

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengambilan Sampel

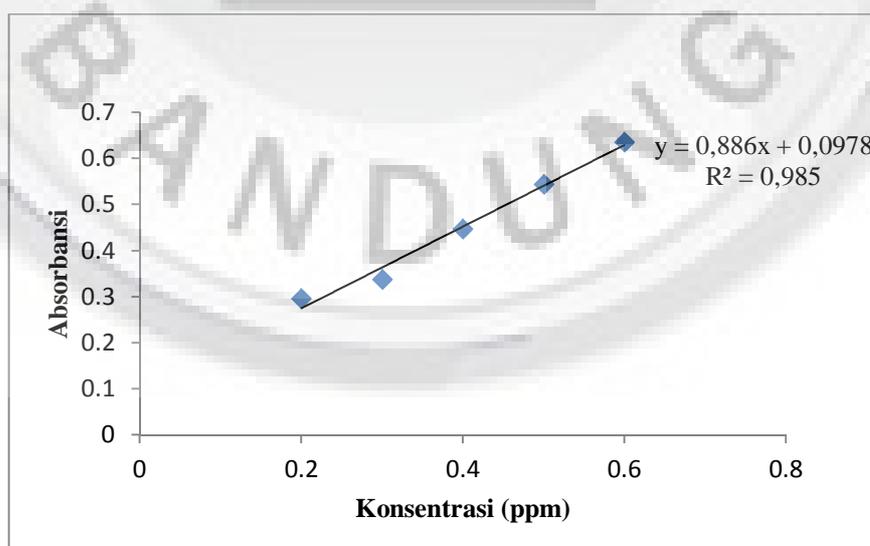
Dilakukan pengambilan sampel di dua pasar tradisional dan satu pasar modern wilayah kota Bandung. Pengambilan sampel dengan kategori harga mahal Rp 20.000,- sampai Rp 30.000,- (2) kategori harga menengah Rp 10.000,- sampai Rp 15.000,- (3) dan sosis dengan kategori harga murah Rp 2.000,- sampai Rp 10.000,-. Jumlah sampel yang digunakan adalah masing-masing satu dari tiap merek. Alasan pengambilan sampel berdasarkan harga adalah kualitas barang ditentukan oleh harga, termasuk bahan zat tambahan yang ditambahkan. Sehingga dapat ditentukan kadar rhodamin B dan natrium nitrit.

5.2 Verifikasi Metode

Verifikasi metode bertujuan untuk membuktikan apakah suatu metode yang digunakan dalam menganalisis sampel masih dapat bekerja dengan baik. Sehingga dapat memberikan kepastian bahwa metode tersebut masih memenuhi persyaratan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Parameter analisis yang akan digunakan yaitu linieritas, akurasi dan presisi.

5.2.1 Linieritas

Linieritas bertujuan untuk melihat kemampuan suatu metode analisis dalam memperoleh responnya. Untuk mendapatkan konsentrasi analit rhodamin B dengan respon dari spektrofotometer UV-visible berupa nilai absorbansi. Dilakukan dengan cara pembuatan larutan rhodamin B dengan konsentrasi 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 dan 0,6 ppm. Didapat absorbansi dari masing-masing konsentrasi dan dibuat persamaan garis lurus (*regresi linear*) $y = bx + a$. Hasil yang diperoleh dari konsentrasi diatas didapat garis lurus (*regresi linear*) dengan persamaan $y = 0,886x + 0,0978$ Dari persamaan regresi linear yang didapat, maka dapat dihitung simpangan baku residual ($S_{y/x}$) 0,0087 dengan standar deviasi (S_{x0}) 0,0098 dan koefisien variansinya (V_{x0}) 2,45 %. Dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,985 dan nilai V_{x0} sebesar 2,45 %, sehingga dapat disimpulkan nilai koefisien korelasi memenuhi syarat yaitu mendekati 1 dan nilai V_{x0} pun memenuhi syarat karena kurang dari 5 %.



Gambar V.I. Kurva kalibrasi larutan rhodamin B

5.2.2 Akurasi

Tabel V.I Ketetapan (akurasi) rhodamin B

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Perolehan	% Perolehan Kembali
0,2	0,289	0,225	112,5
0,2	0,290	0,226	113
0,2	0,289	0,225	112,5
0,4	0,438	0,393	98,25
0,4	0,436	0,391	97,75
0,4	0,440	0,395	98,75
0,6	0,615	0,593	98,83
0,6	0,617	0,596	99,33
0,6	0,614	0,592	98,66

Dari hasil tersebut diperoleh nilai persen perolehan kembali dari masing-masing konsentrasi yaitu pada konsentrasi 0,2 ppm diperoleh rata-rata persen perolehan kembali sebesar 112,67 %, pada 0,4 ppm sebesar 98,25 %, dan pada 0,6 ppm sebesar 98,94 %. Berdasarkan data perolehan kembali tersebut, nilai perolehan kembali (*recovery*) pada konsentrasi 0,2 ppm persen perolehan kembali yang didapat kurang memenuhi standar yaitu dimana persen perolehan kembali yang memenuhi persyaratan adalah 98- 102 %. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat adanya pengotor dimana pengotor selalu ada dalam setiap pengukuran sehingga menyebabkan nilai pengukuran yang jauh dari nilai sebenarnya.

5.2.3 Presisi

Tabel V.II Presisi (keseksamaan) *intra-day* rhodamin B

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Perolehan	% perolehan kembali
0,2 ppm	0,289	0,217	108,5 %
	0,290	0,218	109,0 %
	0,289	0,217	108,5 %
	0,288	0,218	108,0 %
	0,291	0,216	109,5 %
	0,294	0,219	111,5 %
Rata-rata			109,1667 %

Pada parameter yang diamati untuk presisi yaitu *intra-day* dilakukan dalam hari yang sama, tujuan penentuan keseksamaan adalah untuk melihat kinerja alat dan metode analisis yang digunakan, kriteria penerimaan presisi pada penetapan kadar adalah apabila $RSD (KV) \leq 2\%$ dan hasil yang diperoleh adalah 1,277 %. Hal ini menginformasikan bahwa sistem operasional alat dan analisis memiliki nilai presisi yang baik terhadap metode dengan nilai $RSD < 2\%$.

Pada akurasi dan presisi menggunakan metode eksternal, yaitu tidak terdapat adanya penambahan sampel pada baku pembanding, akan tetapi pengukuran dilakukan terhadap larutan baku pembanding dimana pada akurasi pengukuran sebanyak 3 kali dengan menggunakan 3 konsentrasi berbeda sedangkan pada presisi pengukuran sebanyak 6 kali pada 1 konsentrasi yang sama.

5.2.4 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Hasil yang diperoleh adalah 0,0294 ppm. Sedangkan batas kuantitasi merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita,

2009). Hasil yang diperoleh sebesar 0,098 ppm, sehingga apabila kadar yang didapat tidak berada dalam rentang tersebut maka kadar yang diperoleh tidak memenuhi kriteria. Pada konsentrasi sampel yang didapat yaitu 0,448 ppm sehingga masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.

5.3 Persiapan Sampel rhodamin B

Persiapan sampel untuk pengujian rhodamin B pada sosis, yaitu pertama kali sosis ditimbang kemudian dihaluskan dan ditambahkan dengan etanol yang bertujuan untuk melarutkan senyawa yang terdapat dalam sampel, kemudian dilakukan sentrifugasi yang bertujuan untuk membentuk endapan dan filtrat, filtrat yang dihasilkan diambil kemudian ditambahkan dengan HCl 5 % berfungsi untuk menjaga agar tidak terjadi ionisasi pada rhodamin B, sehingga rhodamin B masih dalam bentuk utuhnya dan agar lebih maksimal dalam melarutkan zat warna sehingga zat warna yang akan terlarut lebih maksimal kemudian dilakukan penyaringan dimana tujuan dari penyaringan adalah untuk mendapatkan endapan yang bebas (terpisah) dari larutan (cairan induk), karena biasanya pada sampel makanan matriks yang dikandung bersifat kompleks sehingga perlu dilakukan filtrasi. Setelah itu filtrat hasil penyaringan diuapkan diatas penangas air bertujuan untuk menguapkan dan menghilangkan pelarut.

Selanjutnya dilakukan ekstraksi cair-cair, yang bertujuan untuk memisahkan analit-analit dari komponen matriks yang dapat mengganggu pada saat kuantitasi atau deteksi analit. Larutan ditambahkan isoamilakohol di dalam corong pisah berfungsi untuk melarutkan zat warna yang terdapat dalam sampel.

Kemudian dikocok secara perlahan yang diharapkan agar rhodamin B dapat terbawa dari zat warna dalam sampel akan tertarik kedalam pelarut isoamilakohol. Pelarut yang telah melarutkan zat warna sampel kemudian diambil dan dikumpulkan, kemudian ditambahkan lagi dengan pelarut isoamilakohol, zat warna yang terlarut dalam pelarut kemudian dikumpulkan lagi, sampai ekstraksi yang dilakukan sebanyak 4 kali.

Ekstraksi dilakukan sebanyak 4 kali bertujuan agar zat warna yang terlarut lebih optimal dibandingkan dengan ekstraksi 1 kali dengan jumlah yang sama. Setelah dilakukan ekstraksi sebanyak 4 kali dengan pelarut isoamilalkohol, zat warna yang dikumpulkan disatukan kemudian dilakukan ekstraksi cair-cair lagi dengan penambahan n-heksana dan air. Penambahan n-heksana tersebut dimaksudkan agar zat yang larut dalam fase organik menjadi kurang larut dan akan terpisah dari zat yang mungkin larut dalam isoamilakohol dan n-heksana sehingga kembali larut dalam air dan membentuk dua lapisan, dimana lapisan n-heksana ada di bagian atas dan air ada di bagian bawah karena terdapat perbedaan massa jenis dari kedua pelarut, n-heksana memiliki berat jenis 0,655 g/mL sedangkan air memiliki berat jenis 1 g/mL. Bagian air diambil dari corong pisah sedangkan bagian pelarut n-heksana ditambahkan lagi dengan air.

Tujuan penambahan air pada lapisan n-heksana adalah untuk memisahkan rhodamin B yang kemungkinan masih terdapat pada lapisan n-heksana. Ekstraksi dilakukan sebanyak 4 kali, kemudian lapisan air yang dikumpulkan disatukan untuk dilakukan perlakuan selanjutnya. Karena rhodamin B bersifat polar yaitu larut dalam air sehingga akan terlarut dalam air. zat warna yang terlarut dalam air

kemudian diambil dan dikumpulkan, setelah itu dilakukan ekstraksi lagi dengan menggunakan air dan zat warna yang terlarut diambil dan dikumpulkan sampai ekstraksi dilakukan sebanyak 4 kali, agar zat warna yang terlarut dalam air akan lebih banyak.

Alasan dilakukannya ekstraksi sebanyak 4 kali adalah agar zat warna yang terlarut dapat lebih banyak dibandingkan dengan ekstraksi hanya 1 kali, dimana pernyataan tersebut sesuai dengan teori yaitu apabila efisiensi ekstraksi meningkat jika digunakan jumlah larutan pengekstraksi yang lebih besar, dibandingkan dengan melakukan ekstraksi dengan volume yang sama.

5.4 Analisis Rhodamin B dengan Spektrofotometri UV-Visible.

Penentuan kadar rhodamin B dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visible, dengan menggunakan panjang gelombang 533 nm. Rhodamin B merupakan senyawa yang larut dalam air, selain itu struktur rhodamin juga terdapat gugus kromofor yaitu ikatan rangkap terkonjugasi dimana gugus kromofor adalah gugus yang bertanggung jawab atas adanya absorbansi dan transisi elektronik. Sehingga dapat membuat rhodamin B terukur pada spektrofotometri UV-visible.

Dari ketiga sampel sosis kemudian dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometri UV-visible pada panjang gelombang 533 nm, apakah terdapat rhodamin B atau tidak. Dari semua sosis yang dianalisis dengan spektrofotometri UV-visible, terdapat 1 sampel sosis positif mengandung rhodamin B dengan kategori harga menengah. Dimana pada panjang

gelombang maksimum 533 nm, menghasilkan absorbansi 0,494 ppm. Absorbansi tersebut masuk ke dalam range kurva kalibrasi larutan rhodamin B. Selain itu pada absorbansi yang didapat nilainya melebihi batas deteksi dan batas kuantitasi sehingga memenuhi kriteria cermat dan seksama. Sedangkan pada sampel dengan kategori harga yang mahal dan murah , negatif mengandung rhodamin B karena pada panjang gelombang 533 nm menghasilkan absorbansi 0,021 ppm, sedangkan pada sampel dengan kategori harga yang murah menghasilkan absorbansi 0,0654 ppm Absorbansi pada kategori sampel mahal dan murah tidak masuk kedalam range absorbansi kurva kalibrasi larutan rhodamin B sehingga di nyatakan negatif mengandung rhodamin B.

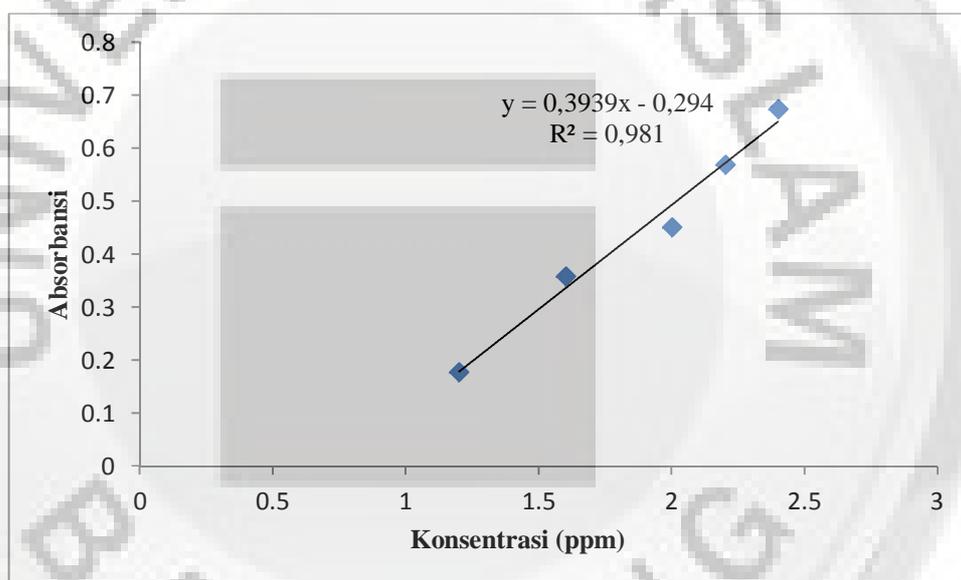
Berdasarkan pengamatan yang dilakukan terhadap masing-masing sampel merk sosis, diketahui bahwa semua merk sosis tersebut telah memperoleh izin Depkes dan terdapat logo MUI pada kemasannya dan dinyatakan aman untuk dikonsumsi. Namun pada kenyataanya ada sampel sosis yang positif mengandung rhodamin B.

5.5 Verifikasi Metode Natrium Nitrit

5.5.1 linearitas

Dibuat kurva kalibrasi yang memplot konsentrasi natrium nitrit terhadap absorbansi. Dilakukan dengan cara pembuatan larutan natrium nitrit dengan konsentrasi 1,2 ; 1,6 ; 2,0 ; 2,2 ; 2,4 ppm, dan didapatkan absorbansi dari masing-masing konsentrasi dibuat persamaan garis lurus (*regresi linier*) $y = bx + a$. Persamaan regresi linear yang terbentuk adalah $y = 0,393x + 0,294$. Dengan

koefisien korelasi (r) 0,981 dari persamaan regresi linier yang didapat, maka dapat dihitung simpangan baku residual, standar deviasi dan koefisien variansinya untuk melihat derajat linieritasnya. Sehingga didapat simpangan baku residual ($S_{y/x}$) 0,0137 dengan standar deviasi (S_{x0}) 0.0348 dan koefisien variansinya (V_{x0}) 1,851. Dari hasil yang didapat koefisien korelasi (r) mendekati 1 dan koefisien variansinya (V_{x0}) <5 , sehingga dapat dikatakan alat memberikan respon yang sebanding terhadap konsentrasi natrium nitrit yang memiliki kelinieran baik.



Gambar V.2. Kurva kalibrasi larutan natrium nitrit

5.5.2 Akurasi

Tabel V.III Ketetapan (akurasi) natrium nitrit

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Perolehan	% Perolehan Kembali	Rata-rata
1,2	0,189	1,226	102,18	
1,2	0,189	1,226	102,18	101,97
1,2	0,186	1,219	101,54	
2,0	0,443	1,871	93,55	
2,0	0,443	1,871	93,55	93,68
2,0	0,446	1,879	93,93	
2,4	0,653	2,404	100,17	
2,4	0,658	2,417	100,70	100,49
2,4	0,657	2,414	100,59	

Dari hasil tersebut diperoleh nilai persen perolehan kembali dari masing-masing konsentrasi yaitu pada konsentrasi 1,2 ppm diperoleh rata-rata persen perolehan kembali sebesar 101,97 % ; konsentrasi 2,0 ppm sebesar 93,67 %; dan konsentrasi 2,4 ppm sebesar 100,49 %. Berdasarkan data perolehan kembali tersebut, nilai perolehan kembali (*recovery*) kurang memenuhi standar yaitu pada konsentrasi 2,0 ppm persen perolehan kembali yang didapat melebihi standar yaitu dimana persen perolehan kembali yang memenuhi persyaratan adalah 98-102 %. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat adanya pengotor dimana pengotor selalu ada dalam setiap pengukuran sehingga menyebabkan nilai pengukuran yang jauh dari nilai sebenarnya.

5.5.3 Presisi

Tabel V.4 Presisi (keseksamaan) *intra-day* natrium nitrit

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Perolehan	% perolehan kembali
1,2 ppm	0,189	1,226	102,18 %
	0,189	1,226	102,18 %
	0,186	1,219	101,54 %
	0,185	1,216	101,33%
	0,185	1,216	101,33 %
	0,184	1,221	101,71 %
Rata-rata			101,71 %
SD			0,0158
RSD			1,29 %

Pada parameter yang diamati untuk presisi yaitu *intra-day* dilakukan dalam hari yang sama, tujuan penentuan keseksamaan adalah untuk melihat kinerja alat dan metode analisis yang digunakan, kriteria penerimaan presisi pada penetapan kadar adalah apabila RSD (KV) $\leq 2\%$ dan hasil yang diperoleh adalah 1,851 %. Hal ini menginformasikan bahwa sistem operasional alat dan analisis memiliki nilai presisi yang baik terhadap metode dengan nilai RSD $< 2\%$.

Pada akurasi dan presisi menggunakan metode eksternal, yaitu tidak terdapat adanya penambahan sampel pada baku pembanding, akan tetapi pengukuran dilakukan terhadap larutan baku pembanding dimana pada akurasi pengukuran sebanyak 3 kali dengan menggunakan 3 konsentrasi berbeda sedangkan pada presisi pengukuran sebanyak 6 kali pada 1 konsentrasi yang sama.

5.5.4 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Hasil yang diperoleh adalah

0,104 ppm. Sedangkan batas kuantitasi merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2009). Hasil yang diperoleh sebesar 0,348 ppm. Sehingga apabila kadar yang didapat tidak berada dalam rentang tersebut maka kadar yang diperoleh tidak memenuhi kriteria. Pada konsentrasi sampel yang didapat yaitu 0,664 dan 0,842 ppm sehingga masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.

5.6 Persiapan Sampel Natrium Nitrit

Persiapan sampel untuk pengujian natrium nitrit pada sosis, yaitu pertama kali sosis ditimbang kemudian dihaluskan dan ditambahkan dengan aquadest yang bertujuan untuk melarutkan senyawa yang terdapat dalam sampel, dan ditambahkan dengan kalium alumunium sulfat yang bertujuan untuk mengendapkan protein, setelah itu dilakukan sentrifugasi yang bertujuan untuk membentuk endapan dan filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian diambil dan ditambahkan dengan difenil amin, asam sulfanilat, dan nafetilendiamina. Apabila ketika ditambahkan ketiga larutan tersebut filtrat berubah menjadi warna pink atau merah muda maka dinyatakan bahwa sampel tersebut positif mengandung natrium nitrit.

5.7 Analisis Natrium Nitrit dengan Spektrofotometri UV-Visible.

Penentuan kadar natrium nitrit dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visible, dengan menggunakan panjang gelombang 518 nm. Natrium nitrit merupakan senyawa yang dapat larut dalam air, namun tidak dapat terukur oleh

spektrofotometri UV-Visible oleh karena itu di tambahkan dengan senyawa kromogen berupa nafetilendiamina sehingga membuat natrium nitrit dapat terukur oleh spektrofotometri, karena senyawa nafetilendiamina merupakan senyawa berwarna, dimana syarat suatu senyawa dapat terukur dengan spektrofotometri adalah senyawa yang berwarna.

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan natrium nitrit dilakukan pada panjang gelombang 400-600 nm. Hal ini dilakukan karena larutan natrium nitrit merupakan senyawa yang tidak berwarna dan akan berwarna dengan penambahan nafetilendiamina yang memiliki panjang gelombang 400-600 nm. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum diperoleh λ 518 nm, panjang gelombang maksimum yang diperoleh tidak sama dengan panjang gelombang maksimum yang terdapat dalam jurnal yang dijadikan sebagai acuan yaitu 520 nm. Tetapi selisih 2 nm masih dapat ditoleransi, oleh karena itu panjang gelombang yang diperoleh dapat digunakan untuk analisis natrium nitrit.

Dari ketiga sampel sosis yang di analisis, ada dua sampel yang positif mengandung natrium nitrit dengan kategori harga murah dan menengah, yaitu dengan melakukan uji kualitatif dimana ketika filtrat ditambahkan dengan difenil amin, asam sulfanilat, nafetilendiamina, warna nya berubah menjadi merah muda, sedangkan pada sampel dengan kategori mahal tidak berubah menjadi warna merah muda akan tetapi berubah menjadi warna yang lebih keruh.

Selanjutnya dilakukan pengukuran pada panjang gelombang 518 nm pada ketiga sampel tersebut. Sampel dengan kategori harga murah dan menengah menghasilkan absorbansi 0,358 nm dan 0,428 nm yang menunjukkan bahwa

kedunya positif mengandung natrium nitrit karena absorbansi tersebut masuk kedalam range kurva kalibrasi larutan natrium nitrit, sedangkan pada kategori mahal negatif mengandung natrium nitrit karena tidak adanya perubahan warna menjadi merah muda dan absorbansi yang tidak masuk kedalam range kurva kalibrasi.

Setelah dilakukan perhitungan kadar natrium nitrit dalam sampel, sampel dengan kategori harga murah dan menengah mengandung kadar nitrit yaitu 0,664 mg/kg dan 0,842 mg/kg, sehingga pada sampel tersebut masih dibawah kadar maksimum yang diperbolehkan menurut Permenkes RI No 1168/Menkes/Per/1999 yaitu di bawah 125 mg/kg.