

## **BAB IV**

### **PROSEDUR KERJA**

#### **4.1. Pengambilan Sampel**

Sampel dipilih berdasarkan perbedaan harga yang beredar di beberapa pasar tradisional dan supermarket, mulai dari kategori dengan harga (1) sosis kategori harga Rp 20.000,- sampai Rp 30.000,- (2) sosis kategori harga Rp 10.000,- sampai Rp 15.000,- (3) dan sosis dengan kategori harga Rp 2.000,- sampai Rp 10.000,-.

##### **4.1.1. Pembuatan Asam klorida**

Asam klorida 37% sebanyak 13,51 mL diencerkan dalam aquadest sampai tanda batas 100 mL, sehingga didapat konsentrasi asam klorida 5%.

#### **4.2. Penyiapan Larutan Baku (Rhodamin B)**

Baku pembanding rhodamin B 50 mg dilarutkan dengan aquadest dalam labu takar 50 mL hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok ini kemudian dapat diencerkan untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi yang diinginkan.

#### **4.3. Penyiapan Larutan Baku II**

Larutan baku I sebanyak 2,5 mL dilarutkan dengan aquadest dalam labu takar 50 mL hingga diperoleh konsentrasi 50 ppm.

#### **4.4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Larutan baku II dari rhodamin B sebanyak 1,4 mL dilarutkan dengan aquadest dalam labu takar 10 mL hingga diperoleh konsentrasi 5 ppm, diukur secara spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang 350-800 nm, sebagai blanko digunakan aquadest.

#### **4.5. Pembuatan Kurva Kalibrasi Rhodamin B**

Larutan baku rhodamin B 50 ppm diencerkan menjadi lima konsentrasi yang berbeda. Variasi konsentrasi yang dipilih yaitu: 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 dan 0,6 ppm. Kemudian variasi konsentrasi tersebut diukur dalam spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang 553 nm untuk membuat kurva kalibrasi. Derajat kelinieran dihitung berdasarkan regresi linier dari kurva kalibrasi.

#### **4.6. Penentuan Akurasi**

Penentuan ketepatan dilakukan dengan mengukur tiga konsentrasi larutan baku dengan konsentrasi 0,2 ppm, 0,4 ppm dan 0,6 ppm. Masing-masing konsentrasi dilakukan tiga kali pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-visible. Hasil ketepatan ditentukan dengan % perolehan kembali.

#### **4.7. Penentuan Presisi**

Untuk penentuan keseksamaan dilakukan dengan mengukur satu konsentrasi larutan baku dengan konsentrasi 0,2 ppm kemudian diukur dengan

menggunakan spektrofotometer UV-visible sebanyak 6 kali pengukuran. Hasil presisi ditentukan dengan menghitung persentase simpangan baku relatif (% RSD). Sebelumnya ditentukan standar deviasi berdasarkan hasil percobaan yang diperoleh.

#### **4.8 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi**

Batas deteksi ditentukan dari hasil bagi antara 3 simpangan baku dengan kemiringan garis kurva standar. Sedangkan batas kuantitasi ditentukan dari hasil bagi antara 10 standar deviasi dengan kemiringan garis kurva standar.

#### **4.9 Penyiapan Larutan Baku (Natrium nitrit)**

Baku pembanding natrium nitrit 42 mg yang ditimbang, dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan dikocok. larutan standar diencerkan menjadi 1 mL dan ditambah 1 mL larutan asam sulfanilat 1%, 1 mL difenil amin 0,1% dan 1 mL N -1 naftiletillen diamonium diklorida kemudian diencerkan dengan aquadest menjadi 10 mL.

#### **4.10 Pembuatan Larutan Blanko**

Sejumlah 1 mL larutan asam sulfanilat 1% , 1 mL larutan nafetilendiamina, dan 1 ml larutan difenil amin 0,1 % dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan akuades 10 mL.

#### **4.11 Pembuatan Kurva Kalibrasi Natrium nitrit**

Larutan baku natrium nitrit 10 ppm diencerkan menjadi lima konsentrasi yang berbeda. Variasi konsentrasi yang dipilih yaitu: 1,2 ; 1,6 ; 2,0 ; 2,4 dan 2,6 ppm. Kemudian variasi konsentrasi tersebut diukur dalam spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang 518 nm untuk membuat kurva kalibrasi. Derajat kelinieran dihitung berdasarkan regresi linier dari kurva kalibrasi.

#### **4.12 Penentuan Akurasi**

Penentuan ketepatan dilakukan dengan mengukur tiga konsentrasi larutan baku dengan konsentrasi 1,2 ; 2,0 dan 2,4 ppm. Masing-masing konsentrasi dilakukan tiga kali pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Hasil ketepatan ditentukan dengan % perolehan kembali.

#### **4.13 Penentuan Presisi**

Untuk penentuan keseksamaan dilakukan dengan mengukur satu konsentrasi larutan baku dengan konsentrasi 1,2 ppm kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible sebanyak 6 kali pengukuran. Hasil presisi ditentukan dengan menghitung persentase simpangan baku relatif (%RSD).

#### **4.14 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi**

Batas deteksi ditentukan dari hasil bagi antara 3 simpangan baku standar deviasi dengan kemiringan garis kurva standar. Sedangkan batas kuantitasi

ditentukan dari hasil bagi antara 10 standar deviasi dengan kemiringan garis kurva standar.

#### **4.15 Penetapan Kadar Rhodamin B pada Sampel**

##### **4.15.1 Pengisolasian zat pewarna dengan ekstraksi cair-cair**

Sampel yang telah dipilih lalu ditimbang sebanyak 2 gram, sampel dihaluskan dengan sedikit etanol 70%, didiamkan selama 10-15 menit, kemudian disentrifugasi selama 10-20 menit kemudian ditambahkan 10 tetes aquadest dan 2 mL HCl 5%. Kemudian filtrat yang diperoleh dilakukan penyaringan, hasil penyaringan tersebut diuapkan di atas penangas air.

Hasil dari perlakuan di atas kemudian dimasukkan kedalam corong pisah, untuk dilakukan ekstraksi cair-cair dengan menambahkan 10 mL isoamilalkohol, kemudian dikocok secara perlahan. Ekstraksi dilakukan sebanyak 4 kali dengan isoamilalkohol. Fase organik yang mengandung zat pewarna dikumpulkan, kemudian ditambahkan dengan 10 mL n-heksan dan 5 mL air suling, lalu dikocok. Ekstraksi dilakukan sebanyak 4 kali 5 mL air suling. Hasil ekstraksi yang didapat digunakan untuk penentuan selanjutnya.

#### **4.16 Penetapan Kadar Natrium nitrit**

##### **4.16.1 Pengisolasian zat pengawet**

Masing-masing sampel merk sosis ditimbang sejumlah 5 gram kemudian diletakkan dimortir, dihaluskan homogen dengan ditambahkan aquadest 25 mL. Sampel yang sudah dihaluskan kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi,

masing-masing ditambahkan larutan kalium alumunium sulfat 20% dan disentrifugasi selama 10 menit. Kalium alumunium sulfat berfungsi untuk memisahkan larutan protein, sehingga menghasilkan larutan endapan dan larutan bening (kemungkinan mengandung nitrit). Larutan bening dari masing-masing sampel diambil dengan pipet dan di masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian masing-masing ditambahkan 1 mL larutan asam sulfanilat %, 1 mL, difenil amin 0,1% dan 1 mL nafetilendiamina, diamati perubahan warna yang terjadi, perubahan warna larutan dari bening menjadi merah muda menunjukkan bahwa larutan tersebut mengandung nitrit.

#### **4.17 Spektrofotometri Sinar Tampak**

Hasil dari isolasi zat warna dan zat pengawet kemudian dilakukan analisis secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang 533 nm untuk rhodamin B dan panjang gelombang maksimum lebih kurang 518 nm untuk natrium nitrit.