

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dari penelitian ini adalah minuman sari buah yang mengandung sakarin yang dijual di berbagai Pasar Surakarta, Jawa Tengah dari 5 pedagang yang berbeda, yaitu di Pasar Nusukan, Pasar Legi, Pasar Mojosongo, Pasar Klewer dan Pasar Gede.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah minuman sari buah yang mengandung sakarin.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Identifikasi variabel utama memuat identifikasi dari semua sampel yang diteliti langsung. Variabel utama pada penelitian ini memuat tentang identifikasi dan penetapan kadar sakarin pada minuman sari buah secara spektrofotometri UV-Vis.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama diklasifikasikan menjadi 2 variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang dapat mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sampel minuman sari buah. Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar sakarin pada minuman sari buah dengan berbagai pedagang yang berbeda.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Operasional variabel utama adalah minuman sari buah yang mengandung sakarin. Minuman sari buah merupakan minuman yang diperoleh dengan mencampur air minum, sari buah atau campuran sari buah yang tidak difermentasi, dengan bagian lain dari satu jenis buah atau lebih, dengan atau tanpa penambahan gula, bahan pangan lainnya, bahan tambahan pangan yang diizinkan.

Analisis sakarin dapat ditentukan kadarnya dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu metode analisis yang memanfaatkan sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dan sinar tampak dengan memakai instrumen spektrofotometer.

C. Bahan dan Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian ini meliputi, alat spektrofotometri UV-Vis, corong pisah, Erlenmeyer, gelas ukur, kertas saring biasa, labu tentukur 50 ml dan 100 ml, pipet volume, pengaduk kaca, penangas air, timbangan analitik.

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini meliputi : 5 sampel minuman sari buah, baku sakarin pa, eter, aquades, larutan HCl 10%, larutan H_2SO_4 pekat, larutan NaOH 0,1 N, resorsinol pa.

D. Jalannya Penelitian

1. Preparasi Sampel

Sampel sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam beaker gelas 100 ml lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas 100 ml kemudian diaduk hingga homogen dan disaring dengan menggunakan kertas saring.

2. Analisis Kualitatif dengan Uji Resorsinol

Sampel sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam corong pisah dan diasamkan dengan 10 tetes HCl 10%, dan diekstraksi dengan 25 ml eter sebanyak 1 kali. Ekstrak eter dikumpulkan dan diuapkan dalam tabung reaksi di udara terbuka. Tambahkan 10 tetes H_2SO_4 pekat dan 40 mg resorsinol lalu dipanaskan perlahan-lahan hingga warna hijau kotor, selanjutnya didinginkan dan ditambahkan 10 ml aquades dan NaOH 10 % berlebih. Bila terjadi warna hijau berfluoresensi berarti sakarin positif dalam contoh. (SNI - 01 - 2893 - 1994)

3. Analisis Kuantitatif

3.1. Pembuatan Larutan Baku Sakarin 1000 ppm

Pembuatan larutan baku dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 0,1 gram sakarin kemudian dilarutkan dengan aquades. Ditambahkan 1 ml H_2SO_4 pekat, lalu dipanaskan diatas penangas air selama 3 menit. Dibiarkan sampai dingin, lalu masukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Dicukupkan volumenya sampai tanda batas.

3.2. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Dibuat larutan standar 75 ppm dengan cara dipipet larutan baku sebanyak 7,5 ml ke dalam labu Erlenmeyer ditambahkan 50 mg resorsinol dan 1 ml H_2SO_4 pekat kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 3 menit. Didinginkan, dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Ditambahkan 10 ml NaOH 0,1 N dan dicukupkan volumenya sampai tanda garis. Diukur serapan larutan standar 75 ppm pada panjang gelombang maksimum 200 - 400 nm. Larutan blanko adalah aquades.

3.3. Penentuan *Operating Time*

Operating Time memiliki tujuan untuk mengetahui waktu pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi paling stabil. *Operating time* dilakukan dengan mengukur antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara larutan stok 1000 ppm dipipet sebanyak 7,5 ml ke dalam labu Erlenmeyer ditambahkan 50 mg resorsinol dan 1 ml H_2SO_4 pekat kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 3 menit. Didinginkan, dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Ditambahkan 10 ml NaOH 0,1 N dan cukupkan volumenya sampai tanda garis. Selanjutnya dengan menggunakan blanko diukur absorbansinya setelah 1 menit, 2 menit, 3 menit sampai 30 menit pada panjang gelombang maksimum terpilih untuk mengetahui waktu yang menunjukkan kestabilan sakarin.

3.4. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Sakarin

Membuat larutan standar dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm dan 7 ppm. Konsentrasi dipipet dari larutan standar 75 ppm masing-masing sebanyak 0,26 ml; 0,4 ml; 0,53 ml; 0,67 ml; 0,8 ml; dan 0,93 ml. Kemudian masing-masing larutan dimasukkan kedalam labu takar 10 ml dan cukupkan volumenya sampai tanda garis menggunakan aquades. Masing-masing diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan *operating time* yang telah ditentukan.

3.5. Validasi Metode Analisis

3.5.1. Linieritas

Linearitas didapatkan dari pengenceran larutan stok sehingga didapatkan larutan seri konsentrasi. Pengujian ini dilakukan dengan cara siapkan 6 buah labu tentukur 10 mL. Larutan standar 75 ppm dipipet masing-masing sebanyak 0,26 ml; 0,4 ml; 0,53 ml; 0,67 ml; 0,8 ml; dan 0,93 ml dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL sehingga didapatkan larutan seri standar dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm dan 7 ppm. Kemudian ditambah aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan. Diukur absorbansinya masing-masing larutan standar dengan menggunakan data panjang gelombang maksimum dan operating time yang telah ditentukan.

3.5.2. Akurasi

Akurasi diperoleh dengan cara dibuat 3 seri konsentrasi dari larutan standar sakarin 75 ppm yaitu 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm. Larutan baku asam salisilat 100 ppm dipipet sebanyak 0,4 ml; 0,53 ml dan 0,67 ml. Dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL. Kemudian ditambah aquades sampai tanda batas. Setiap konsentrasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum dan operating time yang telah didapatkan.

3.5.3. Presisi

Presisi diperoleh dengan membuat seri konsentrasi 5 ppm sebanyak 6 replikasi. Disiapkan 6 labu tentukur 10 mL yang telah diberi label. Dari larutan standar sakarin 75 ppm, diencerkan menjadi konsentrasi 5 ppm dengan cara dipipet sebanyak 0,67 mL larutan standar konsentrasi 75 ppm, dimasukkan dalam labu tentukur 10 mL, ditepatkan dengan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan. Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada Panjang gelombang maksimum.

3.5.4. Selektivitas

Ditimbang dengan teliti 10 gram contoh, lalu diencerkan dengan aquades 100 ml. Ditambahkan arang aktif untuk menghilangkan warna lalu disaring sebanyak 3 kali. Hasil saringan dipipet 10 ml kedalam Erlenmeyer lalu ditambahkan 50 mg resorsinol dan 1 ml H_2SO_4 pekat. Dipanaskan diatas penangas air selama 3 menit, kemudian didinginkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Ditambahkan 10 ml NaOH 0,1 N, dan encerkan sampai tanda garis. Dengan menggunakan blanko, diukur pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

3.5.5. LOD dan LOQ

Batas deteksi dan batas kuantifikasi ditentukan menggunakan regresi kurva kalibrasi yang diperoleh. Nilai LOD = 3,3 (SD/b) dan nilai LOQ = 10 (SD/b).

3.6. Penetapan Kadar Sampel

Ditimbang dengan teliti 10 gram contoh, lalu diencerkan dengan aquades 100 ml. Ditambahkan arang aktif untuk menghilangkan warna lalu disaring sebanyak 3 kali. Hasil saringan dipipet 10 ml kedalam Erlenmeyer lalu ditambahkan 50 mg resorsinol dan 1 ml H_2SO_4 pekat. Dipanaskan diatas penangas air selama 3 menit, kemudian didinginkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Ditambahkan 10 ml NaOH 0,1 N, dan encerkan sampai tanda garis. Diukur absorbansinya dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum dan *operating time* yang telah ditentukan.

E. Analisis Hasil

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Untuk menentukan kadar sakarin harus dibuat persamaan kurva regresi dari larutan standar, kemudian data absorbansi sampel dimasukkan dalam persamaan sehingga diperoleh kadar sampel.

Dengan menggunakan rumus

$$y = ax + b$$

Dimana y = absorbansi

a = slope

b = intersep

x = konsentrasi

Kadar sampel yang diperoleh (ppm, dikonversikan dalam satuan persentase (%)).

$$\text{Kadar sakarin (\%)} = \frac{X \times F_p \times V_s \times 100\%}{B_s}$$

Keterangan :

X : Konsentrasi (ppm) = mg/L

Vs : Volume larutan sampel (L)

Fp : Faktor pengenceran

Bs : Berat sampel (mg)