

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dari penelitian ini adalah minuman serbuk instan yang pada komposisi masing-masing sampel tidak terdapat Na-siklamat yang dijual dipinggir jalan beredar di Kelurahan Banaran, Boyolali.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah minuman serbuk instan yang dilakukan pengambilan sampel secara purposive sampling yaitu dengan mengambil berdasarkan kriteria sampel. Berdasarkan kriteria tersebut, yaitu tidak tertulis adanya Na-siklamat pada komposisi kemasan terdapat 8 minuman serbuk instan yang menjadi sampel.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini memuat tentang identifikasi dan penetapan kadar Na-siklamat dalam minuman serbuk instan secara Spektrofotometri UV– Vis.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau menyebabkan terjadinya perubahan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah minuman serbuk instan.

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar natrium siklamat dalam minuman serbuk instan.

3. Definisi operasional variabel utama

Definisi operasional variabel utama adalah definisi yang didasarkan atas sifat-sifat hal yang dapat diamati dan diperlukan bagi peneliti lain yang akan penguji kembali penelitian ini. Pada penelitian ini, definisi operasional variabel utama adalah minuman serbuk instan yang mengandung Na-siklamat. Minuman

serbuk yang dipergunakan berjumlah 8 jenis yang telah memenuhi kriteria penelitian diambil dari Kelurahan Banaran, Boyolali. Metode yang digunakan untuk analisis adanya Na-Siklamat dilakukan secara kualitatif dengan uji pengendapan dan kuantitatif spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang yang sesuai.

C. Alat dan bahan

Alat yang digunakan meliputi peralatan gelas, pemanas Hot plate, Pipet ukur, Pipet volume, Mikro pipet volume, Neraca analitik, Kertas saring Whatman 42 dan Spektrofotometer UV-VIS 1800.

Bahan yang digunakan adalah Sampel minuman serbuk instan, Bahan baku siklamat, Larutan HCl 10 % , Larutan BaCl₂ 10%, Larutan NaNO₂ 10%, larutan H₂SO₄ 30%, larutan natrium hipoklorit 1% klor bebas, larutan NaOH 10 N, asam asetat, etil asetat, asam sulfat pekat, NaOH 0,5 N, aquades dan pelarut sikloheksana.

D. Jalannya penelitian

1. Preparasi sampel

Ditimbang sebanyak 5 gram sampel serbuk instan masukan beaker dan tambah 50 ml aquadest kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah pertama, ditambahkan 2,5 mL asam sulfat pekat. Setelah dingin, ditambahkan 50 mL etil asetat, dikocok selama 2 menit. Dipisahkan lapisan etil esetat, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah ke-II. Dikocok 3 kali dengan 15 mL air, dikumpulkan lapisan air, dimasukkan ke dalam corong pisah ke-III, ditambahkan 1 mL natrium hidroksida 10 N, 5 mL sikloheksan dan dikocok selama 1 menit. Dipisahkan lapisan air dan dimasukkan ke dalam corong pisah ke-IV, ditambahkan 2,5 mL asam sulfat 30 %, 5 mL sikloheksan, 5 mL larutan klorit 1% dan dikocok selama 2 menit. Lapisan sikloheksan akan berwarna kuning kehijauan. Lapisan air dibuang, lapisansikloheksan ditambahkan 25 mL NaOH 0,5 M, dikocok dipisahkan dan diambil lapisan bawah. Lapisan bahwa dibuang, kemudian dibilas dengan 25 ml aquades. Lapisan atas dibaca absorbansinya.

2. Uji kualitatif

Dihomogenkan sampel dengan cara membalik-balikkan kemasan ke atas dan kebawah. Dipipet 100 mL sampel, lalu dimasukkan dalam gelas kimia dan ditambahkan 10 mL HCl 10 % serta 10 mL larutan BaCl₂ 10 %. Larutan didiamkan selama 30 menit kemudian disaring dengan kertas Whatman 42, hasil setelah disaring, larutan akan menjadi jernih kemudian ditambahkan 10 ml NaNO₂ 10 %, dan dipanaskan di atas pemanas Hot plate. Larutan akan timbul endapan putih dari BaSO₄ apabila positif mengandung siklambat.

3. Uji kuantitatif

1.1. Penetapan panjang gelombang. Ditimbang 0,25 gram baku Na-siklambat kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml, ditambahkan aquades hingga tanda batas. Diperoleh konsentrasi Na-siklambat pada larutan induk baku adalah 1.000 mg/L. Larutan induk baku tersebut diencerkan sampai didapat konsentrasi 800 mg/L dengan memipet 8 ml dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml dan ditambahkan aquades sampai tanda batas kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 200 - 400 nm.

1.2. Penentuan operating time (OT). Dibuat larutan baku konsentrasi 800 ppm dengan dipipet 8 mL larutan induk baku dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum mulai menit ke 0 sampai menit ke 30 dengan interval waktu 1 menit.

1.3. Pembuatan kurva kalibrasi. Dipipet larutan baku siklambat 1000 ppm masing-masing 7,75 ml; 8 ml; 8,25 ml; 8,5 ml; 8,75 ml; 9 ml dengan konsentrasi 775, 800, 825, 850, 875, dan 900 ppm dan diencerkan aquades sampai tanda batas. Larutan tersebut dimasukan kedalam corong pisah pertama, ditambahkan 2,5 ml H₂SO₄ pekat dan didinginkan, setelah dingin ditambahkan 50 ml etil asetat dikocok selama 2 menit lapisan bawah dibuang. Lapisan etil asetat dikocok 3 kali, setiap kali dengan 15 ml aquadest. Lapisan air dikumpulkan dan dimasukan kedalam corong pisah ke II, tambahkan 1 ml NaOH 10 M dan 5 ml

sikloheksane dan dikocok selama 1 menit. Lapisan atas dibuang, lapisan air dimasukkan kedalam corong pisah ke III, ditambahkan 2,5 ml H_2SO_4 30%, 5 ml sikloheksane dan 5 ml larutan hipoklorit yang mengandung 1% klor bebas dikocok selama 2 menit. Lapisan sikloheksane (lapisan atas) akan berwarna kuning kehijauan bila tidak berwarna tambahkan lagi larutan hipoklorit kurang lebih 5 ml lapisan bawah dibuang. Lapisan sikloheksane (lapisan atas) dibilas dengan 25 ml NaOH 0,5 M kemudian dibilas lagi dengan 25 ml aquades. Lapisan bawah dibuang, lapisan atas diukur absorbansinya pada panjang gelombang 269 nm.

1.4. Pembuatan larutan blanko. Dipipet 50 ml air, dimasukkan kedalam corong pisah pertama, ditambahkan 2,5 ml H_2SO_4 pekat dan didinginkan, setelah dingin ditambahkan 50 ml etil asetat dikocok selama 2 menit lapisan bawah dibuang. Lapisan etil asetat dikocok 3 kali, setiap kali dengan 15 ml aquadest. Lapisan air dikumpulkan dan dimasukkan kedalam corong pisah ke II, tambahkan 1 ml NaOH 10 M dan 5 ml sikloheksane dan dikocok selama 1 menit. Lapisan atas dibuang, lapisan air dimasukkan kedalam corong pisah ke III, ditambahkan 2,5 ml H_2SO_4 30%, 5 ml sikloheksane dan 5 ml larutan hipoklorit yang mengandung 1% klor bebas dikocok selama 2 menit. Lapisan sikloheksane (lapisan atas) akan berwarna kuning kehijauan bila tidak berwarna tambahkan lagi larutan hipoklorit kurang lebih 5 ml lapisan bawah dibuang. Lapisan sikloheksane (lapisan atas) dibilas dengan 25 ml NaOH 0,5 M kemudian dibilas lagi dengan 25 ml aquades. Lapisan bawah dibuang, lapisan atas digunakan sebagai larutan blanko.

1.5. Validasi metode

1.5.1 Akurasi

Dibuat dengan konsentrasi 750, 775 dan 800 ppm di ambil dari larutan induk 1000 ppm, dibaca absorbansinya dengan panjang gelombang 269 nm sebanyak 3 kali pengulangan.

1.5.2 Presisi

Dibuat dengan konsentrasi 800 ppm dari larutan induk 1000 ppm pada labu tentukur 10 mL, dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 269 nm, diulangi sebanyak 10 kali pipetasi dengan perlakuan yang sama.

1.5.3 Batas deteksi (LOD) dan Batas kuantitas (LOQ)

Penentuan batas deteksi atau Limit of detection (LOD) dan batas kuantitas atau Limit of quantitation (LOQ) dihitung melalui persamaan garis linier dari kurva kalibrasi, dengan rumus :

$$SD : \sqrt{\frac{\sum(y-y_i)^2}{n-2}}$$

$$LOD : \frac{3,3 \times Sy/x}{S}$$

$$LOQ : \frac{10 \times Sy/x}{S}$$

SD : Standar deviasi (simpangan baku)

S : Slope

x : Konsentrasi hasil analisis

\bar{x} : Rata-rata konsentrasi hasil analisis

n : Jumlah pengulangan analisis

1.5.4 Linieritas

Uji linearitas pada baku Na-siklamat 1000 ppm, dibuat dengan konsentrasi 775, 800, 825, 850, 875 dan 900 ppm. Dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 269 nm. Sehingga dimasukkan dalam persamaan $y=a+bx$.

1.6. Penetapan kadar Na-siklamat pada sampel. Larutan sampel hasil ekstraksi diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV – Vis pada absorbansinya operating time dan panjang gelombang yang didapat.

E. Metode Analisis Hasil

Metode yang digunakan pada analisis pemanis buatan Na-siklamat dalam minuman serbuk instan secara spektrofotometri UV - Vis ini, menggunakan pembacaan absorbansi sampel (y) yang kemudian dicari regresi liniernya (a dan b)

menggunakan hubungan absorbansi sampel dengan konsentrasi mg/L. Kadar siklamat dalam sampel minuman serbuk instan akan didapatkan dalam mg/L.

Regresi linier :

$$Y = a + bx$$

Keterangan :

Y = absorbansi yang diperoleh

a = konstanta

b = koefisien regresi (kemiringan)

x = konsentrasi sampel

$$\text{Kadar} = \frac{X\left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) \times \text{faktor pembuatan (L)} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{berat sampel (Kg)}}$$

Keterangan :

FB = faktor pembuatan

FP = faktor pengenceran

V = volume sampel