

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium riset dan laboratorium kimia instrumen Jurusan Kimia, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat-alat yang digunakan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini, meliputi sentrifugator merk Kokusan Corporation tipe H-103N, tabung eppendorf tipe LXG8150J, spektrofotometer UV merk Shimadzu UVmini-1240V No Seri A10934803808, serta alat-alat gelas kualitatif dan kuantitatif lainnya.

##### **3.2.2 Bahan-bahan yang digunakan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian, terdiri dari  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a ,  $\text{FeCl}_3$  anhidrat p.a , produk pangan mayonais merk X, asam klorida 15 M ,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a dan bahan-bahan pendukung lainnya.

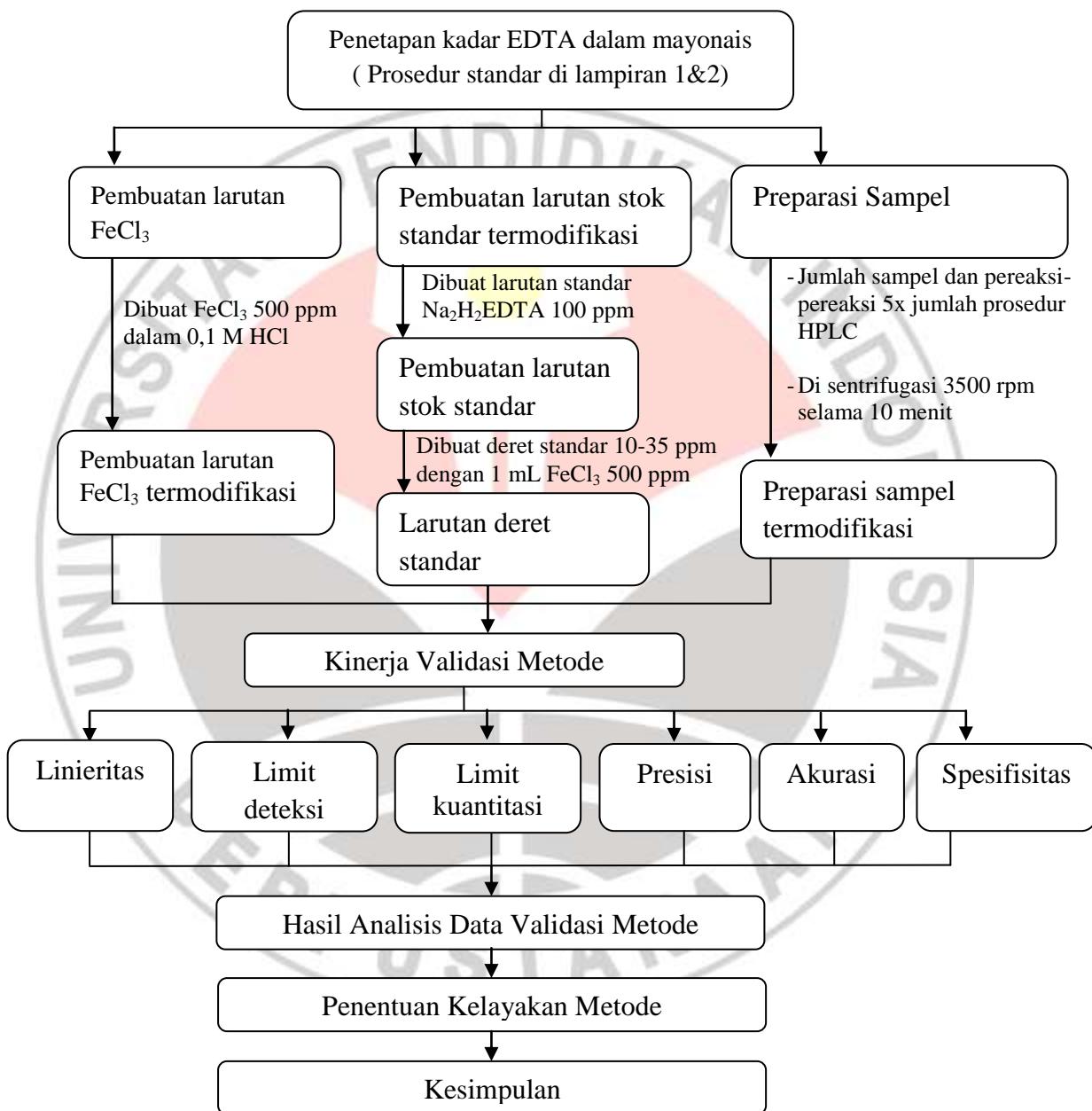
#### **3.3 Metode Penelitian**

Penelitian ini dilakukan melalui tiga tahapan utama, yaitu:

1. Pembuatan larutan  $\text{FeCl}_3$  500 ppm , larutan stok standar  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$  100 ppm, sederetan larutan standar yang konsentrasiya 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm, dan 35 ppm, kemudian pembuatan ekstrak sampel yang diperoleh dengan cara ekstraksi.
2. Penetapan kinerja validasi metode, yaitu linieritas, limit deteksi , limit kuantitasi, presisi, akurasi, dan spesifisitas.
3. Penentuan kelayakan metode berdasarkan data-data validasi yang diperoleh melalui perhitungan statistika.

### 3.4 Bagan Alir

Secara umum tahapan penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada Gambar bagan alir 3.1 di bawah ini.



Gambar 3.1 Bagan Alir Tahapan Penelitian Pengembangan Metode Secara Umum

### **3.5 Prosedur**

#### **3.5.1 Pembuatan Larutan $\text{FeCl}_3$ 500 ppm**

Ditimbang  $\text{FeCl}_3$  anhidrat p.a seberat 0,0250 gram kemudian dilarutkan dengan asam klorida 0,1 M hingga volumenya mencapai 50 mL, setelah itu dihomogenkan.

#### **3.5.2 Pembuatan Larutan Stok Standar $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$ 100 ppm**

Ditimbang 0,0100 gram garam  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$  p.a kemudian dilarutkan dengan akuades ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas kemudian dihomogenkan.

#### **3.5.3 Preparasi Sampel**

Ditimbang mayonais seberat  $0,5000 \pm 0,0001$  gram dan dimasukan ke dalam tabung eppendorf kemudian ditambahkan 2 mL akuades dan 2,5 mL kloroform, setelah itu di sentrifugasi pada 3500 rpm selama 10 menit. Selanjutnya, ditampung fase air (filtrat I) dalam botol vial kemudian ditambahkan lagi 2 mL akuades pada fase organik (bawah) dan di sentrifugasi lagi pada 3500 rpm selama 10 menit. Fase air (filtrat II) ditampung ke dalam botol vial sebelumnya.

#### **3.5.4 Pengujian Kinerja Validasi Metode**

##### **1. Penentuan panjang gelombang maksimum**

Diukur larutan standar 25 ppm pada rentang panjang gelombang 200-300 nm, setelah itu akan diperoleh serapan maksimum untuk kompleks  $\text{NaFeEDTA}$ .

##### **2. Penentuan linieritas**

Dibuat larutan deret standar konsentrasi 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dan 35 ppm dengan memipet 1,0 mL; 1,5 mL; 2,0 mL; 2,5 mL; 3,0 mL; dan 3,5 mL dari larutan stok standar  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$  100 ppm kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi 1,0 mL larutan  $\text{FeCl}_3$  500 ppm dan ditambahkan akuades hingga tanda batas. Larutan deret standar diukur

pada  $\lambda_{maksimum}$  yang telah ditetapkan. Dilakukan tiga kali pengulangan ( $3 \times 1$  deret larutan standar) dan dianalisis untuk memperoleh persamaan garis kurva kalibrasi linier ( $y = bx + a$ ). Variabel  $a$  menyatakan intersep dan  $b$  adalah kemiringan garis (*slope*) dari enam larutan standar yang diukur.

### 3. Penentuan limit deteksi (LD) dan limit kuantitasi (LK)

Penetapan limit deteksi (LD) dan limit kuantitasi (LK) diperoleh dari nilai kemiringan (*slope*) pada persamaan garis kurva kalibrasi dan nilai simpangan baku standar , faktor pengali  $k=3$  untuk batas deteksi (rumus 2.4) dan  $k=10$  (rumus 2.5) untuk batas kuantitas.

### 4. Penentuan ketelitian (Presisi )

Pengujian presisi dilakukan pada larutan standar dan larutan sampel. Presisi larutan standar dilakukan secara *repeatability* (keterulangan) dengan waktu *within day variation (intra-day)* yaitu pengukuran pada waktu dan kondisi sama dalam satu hari. Pengukuran dilakukan pada  $\lambda_{maksimum}$  yang telah ditetapkan. Nilai yang diperoleh berupa standar deviasi (SD) dan standar deviasi relatif (%RSD) rumus 2.2 dan 2.3 .

### 5. Penentuan ketepatan (akurasi )

Dipipet 1,0 mL larutan sampel kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi 1,0 mL larutan  $\text{FeCl}_3$ . Ditambahkan larutan standar stok  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$  100 ppm sebanyak 1 mL; 1,5 mL; dan 2,5 mL kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan, selanjutnya diukur pada  $\lambda_{maksimum}$ . Pengujian akurasi dilakukan secara *day to day variation (inter-day)* selama tiga hari berturut-turut dan masing-masing dilakukan enam kali pengulangan. Pengujian akurasi ini akan diperoleh %recovery (rumus 2.1), standar deviasi (SD), dan standar deviasi relatif (%RSD) yang dapat dilihat pada rumus 2.2 dan 2.3.

### 6. Penetapan spesifisitas

Dilakukan dua pengujian yaitu mengukur perbandingan serapan antara larutan standar  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$  25 ppm, ekstrak sampel, dan larutan standar 25 ppm yang telah dicampurkan dengan sampel, kemudian mengukur perbandingan absorbansi dengan keberadaan ion penganggu. Ekstrak sampel

dipipet 1,0 mL kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10 mL yang telah terisi 1,0 mL larutan  $\text{FeCl}_3$  500 ppm dan ditambahkan 1,0 mL larutan  $\text{CuCl}_2$  (0,0100 gram dalam 20 mL akuades), setelah itu ditambahkan akuades hingga tanda batas. Perlakuan dibuat replika enam kali dan ditentukan absorbansinya dengan pengukuran pada  $\lambda_{\text{maksimum}}$ . Spesifisitas dihitung menggunakan uji t berpasangan dengan ketentuan  $t_{\text{hitung}} \leq t_{\text{tabel}}$  sehingga diperoleh keputusan kriteria penerimaan melalui penarikan hipotesis.

