

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian komparatif dengan pendekatan quasi eksperimen. Bertujuan untuk mencari tahu perbandingan efektifitas metode analisis kolorimetri secara spektrofotometri UV-Visibel dan Pencitraan Digital dalam menganalisis kadar SLS. Dan dalam penelitian ini menggunakan desain non-equivalent control grup.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari sampai Maret, bertempat di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang. Untuk parameter akurasi, analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Machung.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah spektrofotometer UV-Vis (Jasco model V-760), software CorelDRAW Graphics Suite 2018, gelas beker, gelas ukur, labu takar, pipet ukur, pipet tetes, batang pengaduk, spatula, gelas arloji, neraca analitik, corong pisah, botol semprot, bola hisap, dan smartphone.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah serbuk sodium lauryl sulfate, serbuk methylene blue, larutan asam sulfat pekat 98%, Natrium dihidrogen fosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), larutan kloroform, dan aquades.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah ciri-ciri yang melekat pada subyek yang diteliti dan mempunyai variasi dari hasil pengukurannya. Variabel dalam penelitian ini adalah variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang

mempengaruhi atau dianggap menentukan variabel terikat, dalam penelitian ini adalah jenis metode pembacaan konsentrasi. Sedangkan variabel terikat merupakan variabel yang berubah karena variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SLS.

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Nama Variabel	Definisi	Metode	Alat Ukur	Skala
Kadar SLS	Persen konsentrasi kandungan SLS pada sampel	Kolorimetri	Spektrofotometri UV-Vis dan Pencitraan Digital	Nominal

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Pembuatan Larutan

- Larutan Asam Sulfat 6N

Larutan asam sulfat 98% sebanyak 1,6 ml dan aquades dicampurkan dan dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml dan ditandabatkan dengan aquades. Campuran dikocok hingga homogen.

- Larutan Metilen Biru

Serbuk Metilen biru sebanyak 0,1 gram dan aquades sebanyak 50 ml dicampurkan dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan ditandabatkan dengan aquades. Campuran dikocok hingga homogen. Ambil 3 ml larutan tersebut dan masukkan ke dalam labu takar 100 ml, tambahkan 4,1 ml H_2SO_4 6N, 5 gram natrium dihidrogen fosfat monohidrat ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$) dan aquades, kocok hingga larut sempurna kemudian tambahkan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

- Larutan Pencuci

Larutan asam sulfat (H_2SO_4) 6N sebanyak 4,1 ml dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml. Tambahkan 5 gram natrium dihidrogen fosfat monohidrat

($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) dan aquades, kocok hingga larut sempurna kemudian tambahkan aquades hingga tanda batas dan homogenkan.

3.6.2 Kalibrasi Alat Spektrofotometer UV-Vis

Nyalakan alat spektrofotometer UV-Vis selama ± 15 menit untuk menstabilkan sumber cahaya dan fotodetektor. Siapkan larutan blanko (aquades), masukkan ke dalam kuvet yang telah dibersihkan dengan tisu. Pilih menu aplikasi wavelength scan. Lakukan kalibrasi dengan menggunakan larutan blanko (minimal dua kali dengan menekan tombol autoscan). Setting nilai absorbansi = 0. Setting nilai transmitansi = 100% (artinya larutan tidak mengabsorpsi cahaya yang diberikan).

3.6.3 Menentukan Panjang Gelombang Maksimum

Pertama, masukkan sampel dengan konsentrasi tertinggi ke dalam kuvet kering dan bersih. Lakukan scanning panjang gelombang maksimum untuk sampel tersebut hingga dihasilkan panjang gelombang maksimum.

3.6.4 Linieritas

- Pembuatan Larutan Induk SLS 1000 ppm

Serbuk SLS sebanyak 100 mg dan aquades dicampurkan dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml. Ditandabatkan dengan aquades dan dikocok hingga homogen.

- Pembuatan Larutan Baku SLS 100 ppm

Pipet 1 ml larutan induk SLS 1000 ppm dan masukkan ke dalam labu takar 10 ml, kemudian tambahkan aquades hingga tepat tanda batas dan dihomogenkan.

- Pembuatan Larutan Standar SLS 0,4 - 2 ppm

Ambil larutan Baku SLS 100 ppm masing-masing sebanyak 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8 ml; 1 ml. Larutan dimasukkan ke dalam labu takar 50 ml masing-masing dan ditandabatkan dengan aquades. Larutan dikocok hingga homogen. Uji Linieritas dilakukan pengulangan 2 kali (duplo).

- Uji Linieritas

Optimalkan alat spektrofotometer sesuai dengan petunjuk alat untuk pengujian kadar surfaktan anionik. Ambil masing-masing larutan blanko dan standar 0,4 - 2 ppm sebanyak 25 ml dan masukkan ke dalam corong pisah 50 ml. Ditambahkan larutan metilen biru sebanyak 6,25 mL ke dalam masing-masing larutan standar 0,4 - 2 ppm. Ditambahkan masing-masing kloroform sebanyak 2,5 ml, kocok kuat-kuat selama 30 detik sekali-kali buka tutup corong untuk mengeluarkan gas. Biarkan hingga terjadi pemisahan fasa, pisahkan lapisan bawah (fasa kloroform) dan tampung dalam corong pisah yang lain.

Ekstraksi kembali fasa air dalam corong pisah sebanyak 3 kali dengan menambahkan 2,5 ml kloroform dan satukan semua fasa kloroform. Ditambahkan 12,5 ml larutan pencuci ke dalam fasa kloroform gabungan dan kocok kuat-kuat selama 30 detik. Biarkan terjadi pemisahan fasa, keluarkan lapisan bawah (fasa kloroform) tampung ke dalam labu takar 10 ml. tambahkan 2,5 ml kloroform ke dalam fasa air dari ekstraksi dengan larutan pencuci kocok kuat-kuat selama 30 detik. Biarkan terjadi pemisahan fasa, keluarkan lapisan bawah (kloroform) tampung ke dalam labu takar yang berisi fasa kloroform.

Ekstraksi kembali fasa air dalam corong pisah dengan menambahkan 2,5 ml kloroform. Satukan semua fasa kloroform ke dalam labu takar 10 ml hingga tanda batas. Kemudian masukkan fasa kloroform ke dalam botol vial dan diukur absorbansi pada larutan standar 0,4 - 2 ppm menggunakan metode Pencitraan Digital dan metode Spektrofotometri UV-Vis. Pada metode Pencitraan Digital di amati perubahan warna dan dokumentasikan menggunakan smartphone. Dilihat nilai RGB menggunakan aplikasi CoreIDRAW dan dihitung absorbansi serta persamaan linier. Dan juga dihitung LOD dan LOQ. Sedangkan pada metode spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum diperoleh nilai absorbansi dan persamaan linier pada larutan standar. Serta diperoleh nilai LOD dan LOQ.

3.6.5 Presisi

- Pembuatan Larutan sampel SLS 1 ppm

Ambil larutan baku SLS 100 ppm sebanyak 0,5 ml masukkan ke dalam labu takar 50 ml dan ditandabatkan dengan aquades. Larutan dikocok hingga homogen. Dilakukan pengulangan 3 kali perlakuan.

- Uji Presisi

Optimalkan alat spektrofotometer sesuai dengan petunjuk alat untuk pengujian kadar surfaktan anionik. Ambil larutan sampel 1 ppm sebanyak 25 ml dan masukkan ke dalam corong pisah 50 ml. Ditambahkan larutan metilen biru sebanyak 6,25 mL ke dalam larutan sampel 1 ppm. Ditambahkan masing-masing kloroform sebanyak 2,5 ml, kocok kuat-kuat selama 30 detik sekali-kali buka tutup corong untuk mengeluarkan gas. Biarkan hingga terjadi pemisahan fasa, pisahkan lapisan bawah (fasa kloroform) dan tampung dalam corong pisah yang lain.

Ekstraksi kembali fasa air dalam corong pisah sebanyak 3 kali dengan menambahkan 2,5 ml kloroform dan satukan semua fasa kloroform. Ditambahkan 12,5 ml larutan pencuci ke dalam fasa kloroform gabungan dan kocok kuat-kuat selama 30 detik. Biarkan terjadi pemisahan fasa, keluarkan lapisan bawah (fasa kloroform) tampung ke dalam labu takar 10 ml. tambahkan 2,5 ml kloroform ke dalam fasa air dari ekstraksi dengan larutan pencuci kocok kuat-kuat selama 30 detik. Biarkan terjadi pemisahan fasa, keluarkan lapisan bawah (kloroform) tampung ke dalam labu takar yang berisi fasa kloroform.

Ekstraksi kembali fasa air dalam corong pisah dengan menambahkan 2,5 ml kloroform. Satukan semua fasa kloroform ke dalam labu takar 10 ml hingga tanda batas. Kemudian masukkan fasa kloroform ke dalam botol vial dan diukur absorbansi pada larutan sampel 1 ppm menggunakan metode Pencitraan Digital dan metode Spektrofotometri UV-Vis. Pada metode Pencitraan Digital di amati perubahan warna dan dokumentasikan dengan smartphone. Dilihat nilai RGB menggunakan aplikasi CoreDRAW dan dihitung absorbansi dan dihitung nilai SD dan RSD. Sedangkan pada metode Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang

gelombang maksimum diperoleh absorbansi dan kadar kemudian dihitung nilai SD dan RSD.

3.6.6 Akurasi

- Pembuatan Larutan sampel SLS 1,2 ppm

Ambil larutan baku SLS 100 ppm sebanyak 0,6 ml masukkan ke dalam labu takar 50 ml dan ditandabatkan dengan aquades. Larutan dikocok hingga homogen.

- Uji Akurasi Spektrofotometer UV-Vis

Optimalkan alat spektrofotometer sesuai dengan petunjuk alat untuk pengujian kadar surfaktan anionik. Ambil larutan sampel SLS 1,2 ppm sebanyak 25 ml dan masukkan ke dalam corong pisah 50 ml. Ditambahkan larutan metilen biru sebanyak 6,25 mL ke dalam larutan sampel SLS 1 ppm. Ditambahkan masing-masing kloroform sebanyak 2,5 ml, kocok kuat-kuat selama 30 detik sekali-kali buka tutup corong untuk mengeluarkan gas. Biarkan hingga terjadi pemisahan fasa, pisahkan lapisan bawah (fasa kloroform) dan tampung dalam corong pisah yang lain.

Ekstraksi kembali fasa air dalam corong pisah sebanyak 3 kali dengan menambahkan 2,5 ml kloroform dan satukan semua fasa kloroform. Ditambahkan 12,5 ml larutan pencuci ke dalam fasa kloroform gabungan dan kocok kuat-kuat selama 30 detik. Biarkan terjadi pemisahan fasa, keluarkan lapisan bawah (fasa kloroform) tampung ke dalam labu takar 10 ml. tambahkan 2,5 ml kloroform ke dalam fasa air dari ekstraksi dengan larutan pencuci kocok kuat-kuat selama 30 detik. Biarkan terjadi pemisahan fasa, keluarkan lapisan bawah (kloroform) tampung ke dalam labu takar yang berisi fasa kloroform.

Ekstraksi kembali fasa air dalam corong pisah dengan menambahkan 2,5 ml kloroform. Satukan semua fasa kloroform ke dalam labu takar 10 ml hingga tanda batas. Kemudian masukkan fasa kloroform ke dalam botol vial dan diukur absorbansi pada larutan sampel SLS 1,2 ppm menggunakan metode Pencitraan Digital dan metode Spektrofotometri UV-Vis. Pada metode Pencitraan Digital di amati perubahan warna dan dokumentasikan dengan smartphone. Dilihat nilai RGB

menggunakan aplikasi CorelDRAW dan dihitung absorbansi untuk mendapatkan konsentrasi sebenarnya. Dihitung %Recovery dari larutan sampel SLS 1,2 ppm. Sedangkan pada metode Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum diperoleh absorbansi untuk mendapatkan konsentrasi sebenarnya. Kemudian dihitung % *Recovery* dari larutan sampel SLS 1,2 ppm.

3.7 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

3.7.1 Pencitraan Digital

Hasil pencitraan digital menggunakan CorelDRAW Graphics Suites 2018 akan di peroleh data sebagai berikut.

Tabel 3.2 Data Nilai RGB

Konsentrasi (ppm)	Intensitas R (RED)	Intensitas G (GREEN)	Intensitas B (BLUE)

Masing-masing nilai Intensitas R,G,B yang di peroleh pada Image J dikonversikan menjadi absorbansi dengan menggunakan rumus persamaan Lambeer-Beert.

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

Dimana:

I : Intensitas warna (R/G/B)

I_0 : Intensitas warna blanko (Methylen Blue, Asam Sulfat, dan Diklorometana)

Nilai absorbansi yang didapat pada analisis sampel dihitung konsentrasinya dengan satuan ppm menggunakan kurva regresi yang didapatkan dari pengukuran larutan standart 1-10 ppm.

$$y = ax + b$$

Dimana:

b : intersep yang menunjukkan kepekaan analisis

a : nilai slope

x : kadar (ppm)

y : absorbansi sampel

3.7.2 Validasi Metode

3.7.2.1 Linieritas

Rumus yang digunakan dalam uji linieritas adalah

$$y = ax + b$$

3.7.2.2 Uji Presisi (keakuratan)

Rumus yang digunakan dalam uji presisi adalah

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

$$RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

Ket. :

SD : Standar Deviasi

RSD : Simpangan Baku Relative

\bar{X} : Kadar rata-rata

n : Jumlah pengulangan analisis

3.7.2.3 Uji Akurasi (Ketepatan)

Rumus akurasi yang digunakan dalam uji akurasi adalah:

$$\%Recovery = \frac{C_a}{C_b} \times 100\%$$

Ket :

C_a : Konsentrasi sampel yang sebenarnya (Konsentrasi hasil uji)

C_b : Konsentrasi sampel teoritis (Konsentrasi yang sudah diketahui)

3.7.3 Analisis Data (*Paired Sample t-Test*)

Paired Sample t-Test adalah uji statistika yang bertujuan untuk membandingkan rata-rata dua grup yang saling berpasangan. Untuk mendapatkan hasil uji *Paired Sample t-Test* dapat menggunakan program SPSS/Microsoft excel atau manual (perhitungan). Untuk penelitian ini menggunakan bantuan Microsoft excel.

Menurut Widiyanto (2013) *paired sample t-test* merupakan salah satu metode pengujian yang digunakan untuk mengkaji keefektifan perlakuan, ditandai adanya perbedaan rata-rata sebelum dan rata-rata sesudah diberikan perlakuan. Dasar pengambilan keputusan untuk menerima atau menolak H_0 pada *paired sample t-test* sebagai berikut:

Jika t hitung $>$ t tabel maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

Jika t hitung $<$ t tabel maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

Dianggap berhasil.

Rumus t -test yang digunakan untuk sampel berpasangan (*paired*) adalah:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2} - 2r \left(\frac{s_1}{\sqrt{n_1}} \right) \left(\frac{s_2}{\sqrt{n_2}} \right)}}$$

Ket. :

\bar{x}_1 : rata-rata sampel 1

s_2^2 : varians sampel 2

\bar{x}_2 : rata-rata sampel 2

r : korelasi antara dua sampel

s_1 : simpangan baku sampel 1

n_1 : banyaknya sampel pengukuran 1

s_2 : simpangan baku sampel 2

n_2 : banyaknya sampel pengukuran

s_1^2 : varians sampel 1