

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi.

Populasi adalah kumpulan yang lengkap dari seluruh elemen yang sejenis dan dapat dibedakan menjadi obyek penelitian (Sudjana, 2000). Populasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sari buah yang dijual di pinggir jalan beredar di daerah Kelurahan Mojosongo, Jebres, Surakarta.

2. Sampel.

Sampel adalah bagian dari populasi yang akan diamati; dilihat sebagai perkiraan populasi, namun bukan populasi itu sendiri. Sampel dianggap representatif dari populasi, representasi dari keseluruhan fenomena diamati (Sugiyono, 2006). Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu minuman sari buah berwarna kuning yang diambil dari daerah Kelurahan Mojosongo, Jebres, Surakarta. Pengambilan sampel sebanyak 5 buah minuman yang dijual di pinggir jalan.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel

Variabel utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah pewarna tartrazin yang terkandung dalam minuman sari buah yang tidak mempunyai nama dagang.

2. Klasifikasi Variabel

Variabel bebas adalah variabel yang dapat mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat. Variabel bebas sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah minuman sari buah yang tidak memiliki nama dagang.

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi suatu akibat, karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar pewarna tartrazin dalam minuman sari buah.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang perlu dinetralisir atau ditetapkan kualitasnya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulangi oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol pada penelitian ini meliputi penelitian, waktu penelitian, kondisi alat spektrofotometer UV-Vis.

3. Definisi Operasional Variabel

Pada penelitian ini, definisi operasional variabel utama, minuman sari buah adalah hasil pengepresan atau ekstraksi buah yang sudah disaring dan sering dikonsumsi oleh masyarakat. Operasional variabel lainnya yaitu Tartrazin, merupakan salah satu dari sekian banyak zat warna sintetik yang ditambahkan kedalam produk pangan. Tartrazin sendiri yaitu zat yang memberikan warna kuning lemon. Operasional variabel terakhir yaitu

minuman sari buah berwarna kuning yang di jual di pinggir jalan wilayah Keluahan Mojosongo, Jebres, Surakarta.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minuman sari buah yaitu sampel A, B, C, D dan E. Bahan lain yang digunakan yaitu zat standar tartrazin Cl No.19140, asam sulfat (1:3), HCl 2%, NaOH 10%, methanol, n-butanol, tri natrium citrat, aquadestilata dan ammonia pekat.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat Spektrofotometer UV-Vis 1800 shimadzu, neraca analitik, gelas ukur (iwaki Pirex®), labu tentukur (iwaki Pirex®), corong pisah (iwaki Pirex®), lampu pembakar, pinset, pH meter, pipet volume, kertas kromatografi , batang pengaduk, chamber, pipa kapiler, mikropipet (Dragon Onemed®), benang wol bebas lemak dan droplet.

D. Alur Penelitian

1. Uji Kualitatif

Sebanyak 30,0 mL larutan sampel minuman sari buah berwarna kuning diasamkan dengan HCl 2% (sampai pH 2). Larutan sampel dimasukkan benang wol bebas lemak (\pm 45 cm) agar zat warna dalam sampel terserap

kebenang wol. Larutan kemudian dipanaskan selama ± 30 menit selanjutnya benang wol diangkat lalu dicuci dengan NaOH 10% sehingga zat warna yang melekat pada benang wol larut. Larutan hasil pencucian diuapkan di atas penangas air sampai mengering, lalu tambahkan methanol secukupnya. Setelah dilarutkan methanol kemudian diidentifikasi dengan menggunakan Kromatografi Lapis Kertas. Pengelusi yang digunakan terdiri dari campuran larutan tri natrium citrat, aquadestilata dan ammonia pekat dengan perbandingan (tri natrium citrat (2): aquadestilata (95) : ammonia(5)) (Ilmiati, 2011).

2. Uji Kuantitatif

2.1. Pembuatan larutan stok konsentrasi 1000 ppm. Baku zat warna ditimbang 100 mg menggunakan timbangan analitik dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 mL kemudian dilarutkan dengan aquadestilata sampai tanda batas 100,0 mL. Larutan ini adalah larutan baku dengan konsentrasi 1000 ppm.

2.2. Penentuan panjang gelombang maksimum. Larutan baku dengan konsentrasi 10,24 ppm diambil baku 1024 ppm menggunakan pipet volume 1,0 mL baku masukkan kedalam labu tentukur 100,0 mL ditambahkan aquadestilata sampai tanda, kemudian dilakukan scanning pada panjang gelombang 400-800 nm sehingga diperoleh absorbansi maksimum.

2.3. Pembuatan Kurva Baku. Pembuatan larutan standar tartrazin 6,14; 8,19; 10,24; 12,29; dan 14,34 ppm. Larutan standar yang sudah dibuat berbagai

macam konsentrasi tersebut dibaca serapannya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 426 nm.

2.4. Validasi Metode.

2.4.1. Akurasi. Dibuat dengan konsentrasi 8,19; 10,24 dan 12,29 ppm pada labu tentukur 25,0 mL, dibaca absorbansinya dengan panjang gelombang 426 nm sebanyak 3 kali pengulangan.

2.4.2. Presisi. Dibuat dengan konsentrasi 10,24 ppm dari larutan induk 1024 ppm pada labu tentukur 25,0 mL, dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 426 nm, diulangi sebanyak 10 kali pemipetan dengan perlakuan yang sama.

2.4.3. LOD. Dilakukan dengan pengujian akurasi dan presisi, kemudian dihitung dalam persamaan (Mulja, 1995) :

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \times SD}{\text{Slope}}$$

2.4.4. LOQ. Dapat dilakukan dengan pengujian akurasi dan presisi, kemudian dihitung dalam persamaan (Mulja, 1995) :

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times SD}{\text{Slope}}$$

2.4.5. Linieritas. Uji linearitas pada baku tartrazin 1024 ppm, dibuat dengan konsentrasi 6,14; 8,19; 10,24; 12,29; dan 14,34 ppm. Dibaca absorbansinya dengan panjang gelombang 426 nm. Sehingga dimasukkan dalam persamaan $y = a + bx$.

2.4.6. Penetapan kadar. Penetapan kadar sampel dilakukan dengan pengukuran absorbansi sampel yang sudah dipreparasi dengan panjang gelombang 426 nm. Kadar tartrazin dalam sampel dapat dihitung dengan persamaan $y=a+bx$ dibagi berat sampel dikali faktor pengenceran.

2.5. Preparasi sampel. Sebanyak 50,0 mL sampel minuman berwarna kuning dimasukkan ke dalam corong pisah. Selanjutnya ditambahkan 1,0 mL asam sulfat (1:3) dan diekstraksi dengan 10,0 mL n-butanol sebanyak empat kali ekstraksi. Fase organik yang mengandung zat warna ditambahkan eter dengan volume yang sama lalu diekstraksi dengan 10,0 mL aquadestilata sebanyak tiga kali. Fase akhir yang diperoleh dimasukkan dalam labu tentukur 25,0 mL lalu diencerkan dengan aquadestilata sampai tanda batas. Larutan ini kemudian diuji dengan menggunakan Spektrofotometri UV-VIS.

E. Analisis Hasil

1. Penentuan Nilai Rf Sampel Secara Kromatografi Kertas

Penentuan nilai Rf sampel dilakukan dengan cara mengukur jarak yang ditempuh oleh bercak noda dengan jarak yang ditempuh oleh garis depan pelarut. Nilai Rf pada sampel dapat ditentukan melalui rumus berikut:

$$\text{nilai Rf} = \frac{\text{jarak yang ditempuh sampel}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

2. Analisis Kadar Zat Pewarna Tartrazin dengan Spektrofotometer UV-Vis

Data yang diperoleh dari pengukuran panjang gelombang sampel, kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan 5 varian konsentrasi yang berbeda antara serapan dengan konsentrasi zat pewarna tartrazin. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan spektrofotometer UV-VIS, sehingga kadar zat warna tartrazin dapat dihitung dengan persamaan regresi linear sebagai berikut :

$$y = a + bx$$

Keterangan :

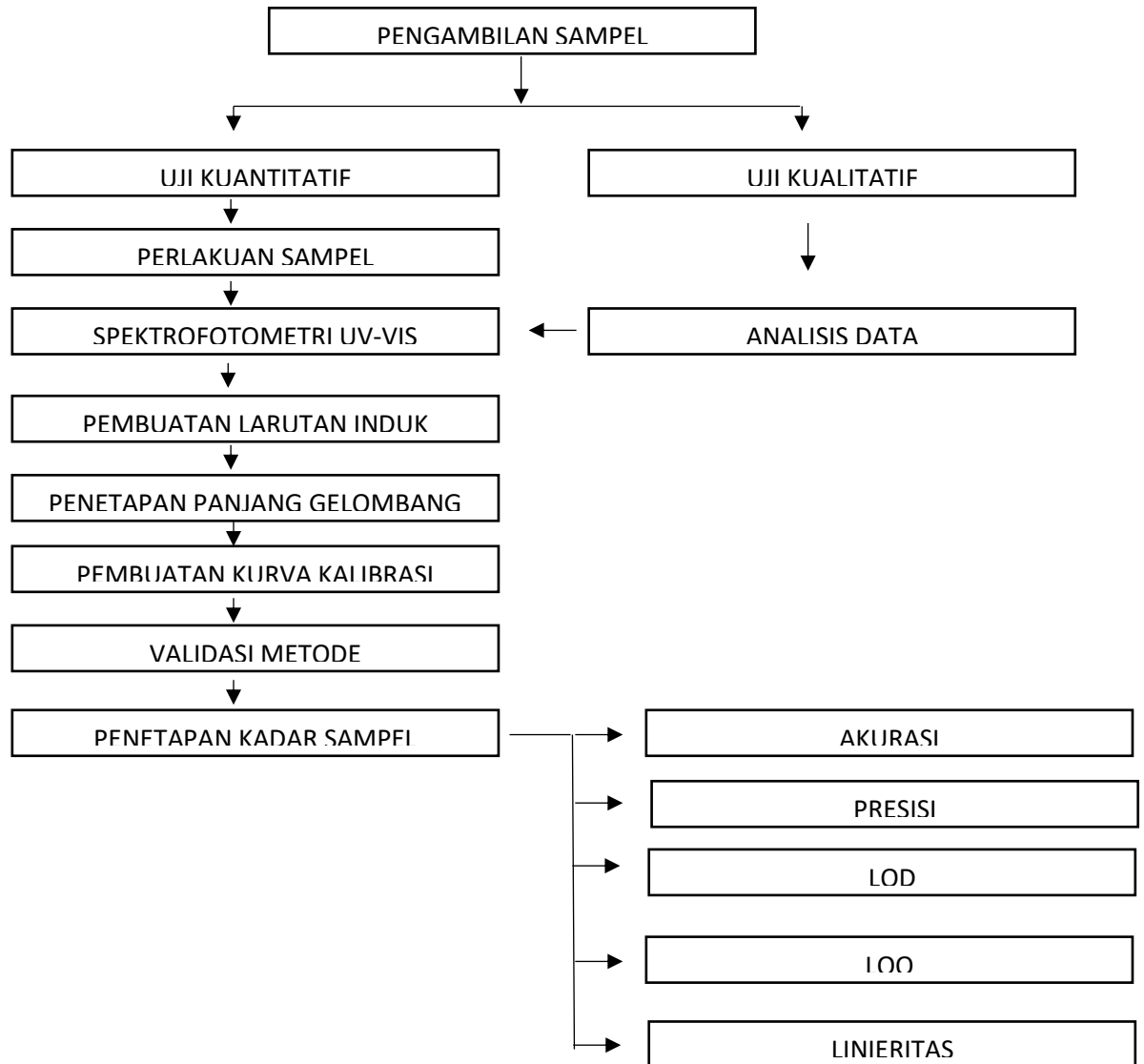
y = absorbansi

a = tetapan regresi (intersep)

b = koefisien regresi (slope)

x = konsentrasi

3. Skema Penelitian.



Gambar 10. Skema penelitian

