

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental, dimana hanya digunakan sebagai eksperimen kemudian dilakukan validasi metode dan pengujian kadar. Selanjutnya hasil tersebut diobservasi apakah memenuhi persyaratan validasi dan berapa kadar nitrit yang didapatkan. Dalam penelitian ini menggunakan 16 sampel air minum isi ulang di kota Semarang.

B. Lokasi Penelitian

Pengecekan kadar nitrit menggunakan spektrofotometri uv-vis dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Ngudiwaluyo.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah air minum isi ulang di Kota Semarang.

2. Sampel

Sampel yang digunakan adalah air minum isi ulang yang ada di kota Semarang. Dengan metode *cluster sampling* yang diambil dari 16 depo air minum isi ulang pada 16 kecamatan yang ada di kota Semarang

D. Definisi Operasional

1. Air minum isi ulang merupakan air minum yang dikemas di dalam galon dan telah melewati beberapa proses penyaringan.

2. Nitrit merupakan senyawa anorganik yang dapat mencemari air minum
3. Validasi metode analisis Nitrit menggunakan spektrofotometri UV-VIS adalah Linieritas, Presisi, Akurasi LOD dan LOQ

E. Variabel Penelitian

1. Variable bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah 16 air minum isi ulang di tiap kecamatan kota Semarang

2. Variable terikat

Variable terikat pada penelitian ini adalah analisis kadar Nitrit dan validasi metode.

3. Variable kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini yaitu Panjang gelombang maksimal 546,5 nm dan operating time mulai dari menit ke 18-28.

F. Pengumpulan Data

1. Alat

Alat-alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini meliputi: labu ukur 10 ml dan 100 ml (IWAKI), pipet ukur 1 ml, 2 ml dan 5 ml (Herma), pipet volumetrik 1 ml (Herma), *beakerglass* 100 ml dan 500 ml (Herma), gelas ukur 100 ml (Herma), botol kaca coklat, tabung reaksi (IWAKI), ball pipet, rak tabung reaksi, spatula, timbangan analitik OHAUS, serta spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1900i.

2. Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini meliputi 16 sampel air minum isi ulang, asam asetat 30% (Merck), asam sulfanilat (Merck), *N-1-naftiletilen-diamonium* (NED) (Merck), natrium nitrit (Na_2NO_2) (Merck) dan aquadest.

G. Prosedur Kerja

1. Pembuatan larutan

f. Larutan pereaksi griss

Larutan I disiapkan dengan melarutkan 0,5 g asam sulfanilat dalam 150 ml asam asetat 30% v/v. Larutan II disiapkan dengan melarutkan 0,1 g *N-1-naftiletilen-diamonium* larutkan dalam 150 ml asam asetat 30% v/v. Dicampurkan larutan I dan larutan II dalam wadah botol berwarna coklat (Romsiah *et al.*, 2017).

g. Pembuatan larutan baku natrium nitrit (Anggresani *et al.*, 2018)

Ditimbang sebanyak 100 mg Natrium Nitrit kemudian dilarutkan dengan aquadest sampai volumenya tepat 100 mL hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dari konsentrasi 1000 ppm diambil 10 mL dilarutkan dalam 100 mL aquadest hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm diambil 1 mL dilarutkan dalam 10 mL aquadest hingga diperoleh konsentrasi 10 ppm (Anggresani *et al.*, 2018).

h. Pembuatan seri konsentrasi baku natrium nitrit

Dari larutan baku 10 ppm dipipet 1,0; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6; 3,0 mL dan diencerkan dengan aquadest sampai volumenya tepat 10 ml

sehingga diperoleh seri konsentrasi 1,0; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6 dan 3,0 ppm. (Anggresani *et al.*, 2018).

2. Validasi metode

a. Penentuan panjang gelombang

Larutan baku natrium nitrit konsentrasi 1,0 ppm, diambil 10 mL dan ditambah 2 mL pereaksi Griess kemudian dibaca absorbansinya pada λ 400-800 nm. Diperoleh panjang gelombang yang memberikan absorbansi maksimum (Anggresani *et al.*, 2018).

b. Pembuatan kurva baku

Larutan baku natrium nitrit dengan konsentrasi 1,0; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6 dan 3,0 ppm, masing - masing diambil 10 mL dan ditambahkan 2 mL pereaksi Griess. Larutan dibiarkan selama operating time kemudian dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ max. Data hasil absorbansi selanjutnya dibuat kurva baku sehingga diperoleh persamaan garis $y = bx + a$ (Anggresani *et al.*, 2018).

c. Operating time

Larutan baku nitrit konsentrasi 1,0 ppm kemudian ditambahkan 2 ml pereaksi Griess selanjutnya dibaca absorbansinya pada λ max setiap 6, 9, 12, 15, 18 dan 21 menit. Ditentukan operating time-nya (Romsiah *et al.*, 2017).

d. Linieritas

Larutan baku nitrit dengan konsentrasi 1,0; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6

dan 3,0 ppm masing-masing ditambahkan 2 ml pereaksi Griess. Larutan dibiarkan selama operating time kemudian dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada λ max. Persamaan yang di dapat digunakan untuk menentukan kadar nitrit dalam air minum isi ulang. Data hasil absorbansi selanjutnya dibuat kurva baku sehingga diperoleh persamaan garis $y = bx + a$. Dari kurva hubungan antara konsentrasi natrium nitrit dengan absorbansi, diperoleh nilai koefisien korelasi tersebut dapat ditentukan linearitasnya baik atau tidak (Romsiah *et al.*, 2017).

e. Presisi

Larutan baku nitrit dengan konsentrasi 1,0 ppm, sebanyak 6 kali, dimasukkan dalam enam tabung reaksi dan masing-masing ditambah 2 ml pereaksi Griess. Larutan di biarkan selama operating time dan dibaca absorbansinya pada λ max, kemudian dihitung nilai RSD (Romsiah *et al.*, 2017).

f. Akurasi

Larutan baku dengan konsentrasi 1,4 1,8 dan 2,2 ppm masing masing diambil 3ml kemudian ditambah sampel 7 ml dan diberi pereaksi gris masing-masing 2 ml. kemudian diamkan selama operating time kemudian dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-VIS (Romsiah *et al.*, 2017).

g. LOD LOQ

Batas deteksi dan batas kuantitas dapat dihitung secara statistika melalui persamaan garis linear dari kurva baku. Nilai pengukuran akan sama dengan b pada persamaan garis linear $y = bx + a$, sedangkan simpangan baku residual (Sy/x) (Romsiah *et al.*, 2017).

h. Penetapan kadar nitrit pada sampel

1) Identifikasi kualitatif

Dipipet 3 ml sampel ditambahkan 2 ml pereaksi griss kemudian amati perubahan wana. Jika positif mengandung nitrit maka akan ada perubahan warna menjadi merah ke ungu.

2) Identifikasi kuantitatif

Di pipet 3 ml sampel air minum ditambahkan 2 ml pereaksi griss, lalu didiamkan selama waktu operating time. Kemudian dilakukan pembacaan nilai absorbansi sampel pada panjang gelombang 546,5 nm (Emilia, 2019).