

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan unit atau individu dalam suatu ruang lingkup yang akan diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi wortel yang diambil dari daerah Tawangmangu (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 800 mdpl) dan daerah Boyolali (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 900 mdpl).

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang digunakan adalah umbi wortel yang diambil dari daerah Tawangmangu (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 800 mdpl) dan daerah Boyolali (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 900 mdpl).

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama penelitian ini adalah umbi wortel dari daerah Tawangmangu (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 800 mdpl) dan daerah Boyolali (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 900 mdpl).

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama diklasifikasi dalam berbagai bentuk variabel, yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel terikat.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah umbi wortel yang diambil dari daerah Tawangmangu (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 800 mdpl) dan daerah Boyolali (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 900 mdpl).

Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel kendali pada penelitian ini adalah berat penimbangan sampel, preparasi sampel, larutan jernih, timbal (Pb), pemipetan sampel, reagen atau pereaksi, konsentrasi sampel, absorbansi sampel, kondisi penelitian dan metode penelitian, yaitu Spektrofotometri Serapan Atom (SSA).

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar logam berat timbal (Pb) pada sampel umbi wortel yang diambil dari daerah Tawangmangu (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 800 mdpl) dan daerah Boyolali (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 900 mdpl).

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, umbi wortel yang digunakan adalah umbi wortel yang diambil dari daerah Tawangmangu (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 800 mdpl) dan daerah Boyolali (ketinggian ± 1.700 mdpl dan ± 900 mdpl) dengan bobot berkisar antara 70 – 90 gram.

Kedua, destruksi basah yaitu pemanasan sampel dengan adanya pengoksidasi kuat seperti asam-asam mineral baik tunggal maupun campuran.

Ketiga, larutan jernih adalah suatu zat larutan yang tidak mengandung zat tambahan atau zat lainnya, yang sifatnya sendiri dan tidak memiliki campuran apapun.

Keempat, batas ambang cemaran logam berat timbal (Pb) pada umbi wortel berdasarkan SNI Nomor 7387-2009 tentang Batas Maksimum Cemaran Logam timbal dalam buah dan sayur adalah $\leq 0,5$ mg/kg.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik, penangas air, labu takar, pipet volume, gelas ukur, mikro pipet, *Beaker glass*, mortir, stamper, pipet ukur, pipet tetes, Erlenmeyer, batang pengaduk, kertas saring *Whatman* no.42, corong kaca, neraca analitik, Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) shimadzu AA – 6200, dan lampu katoda berongga (*Hollow Cathode Lamp*) timbal (Pb) .

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel umbi wortel, aquabides, $\text{HCl}_{\text{pekat}}$, larutan baku $\text{Pb}(\text{NO}_3)$ dan larutan $\text{HNO}_3(\text{pekat})$.

D. Jalannya Penelitian

1. Uji Kualitatif

Analisis kualitatif dilakukan menggunakan lampu katoda berongga yang disesuaikan dengan unsur yang akan dianalisis. Unsur yang dianalisis adalah timbal (Pb), maka digunakan lampu katoda berongga timbal (Pb) sehingga apabila lampu

katoda berongga timbal (Pb) dikenakan pada sampel dan memberi absorbansi, maka sampel tersebut terdapat timbal (Pb).

2. Uji Kuantitatif

2.1. Preparasi sampel. Penelitian ini dilakukan untuk menetapkan kadar timbal pada sampel umbi wortel dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom menggunakan metode destruksi basah. Sampel terlebih dahulu dicuci ditiriskan dipotong kecil-kecil, lalu ditumbuk sampai halus dan kemudian sampel ditimbang sebanyak 10 gram, dimasukkan ke dalam *Beaker glass* dan ditambah 10 ml aquabides, 25 ml asam klorida dan 10 ml asam nitrat. Dipanaskan hingga cairan menjadi jernih, jernihnya cairan menandakan proses destruksi telah sempurna. Setelah proses destruksi selesai cairan didiamkan sampai dingin. Disaring dengan kertas saring *whatman* no 42. Hasil saringan (filtrat) dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml, kemudian ditambahkan aquabides hingga tanda batas dan dihomogenkan. Sampel siap diukur dengan Spektrofotometri Serapan Atom (Lestari *et al.*, 2010).

2.2. Pembuatan larutan stok baku timbal (Pb). Sebanyak 2,5 ml larutan standar $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 1000,0 mg/L dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml, dilarutkan dengan aquabides sampai tanda batas labu ukur sehingga didapatkan larutan baku $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 100 mg/L.

2.3. Pembuatan kurva baku timbal (Pb). Larutan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 100 mg/L dibuat larutan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dengan konsentrasi 2; 3; 4; 5; dan 10 mg/L. Larutan standar dengan berbagai konsentrasi kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometri serapan atom pada panjang gelombang 283,3 nm, kemudian hasilnya diplot menjadi kurva kalibrasi.

2.4. Validasi Metode

2.4.1. Linearitas. Larutan dengan seri konsentrasi 2; 3; 4; 5; dan 10 mg/L, dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 283,3 nm. Hasil absorbansi yang diperoleh dimasukkan dalam persamaan $y = b x + a$.

2.4.2. Akurasi. Larutan dengan konsentrasi 3; 4; dan 5 mg/L yang dibuat dari larutan induk $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 100 mg/L, dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 283,3 nm dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

2.4.3. Presisi. Larutan dengan konsentrasi 5 mg/L yang dibuat dari larutan induk $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 100 mg/L, dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 283,3 nm dan dilakukan pengulangan sebanyak 10 kali.

2.4.4. LOD dan LOQ. Pengujian LOD dan LOQ dapat dilakukan berdasarkan nilai presisi dan akurasi.

2.5. Penentuan Kadar Sampel. Penentuan kandungan timbal (Pb) dilakukan dengan pengukuran serapan sampel yang telah dipreparasi dengan menggunakan spektrofotometri serapan atom pada panjang gelombang 283,3 nm. Nilai absorbansi yang didapatkan disubstitusikan ke dalam persamaan $y = bx + a$, dimana b adalah nilai *slope*, x adalah konsentrasi, dan a adalah nilai *intersep*, sehingga diperoleh nilai konsentrasi timbal pada masing-masing sampel. Perhitungan kadar timbal (Pb) dihitung dengan hasil konsentrasi pada persamaan $y = bx + a$ dibagi berat sampel dikali volume pembuatan.

D. Analisis Hasil

1. Preparasi sampel

Dari preparasi sampel yang dilakukan akan menghasilkan larutan jernih.

2. Pembuatan kurva baku timbal (Pb)

Nilai kurva baku didapat dengan membuat persamaan regresi linear antara nilai absorbansi yang didapat dari tiap seri konsentrasi yang dibuat dengan konsentrasi baku, sehingga didapat persamaan $y = bx + a$.

3. Validasi metode

3.1 Linearitas. Dihitung menggunakan persamaan regresi linear $y = bx + a$. Dari persamaan dibuat grafik yang menunjukkan nilai persamaan. Metode analisis yang baik adalah mendapatkan nilai korelasi hampir mendekati 1.

3.2 Akurasi. Dinyatakan dengan prosentasi perolehan kembali atau *recovery* dengan persamaan :

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{kadar terhitung}}{\text{kadar diketahui}} \times 100\%$$

Nilai akurasi yang baik ketika prosentasi *recovery* atau perolehan kembali diantara 98% - 102%.

3.3 Presisi. Diukur dengan menentukan koefisien variasi (CV) dengan persamaan :

$$CV = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

Nilai presisi yang baik adalah ketika metode memberikan nilai koefisien variasi atau simpangan baku relative kurang dari 2%.

3.4 LOD dan LOQ. LOD (*Limit of Detection*) bertujuan untuk mengetahui batas konsentrasi timbal terkecil yang dapat terukur oleh instrumen dan memberikan respon signifikan. Perhitungan LOD dengan cara sebagai berikut :

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

Sedangkan LOQ (*Limit of Quantitation*) adalah batas terkecil analit yang dapat terdeteksi secara kuantitatif (Harmita,2004). Perhitungan LOQ adalah sebagai berikut :

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

4. Penentuan kadar sampel

Nilai absorbansi yang didapat sampel dimasukkan kedalam persamaan kurva baku. Kemudian dihitung menggunakan persamaan (BPOM RI, 2011) :

$$Kadar Pb (mg/kg) = \frac{C (mg/L)}{B (kg)} \times v(L)$$

Keterangan

C: konsentrasi timbal dalam sampel yang dihitung dari kurva standar

B: bobot sampel (kg)

V: volume sampel (L)

