengan cara penggaraman yang beredar di kecamatan Jebres Surakarta yang diambil 5 sampel dari 5 pasar yang berbeda dan sudah pernah ada kasusnya.

Kedua, formalin adalah larutan yang tidak berwarna dan baunya sangat menusuk yang mengandung sekitar 37% formaldehid dalam air serta dikenal sebagai pengawet yang dilarang untuk bahan tambahan pangan dalam makanan.

Ketiga, spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV dan Visible sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa dan digunakan untuk mengukur absorban suatu sampel pada panjang gelombang tertentu.

### **C. Bahan dan Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi (pyrex), rak tabung reaksi, gelas piala 100 mL dan 250 mL (pyrex), spektrofotometer UV-Vis 1800 shimadzu, penangas air, batang pengaduk (hema), neraca analitik (ohaus PA 214, *capacity* 210 g, *readability* 0,1 mg, *repeatability* 0,1 mg), kertas saring, gelas ukur 100 mL (iwaki), labu tentukur 100 mL (pyrex), corong kaca (herma), pipet tetes, seperangkat alat destilasi, blender (maspion), pipet volume 5 mL (iwaki). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel ikan asin, larutan asam kromatofat 0,5% (asam kromatofat (Merck), larutan asam sulfat 60%), larutan asam sulfat 60% ( $H_2SO_4$  pekat (Merck), aquades), larutan formaldehid 37% (Mallinckrodt Chemical), pereaksi schiff (fuchsin (Merck), natrium sulfat anhidrat, HCl (p) dan aquadest), larutan asam fosfat 85%, aquades (PT. Bataco).

### **D. Jalannya Penelitian**

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

Pengambilan sampel pada bulan Mei 2023 adalah lima sampel ikan asin yang dibeli dari pasar Jebres, pasar Panggung Rejo, pasar Gede, pasar Rejosari dan pasar Mojosongo di Kecamatan Jebres Surakarta.

#### **2. Pembuatan Larutan**

Larutan asam sulfat 60% dibuat dengan dipipet 62,5 mL asam sulfat pekat, diencerkan dengan aquadestilata sampai 100 mL. Pembuatan asam kromatofat 0,5% dengan ditimbang 0,5 gram asam kromatofat, kemudian dilarutkan ke dalam asam sulfat 60% dan diencerkan sampai tanda batas dalam labu tentukur 100 mL (Intan, 2022).

Pembuatan pereaksi schiff dengan cara ke dalam 120 mL air panas dilarutkan 500 mg fuchsin, lalu dibiarkan hingga dingin. Ditambahkan larutan 5 gram natrium sulfit anhidrat ke dalam 20 mL air, kemudian ditambahkan 5 mL HCl pekat, diencerkan dengan aquadest hingga batas 500 mL, biarkan selama 1 jam (Dirjen POM, 1995).

### **3. Preparasi Sampel**

**3.1. Uji kualitatif dengan asam kromatofat 0,5%.** Sebanyak 5 gram ikan asin ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam blender sampai halus kemudian ditambahkan 100 mL aquadest sedikit demi sedikit. Larutan disaring dan diambil filtratnya (Intan, 2022).

**3.2. Uji kualitatif dengan pereaksi schiff.** Sampel ikan asin dihaluskan, lalu ditimbang sebanyak 5 gram, kemudian sampel dimasukkan ke dalam labu destilasi 500 mL dan ditambahkan aquadest sebanyak 100 mL, kemudian ditambahkan larutan asam fosfat 85% sebanyak 1 mL lalu kocok, lalu didestilasi perlahan-lahan selama 30 menit. Hasil destilat ditampung didalam wadah (Syarifah, 2022).

### **4. Analisis Kualitatif Formalin**

Sejumlah 5 mL filtrat sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 5 mL larutan asam kromatofat 0,5% selanjutnya dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit sampai mendidih dan larutan berwarna merah keunguan. Jika mengandung formalin maka larutan akan berwarna merah keunguan (Matondang, 2015).

Ke dalam tabung reaksi, dimasukkan 1 mL destilat sampel kemudian ditambahkan 1 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 96% dengan perbandingan 1:1 melalui dinding tabung, kemudian ditambahkan pereaksi schiff, jika terbentuk warna merah keunguan maka sampel tersebut mengandung formalin (Glenry, 2014).

### **5. Uji Kuantitatif Formalin**

**5.1. Pembuatan larutan baku standar formalin 1000 mg/L.** Formaldehid dengan konsentrasi 37% dipipet sebanyak 0,14 mL dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 mL, kemudian ditambahkan aquadest hingga volumenya mencapai 50 mL. Diaduk hingga homogen dan disimpan ke dalam botol berwarna gelap (Intan, 2022).

**5.2. Penentuan panjang gelombang maksimum.** Ke dalam labu tentukur 100 mL dimasukkan larutan induk baku sebanyak 5 mL dengan pipet volume memiliki konsentrasi 2 µg/mL, lalu ke dalam labu tentukur tersebut ditambahkan 10 mL pereaksi schiff dan dikocok

sampai homogen. Selanjutnya ditambahkan aquadest hingga batas lalu larutan dihomogenkan. Selanjutnya absorbansi maksimumnya diukur pada panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan aquadest sebagai blanko yang dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL, kemudian ditambahkan 10 mL pereaksi schiff dan dicukupkan dengan aquadest hingga garis batas (Syarifah, 2022).

**5.3. Penentuan *operating time*.** Sebanyak 5 mL diambil larutan induk baku dengan pipet volume kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL memiliki konsentrasi 2  $\mu\text{g/mL}$ , lalu ke dalam labu tentukur tersebut ditambahkan 10 mL pereaksi schiff selanjutnya ditambahkan aquadest sampai garis batas. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang didapat dari menit ke-1 sampai menit ke-31 (Syarifah, 2022).

**5.4. Pembuatan kurva kalibrasi larutan standar formalin.** Larutan standar dibuat dengan konsentrasi 0,1  $\mu\text{g/mL}$ ; 0,5  $\mu\text{g/mL}$ ; 1  $\mu\text{g/mL}$ ; 1,5  $\mu\text{g/mL}$  dan 2  $\mu\text{g/mL}$ . Masing-masing sebanyak 0,05 mL; 0,25 mL; 0,5 mL; 0,75 mL dan 1 mL larutan formalin 20  $\mu\text{g/mL}$  ditambahkan 1 mL pereaksi schiff dan volume larutan ditetapkan menjadi 10 mL. Larutan diaduk dan diamati perubahan warna. Masing-masing larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Intan, 2022).

**5.5. Penetapan kadar formalin.** Dipipet 1 mL destilat sampel, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL. Ke dalam larutan tersebut kemudian ditambahkan 1 mL pereaksi schiff. Kemudian ditambahkan aquadest hingga garis batas dan dikocok sampai homogen. Kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum (Syarifah, 2022).

## E. Analisis Hasil

Metode yang dipakai dalam analisis kadar formalin dalam ikan asin ini menggunakan pembacaan absorbansi ( $y$ ) yang kemudian dilakukan perhitungan menggunakan persamaan regresi linier dengan rumus  $y = a + bx$ , akan didapatkan nilai ( $x$ ) sebagai konsentrasi atau  $\mu\text{g/mL}$  sampel di mana (Galuh, 2019) :

$$y = a + bx$$

- y = absorbansi
- a = tetapan regresi (menyatakan *interstep*)
- b = koefisien regresi (menyatakan *slope*)
- x = konsentrasi