

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen menggunakan desain penelitian yaitu eksperimental. Pada penelitian ini mempunyai dua variabel yaitu variabel bebas perendaman menggunakan larutan jeruk nipis konsentrasi 15% dengan variasi waktu 15, 30, 45, dan 60 menit sedangkan untuk variabel terikatnya yaitu kadar formalin pada ikan teri nasi. Digunakannya ekstraksi dengan destilasi dan dengan metode uji kuantitatif menggunakan Spektrofotometri pada penelitian ini.

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

##### **1. Lokasi**

Lokasi pengambilan sampel yaitu di pasar Bandar Jaya Lampung Tengah. Pemeriksaan pada sampel dilaksanakan di Laboratorium Kimia, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjung Karang.

##### **2. Waktu**

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April-Mei 2025.

#### **C. Subjek Penelitian**

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

Populasi yang digunakan pada penelitian yaitu ikan teri nasi yang diperjualkan di pasar Bandar Jaya Lampung Tengah.

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

Sampel penelitian ini adalah ikan teri nasi yang dibawa dari pasar Bandar Jaya Lampung Tengah, satu jenis sampel dibawa untuk diperiksa dan diberi perlakuan.

## D. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

Tabel 3.1. Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
<b>1</b>	<b>Bebas</b>					
	Waktu	Waktu pada perendaman ikan teri terhadap air jeruk nipis 15% menggunakan variasi waktu 15, 30, 45, dan 60 menit	Observasi	Stopwatch	Menit	Rasio
<b>2.</b>	<b>Terikat</b>					
	Kadar formalin	Untuk menentukan kandungan formalin yang terdapat pada ikan teri nasi yang dijual di pasar Bandar Jaya pada saat sebelum dan sesudah dilakukan perlakuan	a.Spektrofotometri	Spektrofotometer <i>UV-Visible</i>	b/w	Rasio

### E. Pengumpulan Data

Tabel 3.2. Tabel pengkajian data pengaruh perendaman air jeruk nipis (*Citrus aurantium*) terhadap penurunan kadar formalin

Konsentrasi 15%	Perlakuan (Jeruk nipis : %)	Pengulangan						Jumlah
		I	II	III	IV	V	VI	
1	15 menit							
2	30 menit							
3	45 menit							
4	60 menit							

#### 1. Pengambilan Sampel

Pada saat melakukan pengambilan sampel, peneliti harus mengajukan surat izin penelitian ke Direktur Politeknik Kesehatan Tanjung Karang, dan saat sudah menerima surat izin penelitian, pengambilan sampel dilakukan saat pagi hari dan untuk pengambilan sampel dilakukan secara random. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara peneliti membeli sampel dari penjual di pasar Bandar Jaya Lampung Tengah. Lalu, sampel ditempatkan di dalam plastik yang bersih kemudian dibawa ke Laboratorium Kimia Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjung Karang untuk diperiksa.

- Disiapkan wadah yang bersih lalu tandai dengan kode, lokasi, dan tanggal pengambilan sampel lalu dibawa ke laboratorium

Tabel 3.3. Pemeriksaan kualitatif dan kuantitatif

Metode Kualitatif	Metode Kuantitatif
1. Siapkan tabung reaksi satu untuk kontrol positif dan satu untuk sampel.	1) Menyiapkan sampel positif yang akan digunakan.
2. Timbang 20 gr sampel ikan teri nasi yang telah di homogenkan dan diambil lalu dihaluskan, tambahkan 100 ml akuadest.	2) Membuat larutan jeruk nipis.
3. Masukkan ke dalam labu destilat, asamkan dengan asam fosfat, setelah	3) Membuat larutan baku formalin.

asam lebihkan 1 ml.	
4. Hubungkan labu destilat dengan alat destilasi, perlahan-lahan destilasi sampel dan tampung. Destilasi sampai menghasilkan kurang lebih 10 ml.	4) Menentukan panjang gelombang $\lambda$ max
5. Masukkan 2 ml larutan asam kromatofat ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 ml destilat.	5) Menentukan kadar sampel sebelum dilakukan perendaman menggunakan larutan jeruk nipis.
6. Lalu homogenkan, panaskan dalam penangas air mendidih selama 15 menit.	6) Cara perendaman larutan jeruk nipis.
7. Adanya formalin ditunjukkan oleh timbulnya warna ungu pada larutan.	7) Pembuatan larutan uji sesudah perendaman larutan jeruk nipis.
8. Untuk kontrol positif dengan memasukkan 2 ml asam kromatofat dan 1 ml formalin 10 ppm ke dalam tabung reaksi.	8) Kurva kalibrasi
9. Untuk kontrol negatif dengan memasukkan 2 ml asam kromatofat dan 1 ml aquadest.	9) Pengolahan data dan Analisis data.

## 2. Alat dan Bahan

### a. Pengambilan sampel

- Wadah penyimpanan, spidol, label, ikan teri nasi

### b. Metode Kualitatif

- Tabung reaksi, kertas saring, naraca analitik, mortar, rangkaian alat destilasi, hot plate, erlenmeyer, asam fosfat, sampel, larutan akuades, asam kromatofat.

### c. Metode Kuantitatif

- Spektrofotometer UV-Visible, label, spatula, rangkaian alat destilasi, hot plate, mortar dan alu, labu alas bulat, corong kaca 5 cm, labu ukur 100 ml dan 50 ml, tabung reaksi, Erlenmeyer 50 ml, pipet ukur ( 1 ml, 5 ml, 25 ml), cawan arloji 10 cm , formalin 37%,

jeruk nipis, sampel ikan teri nasi, akuadest, asam kromatofat, asam fosfat ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) 10%.

- d. Pembuatan larutan jeruk nipis 15%
  - Jeruk nipis, air biasa, beaker glass
- e. Pembuatan larutan baku formalin
  - Formalin 37%, air akuadest, asam kromatofat, pipet ukur, labu ukur, tabung reaksi, kuvet, alat spektrofotometri UV-Vis
- f. Menentukan panjang gelombang
  - Larutan standar formalin, asam kromatofat 0,5%, akuadest, pipet ukur, labu takar, alat spektrofotometri UV-Vis
- g. Menentukan kadar sampel sebelum perendaman
  - Sampel, akuadest, asam fosfat, asam kromatofat, neraca analitik, labu destilat, alat destilasi, Erlenmeyer, tabung reaksi, alat spektrofotometri
- h. Perendaman larutan jeruk nipis 15%
  - Sampel, beaker glass, larutan jeruk nipis, label, neraca analitik, mortar
- i. Pembuatan larutan uji rendam sesudah perendaman
  - Sampel yang sudah dilakukan perendaman, akuades, asam fosfat, asam kromaofat, alat destilasi, Erlenmeyer, alat spektrofotometri
- j. Kurva kalibrasi
  - Larutan standar formalin, asam kromatofat, alat spektrofotometri, kuvet

### 3. Pemeriksaan Laboratorium .

#### A. Metode Kualitatif

- Siapkan tabung reaksi satu untuk kontrol positif dan satu untuk sampel.
- Timbang 20 gr sampel ikan teri nasi yang telah di homogenkan dan diambil lalu dihaluskan, tambahkan 100 ml akuadest.
- Masukkan ke dalam labu destilat, asamkan dengan asam fosfat, setelah asam lebihkan 1 ml.

- Hubungkan labu destilat dengan alat destilasi, perlahan-lahan destilasi sampel dan tampung. Destilasi sampai menghasilkan kurang lebih 10 ml.
- Masukkan 2 ml larutan asam kromatofat ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 ml destilat.
- Lalu homogenkan, panaskan dalam penangas air mendidih selama 15 menit.
- Adanya formalin ditunjukkan oleh timbulnya warna ungu pada larutan.
- Untuk kontrol positif dengan memasukkan 2 ml asam kromatofat dan 1 ml formalin 10 ppm ke dalam tabung reaksi
- Lalu homogenkan, adanya formalin ditunjukkan oleh timbulnya wana ungu pada larutan
- Untuk kontrol negatif dengan memasukkan 2 ml asam kromatofat dan 1 ml aquadest
- Lalu homogenkan

## B. Metode Kuantitatif

### 1) Prosedur Kerja

1. Perendaman ikan teri menggunakan formalin
  - a. Siapkan sampel ikan teri nasi
  - b. Kemudian disiapkan larutan formalin dengan konsentrasi 1%
  - c. Rendam ikan teri nasi yang sudah disiapkan dengan larutan formalin 1% selama 60 menit (Amania, 2024)
2. Cara pembuatan larutan jeruk nipis
  - a. Membuat larutan jeruk nipis 15% dengan memeras jeruk nipis yang akan digunakan sebanyak 15 mL dan tambahkan 85 mL air biasa lalu dimasukkan ke dalam 4 beaker glass pada setiap beaker glass berisikan volume 50 mL kemudian pada setiap beaker glass diberi label.

### 3. Cara pembuatan Larutan Baku Formalin

- a. Pipet sebanyak 3 mL formalin 37% kemudian masukkan ke dalam labu ukur lalu ditambahkan air akuadest sebanyak 100 mL sehingga didapatkan hasil larutan baku formalin yaitu 10.000 ppm.
- b. Kemudian encerkan larutan dari 10.000 ppm menjadi 1000 ppm dengan cara memipet 10 mL dari 10.000 ppm lalu masukkan ke sebuah labu ukur, setelah itu ditambahkan 100 mL akuadest, sampai didapatkan larutan baku formalin yaitu 1000 ppm.
- c. Pada hasil larutan baku formalin 1000 ppm diencerkan kembali menjadi 100 ppm dengan cara memipet 10 mL dari 1000 ppm kemudian masukkan ke dalam labu ukur 100 mL lalu tambahkan akuadest sampai tanda batas, sehingga didapatkan larutan baku formalin 100 ppm.
- d. Jika 100 ppm sudah diencerkan sebagai larutan standarnya, kemudian buat konsentrasi yang berbeda diantaranya 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 ppm. Setelah itu masukkan ke dalam labu ukur yang telah diberi label lalu tambahkan akuadest sampai tanda batas.
- e. Lalu ambilah masing-masing 5 mL dari larutan standar kemudian masukkan ke tabung reaksi kemudian tambahkan larutan asam kromatofat sebanyak 5 mL disetiap konsentrasi yang berbeda.
- f. Setelah itu homogenkan
- g. Lalu dipanaskan pada penangas air selama 15 menit
- h. Setelah itu pipet larutan dan dimasukkan kedalam kuvet
- i. Kemudian ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Amania., 2024)

### 4. Cara untuk menentukan panjang gelombang $\lambda$ max

Pada konsentrasi standar larutan formalin 100 ppm pipet 10 mL, kemudian masukkan ke labu takar 100 mL lalu encerkan

menggunakan air aquadest sampai tanda batas. Kemudian ditambahkan 5 mL asam kromatofat 0,5%, sehingga didapatkan larutan sejumlah 10 ppm. Kemudian ukur absorbansi larutan standar dengan rentang panjang gelombang 500-600 nm dengan memakai alat spektrofotometri UV-Vis.

5. Menentukan kadar sampel sebelum dilakukan perendaman menggunakan larutan jeruk nipis
  - a. Sampel ikan teri nasi ditimbang sebanyak 20 gram kemudian di haluskan.
  - b. Lalu masukkan sampel yang sudah halus kedalam labu destilat kemudian tambahkan 100 mL aquadest dan larutan asam fosfat 10% sebanyak 1 mL.
  - c. Setelah itu hubungkan labu destilat dengan pendingin kemudian lakukan destilasi 96°C.
  - d. Hasil dari destilasi ditampung menggunakan Erlenmeyer sebanyak 10 mL.
  - e. Kemudian diambil hasil dari destilasi sebanyak 5 mL lalu dimasukkan ke tabung reaksi dan tambahkan 5 mL asam kromatofat.
  - f. Lalu panaskan dalam waktu 15 menit lalu didinginkan
  - g. Kemudian pipet dan masukkan ke dalam kuvet
  - h. Setelah itu ukur absorbansinya menggunakan alat spektrofotometri
  - i. Lalu hitung kadar formalinnya
6. Cara perendaman larutan jeruk nipis
  - a. Disiapkan 4 beaker glass dengan ukuran 100 mL untuk perendaman jeruk nipis
  - b. Lalu diberi label waktu 15, 30, 45, dan 60 menit di setiap perendaman jeruk nipis
  - c. Kemudian masukkan larutan jeruk nipis 15% ke dalam 4 beaker glass yang sudah diberi label pada variasi waktu (15, 30, 45, dan 60 menit) sebanyak 50 mL



- d. Sampel ikan teri nasi ditimbang sebanyak 10 gram lalu masukkan ke dalam beaker glass yang berisikan larutan jeruk nipis 15% di setiap variasi waktu 15, 30, 45, dan 60 menit
- e. Lalu pada setiap waktu perendaman selesai, ambil ikan teri nasi yang sudah direndam kemudian haluskan menggunakan mortar.
7. Cara pembuatan larutan uji sesudah perendaman larutan jeruk nipis
  - a. Sampel ikan teri nasi yang sudah direndam dan telah dihaluskan, kemudian dimasukkan kedalam labu destilasi.
  - b. Kemudian tambahkan 50 mL aquadest dan larutan asam fosfat sebanyak 1 mL
  - c. Hubungkan labu destilat pada pendingin lalu lakukan destilasi suhu 96°C
  - d. Setelah itu tampung hasil destilat sebanyak 10 mL menggunakan Erlenmeyer
  - e. Lalu ambil hasil destilasi sebanyak 5 mL kemudian masukkan ke tabung reaksi dan ditambahkan larutan asam kromatofat 5 mL
  - f. Panaskan dengan suhu 96°C selama 15 menit lalu dinginkan
  - g. Setelah dingin ukurlah absorbansinya dengan alat spektrofotometri pada panjang gelombang 579,0 nm
  - h. Lakukan pengulangan sebanyak 6 kali
8. Kurva kalibrasi

Pada kurva kalibrasi dilakukan pembuatan larutan standar dengan mempersiapkan standar larutan formalin untuk membuat beberapa konsentrasi 0,1, 2, 4, 6, 8,10 ppm. Setelah itu ditambahkan larutan asam kromatofat sebanyak 5 mL, lalu dilakukan pengukuran absorbansi dengan alat spektrofotometri yaitu dengan panjang gelombang 500-600 nm. Agar dapat mengetahui konsentrasi sampel bisa menggunakan kurva kalibrasi, dengan dihubungkannya absorbansi pada konsentrasi standar. Pada setiap larutan yang dimasukkan ke dalam kuvet bisa menentukan kadar formalin. Untuk pengukuran panjang gelombang maksimum bisa melihat dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis. Akan diperoleh persamaan regresi linear  $y = bx + a$ , sehingga dapat digunakan untuk mengetahui kadar formalin pada sampel, dimana :  $y = bx + a$

y = menyatakan absorbansi

x = konsentrasi

b = koefisien regresi

a = tetapan regresi

Rumus penetapan kadar formalin :

$$K = \frac{x.v}{w}$$

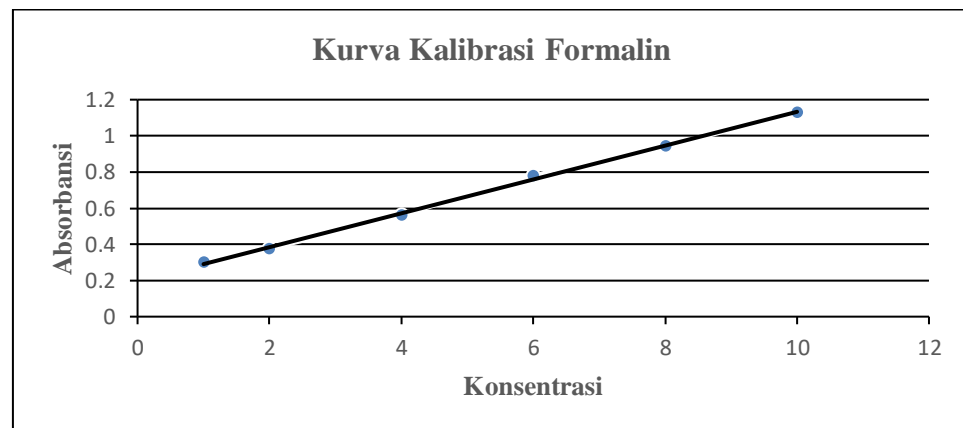
Keterangan :

K = kadar formalin dalam sampel

x = konsentrasi sampel

v = volume sampel

w = berat sampel



Gambar 3.1. Kurva standar larutan formalin

## 9. Pembuatan Dalam Pengolahan Data dan Analisis Data

### a. Pengolahan Data

- 1) Menggunakan *coding* untuk memberikan kode pada sampel ikan teri nasi yang diteliti agar tidak menyulitkan pada saat data dimasukkan ke program computer.
- 2) Adapun *editing* untuk meneliti serta mengkaji data yang sudah didapat.
- 3) *Tabulating* merupakan proses yang dilakukan apabila data tersebut masuk lalu dirangkap dan disusun kedalam sebuah tabel agar bisa dengan mudah membacanya.

- 4) *Entry* digunakan dalam memasukkan data yang telah didapat untuk dikelompokkan untuk diolah lebih lanjut didalam komputer.

b. Analisis Data

Pada analisis data yang digunakan yaitu Analisis data univariat dan bivariat.

- 1) Analisis data univariat merupakan analisis data pada variabel yang diperoleh dari hasil penelitian pada setiap waktu perendaman setelah pengulangan sebanyak 6 kali lalu diakumulasikan dan dihitung rata-ratanya.
- 2) Analisis bivariat merupakan analisa data yang dilakukan pada 2 variabel. Analisis bivariat mampu mendapatkan adanya pengaruh kadar terhadap perlakuan yang dilakukan pada larutan jeruk nipis pada ikan teri nasi dengan menggunakan uji *Two Way Anova* untuk mengetahui pengaruh kadar formalin yang sudah direndam dengan larutan jeruk nipis, dengan syarat data harus terdistribusi normal.

10. *Ethical Clearence* (Persetujuan Etik)

Penelitian ini dilakukan atas izin dari komisi etik, meskipun pada penelitian ini tidak menggunakan subyek manusia, tetapi harus dilakukan secara etik, naskah proposal diserahkan pada Komite Etik Poltekkes Tanjungkarang agar dilakukan evaluasi kelayakannya. Pada hasil tinjauan etik menunjukkan bahwasannya penelitian ini sudah layak secara etik. Berdasarkan pada nomor surat etik No.041/KEPK-TJK/III/2025.