

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif, dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif terhadap keberadaan pengawet natrium benzoat pada sampel yaitu 6 bumbu soto instan yang diperjual belikan di pasar Lodoyo Kabupaten Blitar.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu dan tempat penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2024 di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang mulai dari persiapan penelitian hingga analisis data.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Spektrofotometer UV-Vis, Neraca analitik, Gelas beaker, Pipet ukur, Pipet tetes, Corong pisah, Gelas ukur, Labu ukur, Tabung reaksi, Spatula, Batang pengaduk, Corong kaca, Erlenmeyer, Cawan porselin, Penangas air.

3.3.2 Bahan

Sampel bumbu soto instan, Aquadest, Asam benzoat p.a, Dietil eter p.a, Asam klorida p.a, Natrium hidroksida p.a, Natrium klorida p.a, Ferri klorida p.a, Ammonia, Etanol p.a, Aluminium foil, Kertas saring, Kertas lakmus

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas (*independent variable*) pada penelitian ini adalah bumbu soto yang diperjual belikan di Pasar Lodoyo Kabupaten Blitar.

3.4.2 Variabel terikat

Variabel terikat (*dependent variable*) pada penelitian ini adalah kadar bahan pengawet natrium benzoat.

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 1 Definisi operasional

Variabel		Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Hasil Ukur	Skala Data
Independen	Dependen				
Bumbu soto instan	Kadar natrium benzoat	Bumbu dapur instan dibuat dari campuran rempah-rempahan dan biasanya ditambahkan pengawet untuk menambah daya tahan penyimpanan dengan menghambat terjadinya pembusukan oleh jamur dan bakteri.	<ul style="list-style-type: none">- Reaksi dengan FeCl_3- Spektrofotometri UV-Vis	<ul style="list-style-type: none">- Endapan berwarna kecoklatan- Nilai absorbansi	Rasio

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pengambilan sampel

Sampel terdiri dari 6 bumbu soto instan dengan merek yang berbeda. Diambil dari 6 pedagang berbeda yang berada di Pasar Lodoyo Kabupaten Blitar.

3.6.2 Analisis kualitatif natrium benzoat dengan FeCl_3 0,5% (FSSAI, 2016)

Ditimbang sebanyak 10 gram sampel, dilarutkan dengan aquades 300 mL dalam gelas beaker. Ditambahkan dengan larutan NaOH 10% hingga basa, dibiarkan selama 2 jam dan disaring. Diambil filtrat 50 mL dan ditambahkan dengan HCl 1M sampai larutan bersifat asam (uji dengan kertas lakmus). Dimasukkan kedalam corong pisah dan dilakukan ekstraksi dengan Dietil eter sebanyak 3 kali dengan masing-masing 15 mL eter. Ekstrak eter dicuci dengan 5 mL aquades sebanyak 3 kali. Ekstrak eter dimasukkan dalam cawan porselin dan diuapkan diatas penangas air. Residu yang didapat dilarutkan dengan aquades dan dipanaskan kembali di atas penangas air selama 10 menit dengan suhu antara 80-

85°C. Selanjutnya larutan ditambahkan dengan beberapa tetes NH_3 sehingga larutan menjadi basa, larutan diuapkan untuk menghilangkan kelebihan NH_3 . Diperoleh residu dan dilarutkan dengan air panas. Setelah itu ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 0,5%. Apabila terbentuk endapan berwarna kecoklatan menunjukkan adanya benzoat dalam sampel (Pramitha et al., 2020).

3.6.2.1 Pembuatan kontrol positif dan kontrol negatif

Larutan kontrol positif berupa larutan asam benzoat 1% yang ditambahkan pada salah satu larutan sampel, sedangkan kontrol negatif berupa aquadest. (Nurhasnawati et al., 2023). Ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 0,5% pada kontrol positif dan kontrol negatif dengan tujuan untuk perbandingan perubahan warna larutan pada uji kualitatif.

3.6.3 Analisis kuantitatif natrium benzoat dengan spektrofotometri Uv-Vis (AOAC 960.38 (2000))

3.6.3.1 Pembuatan larutan induk asam benzoat 1000 ppm

Dibuat larutan induk asam benzoat 1000 ppm dengan melarutkan 10 mg asam benzoat p.a dengan etanol p.a dalam labu ukur 10 mL dan dihomogenkan.

3.6.3.2 Pembuatan larutan induk asam benzoat 100 ppm

Dipipet 1 mL larutan induk asam benzoat 1000 ppm dan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas dan dihomogenkan.

3.6.3.3 Pembuatan larutan kerja asam benzoat

Dibuat larutan kerja 10 ppm, dengan memipet 5 mL larutan baku asam benzoat 100 ppm dan dimasukkan labu ukur 50 mL, lalu ditambahkan dengan etanol p.a hingga tanda batas dan dihomogenkan.

Dibuat larutan kerja 2 ppm; 4 ppm; 6 ppm; dan 8 ppm. Dengan memipet sebanyak 2 mL; 4 mL; 6 mL; dan 8 mL dari larutan kerja 10 ppm. Dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas dan dihomogenkan.

3.6.3.4 Penetapan panjang gelombang maksimum

Dilakukan pengukuran Panjang gelombang maksimum larutan standar asam benzoat konsentrasi 10 ppm dengan melihat spektrum puncak serapan

maksimumnya yang dilakukan pada Panjang gelombang 200-400 nm (Pramitha et al., 2020). Kemudian ditentukan Panjang gelombang serapan maksimumnya.

3.6.3.5 Pembuatan kurva baku

Dilakukan pengukuran absorban pada larutan kerja 2 ppm; 4 ppm; 6 ppm; 8 ppm; 10 ppm pada Panjang gelombang maksimum. Hasil dari kurva baku digunakan untuk menentukan persamaan garis linear $y = a + bx$ yang digunakan untuk penentuan kadar sampel.

3.6.3.6 Penetapan kadar benzoat pada sampel

Ditimbang sampel sebanyak 1 gram dan dimasukkan dalam gelas beaker 100 mL, ditambahkan dengan 20 mL NaCl jenuh dan dilarutkan. Ditambahkan HCl 1M hingga larutan bersifat asam (uji dengan kertas lakmus). Dimasukkan dalam corong pisah dan dilakukan ekstraksi dengan dietil eter sebanyak 7,5 mL. Terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan eter dan lapisan air. Ekstrak eter dimasukkan dalam corong pemisah dan dicuci dengan 5 mL HCl 0,1 %. Lapisan bawah dibuang dan lapisan atas dicuci kembali dengan 4 mL HCl 0,1% dan seterusnya dilakukan pencucian kembali dengan 3 mL HCl 0,1%. Ekstrak eter dimasukkan dalam labu ukur 50 mL dan ditanda bataskan dengan etanol 70% lalu dihomogenkan. Larutan diuapkan diatas penangas air dalam lemari asam hingga diperoleh residu, residu yang diperoleh dilarutkan dengan etanol p.a. lalu dimasukkan labu ukur 50 mL dan ditanda bataskan dengan etanol p.a. Selanjutnya larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang maksimum (Pramitha et al., 2020).

3.7 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

3.7.1 Pengolahan data

Hasil pengukuran absorbansi dari larutan baku kerja dibuat kurva standar yang selanjutnya dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi dari sampel yang diuji (Pramitha et al., 2020). Perhitungan konsentrasi sampel dengan kurva standar dilakukan menggunakan persamaan regresi linear yaitu:

$$y = a + bx$$

Keterangan:

y : Absorban (variabel bebas)

- b : slope (koefisien regresi)
 a : Intersep
 x : konsentrasi (variabel terikat) (Asra & Yasma, 2019).

Perhitungan kadar asam benzoat dari diketahuinya konsentrasi larutan uji dapat digunakan perhitungan:

$$Kadar = \frac{C \times V \times fp}{W}$$

Keterangan:

- C : Konsentrasi sampel yang diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis (mg/L)
 V : volume total sampel (L)
 Fp : Faktor Pengenceran
 W : Berat Sampel (Kg) (Pramitha et al., 2020).

Setelah diperoleh kadar asam benzoat selanjutnya dikonversikan menjadi natrium benzoat dalam satuan mg/kg (Rahmania et al., 2020):

$$Kadar\ Natrium\ Benzoat = \frac{BM\ Natrium\ Benzoat}{BM\ Asam\ Benzoat} \times Kadar\ Asam\ Benzoat$$

3.7.2 Analisis data

Analisis data dilakukan dengan penyajian data dalam bentuk tabel disertai dengan keterangan dari hasil analisis. Analisa data secara kualitatif dari hasil positif ataupun negatif pada uji pengendapan, sedangkan secara kuantitatif dari hasil absorbansi yang diperoleh ketika melakukan pengukuran dengan spektrofotometer Uv-Vis dan dihitung kadar natrium benzoat yang terkandung dalam sampel.