

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis pada penelitian ini adalah deskriptif dengan desain penelitian *cross sectional*. Variabel dalam penelitian ini adalah daging ayam dan formalin. Penelitian ini dilakukan secara kualitatif dengan metode asam kromatofat serta secara kuantitatif menggunakan teknik spektrofotometri Uv-Vis.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Pengambilan sampel dilakukan di Pasar Tradisional Untung Suropati, Kecamatan Tanjung Senang, Kota Bandar Lampung. Kemudian sampel akan diperiksa di Laboratorium Kimia Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Tanjungkarang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Februari 2025 sampai Maret 2025.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini yaitu semua daging ayam yang dijual oleh 10 pedagang daging ayam yang ada di Pasar Tradisional Untung Suropati, Kecamatan Tanjung Senang, Kota Bandar Lampung.

2. Sampel

Dalam penelitian ini, akan diambil 10 sampel daging ayam dari semua pedagang daging ayam yang ada di Pasar Tradisional Untung Suropati, Kota Bandar Lampung. Setiap sampel yang diambil dari semua pedagang beratnya kurang lebih sama.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Daging ayam	Daging ayam yang dijual di pasar tradisional Untung Kota Bandar Lampung	Visual	Panca indera	Daging ayam dari pedagang di Pasar Tradisional Untung Suropati, Kecamatan Tanjung Senang, Kota Bandar Lampung	Nominal
2.	Formalin	Kandungan formalin dalam daging ayam yang dijual di pasar tradisional Untung Kota Bandar Lampung	-Kualitataif Asam Kromatofat	Visual	(+) larutan berubah menjadi ungu (-) larutan tidak berubah warna	Nominal
		Menentukan kadar formalin pada daging ayam	-Kuantitatif Spektrofotometri Uv-Vis	Spektrofotometer UV-Vis	mg/Kg	Rasio

E. Pengumpulan Data

Jumlah sampel yang ditetapkan oleh peneliti adalah 10 sampel daging ayam bagian dada dan merupakan sebagian dari jumlah populasi penelitian yaitu daging ayam yang berasal dari pasar tradisional Untung Suropati, Kecamatan Tanjung Senang, Kota Bandar Lampung dengan 3 kali pengulangan setiap sampel daging ayam yang diuji.

1. Teknik Pengambilan Sampel

Sampel yang akan diambil sebagai bahan penelitian adalah berupa potongan daging ayam bagian dada. Berdasarkan penelitian (Nurfi, N. L & Sopandi., 2014), bagian dada merupakan bagian ayam yang mengandung sumber protein tinggi yang baik untuk tubuh serta banyak dikonsumsi dan lebih umum digemari oleh masyarakat. Bagian dada banyak disukai masyarakat karena dapat membantu menjaga kesehatan jantung sebab dada ayam rendah akan kolesterol dan lemak jenuh yang baik untuk menjaga kesehatan jantung. Jumlah sampel

yang ditetapkan peneliti adalah 10 daging ayam bagian dada yang berasal dari 10 pedagang daging ayam yang ada di pasar tradisional Untung Suropati Kota Bandar Lampung.

- a. Pengambilan sampel dilakukan setiap pagi dengan membeli dua sampel daging ayam dari pedagang yang berbeda pada setiap harinya.
- b. Sampel yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang bersih, yaitu berupa plastik ziplock.
- c. Setelah itu, dari masing-masing sampel yang sudah dibeli dari pedagang daging ayam diberi kode sampel, waktu pengambilan, hari serta tanggal pengambilan sampel.
- d. Kemudian, sampel dibawa ke Laboratorium Kimia Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Tanjungkarang menggunakan ice box untuk dilakukan uji formalin pada sampel.
- e. Pengujian pada masing-masing sampel akan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan baik pada uji kualitatif dan uji kuantitatif jika sampel dinyatakan positif formalin. Pengulangan pada pengujian ini bertujuan untuk memastikan keakuratan dan konsistensi hasil analisis yang telah diperoleh.

2. Pemeriksaan Laboratorium

a. Alat

Penelitian ini menggunakan alat-alat seperti, Tabung reaksi, Heating mantle, Kondensor lurus, Alonga, Pipa Y/T, Labu alas bulat, Penangas air, Rak tabung, Labu Ukur (1000 mL, 100 mL, 20 mL), Mortar dan alu, Gelas Beaker (100 mL, 250 mL, 500 mL), Gelas Ukur 100 mL, Pipet Volume (1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL, 25 mL, 50 mL), Batang pengaduk, Termometer, Cawan Arloji, Pipet tetes, corong, Spatula, karet hisap, neraca analitik, kuvet, dan Spektrofotometer UV-Vis

b. Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan, seperti Daging ayam, Asam kromatofat, Asam sulfat (H_2SO_4) 60%, Asam fosfat (H_3PO_4) 10%, Aquadest, larutan baku formalin 37%.

c. Prosedur kerja penelitian

1) Pembuatan reagen H_3PO_4 10%

Sebanyak 11,76 mL reagen H_3PO_4 dengan konsentrasi 85% dipipet, kemudian reagen dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya, aquadest ditambahkan hingga mencapai tanda batas 100mL. Lalu, larutan dihomogenkan.

2) Pembuatan reagen H_2SO_4 60%

Dipipet H_2SO_4 dengan konsentrasi 96% sebanyak 62,55mL dan dimasukkan ke labu ukur 100 mL. Ditambahkn pelarut aquadest hingga tanda batas 100 mL. Kemudian, larutan dihomogenkan.

3) Pembuatan reagen asam kromatofat 0,5 % dalam H_2SO_4 60%

0,5 gram kristal asam kromatofat ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian, asam sulfat dengan konsentrasi 60% ditambahkan secara perlahan untuk melarutkan kristal tersebut hingga tanda batas 100 mL pada labu ukur dan dihomogenkan.

4) Pembuatan larutan baku Formalin 10.000 ppm

Memipet 27,0 mL formalin dengan konsentrasi 37% dan dipindahkan ke dalam labu ukur 1000mL. Kemudian, menambahkan aquadest secara perlahan hingga mencapai tanda batas 1000 mL pada labu ukur, setelah itu dihomogenkan.

5) Pembuatan larutan standar

Memipet baku formalin sebanyak 1 mL, lalu dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL. Setelah itu, air suling ditambahkan secara perlahan sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL.

6) Pembuatan larutan seri standar

a) Dengan memipet 2 mL larutan formalin 100 ppm dan memasukkannya ke dalam labu ukur 100 mL. Setelah itu, menambahkan aquadest secara perlahan hingga mencapai tanda batas 100 mL pada labu ukur. Setelah itu, di homogenkan (konsentrasi 2 ppm).

b) Memipet 4 mL larutan formalin dari konsentrasi 100 ppm dan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Setelah itu,

menambahkan aquadest secara perlahan sampai tanda batas 100 mL pada labu ukur dan dihomogenkan (konsentrasi 4 ppm).

- c) Larutan Formalin dengan konsentrasi 100 ppm diambil sebanyak 6 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya, ditambahkan dengan aquadest hingga tanda batas 100 mL dan dihomogenkan (konsentrasi 6 ppm).
- d) 8 mL larutan formalin dengan konsentrasi 100 ppm dipipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian, menambahkan aquadest secara perlahan sampai tanda batas 100 mL. Lalu, larutan dihomogenkan (konsentrasi 8 ppm).
- e) Memipet 10 mL larutan formalin dari konsentrasi 100 ppm, kemudian memasukkannya ke dalam labu ukur 100 mL. Setelah itu, menambahkan aquadest secara perlahan hingga tanda batas 100 mL dan dihomogenkan (konsentrasi 10 ppm).

7) Penentuan Panjang Gelombang Maximum

- a) Sebanyak 5 mL dari setiap larutan standar yang telah dibuat dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan dengan 5 mL asam kromatofat ke masing-masing larutan standar sesuai dengan konsentrasi. Setelah itu, larutan dihomogenkan.
- b) Tabung reaksi dari masing-masing konsentrasi larutan standar formalin tadi dipanaskan pada penangas air selama 15 menit.
- c) Setelah larutan dingin, masing-masing konsentrasi larutan standar formalin dimasukkan ke dalam kuvet.
- d) Selanjutnya, masing-masing larutan seri standar formalin dibaca serapannya pada rentang panjang gelombang 450-650 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

8) Preparasi sampel

- a) Masing-masing sampel daging ayam bagian dada yang telah diperoleh dari pedagang daging ayam yang berbeda, kemudian dibagi menjadi 3 bagian dengan berat yang sama. Setelah itu, dipisahkan terlebih dahulu antara tulang dan dagingnya sebelum dihaluskan.

- b) Setelah sampel daging ayam yang sudah dibagi menjadi 3 bagian dan kemudian dihaluskan.
 - c) Masing-masing sampel yang telah dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam beaker glass.
 - d) Setelah itu, ditambahkan dengan 100 mL aquadest diaduk sampai homogen.
 - e) Kemudian sampel diasamkan dengan menambahkan 1 mL Asam fosfat (H_3PO_4) 10% dan dimasukkan ke dalam tabung destilasi.
 - f) Setelah itu, dilakukan destilasi dengan suhu 96°C untuk memperoleh destilat sampel yang diinginkan.
 - g) Destilat sampel yang diperoleh ditampung ke dalam beaker glass, kemudian beri label pada masing-masing beaker glass (SNI-01-2894-1992).
 - h) Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan pada masing-masing sampel daging ayam yang akan dilakukan uji.
- 9) Uji Kualitatif Asam Kromatofat 0,5% (Haikal *et al.*, 2022)
- a) Prinsip

Hasil destilat setelah ditambahkan dengan Asam kromatofat dalam tabung reaksi. Apabila di dalam destilat sampel mengandung formalin dan dipanaskan dalam waktu 15 menit maka akan terbentuknya warna ungu. Karena terjadi reaksi antara formalin dalam sampel dengan asam kromatofat sehingga akan terbentuknya warna ungu lembayung.
 - b) Uji Warna
 - (1) Pengujian kontrol +

5 mL formalin 10 ppm + 5 mL Asam Kromatofat 0,5%
 - (2) Pengujian kontrol –

5 mL aquadest + 5 mL Asam Kromatofat 0,5%
 - (3) Pengujian sampel
 - (a) Destilat sampel dipipet sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi.

- (b) Setelah itu, ditambahkan asam kromatofat 0,5% sebanyak 5 mL dan dihomogenkan.
- (c) Selanjutnya, tabung reaksi yang berisi kontrol positif, kontrol negatif, dan sampel dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit. Pada tahap ini perubahan warna yang terjadi diamati.
- (d) Jika sampel mengandung formalin maka warna yang terbentuk adalah ungu muda hingga ungu tua.

10) Uji Kuantitatif Spektrofotometer Uv-Vis (Haikal, M. F., Baedi Mulyanto & Pudjono., 2022)

a) Prinsip

Penentuan konsentrasi formalin dilakukan berdasarkan pengukuran absorbansi, yaitu penyerapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu oleh larutan. Spektrofotometri digunakan untuk mengukur absorbansinya. Karena panjang gelombang yang digunakan berada dalam rentang visible (cahaya tampak), metode ini juga dikenal sebagai kolorimetri.

b) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Untuk menentukan λ_{maximum} , dapat dilakukan dengan memipet 5 mL larutan formalin 10 ppm dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi. Kemudian, menambahkan 5 mL Chromotropic acid 0,5%, lalu dihomogenkan. Selanjutnya, larutan dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit. Setelah itu, absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

c) Penetapan kadar formalin pada sampel

(1) Larutan blanko

Memipet 5 mL air suling dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, menambahkan asam kromatofat sebanyak 5 mL. Kemudian, larutan dihomogenkan dan dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit.

(2) Larutan standar formalin (kontrol +)

Dipipet 5 mL larutan standar formalin 10 ppm ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, ditambahkan 5 mL asam kromatofat 0,5% kemudian dihomogenkan. Setelah itu, larutan standar dipanaskan selama 15 menit.

(3) Larutan uji

- (a) Destilat sampel ayam yang positif mengandung formalin setelah uji kualitatif diencerkan terlebih dahulu menggunakan aquadest.
- (b) Memipet 5 mL hasil destilat dan memasukkannya ke dalam labu ukur 20 mL.
- (c) Setelah itu, ditambahkan aquadest hingga tanda batas pada labu ukur dan dihomogenkan.
- (d) Selanjutnya, hasil pengenceran destilat sampel dipipet 5 mL dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, ditambahkan 5 mL asam kromatofat 0,5%.
- (e) Setelah itu, dipanaskan pada penangas air selama 15 menit dan tunggu hingga dingin.
- (f) Kemudian sampel dimasukkan ke dalam kuvet.
- (g) Absorbansi sampel dibaca pada panjang gelombang maximum menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.
- (h) Lakukan hal yang sama pada semua sampel yang positif mengandung formalin dengan pengulangan sebanyak 3 kali untuk memastikan keakuratan dan konsistensi hasil analisis yang telah diperoleh.

(4) Larutan baku + sampel

- (a) Memipet 2 mL larutan baku formalin 10 ppm dan memindahkannya ke dalam labu ukur 20 mL.
- (b) Kemudian, memipet 2 mL sampel dan memindahkannya ke dalam labu ukur 20 mL yang berisi 2 mL baku formalin.
- (c) Setelah itu, aquadest ditambahkan hingga tanda batas pada labu ukur dan dihomogenkan.

- (d) Selanjutnya, sebanyak 5 mL hasil pengenceran larutan baku formalin + sampel dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, ditambahkan 5 mL asam kromatofat 0,5%.
- (e) Setelah larutan dipanaskan selama 15 menit, kemudian tunggu hingga larutan dingin.
- (f) Kemudian baku+sampel dimasukkan ke dalam kuvet.
- (g) Absorbansi sampel dibaca pada panjang gelombang maximum menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

11) Pembuatan Kurva Kalibrasi

Konsetrasi larutan standar dibuat dari larutan 1000ppm menjadi 2 ppm; 4ppm; 6ppm; 8ppm; dan 10ppm dan blanko 0 ppm. Sebanyak 5 mL dari setiap larutan standar dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL asam kromatofat 0,5% yang dilarutkan dalam asam sulfat 60%. Selanjutnya, larutan dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit. Setelah pemanasan, serapan larutan dibaca pada lamda maximum menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

Setelah absorbansi dari masing-masing larutan diketahui, konsentrasi sampel dapat ditentukan dengan membuat grafik kurva kalibrasi. Kurva ini menunjukkan hubungan antara absorbansi dan konsentrasi standar. Konsentrasi formalin dalam sampel kemudian dapat dihitung dengan rumus(Manoppo *et al.*, 2014):

$$Y = ax + b \text{ dan } X = \frac{y \pm b}{a}$$

Keterangan: y = Absorbansi sampel
 X = Konsentrasi sampel
 a = Kemiringan (Slope)
 b = Intercept

Setelah mengetahui konsentrasi sampel, langkah berikutnya adalah menghitung kadar formalin dalam setiap sampel larutan. Perhitungan kadar formalin dalam sampel dapat dilakukan menggunakan rumus:

$$K = \frac{C.V.Fp}{W}$$

Keterangan: K= kadar formalin pada sampel (mg/Kg)

C= konsentrasi sampel (mg/L)

V= volume sampel (L)

Fp= faktor pengenceran

W= berat sampel (kg)

F. Pengolahan dan Analisis Data

Data dikumpulkan melalui pengambilan sampel daging ayam dari Pasar Tradisional Untung, Kota Bandar Lampung. Kemudian, dilakukan analisis data secara deskriptif, yang meliputi uji kualitatif dengan asam kromatofat dan uji kuantitatif dengan spektrofotometri U-Vis untuk mengukur kadar formalin yang terkandung di dalam sampel. Hasil yang didapatkan, kemudian ditampilkan dalam bentuk tabel guna melihat persentase sampel daging ayam yang mengandung formalin. Analisis data berdasarkan persentase adalah sebagai berikut:

$$\text{Nilai \%} = \frac{\text{Jumlah sampel yang positif formalin}}{\text{Jumlah sampel yang diperiksa}} \times 100\%$$