

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian observasi, dimana sampel diobservasi apakah mengandung natrium benzoat sesuai persyaratan menggunakan metode spektrofotometri.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.2.2 Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 6-16 bulan April 2021.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi neraca analitik, Erlenmeyer 250 mL, erlenmeyer 100 mL, beaker glass 250 mL, beaker glass 500 mL, beaker glass 100 mL, labu ukur 100 mL, labu ukur 250 mL, labu ukur 50 mL corong pisah 250 mL, gelas ukur 250 mL, gelasukur 100 mL, sendok, kaca arloji, spatula, batang pengaduk, pipet tetes, corong gelas, statif, klem, pipet volume 5 ml, bola hisap, pipet volume 10 ml. Spektrofotometer UV-Vis.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah selai bermerk (merk merk Welco , merk Edna, merk Puratos, merk Le Patta, merk Sweet Nice, merk Pomona) dan selai tidak bermerk yang dijual di Pasar Besar Kota Malang, NaCl_(s) p.a merk merck, NaCl jenuh, aluminium foil, asam benzoat p.a merk merck, aquades, dan HCl p.a merk merck, HCl 0,1%, dietil eter p.a merk merck, etanol 96% merk merck, kertas saring, kertas lakmus, dan tissue.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah suatu atribut atau sifat atau nilai dari orang, obyek atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Dalam penelitian ini, variabel yang digunakan adalah kandungan pengawet natrium benzoate pada selai bermerk dan selai tidak bermerk (curah) yang dijual di Pasar Besar Kota Malang.

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.5. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Cara pengukuran	Skala
Selai	Selai pada 4 titik yang berbeda diambil 4 selai yang tidak bermerk dan 6 sampel selai bermerk yang beredar di Pasar Besar Kota Malang	Observasi	Rasio
Asam Benzoate	Baku asam benzoate dibuat seri konsentrasi 2,4,8,16, dan 32 ppm dari larutan standart 100 ppm. Persamaan regresi yang diperoleh digunakan untuk menghitung kadar natrium benzoat berdasarkan berat molekulnya.	Analisis kuantitatif dengan Spektrofotometer UV-Vis.	Nominal

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada pasar tradisional yang ada di Kota Malang, yaitu Pasar Besar. Lokasi pasar yang dipilih berdasarkan banyaknya pengunjung pasar dan sebagian masyarakat banyak yang berlangganan dengan agen yang ada di Pasar Besar. Sampel yang diambil sebanyak 6 sampel bermerk dan 4 sampel tidak bermerk yang sering dibeli. Pada pengambilan sampel ini diambil sebanyak 4 titik yang berbeda di dalam pasar. Untuk selai yang bermerk umumnya dibeli oleh masyarakat untuk dikonsumsi sendiri, sedangkan untuk selai tidak bermerk umumnya dibeli oleh penjual roti bakar, penjual makanan basah, dan pembuat roti dalam jumlah banyak karena harganya lebih murah dan lebih terjangkau. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah purposive sampling yaitu berdasarkan tujuan penelitian sesuai dengan kriteria-kriteria tertentu yang telah ditentukan.

Kriteria pemilihan sampel dipilih yang bermerk dan tidak bermerk atau curah, untuk yang tidak bermerk tidak mencantumkan komposisi bahan yang digunakan, tidak menuliskan alamat produsen yang memproduksi, dan tidak menuliskan golongan bahan tambahan pangan (pengawet). Membandingkan dan menentukan jumlah pengawet apakah melebihi batas antara sampel bermerk dan tidak bermerk, hal ini sangat dikhawatirkan karena sampel selai curah tidak mencantumkan kode produksi, alamat produsen dan izin departemen kesehatan atau BPOM.

3.6.2 Persiapan Sampel

Sampel selai bermerk dan tidak bermerk atau curah dari masing-masing kemasan ditimbang sebanyak 5 gram dengan teliti dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL kemudian ditambahkan larutan NaCl jenuh hingga 100 mL, ditambahkan dengan HCl sampai bersifat asam (kertas lakmus biru menjadi merah) selanjutnya dihomogenkan sampai sempurna.

3.6.3 Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Dibuat kontrol positif berupa selai yang ditambahkan natrium benzoate sebanyak 1 gram. Selanjutnya kontrol positif ditimbang sebanyak 5 gram dengan teliti dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL kemudian ditambahkan larutan NaCl jenuh hingga 100 mL, ditambahkan dengan HCl sampai bersifat asam (kertas lakmus biru menjadi merah) selanjutnya dihomogenkan sampai sempurna.

3.6.4 Ekstraksi Sampel

Hasil persiapan sampel dimasukkan ke dalam corong pemisah, pertama diekstrak dengan 35 mL dietil eter terbentuk 2 lapisan dimana lapisan atas/lapisan eter dipisahkan ke dalam gelas erlenmeyer sedangkan lapisan bawah diekstrak kembali dengan 25 mL dietil eter dan seterusnya ekstraksi diulangi lagi dengan 20 mL, 15 mL dietil eter. Campuran lapisan atas/ekstrak eter dimasukkan ke dalam corong pemisah dan dicuci dengan 25 mL HCl 0,1%, lapisan bawah dibuang dan lapisan atas dicuci lagi dengan 20 mL HCl 0,1% dan seterusnya pencucian dilakukan dengan 15 mL HCl 0,1%. Ekstrak eter dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditandabatkan sampai garis batas dengan etanol-air (2:1) dan dihomogenkan. Sebanyak 25 mL ekstrak eter diencerkan kedalam labu ukur 100 mL dipaskan sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3.6.5 Ekstraksi Kontrol Positif

Hasil persiapan kontrol positif diekstrak dimasukkan ke dalam corong pemisah, pertama diekstrak dengan 35 mL dietil eter terbentuk 2 lapisan dimana lapisan atas/lapisan eter dipisahkan ke dalam gelas erlenmeyer sedangkan lapisan bawah diekstrak kembali dengan 25 mL dietil eter dan seterusnya ekstraksi diulangi lagi dengan 20 mL, 15 mL dietil eter. Campuran lapisan atas/ekstrak eter dimasukkan ke dalam corong pemisah dan dicuci dengan 25 mL HCl 0,1%, lapisan bawah dibuang dan lapisan atas dicuci lagi dengan 20 mL HCl 0,1% dan seterusnya pencucian dilakukan dengan 15 mL HCl 0,1%. Ekstrak eter dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditandabatkan sampai

garis batas dengan eter:etanol-air (1:2:1) dan dihomogenkan. Sebanyak 25 mL ekstrak eter diencerkan kedalam labu ukur 100 mL dipaskan sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3.6.6 Analisis kuantitatif Natrium Benzoat

a. Spektrofotometer UV-Vis

- Pembuatan Larutan Induk Asam Benzoat 1000 ppm
Sebanyak 0,25 gram asam benzoat p.a ditimbang dengan teliti menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL kemudian dilarutkan dengan eter:etanol:air dengan perbandingan 1:2:1 hingga tanda batas kemudian dihomogenkan. Selanjutnya dibuat kurva standar yang menghubungkan absorbansi dengan konsentrasi dari masing-masing larutan standar.
- Pembuatan Larutan Baku 100 ppm
Dipipet larutan induk 1000 ppm sebanyak 10 mL ke dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan dengan eter:etanol:air dengan perbandingan 1:2:1 hingga tanda batas kemudian dihomogenkan.
- Pembuatan Larutan Standar Kerja 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm, 32 ppm
Untuk pembuatan konsentrasi 2 ppm dipipet larutan baku 100 ppm masing-masing 1 mL ke dalam labu ukur 50 mL ditambahkan dengan eter:etanol:air hingga tanda batas dan dihomogenkan, dan hal yang sama dilakukan seterusnya hingga konsentrasi 32 ppm.
- Penentuan Panjang Gelombang Maksimum
Larutan baku kerja 32 ppm diukur serapannya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200 - 400 nm menggunakan blanko pelarut eter:etanol:air (1:2:1).
- Pembuatan Kurva Standar Asam Benzoat
Larutan baku kerja 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm, 32 ppm masing-masing diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Selanjutnya dibuat kurva standar yang

menghubungkan absorbansi dengan konsentrasi dari masing-masing larutan standar.

- Penentuan Kadar Natrium Benzoat ada Selai dan Kontrol Positif
Larutan hasil ekstraksi sampel dan kontrol positif dibaca absorbansinya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, kemudian konsentrasi natrium benzoat dalam sampel ditentukan berdasarkan kurva standar.

3.7 Analisis Data

3.7.1 Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran akan dianalisis dengan membandingkan standar maksimum yang diperbolehkan menurut Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan maupun SNI 01-0222-1995, yaitu 1 g/kg. Jika hasilnya melebihi ketentuan tersebut, maka selai tersebut tidak diperbolehkan untuk mengkonsumsinya.

3.7.2 Diskusi Temuan

Penggunaan pengawet benzoat yang ditemukan pada selai yang melebihi dari kadar maksimum yang diperbolehkan, maka tidak boleh dikonsumsi. Batas penggunaan natrium benzoat pada selai untuk orang dewasa dan anak-anak adalah 1g/kg. Akan tetapi akibat yang ditimbulkan lebih fatal pada anak-anak daripada orang dewasa.