

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR PENGAWET  
NATRIUM BENZOAT PADA SARI KEDELAI DI 3  
KECAMATAN KABUPATEN TULUNGAGUNG  
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS**

**SKRIPSI**



**SITI AWWALUL AMANATUR ROHMAH**

**1613206021**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
STIKES KARYA PUTRA BANGSA  
TULUNGAGUNG**

**2020**

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR PENGAWET  
NATRIUM BENZOAT PADA SARI KEDELAI DI 3  
KECAMATAN KABUPATEN TULUNGAGUNG  
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi S1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



**SITI AWWALUL AMANATUR ROHMAH**

**1613206021**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI**

**STIKES KARYA PUTRA BANGSA**

**TULUNGAGUNG**

**2020**

SKRIPSI

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR PENGAWET  
NATRIUM BENZOAT PADA SARI KEDELAI DI 3  
KECAMATAN KABUPATEN TULUNGAGUNG  
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS**

Yang diajukan oleh :

SITI AWWALUL AMANATUR ROHMAH

1613206021

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Afidatul Muadifah, M. Si.  
NIDN : 0708039102

Pembimbing Pendamping,



Rahma Diyan M., S.Si., M.Sc.  
NIDN : 0710029101

SKRIPSI

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR PENGAWET  
NATRIUM BENZOAT PADA SARI KEDELAI DI 3  
KECAMATAN KABUPATEN TULUNGAGUNG  
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS**

Oleh :

SITI AWWALUL AMANATUR ROHMAH

1613206021

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal : 21 Juli 2020

Ketua Penguji : Afidatul Muadifah, M. Si. (.....)  
Anggota Penguji : 1. Rahma Diyan M., S.Si., M.Sc (.....)  
: 2. Dhanang Prawira N., M.Farm., Apt. (.....)  
: 3. Prof. Apt. Sri Winarsih, Dr.,M.Si.,Dra (.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M. H.

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, Juli 2020

Penulis,



Siti Awwalul Amanatur Rohmah

## **KATA PENGANTAR**

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia, taufik, serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di 3 Kecamatan Kabupaten Tulungagung Menggunakan SPEKTROFOTOMETER UV-VIS” dengan baik meski masih banyak terdapat kekurangan didalam tugas akhir ini. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa Tulungagung.

Terselesaikannya Tugas Akhir Skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, dukungan, petunjuk, arahan, semangat, serta doa dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. dr. Denok Sri Utami M.H selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Ibu Dara Pranidya Tilarso, M.Farm., Apt. selaku Kaprodi S1 STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Ibu Afidatul Muadifah, M.Si. selaku pembimbing utama yang telah memberikan banyak pengarahan dan bimbingan kepada peneliti selama penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan banyak bimbingan dan masukan kepada peneliti dalam penyusunan skripsi ini.
5. Pihak perpustakaan STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah memberi izin dalam menunjang penulisan skripsi penelitian ini.
6. Pihak laboratorium kimia STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah memberi izin untuk melakukan penelitian untuk penyusunan skripsi ini.

7. Ibu Sunarti dan Bapak Supangat selaku orang tua peneliti, terimakasih telah memberikan banyak dukungan, doa, serta semangat kepada peneliti.
8. Teman-teman Departemen Kimia yang telah memberikan semangat serta bantuan dalam pengerjaan skripsi ini.
9. Teman-teman prodi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung Angkatan 2016 yang telah memberikan dukungan dan semangat serta menemani peneliti selama masa perkuliahan.
10. Semua pihak yang telah membantu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, oleh sebab itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun supaya skripsi penelitian ini bisa lebih baik lagi.

Tulungagung, Juli 2020

Penulis

Siti Awwalul Amanatur Rohmah

# VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR PENGAWET NATRIUM BENZOAT PADA SARI KEDELAI DI 3 KECAMATAN KABUPATEN TULUNGAGUNG MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

Siti Awwalul Amanatur Rohmah

Prodi S1 Farmasi

## ABSTRAK

Natrium benzoat merupakan bahan pengawet organik yang penggunaannya diperbolehkan, jika jumlahnya di bawah ambang batas maksimum. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi terhadap metode Spektrofotometri UV-Vis yang akan digunakan untuk penetapan kadar natrium benzoat dalam sari kedelai di 3 kecamatan yang ada di wilayah Kabupaten Tulungagung menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis. Sebelum dilakukan penetapan kadar maka sampel dianalisis secara kualitatif terlebih dahulu menggunakan metode titrasi asam basa. Hasil dari analisis kualitatif ini sampel akan berubah warna menjadi merah muda jika mengandung natrium benzoat. Selanjutnya dilakukan optimasi panjang gelombang natrium benzoat pada rentang 200-400 nm, dan didapatkan panjang gelombang optimum sebesar 226 nm. Proses validasi metode dilakukan dengan menggunakan empat parameter yaitu uji linearitas, uji akurasi, uji presisi, serta LOD&LOQ. Berdasarkan validasi metode didapatkan nilai koefisien korelasi ( $R^2$ ) sebesar 0,99563 yang menandakan linearitas, % *recovery* sebesar 97,58% yang masuk rentang 80-120%, RSD sebesar 0,0454% yang  $\leq 2\%$ , LOD sebesar 0,33 ppm, dan LOQ sebesar 1,0996 ppm. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa metode yang digunakan ini valid karena semua parameter memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Analisis penentuan kadar menggunakan instrument Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 226 nm menunjukkan bahwa sampel A memiliki konsentrasi sebesar  $92,243 \pm 0,039$  ppm, sampel B sebesar  $80,286 \pm 0,039$  ppm, sampel C sebesar  $99,04 \pm 0,063$  ppm, sampel D sebesar  $101,483 \pm 0,025$  ppm, dan sampel E sebesar  $80,143 \pm 0,038$  ppm. Kandungan natrium benzoat dalam sari kedelai ini sesuai dengan persyaratan Peraturan BPOM RI No.36 tahun 2013 tentang batas maksimum penggunaan bahan pangan, penggunaan Natrium benzoat pada produk sari buah/sayur dan produk kedelai non fermentasi adalah 600 mg/kg pangan, dengan ADI 0-5 mg/kgBB.

**Kata kunci :** natrium benzoat, pengawet makanan, sari kedelai, Spektrofotometer UV-Vis



**METHOD VALIDATION AND DETERMINATION OF SODIUM  
BENZOATE IN SOYBEAN MILK IN 3 SUB-DISTRICTS IN  
TULUNGAGUNG REGENCY USING  
SPECTROPHOTOMETER UV-VIS**

**Siti Awwalul Amanatur Rohmah**

**Pharmacy S1 Study Program**

**ABSTRACT**

Sodium benzoate is an organic preservative chemical compound which use is permitted if the amount is below the maximum threshold. This research aims to validate the UV-Vis Spectrophotometry method which will be used to determine sodium benzoate levels in soybean milk in 3 sub-districts in the Tulungagung Regency using the UV-Vis Spectrophotometer instruments. Before determining the content, the samples were analyzed qualitatively first using the acid-base titration method. The result of this qualitative analysis of the sample will turn pink if it contains sodium benzoate. Then the sodium benzoate wavelength optimization is carried out in the range of 200-400 nm, and the optimum wavelength is 226 nm. The method validation process is done by using four parameters namely linearity test, accuracy test, precision test, and LOD & LOQ. Based on the validation of the method, the correlation coefficient ( $R^2$ ) of 0.99563 indicates linearity, recovery % is 97.58% in the range of 80-120%, RSD is 0.0454% which is  $\leq 2\%$ , LOD is 0.33 ppm, and LOQ of 1.0996 ppm. Based on these results, it can be said that the method used is valid because all parameters meet the specified requirements. Analysis of the determination of levels using a UV-Vis Spectrophotometer instruments at wavelength 226 nm using 5 samples, from the five samples obtained average rate of  $90.639 \pm 0.0406$ . Analysis of the rate determination using UV-Vis Spectrophotometer instruments at 226 nm wavelengths show that sample A has a concentration  $92,243 \pm 0,039$  ppm, sample B is  $80,286 \pm 0,039$  ppm, sample C is  $99,04 \pm 0,063$  ppm, sample D is  $101,483 \pm 0,025$  ppm, and sample E is  $80,143 \pm 0,038$  ppm. The content of sodium benzoate in soybean milk is following the requirements of BPOM RI regulation No. 36 of 2013 concerning the maximum limit of food use, the use of sodium benzoate in fruit/vegetable juice products and non-fermented soybean products is 600 mg/kg of food, with ADI 0-5 mg/kg body weight.

**Keywords** : *food preservative, sodium benzoate, soybean milk, UV-Vis Spectrophotometer*

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 Bahan Tambahan Pangan (BTP) .....	6
2.1.1 Definisi Bahan Tambahan Pangan .....	6
2.1.2 Tujuan Bahan Tambahan Pangan .....	7
2.1.3 Penggolongan Bahan Tambahan Pangan .....	7
2.2 Bahan Pengawet .....	10
2.2.1 Tujuan Penggunaan Bahan Pengawet .....	10
2.2.2 Jenis Bahan Pengawet .....	10
2.3 Natrium Benzoat.....	11
2.3.1 Definisi Natrium Benzoat.....	11

2.3.2	Sifat Fisika Kimia .....	12
2.3.3	Kegunaan Natrium Benzoat.....	13
2.3.4	Dampak Terhadap Kesehatan .....	13
2.3.5	Batas Maksimum Penggunaan.....	14
2.4	Sari Kedelai .....	14
2.5	Analisis Natrium Benzoat dalam Sari Kedelai.....	16
2.5.1	Analisis Kualitatif .....	16
2.5.2	Analisis Kuantitatif .....	17
2.6	Validasi Metode.....	25
2.6.1	Linieritas.....	26
2.6.2	Presisi .....	26
2.6.3	Akurasi .....	27
2.6.4	LOD & LOQ.....	28
<b>BAB III</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
3.1	Bahan dan Alat .....	29
3.1.1	Bahan.....	29
3.1.2	Alat .....	29
3.2	Cara Penelitian .....	29
3.2.1	Pengambilan Sampel .....	29
3.2.2	Pembuatan Larutan Pereaksi.....	30
3.2.3	Preparasi Sampel.....	30
3.2.4	Analisis Kualitatif .....	30
3.2.5	Analisis Kuantitatif .....	31
3.2.6	Validasi Metode .....	32
3.3	Alur Penelitian.....	35
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>36</b>
4.1	Analisis Kualitatif Natrium Benzoat pada Sampel .....	36
4.2	Optimasi Panjang Gelombang .....	38

4.3 Validasi Metode .....	39
4.3.1 Uji Linearitas .....	40
4.3.2 Uji Akurasi .....	42
4.3.3 Uji Presisi .....	43
4.3.4 Uji LOD & LOQ .....	44
4.4 Penetapan Kadar .....	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	48
5.1 Kesimpulan .....	48
5.2 Saran .....	48
DAFTAR PUSTAKA .....	49
LAMPIRAN .....	52

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Sari Kedelai dan Susu Sapi dalam tiap 100 gram.....	15
Tabel 2.2 Spektrum Sinar Tampak .....	18
Tabel 2.3 Pelarut-pelarut yang Mengabsorbsi Sinar UV pada Panjang Gelombang Spesifik.....	21
Tabel 2.4 Tingkat Ketelitian RSD .....	27
Tabel 2.5 Kriteria Penerimaan Akurasi pada Konsentrasi Analit yang Berbeda .....	27
Tabel 4.1 Hasil Analisis Kualitatif Natrium Benzoat pada Sampel .....	37
Tabel 4.2 Nilai Absorbansi Larutan Standar Natrium Benzoat dengan Variasi Konsentrasi Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis .....	40
Tabel 4.3 Hasil Absorbansi Spiking .....	42
Tabel 4.4 Hasil Perolehan Kembali (% <i>recovery</i> ) .....	42
Tabel 4.5 Hasil Uji Presisi Kadar Natrium Benzoat .....	43
Tabel 4.6 Hasil Uji LOD & LOQ .....	44
Tabel 4.7 Penetapan Kadar Natrium Benzoat dalam Sari Kedelai .....	46

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Kimia Natrium Benzoat.....	12
Gambar 2.2 Sari Kedelai.....	15
Gambar 2.3 Spektrofotometer UV-Vis <i>Single-beam</i> .....	20
Gambar 2.4 Skema Spektrofotometer UV-Vis <i>Double-beam</i> .....	21
Gambar 2.5 Instrumen Spektrofotometer UV-Vis .....	22
Gambar 2.6 Lampu Tungsten .....	22
Gambar 2.7 Lampu Deuterium .....	23
Gambar 2.8 Monokromator .....	23
Gambar 2.9 Wadah sampel (kuvet) .....	24
Gambar 2.10 Detektor .....	24
Gambar 2.11 Rekorder .....	25
Gambar 4.1 Sampel Sari Kedelai .....	37
Gambar 4.2 Hasil Uji Kualitatif Natrium Benzoat .....	37
Gambar 4.3 Hasil Kurva Optimasi Panjang Gelombang Standar Natrium Benzoat dengan Konsentrasi 5 ppm .....	39
Gambar 4.4 Kurva Kalibrasi Standar Natrium Benzoat 5 ppm Pada Panjang Gelombang 226 nm .....	41
Gambar 4.5 Reaksi Natrium Benzoat dengan HCl .....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji Kualitatif .....	50
Lampiran 2. Optimasi Panjang Gelombang .....	56
Lampiran 3. Validasi Metode .....	61
Lampiran 4. Penetapan Kadar Natrium Benzoat dalam Sampel .....	82

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Indonesia merupakan negara agraris yang menghasilkan banyak hasil bumi, salah satunya adalah kedelai. Kedelai merupakan tanaman dikotil yang mempunyai sumber protein yang baik, tidak kalah dengan daging, susu, maupun ikan (Afiyanti Eka, 2016). Selain dapat diproduksi dalam bentuk makanan berupa tempe, tahu, dan kecap, kedelai juga dapat diproduksi dalam bentuk minuman berupa sari kedelai. Sari kedelai merupakan salah satu produk minuman ringan dari bahan baku kacang kedelai yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena kandungannya yang sangat banyak. Kelebihan dari sari kedelai yaitu proses pembuatannya yang relatif sederhana, tidak memerlukan teknologi yang canggih serta harganya yang lebih murah dibanding dengan susu hewani (Ryan Rustian, 2015).

Suatu produk minuman biasanya ditambahkan bahan pengawet dengan maksud untuk mengawetkan minuman agar tidak mudah basi. Bahan pengawet yang biasa digunakan dalam sari kedelai adalah natrium benzoat (Purwaningsih Ika *et al.*, 2016). Natrium benzoat merupakan pengawet organik yang tidak dilarang penggunaannya di Indonesia, namun jika dipergunakan secara berlebihan akan menyebabkan gangguan kesehatan seperti penyakit lupus (*systematic lupuseritematosus/SLE*), edema (bengkak), dan lain-lain (Silaban, 2010). Menurut Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia N0.36 tahun 2013, tentang batas maksimum penggunaan bahan pangan, penggunaan Natrium benzoat pada produk sari buah/sayur dan produk kedelai non fermentasi adalah 600 mg/kg pangan, dengan ADI 0-5 mg/kgBB (Kepala BPOM, 2013).

Analisa natrium benzoat dalam sari kedelai dilakukan dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dan



sinar tampak dengan menggunakan instrumen Spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga metode ini lebih banyak digunakan untuk analisis kuantitatif dibandingkan analisis kualitatif (Suharman dan Mulja, 1995: 26). Kelebihan dari instrumen Spektrofotometer UV-Vis yaitu dapat digunakan untuk menganalisis banyak zat organik dan anorganik, selektif, mempunyai ketelitian yang tinggi dengan kesalahan relatif sebesar 1%-3% (tetapi kesalahan ini dapat diperkecil lagi), analisis dapat dilakukan dengan cepat dan tepat, serta dapat digunakan untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil (Elliawati Hasibuan, 2015). Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya S, 2013).

Sebelum digunakan untuk menganalisis suatu analit dalam sampel alangkah baiknya metode Spektrofotometri UV-Vis dilakukan validasi terlebih dahulu. Alasan perlu dilakukannya validasi metode yaitu karena tempat, waktu, dan sampel yang digunakan dalam penelitian itu berbeda dengan yang sudah dilakukan peneliti lain. Selain itu, penelitian ini dikerjakan oleh analis yang berbeda dan dengan alat yang berbeda pula sehingga validasi perlu dilakukan untuk menjamin mutu dari suatu metode (Gandja dan Rohman, 2007). Validasi ini juga bertujuan untuk memastikan bahwa metode Spektrofotometri yang akan digunakan telah memenuhi persyaratan untuk aplikasi analisis dan dapat dipertanggungjawabkan kebenarannya (Cicik *et. al.*, 2016). Validasi metode analisis merupakan upaya yang dilakukan melalui penelitian laboratorium untuk membuktikan bahwa metode yang akan digunakan memenuhi parameter validasi. Parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis meliputi linieritas, batas deteksi, kuantitasi, presisi, dan akurasi (Watson, 2012). Validasi metode juga dapat mengevaluasi kerja suatu metode analisis, menjamin suatu prosedur analisis, menjamin keakuratan dan keterulangan hasil prosedur analisis serta mengurangi risiko penyimpangan yang mungkin timbul (Wulandari, 2007).

Sebagaimana dalam penelitian Rustian, *et al.*, (2015) yang berjudul “Analisis Kuantitatif Pengawet Natrium Benzoat pada sari kedelai yang Dijual di Daerah Cibuntu menggunakan Spektrofotometri UV-Vis”, dengan sampel berjumlah 3 susu kedelai didapatkan hasil bahwa ketiga sampel tersebut menunjukkan hasil yang positif mengandung bahan pengawet natrium benzoat dan melebihi batas ketentuan yang telah ditetapkan SNI yaitu 600 mg/kg. Penelitian Fauziah, *et al.* (2016) dengan judul “Identifikasi dan penetapan kadar pengawet Natrium Benzoat pada sari kedelai yang Dijual di Banjarmasin Tengah”, penetapan kadar dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis dengan sampel berjumlah 9, tiga dari sembilan sampel tersebut positif mengandung pengawet natrium benzoat, konsentrasi natrium benzoat pada sampel I adalah 0,808 mg/kg, sampel II adalah 4,76 mg/kg, dan sampel III adalah 2,57 mg/kg, kadar tersebut masih dibolehkan penggunaannya menurut SNI karena jumlahnya <600 mg/kg (ppm).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti merasa tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai Di 3 Kecamatan Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis”. Peneliti memilih judul tersebut karena sejauh pengetahuan peneliti belum ada penelitian mengenai analisa pengawet natrium benzoat pada sari kedelai di Tulungagung. Alasan pemilihan metode Spektrofotometri UV-Vis karena penggunaan metode Spektrofotometri UV-Vis untuk menetapkan kadar natrium benzoat dalam sari kedelai sangat tepat dan dapat digunakan untuk pengukuran kadar zat dengan jumlah yang sangat kecil dengan waktu yang relatif cepat.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1.2.1 Apakah metode Spektrofotometri UV-Vis yang digunakan untuk mengukur kadar pengawet natrium benzoat dalam sari kedelai memenuhi parameter validasi metode?

- 1.2.2 Berapakah kadar pengawet natrium benzoat dalam sari kedelai di 3 kecamatan Kabupaten Tulungagung yang dianalisis menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis?
- 1.2.3 Apakah kadar pengawet natrium benzoat yang terkandung dalam sari kedelai sudah memenuhi standar yang telah ditetapkan oleh Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia N0.36 tahun 2013?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

- 1.3.1 Untuk mengetahui metode SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS yang digunakan dalam pengukuran kadar pengawet natrium benzoat dalam sari kedelai memenuhi parameter validasi metode.
- 1.3.2 Untuk mengetahui kadar pengawet natrium benzoat dalam sari kedelai di 3 kecamatan Kabupaten Tulungagung yang dianalisis menggunakan metode SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS.
- 1.3.3 Untuk mengetahui kadar pengawet natrium benzoat yang terkandung dalam sari kedelai sudah memenuhi standar yang telah ditetapkan oleh Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia N0.36 tahun 2013.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Bagi Masyarakat**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang efek dari pengawet natrium benzoat jika penggunaannya melebihi ambang batas serta menghimbau masyarakat untuk lebih berhati-hati dalam memilih makanan atau minuman yang akan dikonsumsi.

#### **1.4.2 Bagi Instansi Pendidikan**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan referensi untuk melakukan penelitian selanjutnya serta mencoba membuat dan mengembangkan pengawet alami yang lebih sehat untuk dikonsumsi.

#### 1.4.3 Bagi Peneliti

Menambah pengetahuan dan pengalaman dalam melakukan penelitian mengenai validasi metode penetapan kadar natrium benzoat dalam susu kedelai menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Bahan Tambahan Pangan (BTP)**

##### **2.1.1 Definisi Bahan Tambahan Pangan**

Pengertian bahan tambahan pangan atau yang biasa disebut dengan BTP menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 329/Menkes/Per/XII/76 secara umum adalah bahan yang biasanya tidak digunakan sebagai makanan dan bukan merupakan komponen khas makanan, mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan pada waktu proses pengolahan dengan maksud untuk meningkatkan mutu. Termasuk di dalamnya adalah penyedap rasa, pewarna, antioksidan, pengaroma, pengental, dan pengawet. Penambahan BTP ini membuat makanan atau minuman tampak lebih menarik, berkualitas, awet serta memiliki rasa dan tekstur yang lebih sempurna. Zat-zat ini ditambahkan dalam jumlah yang sedikit, tetapi sudah memberikan hasil yang memuaskan (Khomsan, 2003: 174).

BTP yang digunakan dalam pangan harus memenuhi persyaratan sebagai berikut (Permenkes RI, 2012):

- a. BTP tidak dimaksudkan untuk dikonsumsi secara langsung dan atau tidak diperlakukan sebagai bahan baku pangan.
- b. BTP dapat mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang sengaja ditambahkan ke dalam pangan untuk tujuan teknologis pada pembuatan, pengolahan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan dan atau pengangkutan pangan untuk menghasilkan suatu komponen atau mempengaruhi sifat pangan tersebut baik secara langsung maupun tidak langsung.
- c. BTP tidak termasuk cemaran atau bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempertahankan atau meningkatkan nilai gizi.

### **2.1.2 Tujuan Bahan Tambahan Pangan**

Bahan tambahan pangan (BTP) digunakan untuk memperbaiki tekstur, rasa, penampilan, serta memperpanjang daya simpan. Penggunaan bahan tambahan pangan dalam produk pangan yang tidak mempunyai risiko terhadap kesehatan manusia dapat dibenarkan, karena hal tersebut memang lazim dilakukan. Namun, penggunaan secara berlebihan sehingga melampaui batas ambang maksimal tidak dibenarkan karena dapat merugikan atau membahayakan kesehatan manusia yang mengkonsumsi pangan tersebut (Anonim, 2012).

Pada umumnya BTP dapat dibagi menjadi dua golongan besar yaitu sebagai berikut :

1. BTP yang ditambahkan dengan sengaja ke dalam produk pangan, dengan mengetahui komposisi bahan tersebut dan maksud penambahan itu dapat mempertahankan kesegaran, cita rasa dan membantu pengolahan, sebagai contoh yaitu pengawet, pewarna, dan pemanis.
2. BTP yang tidak sengaja ditambahkan, yaitu suatu bahan yang tidak mempunyai fungsi dalam produk pangan tersebut, terdapat secara tidak sengaja, baik dalam jumlah sedikit atau cukup banyak akibat perlakuan selama produksi, pengolahan, dan pengemasan. Contohnya residu pestisida, antibiotik, dan hidrokarbon aromatik polisiklis.

### **2.1.3 Penggolongan Bahan Tambahan Pangan**

Berdasarkan perizinannya BTP digolongkan menjadi dua, yaitu :

1. Golongan BTP yang diizinkan

Bahan tambahan pangan dikelompokkan berdasarkan tujuan penggunaannya di dalam pangan. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 033 Tahun 2012, BTP yang diizinkan untuk digunakan pada makanan diantaranya, sebagai berikut:

- a. Antioksidan (*Antioxidant*)  
Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat mencegah atau menghambat terjadinya oksidasi. Contoh : Asam askorbat, Askorbil palmitat, dan lain-lain.
- b. Antikempal (*Anticaking Agent*)  
Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat mencegah pengempalan pada makanan yang berupa serbuk. Contoh : Aluminium silikat, Magnesium karbonat, dan lain-lain.
- c. Pengatur keasaman (*Acidity Regulator*)  
Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat mengasamkan, menetralkan, dan mempertahankan derajat keasaman makanan. Contoh : Amonium hidroksida, Asam sitrat, Asam fosfat, dan lain-lain.
- d. Pemanis buatan (*Artificial Sweetener*)  
Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat memberikan rasa manis pada produk pangan, yang hamper atau tidak memiliki nilai gizi. Contoh : Sakarin, Siklamat, dan Aspartam.
- e. Pemutih dan pematang tepung (*Flour Treatment Agent*)  
Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat mempercepat proses pemutihan dan atau pematangan tepung sehingga dapat memperbaiki mutu pemanggangan. Contoh : Asam askorbat dan Aseton peroksida.
- f. Pengemulsi, penstabil, pengental (*Emulsifier, Stabilizer, and Thickner*)  
Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat membantu terbentuknya sistem dispersi yang homogen pada makanan. Contoh : Agar, Asam alginat, dan Dikaliun fosfat.
- g. Pengawet (*Preservative*)  
Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat mencegah atau menghambat proses fermentasi, pengasaman, atau penguraian lain terhadap makanan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Contoh : Natrium benzoat, Asam sorbat, dan Nitrat.

h. Pengeras (*Firming Agent*)

Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat memperkeras atau mencegah melunaknya makanan. Contoh : Aluminium sulfat, Kalsium glukonat, dan Kalsium klorida.

i. Pewarna (*Colour*)

Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat memperbaiki atau memberikan warna pada pangan. Contoh : Eritrosin, Tartrazine, dan Kuning FCF

j. Penyedap rasa dan aroma, penguat rasa (*Flour, Flavour Enhancer*)

Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat memberikan, menambah atau mempertegas rasa atau aroma. Contoh : Eugenol dari cengkeh, Sitrat dari buah limau, dan lain-lain.

k. Sekuestran (*Sequestrant*)

Merupakan bahan tambahan pangan yang dapat mengikat ion logam yang ada dalam makanan. Contoh : Asam fosfat, Natrium pirofosfat, EDTA, dan Isopropil sitrat.

2. Golongan BTP yang dilarang

Beberapa bahan tambahan yang dilarang digunakan dalam pangan, menurut Permenkes RI No. 033 Tahun 2012, sebagai berikut:

- a. Natrium tetraborat (*boraks*)
- b. Formalin (*formaldehid*)
- c. Minyak nabati yang dibrominasi (*brominated vegetable oils*)
- d. Kloramfenikol (*chloramphenicol*)
- e. Dietilpirokarbonat
- f. Nitrofuranzon
- g. Asam salisilat dan garamnya
- h. Rhodamin B (pewarna merah)
- i. *Methanyl yellow* (pewarna kuning)
- j. Dulsin (pemanis sintesis)



## **2.2 Bahan Pengawet**

Pengawet atau *preservative* adalah BTP untuk mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman, penguraian, dan kerusakan lain yang disebabkan oleh mikroorganisme. Pengawet boleh ditambahkan dengan batasan kadar minimum dan maksimum jumlah pengawet yang dapat diterima tubuh. Asupan Harian yang Dapat Diterima atau *Acceptable Daily Intake* (ADI) adalah jumlah maksimum BTP dalam miligram per kilogram berat badan yang dapat dikonsumsi setiap hari selama hidup tanpa menimbulkan efek merugikan terhadap kesehatan. Sedangkan Asupan Maksimum Harian yang dapat ditoleransi atau *Maximum Tolerable Daily Intake* (MTDI) adalah jumlah maksimum suatu zat dalam miligram per kilogram berat badan yang dapat dikonsumsi dalam sehari tanpa menimbulkan efek merugikan terhadap kesehatan (Anonim, 2012).

### **2.2.1 Tujuan Penggunaan Bahan Pengawet**

Secara umum penambahan bahan pengawet pada pangan bertujuan sebagai berikut (Cahyadi, 2009:11) :

1. Menghambat pertumbuhan mikroba pada pangan baik yang bersifat patogen maupun tidak patogen.
2. Memperpanjang umur simpan pangan.
3. Tidak menurunkan kualitas gizi, warna, cita rasa, dan bau bahan pangan yang diawetkan.
4. Tidak untuk menyembunyikan keadaan pangan yang berkualitas rendah, tidak untuk menyembunyikan penggunaan bahan yang salah atau yang tidak memenuhi persyaratan, dan tidak untuk menyembunyikan kerusakan bahan pangan.

### **2.2.2 Jenis Bahan Pengawet**

Berdasarkan jenis senyawanya bahan pengawet dibedakan menjadi dua, yaitu (Cahyadi, 2009:6-8) :

- a. Bahan pengawet anorganik

Bahan pengawet anorganik adalah pengawet yang berasal dari senyawa anorganik (mineral) seperti  $\text{SO}_2$ , hidrogen, peroksida, nitrat, dan nitrit. Bahan

pengawet anorganik yang sering ditambahkan dalam pangan adalah senyawa nitrit dan nitrat dalam bentuk garam.

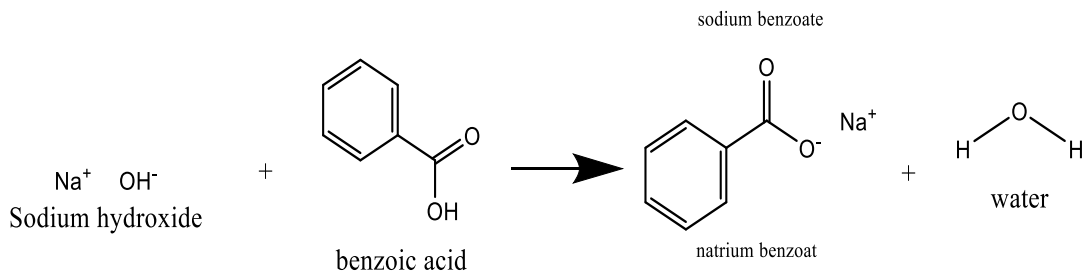
b. Bahan pengawet organik

Bahan pengawet organik adalah pengawet yang dapat ditemukan di alam dan berasal dari makhluk hidup. Jenis pengawet organik lebih mudah dibuat dan dapat terdegradasi sehingga mudah diekskresikan. Pengawet organik biasanya digunakan untuk produk olahan nabati seperti roti, sari buah, selai, jeli, dan susu kedelai. Bahan pengawet organik lebih banyak digunakan karena kandungan garamnya lebih mudah larut dalam air, contohnya asam benzoat, asam sorbat, asam asetat, dan natrium benzoat.

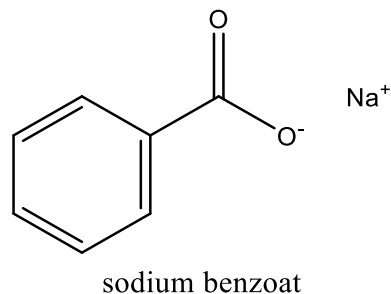
## 2.3 Natrium Benzoat

### 2.3.1 Definisi Natrium Benzoat

Natrium benzoat adalah garam dari asam benzoat yang banyak digunakan daripada bentuk asamnya, karena kelarutannya lebih baik dalam air. Natrium benzoat dapat diproduksi dengan mereaksikan sodium hidroksida dengan asam benzoat, reaksinya sebagai berikut :



Pengawet ini banyak dijual dipasar dan digunakan untuk mengawetkan berbagai bahan makanan. Benzoat sering digunakan untuk mengawetkan bahan pangan makanan dan minuman seperti sari buah, minuman ringan, saus tomat, selai, jeli, manisan, kecap, sari kedelai, dan lain-lain. Natrium benzoat akan terurai menjadi bentuk aktifnya yaitu asam benzoat di dalam bahan pangan (Rusnadi, *et al.*, 2015).



**Gambar 2.1** Struktur Kimia Natrium Benzoat (Anonim, 2019)

Natrium benzoat efektif digunakan pada pH 2,5 sampai 4,0. Daya awetnya akan menurun dengan meningkatnya pH, karena keefektifan dan mekanisme antimikroba berada dalam bentuk molekul yang tidak terdisosiasi. Penggunaan pengawet natrium benzoat diperbolehkan dalam jumlah tertentu. Penggunaan senyawa benzoat pada makanan hanya boleh digunakan dengan jumlah  $\leq 600$  mg/kg (Permenkes, 2012).

### 2.3.2 Sifat Fisika Kimia

Natrium benzoat merupakan senyawa kimia yang mempunyai rumus molekul ( $C_6H_5COONa$ ), berupa bubuk kristalin yang stabil, tidak berbau, berwarna putih dengan rasa menyengat (*astringent*) yang manis. Natrium benzoat sangat larut dalam air (62,8, 66,0, dan 74,2 gram larut dalam 100 mL air pada suhu  $0^\circ C$ ,  $20^\circ C$ , dan  $100^\circ C$ ), higroskopik pada RH di atas 50%, memiliki pH sekitar 7,5 pada konsentrasi 10 g/liter air, larut dalam etanol, metanol, dan etilen glikol (WHO, 2000; Chipley,

2005). Kelarutan natrium benzoat dalam air jauh lebih besar daripada asam benzoat, maka natrium benzoat lebih banyak digunakan sebagai pengawet (Herliana, 2010).

### **2.3.3 Kegunaan Natrium Benzoat**

Natrium benzoat memiliki fungsi sebagai antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan kapang dan jamur dengan cara menghancurkan sel-sel mikroba terutama kapang (Nurhayati, *et al.*, 2012). Pada industri makanan, natrium benzoat, kalium sorbat, dan natrium nitrit sering digunakan sebagai pengawet. Hal ini digunakan sebagai agen antijamur, untuk pengawet margarin, jus, dan permen. Komisi Eropa membatasi untuk penggunaan natrium benzoat dalam makanan maupun minuman adalah 0,015-0,5% (Stanojevic, *et al.*, 2009).

### **2.3.4 Dampak terhadap Kesehatan**

Natrium benzoat yang masuk ke dalam tubuh akan melewati membran-membran tubuh dan memasuki aliran darah, karena tidak ada sistem yang khusus pada manusia untuk tujuan tunggal mengenai penyerapan zat-zat kimia. Natrium benzoat diabsorpsi dari usus halus dan diaktivasi melalui ikatan dengan CoA (*coenzyme A*) untuk menghasilkan *benzoyl coenzyme A*. Selanjutnya *benzoyl coenzyme A* berkonjugasi dengan glisin dalam hati untuk membentuk asam hipurat yang kemudian dikeluarkan melalui urin. Tahap pertama dikatalisis oleh *enzyme synthetase*, tahap kedua dikatalisis oleh *enzyme acyltransferase*. Mekanisme ini mampu mengeluarkan sekitar 66-95% natrium benzoat. Sisa benzoat yang tidak dikeluarkan sebagai asam hipurat dapat dimetabolisme dengan asam glukoronat dan dapat dikeluarkan melalui urin. Jika tidak ada gangguan pada organ hati maka natrium benzoat tidak terakumulasi (WHO, 2000).

Mengonsumsi natrium benzoat secara berlebihan mengakibatkan kadar asam hipurat dalam urin yang tinggi sehingga mempunyai dampak negatif bagi kesehatan diantaranya yaitu sakit kepala, mual, susah tidur, penurunan nafsu makan, keram perut dan rasa kebas dimulut bagi orang yang lelah. Pengawet ini dapat memperburuk keadaan juga bersifat akumulatif yang dapat menimbulkan penyakit kanker dalam jangka waktu panjang dan ada juga laporan yang menunjukkan bahwa pengawet

natrium benzoat dapat merusak sistem saraf. Menurut WHO (2000), bagi penderita asma dan orang yang menderita *urticaria* (biduran, gatal-gatal) sangat sensitif terhadap natrium benzoat sehingga konsumsi dalam jumlah berlebih akan mengiritasi lambung (Manurung, 2012).

### **2.3.5 Batas Maksimum Penggunaan**

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) telah menetapkan batas yang disebut ADI (*Acceptable Daily Intake*) atau kebutuhan per orang per hari. ADI didefinisikan sebagai jumlah bahan yang dapat masuk ke dalam tubuh setiap harinya, meskipun dicerna setiap hari tetap bersifat aman dan tidak menimbulkan gangguan pada kesehatan atau efek keracunan dan risiko lainnya. ADI dinyatakan dalam satuan mg bahan tambahan makanan per kg berat badan. Menurut WHO, batas konsumsi harian natrium benzoat yang aman (ADI) adalah 0,5 mg/kg BB. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun 2012, kadar maksimum natrium benzoat yang diperbolehkan dalam pangan susu kedelai adalah 600 mg/kg pangan.

## **2.4 Sari Kedelai**

Menurut SNI 01-3830-1995, sari kedelai merupakan produk yang berasal dari ekstrak biji kacang kedelai dengan air atau larutan tepung kedelai dalam air, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain yang diizinkan. Sari kedelai pada dasarnya adalah hasil campuran kedelai dengan air, dimana komposisinya sangat mendekati susu sapi. Sari kedelai dapat menjadi alternatif pengganti susu sapi bagi orang yang alergi dan tidak menyukai susu sapi atau bagi mereka yang tidak dapat menjangkau harga susu sapi yang mahal. Sari kedelai bisa menjadi alternatif bagi orang-orang yang mempunyai alergi terhadap susu sapi, yaitu orang-orang yang tidak punya atau kekurangan enzim laktase (galaktosidase) dalam saluran pencernaannya, sehingga tidak mampu mencerna laktosa yang terkandung dalam susu sapi (Zainuddin, 2014).



**Gambar 2.2** Sari Kedelai

Sumber : Liputan6.com

Susu kedelai mempunyai kandungan gizi yang hampir sama dengan susu sapi terutama kandungan proteinnya yaitu 3,5-4%. Perbedaan utamanya adalah jenis asam amino, dimana susu kedelai tidak mengandung kasein. Berdasarkan sifat dan komposisi susu kedelai yang hampir sama dengan susu sapi, telah banyak dilakukan pemanfaatan susu kedelai untuk pembuatan produk susu seperti yoghurt, keju, dan lain-lain (Setioningsih, *et al.*, 2009). Komposisi dari susu kedelai dan susu sapi dalam tiap 10 gram bisa dilihat pada tabel 2.1.

**Tabel 2.1** Perbandingan komposisi susu kedelai dan susu sapi dalam tiap 100 gram

Komponen	Susu Kedelai	Susu Sapi
Kalori (kkal)	41,00	61,00
Protein (g)	3,50	3,20
Lemak (g)	2,50	3,50
Karbohidrat (g)	5,00	4,30
Kalsium (g)	50,00	143,00
Fosfor (g)	45,00	60,00
Besi (g)	0,70	1,70
Vitamin A (IU)	200,00	130,00
Vitamin B1 (Tiamin) (mg)	0,08	0,03
Vitamin C (mg)	2,00	1,00
Air (g)	87,00	88,33

## **2.5 Analisis Natrium Benzoat dalam Susu Kedelai**

Analisis natrium benzoat dalam susu kedelai dilakukan dengan dua cara yaitu secara kualitatif maupun secara kuantitatif.

### **2.5.1 Analisa Kualitatif**

Analisa kualitatif dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya zat yang akan dianalisis pada sampel. Analisis kualitatif dilakukan dengan menambahkan pereaksi khusus (metode pereaksi) sehingga zat yang di analisis dalam sampel menunjukkan warna yang khas dari zat tersebut. Analisa kualitatif natrium benzoat dapat dilakukan dengan metode titrasi asam basa (Afif, 2017).

#### **2.5.1.1 Titrasi Asam Basa**

Titrasi merupakan suatu metode analisis untuk menentukan kadar suatu zat dengan menggunakan zat lain yang sudah diketahui konsentrasinya. Titrasi asam basa adalah titrasi yang melibatkan asam maupun basa sebagai titer (zat yang telah diketahui konsentrasinya) maupun titran (zat yang akan ditentukan kadarnya) dan berdasarkan reaksi penetralan asam-basa. Kadar larutan asam ditentukan dengan menggunakan larutan basa yang sudah diketahui kadarnya, begitupun sebaliknya kadar larutan basa ditentukan menggunakan larutan asam yang sudah diketahui kadarnya. Di metode titrasi dikenal istilah titik ekuivalen, yaitu pH pada saat asam dan basa (titran dan titer) tepat ekuivalen atau secara stoikiometri tepat habis bereaksi. Selain digunakan untuk analisis kuantitatif titrasi asam basa juga bisa digunakan untuk uji kualitatif dengan melihat perubahan warna dari indikator yang digunakan (Sagulani, 2014).

Dalam metode titrasi diperlukan larutan standar primer, dimana larutan standar primer adalah larutan baku yang dibuat dengan menimbang zatnya lalu melarutkan sampai volume tertentu. Larutan standar primer inilah yang berfungsi sebagai titer. Analisis kualitatif natrium benzoat dalam sari kedelai yang berfungsi sebagai titer adalah NaOH 0,05 N. Di metode titrasi asam basa juga diperlukan adanya indikator, indikator berfungsi untuk menentukan titik ekuivalen dari titrasi asam-basa. Indikator biasanya adalah suatu asam atau basa organik lemah yang

menunjukkan warna sangat berbeda antara bentuk tidak terionisasi dan bentuk terionisasinya. Kedua bentuk ini berikatan dengan pH larutan yang melarutkan indikator tersebut. Titik akhir titrasi terjadi bila indikator berubah warna. Namun, tidak semua indikator berubah warna pada pH yang sama, jadi pilihan indikator untuk titrasi tertentu bergantung pada sifat asam dan basa yang digunakan dalam titrasi (dengan kata lain apakah indikator tersebut kuat atau lemah). Indikator yang digunakan dalam metode titrasi asam-basa ini yaitu fenolftalein (pp). Fenolftalein adalah salah satu indikator asam-basa yang memiliki rentang pH antara 8,00-10,00. Pada larutan asam dan netral, fenolftalein tidak berwarna. Sedangkan bila dimasukkan ke dalam larutan basa, warnanya akan berubah menjadi merah. Pada saat indikator ditambahkan ke dalam titran warna larutan tetap bening, setelah dititrasi dengan NaOH 0,05 N larutan berubah warna menjadi pink atau merah muda. Proses perubahan warna terjadi ketika mol asam sudah habis karena digunakan untuk bereaksi dengan mol basa (namanya adalah titik ekuivalen), maka larutan basa yang bebas akan berikatan dengan indikator pp, sehingga terjadi perubahan warna dari bening ke warna pink (dinamakan titik akhir titrasi yang ditandai dengan perubahan warna) (Herawaty, 2014).

### **2.5.2 Analisa Kuantitatif**

Analisa kuantitatif digunakan untuk menetapkan jumlah atau kadar analit yang terkandung dalam sampel. Analisa kuantitatif natrium benzoat dapat dianalisa dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Larutan sampel yang sudah dipreparasi dibaca absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 226 nm (panjang gelombang maksimum), kemudian konsentrasi natrium benzoat dalam sampel ditentukan berdasarkan kurva standar (Purwaningsih, 2016).

#### **2.5.2.1 Spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dan sinar tampak dengan menggunakan instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan



energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga metode ini lebih banyak digunakan untuk analisis kuantitatif dibandingkan analisis kualitatif (Suharman dan Mulja, 1995: 26).

Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer adalah alat yang menghasilkan sinar dari spektrum dan panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi spektrofotometer ialah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Panjang gelombang untuk daerah ultraviolet adalah 190-38 nm, daerah visibel (cahaya tampak) memiliki panjang gelombang 380-780 nm. Metode ini mempunyai keuntungan yaitu dapat digunakan untuk menganalisa suatu zat dalam jumlah yang kecil (Hasibuan, 2015). Spektrofotometer tersusun atas sumber spektrum yang kontinu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko, serta alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko atau pembanding (Khopkar, 1990: 216).

Hukum Lambert-Beer menyatakan hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmittan. Hukum Lambert-Beer ada beberapa pembatasan di dalamnya, yaitu (Rohman, 2012) :

- a. Sinar yang digunakan dianggap monokromatis.
- b. Penyerapan terjadi dalam suatu volum yang mempunyai penampang yang sama.
- c. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut.
- d. Tidak terjadi fluoresensi atau fosforisensi
- e. Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan.

Hukum Lambert-Beer dinyatakan dalam persamaan (Rohman, 2012) :

$$A = a \cdot b \cdot c$$

Keterangan : A = Absorban

a = absorpsivitas molar

b = tebal kuvet (cm)

$c$  = konsentrasi

Salah satu syarat senyawa dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis adalah karena senyawa tersebut mengandung gugus kromofor. Kromofor adalah gugus fungsional yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet dan tampak, jika diikat oleh gugus ausokrom. Hampir semua kromofor mempunyai ikatan rangkap berkonjugasi diantaranya diena ( $C=C-C=C$ ), dienon ( $C=C-C=O$ ), benzene dan lain-lain. Ausokrom adalah gugus fungsional yang mempunyai elektron bebas, seperti  $-OH$ ,  $NH_2$ ,  $NO_2$ ,  $-X$  (Harmita, 2006).

**Tabel 2.2** Spektrum Sinar Tampak (Afandi, 2018)

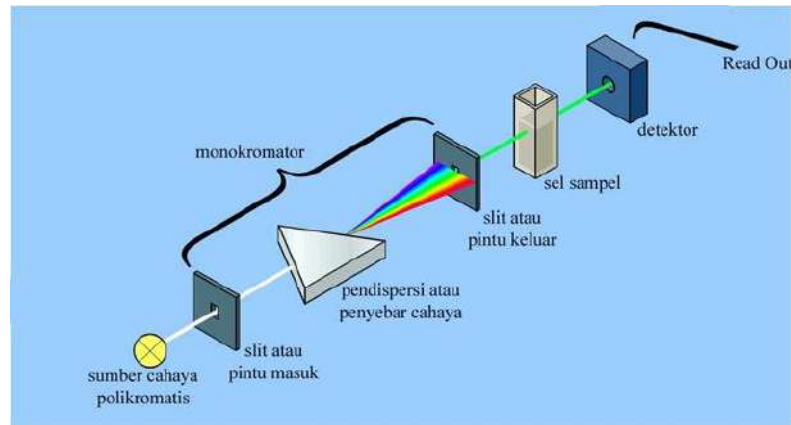
Panjang gelombang (nm)	Warna asli	Warna komplementer
400-435	Ungu	Kuning-hijau
435-480	Biru	Kuning
480-490	Hijau-biru	Jingga
490-500	Biru-hijau	Merah
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Kuning-hijau	Ungu
580-595	Kuning	Biru
595-610	Oranye	Hijau-biru
610-750	Merah	Biru-hijau

### 2.5.2.2 Tipe-tipe Spektrofotometer UV-Vis

Menurut Tati Suhartati (2013) pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu *single-beam* dan *double-beam*.

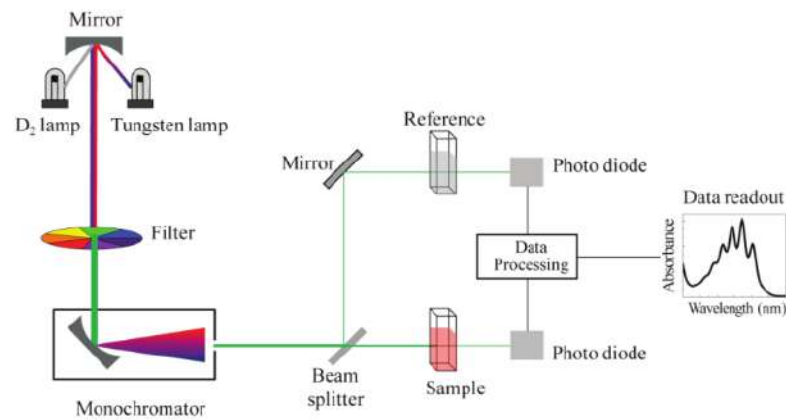
1. *Single-beam* instrumen Gambar (2.3), dapat digunakan untuk uji kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. *Single-beam* mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya. Selain itu, pada *single-beam* juga ditemukan beberapa kelemahan diantaranya yaitu cahaya hanya melewati satu arah sehingga nilai yang diperoleh hanya nilai absorbansi dari larutan yang dimasukkan serta terjadi perubahan intensitas cahaya akibat fluktuasi voltase (Fitria, 2011). Beberapa instrumen menggunakan *single-beam* untuk pengukuran sinar ultra violet dan

sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190-210 nm dan paling tinggi adalah 800-1100 nm (Skoog DA, 1996).



**Gambar 2.3** Spektrofotometer UV-Vis *Single-beam* (Cazes, 2005)

2. *Double-beam* instrumen Gambar (2.4), mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua serentak melewati sampel. *Double-beam* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190-750 nm (Skoog DA, 1996). Keunggulan dari spektrofotometer *double-beam* adalah nilai blanko dapat langsung diukur bersamaan dengan larutan yang diinginkan dalam satu kali proses yang sama serta nilai absorbansi larutannya telah mengalami pengurangan terhadap nilai absorbansi blanko. Sedangkan kekurangan dari *double-beam* yaitu harganya yang relatif lebih mahal dibanding dengan *single-beam* sehingga membutuhkan biaya yang lebih besar (Fitria, 2011).



**Gambar 2.4** Skema Spektrofotometer UV-Vis *Double-beam* (Khopkar, 2003)

### 2.5.2.3 Syarat Pengukuran

Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain (Tati Suhartati, 2013):

1. Harus melarutkan sampel dengan sempurna
2. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel)
3. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis
4. Kemurniannya harus tinggi

**Tabel 2.3** Pelarut-pelarut yang mengabsorpsi sinar UV pada panjang gelombang spesifik.

Pelarut	$\lambda_{maks}$ (nm)	Pelarut	$\lambda_{maks}$ (nm)
Asetronitril	190	n-heksan	201
Kloroform	240	Metanol	205
Sikloheksana	195	Isooktana	195
1-4 dioksan	215	Air	190
Etanol 95%	205	Aseton	330
Benzene	285	Piridina	305

Pelarut yang sering digunakan adalah air, etanol, metanol, dan n-heksana karena pelarut ini transparan pada daerah UV (Tati Suharti, 2013).

#### 2.5.2.4 Instrumen Spektrofotometer UV-Vis

Instrumen spektrofotometer mempunyai empat bagian utama yaitu sumber sinar, monokromator, kuvet, dan detektor. Sinar dari sumber cahaya akan dilewatkan melalui monokromator sehingga sinar mempunyai panjang gelombang tertentu. Radiasi yang keluar akan fokus ke detektor yang mengubah radiasi menjadi sinyal listrik (Khopkar, 2003 (419); Suhartati, 2013).



**Gambar 2.5** Instrumen Spektrofotometer UV-Vis (Anonim, 2020)

Bagian-bagian dari instrumen Spektrofotometer UV-Vis :

##### 1. Sumber cahaya

Sumber cahaya harus mempunyai pancaran radiasi yang stabil dan intensitasnya tinggi. Sumber energi cahaya yang biasa hanya untuk daerah tampak. Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel pada panjang gelombang antara 350-1100 nm.



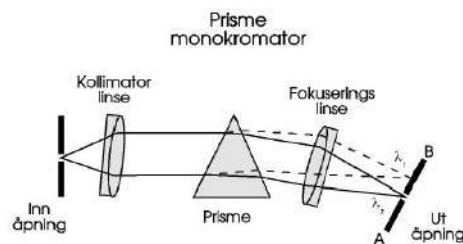
**Gambar 2.6** Lampu Tungsten (Anonim, 2011)



**Gambar 2.7** Lampu Deuterium (Anonim, 2011)

## 2. Monokromator

Monokromator adalah alat yang akan memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya tunggal (monokromatis) dengan komponen panjang gelombang tertentu. Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatis dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis. Monokromator tersusun dari: celah (slit) masuk – filter – prisma – kisi (grating) – celah (slit) keluar.



**Gambar 2.8** Monokromator (Anonim, 2011)

## 3. Wadah sampel (kuvet)

Kuvet adalah suatu alat yang digunakan sebagai tempat sampel atau cuplikan yang akan dianalisis. Kuvet biasanya terbuat dari silika (kwarsa), plexiglass, kaca, plastik dengan bentuk tabuk empat persegi panjang 1 x 1 cm dengan tinggi 5 cm.

Pada pengukuran di daerah UV (190-1100 nm) dipakai kuvet kwarsa atau plexiglass. Sedangkan kuvet dari bahan gelas atau kaca tidak dapat dipakai sebab kaca mengabsorpsi sinar UV. Semua jenis kuvet bisa digunakan untuk pengukuran di daerah sinar tampak (*visible*) (380-1100 nm).



Kuvet Plexiglass



Kuvet Kuarsa

**Gambar 2.9** Wadah sampel (kuvet) (Anonim, 2011)

#### 4. Detektor

Detektor akan menangkap sinar yang diteruskan oleh larutan. Sinar kemudian diubah menjadi sinyal listrik oleh amplifier dan dalam rekorder akan ditampilkan dalam bentuk angka-angka pada *reader* (komputer).



**Gambar 2.10** Detektor (Anonim, 2011)

#### 5. *Visual display/rekorder*

Merupakan sistem baca yang memperagakan besarnya isyarat listrik, menyatakan dalam bentuk % transmittan maupun absorbansi. Rekorder dapat berupa printer atau tampilan di komputer.



**Gambar 2.11** Rekorder (Anonim, 2011)

#### **2.5.2.5 Prinsip Kerja Spektrofotometer UV-Vis**

Prinsip kerja dari spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 2.3. Cahaya yang berasal dari lampu deuterium maupun wolfram yang bersifat polikromatis diteruskan melalui lensa menuju ke monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Monokromator kemudian akan mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya tunggal (monokromatis). Berkas-berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian akan dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu. Maka dari itu, terdapat cahaya yang diserap (diabsorpsi) dan ada pula yang dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan ini kemudian diterima oleh detektor. Detektor kemudian akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif (Hanif, 2016).

### **2.6 Validasi Metode**

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu berdasarkan percobaan dari laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004).

Beberapa parameter yang dipertimbangkan dalam validasi metode analisis meliputi :



### 2.6.1 Linieritas

Linieritas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel pada rentang yang diberikan. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linieritas yang dapat diterima. Linieritas biasanya dinyatakan dalam variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit.

Sering ditemukan rentang konsentrasi yang digunakan antara 0-200%. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linier  $y=a+bx$ . Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai  $b=0$  dan  $r= +1$  atau  $-1$  bergantung pada arah garis. Nilai  $a$  menunjukkan kepekaan analisis instrumen yang digunakan. Nilai koefisien korelasi yang memenuhi persyaratan adalah sebesar  $\geq 0,9970$  (ICH, 2005),  $\geq 0,9700$  (SNI) atau  $\geq 0,9980$  (AOAC, 2002).

### 2.6.2 Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual ketika prosedur diaplikasikan berulang dari sampel yang homogen. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (% RSD). Presisi terdiri dari 3 macam, yaitu (Harmita, 2004) :

- a. *Reproducibility* adalah keseksamaan metode bila analisis dikerjakan di laboratorium yang berbeda.
- b. *Intermediate precision* adalah keseksamaan metode jika analisis dikerjakan di laboratorium yang sama pada hari yang berbeda, analisis yang berbeda, atau peralatan yang berbeda.
- c. *Repeatability* adalah keseksamaan metode jika analisis dilakukan oleh analisis yang sama dengan peralatan yang sama pada interval waktu yang pendek.

Kriteria presisi diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV) sebesar  $\leq \pm 2\%$  dan standar deviasi (SD) sebesar

$\leq \pm 2$ . Kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium. Koefisien variasi meningkat seiring dengan menurunnya konsentrasi analit (Harmita, 2004). Tingkat ketelitian RSD dapat dilihat pada tabel 2.4.

**Tabel 2.4** Tingkat Ketelitian RSD (Afifah, 2016)

Nilai RSD	Keterangan
$RSD \leq 1\%$	Sangat teliti
$1\% < RSD \leq 2\%$	Teliti
$2\% < RSD < 5\%$	Ketelitian sedang
$RSD > 5\%$	Ketelitian rendah

### 2.6.3 Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan hasil yang diperoleh dari hasil pengamatan dengan hasil yang sebenarnya. Akurasi metode analisis biasanya dinyatakan dengan persen perolehan kembali (*recovery*) analit dalam sampel yang kadarnya telah diketahui dengan pasti. Menurut Yuwono dan Indrayanto (2005) Persen *recovery* dapat dihitung dengan rumus di bawah ini :

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{absorbansi spiking} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi standar}} \times 100\%$$

Kriteria penerimaan akurasi berdasarkan kadar analit dapat dilihat pada tabel 2.5.

**Tabel 2.5** Kriteria penerimaan akurasi pada konsentrasi analit yang berbeda (Yuwono dan Indrayanto, 2005)

Kadar analit (%)	Rata-rata % perolehan kembali (%)
100	98-102
$\geq 10$	98-102
$\geq 1$	97-103
$\geq 0,1$	95-105
0,01	90-107

Akurasi untuk kadar obat yang besar adalah 95-105 % sedangkan untuk bioanalisis rentang 80-120 % masih diterima (Mulja dan Hanwar, 2003).

#### **2.6.4 LOD (*Limited of Detection*) & LOQ (*Limited of Quantitation*)**

Batas deteksi (LOD) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantifikasi (LOQ) merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.

Penentuan LOD suatu metode berbeda-beda tergantung pada metode analisis itu menggunakan instrumen atau tidak. Analisis yang tidak menggunakan instrumen batas tersebut ditentukan dengan mendeteksi analit dalam sampel pada pengenceran bertingkat. Analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali. Batas deteksi dan kuantifikasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dan kurva kalibrasi (Harmita, 2004).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Bahan dan Alat**

##### **3.1.1 Bahan**

Bahan kimia yang digunakan meliputi natrium benzoat teknis, NaOH 0,05 N, indikator fenoftalein (PP), NaCl serbuk, larutan NaCl jenuh, NaOH 10%, HCl 0,1 N, dan aquades. Sampel yang digunakan yaitu sari kedelai yang diambil dari Kecamatan Sumbergempol, Kecamatan Ngunut, dan Kecamatan Rejotangan dengan merek A, B, C, D, dan E.

##### **3.1.2 Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat Spektrofotometer UV-Vis merk Inesa UV-Vis N4S milik Laboratorium Kimia STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung, statif dan klem, buret, kompor listrik, indikator pH, neraca analitik (Ohaus), serta alat-alat gelas (Pyrex) berupa labu ukur, gelas beker, gelas ukur, pipet volum, corong, batang pengaduk, erlenmeyer.

#### **3.2 Cara Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen atau percobaan. Identifikasi keberadaan pengawet natrium benzoat pada susu kedelai dilakukan dengan cara kualitatif dan kuantitatif. Uji pendahuluan dilakukan secara kualitatif menggunakan titrasi asam basa. Jika hasil positif maka dilanjutkan dengan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

##### **3.2.1 Pengambilan Sampel**

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah pengambilan sampel secara acak. Sampel yang digunakan berjumlah 5 sampel sari kedelai dengan merk yang berbeda, 4 diantaranya sudah berstempel dan 1 diantaranya nonstempel yang dijual di 3 kecamatan wilayah Kabupaten Tulungagung. Kecamatan yang diambil

yaitu Kecamatan Sumbergempol, Kecamatan Ngunut, dan Kecamatan Rejotangan. Sari kedelai yang digunakan yaitu yang tidak diberi pewarna.

### 3.2.2 Pembuatan Larutan Pereaksi

#### 1. Pembuatan NaOH 0,05 N

NaOH ditimbang sebanyak 0,1 gram, dilarutkan dengan sedikit aquades di dalam *beaker glass*, dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, selanjutnya dikocok sampai homogen.

#### 2. Pembuatan NaCl jenuh

NaCl ditimbang 30 gram dan dilarutkan dengan 100 mL aquades di dalam *beaker glass*, kemudian diaduk hingga NaCl tidak dapat larut lagi.

#### 3. Pembuatan NaOH 10% (w/v)

NaOH ditimbang sebanyak 10 gram, dilarutkan dengan aquades secukupnya di dalam *beaker glass*, dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, selanjutnya dikocok hingga homogen.

#### 4. Pembuatan HCl 0,1 N

Labu ukur 100 mL diisi dengan aquades 50 mL, lalu ditambahkan 0,83 mL HCl pekat secara perlahan, kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

### 3.2.3 Preparasi Sampel

Sampel ditimbang sebanyak 40 gram menggunakan botol timbang dan ditambahkan 3 gram NaCl serbuk, diaduk sampai homogen, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL. Tambahkan 40 mL larutan NaCl jenuh dan 10 mL NaOH 10% kedalam labu ukur menggunakan kertas indikator universal sehingga diperoleh larutan yang bersifat alkalis ( $\text{pH} \pm 10$ ). Tambahkan 2 mL HCl kemudian diencerkan dengan larutan NaCl jenuh sampai tanda batas dan selanjutnya dilakukan uji kualitatif dan kuantitatif.

### 3.2.4 Analisa Kualitatif

Metode yang digunakan dalam uji kualitatif ini yaitu titrasi asam basa. Sebelum dilakukan titrasi sampel dipanaskan terlebih dahulu dengan tujuan untuk

menghilangkan buih yang terdapat dalam sampel. Setelah hilangnya buih dilanjutkan dengan titrasi, yaitu dengan memasukkan sampel sari kedelai sebanyak 50 mL kedalam Erlenmeyer, ditambahkan akuades 12 mL, ditambahkan indikator pp 3 tetes dan selanjutnya dititrasi dengan NaOH 0,05 N sampai berwarna merah muda.

### **3.2.5 Analisa Kuantitatif**

#### **3.2.5.1 Optimasi Panjang Gelombang**

1. Pembuatan Larutan Induk Natrium Benzoat 100 ppm sebanyak 500 mL

Natrium benzoat ditimbang sebanyak 50 mg, dilarutkan dengan sedikit aquades di dalam *beaker glass*, dimasukkan kedalam labu ukur 500 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas lalu kocok hingga homogen.

2. Pembuatan Larutan Baku 5 ppm sebanyak 100 mL

Larutan induk 100 ppm diambil 5 mL menggunakan pipet volum, dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas dan dihomogenkan lalu dibaca absorbansinya.

#### **3.2.5.2 Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi**

1. Pembuatan larutan seri dengan konsentrasi 15 ppm

Larutan induk 100 ppm dipipet 7,5 mL, dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, kocok sampai homogen.

2. Pembuatan larutan seri dengan konsentrasi 30 ppm

Larutan induk 100 ppm dipipet 15 mL, dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, kocok sampai homogen.

3. Pembuatan larutan seri dengan konsentrasi 45 ppm

Larutan induk 100 ppm dipipet 22,5 mL, dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, kocok sampai homogen.

4. Pembuatan larutan seri dengan konsentrasi 60 ppm

Larutan induk 100 ppm dipipet 30 mL, dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, kocok sampai homogen.

#### 5. Pembuatan larutan seri dengan konsentrasi 75 ppm

Larutan induk 100 ppm dipipet 37,5 mL, dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, kocok sampai homogen.

#### 3.2.5.3 Pembuatan Kurva Standar

Masing-masing larutan standar natrium benzoat diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (226 nm) lalu dihubungkan konsentrasi dan absorbansi larutan standar sehingga membentuk kurva.

#### 3.2.5.4 Penetapan Kadar Natrium Benzoat dalam Sampel

Larutan sampel dipipet sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, ditambahkan dengan 2 mL HCl 0,1 N, dicek pH larutan dengan indikator universal (pH = 2), ditambahkan akuades sampai tanda batas, lalu diukur pada panjang gelombang maksimum (226 nm) dengan spektrofotometer UV-Vis. Replikasi sebanyak 3 kali pada masing-masing sampel.

### 3.2.6 Validasi Metode

#### 3.2.6.1 Uji Linieritas

Larutan induk natrium benzoat 100 ppm dibuat variasi konsentrasi sebesar 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm. Masing-masing konsentrasi diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis sebanyak 3 kali pembacaan pada panjang gelombang maksimum yaitu 226 nm.

Natrium benzoat dibuat kurva kalibrasi kemudian dihitung persamaan garis regresi, simpangan baku regresi, *slope*, *intersep*, serta koefisien korelasi dari data tersebut. Kurva kalibrasi dapat dikatakan linier, jika nilai koefisien korelasinya ( $r$ ) mendekati 1. Menurut SNI, koefisien korelasi yang dapat diterima adalah  $\geq 0,9700$ .

#### 3.2.6.2 Uji Akurasi

Uji akurasi atau perolehan kembali (*recovery*) dilakukan dengan metode adisi (penambahan baku). Metode adisi dilakukan dengan mengambil 5 mL sampel dan ditambahkan larutan standar dengan konsentrasi 46,21 ppm sebanyak 2,3 mL untuk sampel A, sampel B ditambahkan larutan standar dengan konsentrasi 40,143 ppm sebanyak 2 mL, sampel C ditambahkan larutan standar dengan konsentrasi 49,52 ppm

sebanyak 2,4 mL, sampel D ditambahkan larutan standar dengan konsentrasi 50,742 ppm sebanyak 2,5 mL, dan sampel E ditambahkan larutan standar dengan konsentrasi 40,072 ppm sebanyak 2 mL. Kemudian dihomogenkan dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 226 nm. Persen perolehan kembali ditentukan dengan menentukan berapa persen analit yang ditambahkan dapat ditemukan (Harmita, 2004). Menurut Harmita (2004), persen *recovery* dapat dihitung dengan rumus di bawah ini :

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{konsentrasi spiking} - \text{konsentrasi sampel}}{\text{konsentrasi standar}} \times 100\% \dots \text{Persamaan 3.1}$$

### 3.2.6.3 Uji Presisi

Pada umumnya presisi dihitung menggunakan Standar Deviasi (SD) menghasilkan *Relative Standart Deviasion (RSD)*. Presisi yang baik dinyatakan dengan semakin kecil persen RSD maka nilai presisi semakin tinggi. Nilai standar deviasi (SD) dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{x})^2}{n-1}} \dots \dots \dots \text{Persamaan 3.2}$$

Keterangan : SD = standar deviasi  
 n = jumlah sampel  
 Xi = rata-rata analit tiap volume  
 1 = kadar terukur analit tiap pengulangan

Nilai *Relative Standart Deviasion (RSD)* dapat dengan rumus seperti di bawah ini :

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \dots \dots \dots \text{Persamaan 3.3}$$

Keterangan :  $\bar{x}$  = Kadar rata-rata sampel  
 SD = Standar deviasi  
 RSD = Relativ standar deviasi



### 2.6.5 Uji LOD (*Limited of Detection*) & LOQ (*Limited of Quantitation*)

Batas deteksi (LOD) merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan. Sedangkan, batas kuantitasi (LOQ) merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004). LOD dan LOQ dapat dihitung melalui persamaan garis linier dari kurva kalibrasi, dengan rumus :

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \text{SB}}{\text{slope}} \dots\dots\dots \text{Persamaan 3.4}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SB}}{\text{slope}} \dots\dots\dots \text{Persamaan 3.5}$$

Keterangan : SB = Simpangan baku respon analitik dari blanko

*Slope* = Arah garis linier (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = *slope* (b pada persamaan garis  $y=bx+a$ )

Nilai limit deteksi dan kuantisasi dapat ditentukan dengan persamaan (Yulia, 2010):

$$\text{LOD} = A + 3 \text{SD} \dots\dots\dots \text{Persamaan 3.6}$$

$$\text{LOQ} = A + 10 \text{SD} \dots\dots\dots \text{Persamaan 3.7}$$

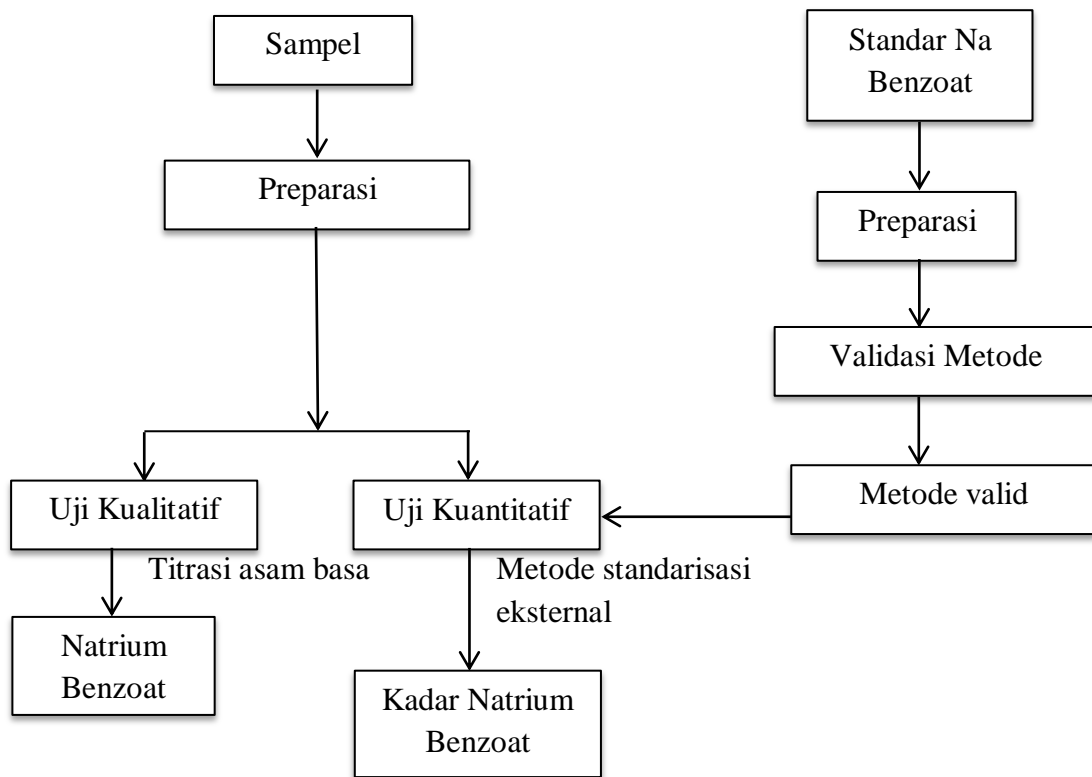
Keterangan : LOD = Limit Deteksi

LOQ = Limit Kuantisasi

A = Nilai rata-rata hasil analisis blanko

SD = Standar Deviasi (simpangan baku) hasil analisis blanko

### 3.3 Alur Penelitian



**Gambar 3.1** Skema Alur Penelitian

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

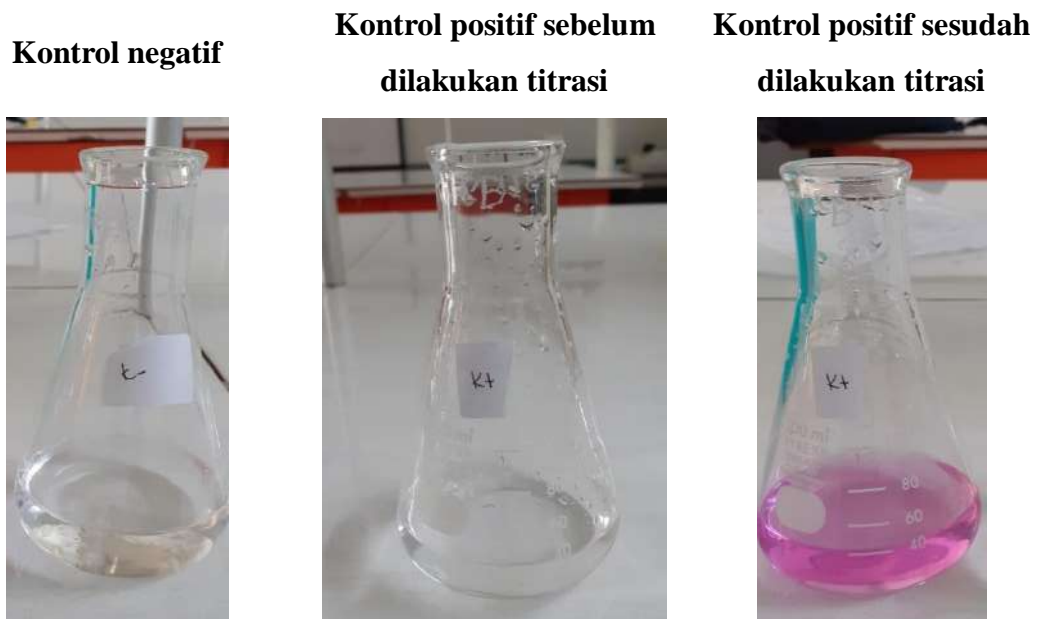
Analisis dilakukan menggunakan proses validasi dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Tahapan analisis yaitu dimulai dengan melakukan uji kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pengawet natrium benzoat dalam sari kedelai, selanjutnya dilakukan penentuan panjang gelombang optimum. Setelah itu dilakukan validasi metode dan dilanjutkan dengan penetapan kadar natrium benzoat dalam beberapa sampel sari kedelai.

#### **4.1 Analisis Kualitatif Natrium Benzoat pada Sampel**

Analisis ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya natrium benzoat dalam sampel. Analisis kualitatif ini menggunakan metode titrasi asam basa. Prinsip dari metode ini yaitu penentuan kadar larutan asam dengan menggunakan larutan basa atau sebaliknya. Titer (zat yang sudah diketahui konsentrasinya) akan ditambahkan tetes demi tetes ke dalam titran (analit yang akan dihitung kadarnya) sampai mencapai titik ekuivalen, yang biasanya ditandai dengan berubahnya warna indikator. Indikator yang digunakan yaitu fenoftalein (PP), indikator ini berwarna bening dalam suasana asam dan berubah warna menjadi merah dalam suasana basa (Sagulani, 2014). Indikator ini digunakan karena analit yang akan dianalisis yaitu natrium benzoat yang mana merupakan senyawa yang bersifat asam, sedangkan titernya menggunakan NaOH yang bersifat basa kuat. Ketika kedua senyawa tersebut direaksikan maka akan menghasilkan warna merah muda. Hasil uji kualitatif dapat dilihat dalam Gambar 4.2.



Gambar 4.1 Sampel sari kedelai



Gambar 4.2 Hasil Uji Kualitatif Natrium Benzoat

Tabel 4.1 Hasil Analisis Kualitatif Natrium Benzoat pada Sampel

Sampel	Perubahan warna	Keterangan
A	Putih – merah muda	+
B	Putih – merah muda	+
C	Putih – merah muda	+
D	Putih - merah muda	+
E	Putih - merah muda	+

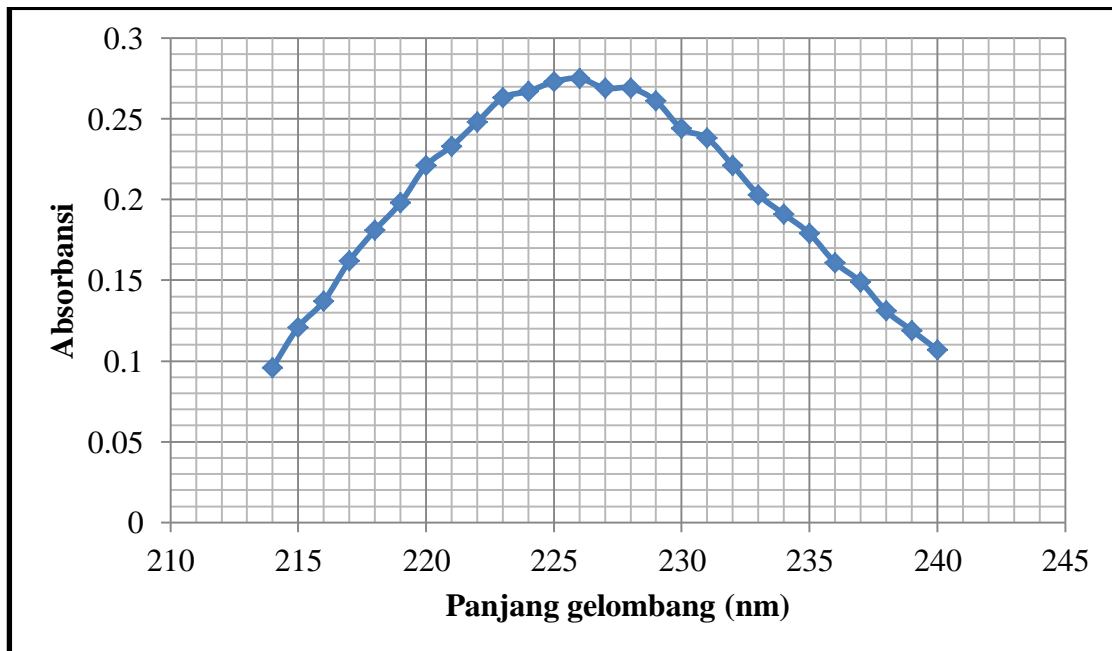
Keterangan : (+) menandakan sampel mengandung natrium benzoat.

Berdasarkan tabel 4.1 dapat dilihat bahwa hasil pengujian kualitatif ke 5 sampel yang diambil dari 3 kecamatan di Kabupaten Tulungagung menunjukkan positif mengandung pengawet natrium benzoat pada semua sampel, ditandai dengan adanya perubahan warna pada sampel, yang awalnya berwarna bening menjadi berwarna merah muda. Gambar hasil uji kualitatif dapat dilihat pada gambar 4.2.

#### **4.2 Optimasi Panjang Gelombang**

Penentuan panjang gelombang optimum ini bertujuan untuk mengetahui pada panjang gelombang berapa yang dapat menghasilkan nilai serapan paling maksimum pada sampel, sehingga didapatkan nilai absorbansi yang akurat. Penentuan panjang gelombang optimum dilakukan dengan mengukur absorbansi dari larutan standar dengan konsentrasi 5 ppm pada rentang panjang gelombang 200 – 400 nm dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Benzen dalam struktur natrium benzoat menyerap dengan kuat pada panjang gelombang 184 nm dan 202 nm serta mempunyai sederet pita absorbansi antara 230-270 nm. Panjang gelombang 260 nm sering dilaporkan sebagai panjang gelombang maksimum untuk benzen, karena itulah posisi absorpsi terkuat pada panjang gelombang di atas 200 nm (Fessenden, 1986: 441-442). Untuk itu pada optimasi ini pembacaan absorbansi analit sampel digunakan panjang gelombang dengan rentang 200-400 nm.



**Gambar 4.3** Hasil kurva optimasi panjang gelombang standar natrium benzoat dengan konsentrasi 5 ppm

Hasil pengukuran panjang gelombang optimum untuk larutan standar natrium benzoat dengan konsentrasi 5 ppm dapat dilihat pada gambar 4.3. Berdasarkan gambar diatas pengukuran dimulai pada panjang gelombang 200-400 nm dan panjang gelombang optimum ditunjukkan pada panjang gelombang 226 nm dengan memberikan nilai absorbansi tertinggi. Setelah direplikasi 3 kali pada panjang gelombang optimum 226 nm didapatkan nilai absorbansi 0,275.

#### 4.3 Validasi Metode

Validasi metode analisis merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis meliputi linieritas, akurasi, presisi, batas deteksi, dan kuantitasi (Watson, 2012).

### 4.3.1 Uji Linieritas

Linieritas menunjukkan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit yang terdapat dalam sampel pada kisaran konsentrasi tertentu. Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya. Uji linieritas bertujuan untuk mengetahui apakah konsentrasi zat yang akan dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis mempunyai hubungan yang linear atau tidak secara signifikan (Gandjar dan Rohman, 2014).

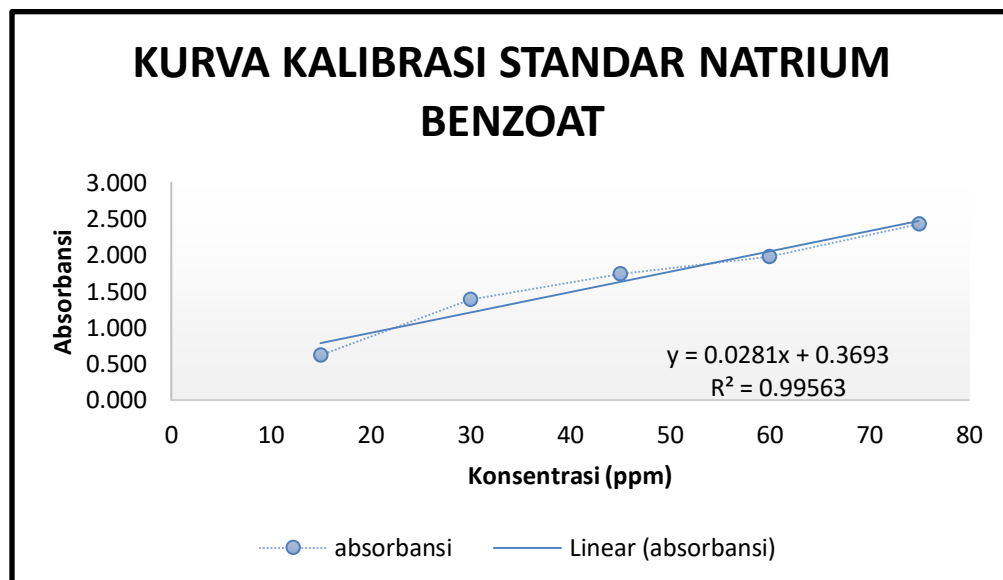
**Tabel 4.2** Nilai Absorbansi Larutan Standar Natrium Benzoat dengan Variasi Konsentrasi Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
15	0,620
30	1,389
45	1,744
60	1,976
75	2,431

Berdasarkan tabel 4.2 menunjukkan nilai absorbansi pada masing-masing konsentrasi. Berdasarkan tabel tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi analit maka nilai absorbansi yang dihasilkan juga semakin besar. Hubungan antara konsentrasi terhadap absorbansi dinyatakan dengan kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi merupakan grafik yang membentuk garis lurus (linear). Kurva kalibrasi diperoleh dengan cara mengukur absorbansi larutan standar dengan variasi konsentrasi 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm pada panjang gelombang optimum, pada panjang gelombang 226 nm. Dari kurva kalibrasi ini kemudian akan ditemukan regresi linearnya yang berupa persamaan  $y = ax + b$ , dimana  $x$  adalah konsentrasi,  $y$  adalah respon,  $a$  adalah intersep  $y$ , dan  $b$  adalah slope. Tujuan dari dibuatnya regresi ini adalah untuk menentukan estimasi terbaik untuk slope dan intersep  $y$  sehingga akan mengurangi *residual error*, yaitu perbedaan nilai hasil

percobaan dengan nilai yang diprediksi melalui persamaan regresi linear (Harvey, 2013).

Berdasarkan hasil kurva kalibrasi yang dapat dilihat pada gambar 4.4 dibawah diperoleh persamaan regresi linear  $y=0,0281x + 0,3693$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,99563. Kurva kalibrasi menunjukkan hubungan yang linear antara konsentrasi dengan absorbansi dibuktikan dengan peningkatan garis linear. Selain itu didukung dengan nilai  $r$  yang mendekati 1, hal ini sesuai dengan yang direkomendasikan untuk suatu metode analisis yang baik berdasarkan Miller and Miller (2010) yaitu nilai  $r$  yang mendekati 1 menunjukkan adanya korelasi yang menyatakan adanya hubungan antara konsentrasi ( $x$ ) dengan respon ( $y$ ) yang diartikan sebagai linearitas. Menurut SNI, koefisien korelasi yang dapat diterima adalah  $\geq 0,9700$ . Hal ini membuktikan bahwa analisis natrium benzoat menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis mempunyai linearitas yang baik. Persamaan regresi linear bisa digunakan untuk perhitungan uji akurasi dan presisi serta penentuan nilai atau kadar sampel (Emawati *et al.*, 2017).



**Gambar 4.4** Kurva Kalibrasi Standar Natrium Benzoat 5 ppm pada Panjang Gelombang 226 nm.



### 4.3.2 Uji Akurasi (ketepatan)

Parameter validasi selanjutnya yaitu akurasi yang dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *recovery*) analit yang ditambahkan. Harmita (2004) menjelaskan, bahwa ketepatan pada dasarnya adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dapat ditentukan dengan 2 cara yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*) (Riyanto, 2014). Penelitian ini digunakan metode penambahan baku, sampel yang sudah dipreparasi diambil 5 mL dan ditambahkan larutan standar dengan konsentrasi 100 ppm, dihomogenkan kemudian dianalisis pada panjang gelombang 226 nm dan dilakukan replikasi 3 kali, maka didapatkan absorbansi *spiking* yang dapat dilihat pada tabel 4.3. Selanjutnya dicari konsentrasi *spiking* yang dihitung menggunakan persamaan regresi linear  $y=0,0281x + 0,3693$ , sehingga diperoleh kadar dan dapat digunakan untuk menghitung % *recovery* sesuai Persamaan 3.1. Perhitungannya dapat dilihat di lampiran (3.2.2).

**Tabel 4.3 Hasil Absorbansi Spiking**

Sampel	Absorbansi sampel	Penambahan Standar	Absorbansi spiking
A	2,963	2,3 mL	4,227
B	2,627	2 mL	3,723
C	3,155	2,4 mL	4,513
D	3,222	2,5 mL	4,616
E	2,623	2 mL	3,717

**Tabel 4.4 Hasil Perolehan Kembali (% *recovery*)**

Sampel	Konsentrasi spiking (ppm)	% <i>recovery</i>
A	137,28	97,65%
B	119,35	97,31%
C	147,46	97,8%
D	151,13	97,84%
E	119,14	97,32%
<b>Rata-rata</b>	<b>134,872</b>	<b>97,58%</b>

Berdasarkan tabel 4.3 menunjukkan bahwa nilai absorbansi spiking lebih tinggi dibandingkan dengan absorbansi sampel. Spiking merupakan penambahan standar pada larutan sampel (Riyanto, 2014). Berdasarkan tabel 4.4 dapat dilihat bahwa rata-rata hasil uji perolehan kembali (% *recovery*) untuk natrium benzoat sebesar 97,58%. Persen *recovery* tersebut menunjukkan kecermatan atau akurasi yang baik pada saat pemeriksaan kadar natrium benzoat dalam sampel. Hasil uji perolehan kembali (% *recovery*) ini memenuhi syarat akurasi yang telah ditetapkan, yaitu berada pada rentang 80-120% (Harmita, 2004).

#### 4.3.3 Uji Presisi

Parameter validasi yang ketiga yaitu keseksamaan atau presisi yang diukur sebagai simpangan baku relatif (*Relative Standard Deviation/RSD*) atau koefisien variasi (KV). Presisi merupakan ukuran derajat keterulangan dari metode analisis yang memberikan hasil yang sama pada beberapa perulangan (Septiani *et al.*, 2016). Pengujian dilakukan dengan mengukur absorbansi sampel yang sudah dipreparasi dan masing-masing sampel direplikasi sebanyak 3 kali yang kemudian diukur konsentrasi sampel menggunakan persamaan regresi linear  $y=0,0281x + 0,3693$ . Perhitungan standar deviasi (SD) dan relatif standar deviasi (RSD) dapat dilihat pada lampiran (3.3.2). Rumus perhitungannya sesuai Persamaan 3.3. Hasil pengujian presisi dapat dilihat pada tabel 4.5 dibawah ini.

**Tabel 4.5** Hasil Uji Presisi Kadar Natrium Benzoat

Sampel	Konsentrasi (ppm)	SD	RSD (%)
A	92,243	0,0385	0,042
B	80,286	0,0385	0,048
C	99,04	0,063	0,064
D	101,483	0,025	0,025
E	80,143	0,038	0,048
<b>Rata-rata</b>		<b>0,0406</b>	<b>0,0454</b>

Berdasarkan data pada tabel 4.5 diperoleh nilai simpangan baku relatif (RSD) sebesar 0,0454%. RSD pada uji presisi ini memenuhi persyaratan karena berdasarkan literatur suatu metode memberikan keterulangan yang baik jika nilai  $\%RSD \leq 2\%$ . Penyimpangan yang terjadi masih dalam rentang yang diizinkan dan dapat dikatakan metode yang digunakan memiliki keterulangan yang baik dalam suatu analisis. Semakin kecil nilai  $\%RSD$  yang diperoleh maka semakin tepat analisis yang dilakukan dan semakin baik digunakan untuk analisis suatu senyawa kimia (Harmita, 2004).

#### 4.3.4 Uji (*Limited of Detection/LOD*) & (*Limited of Quantitation/LOQ*)

Parameter validasi yang keempat yaitu LOD & LOQ. LOD atau batas deteksi merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. LOQ atau batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004).

**Tabel 4.6** Hasil Uji LOD & LOQ

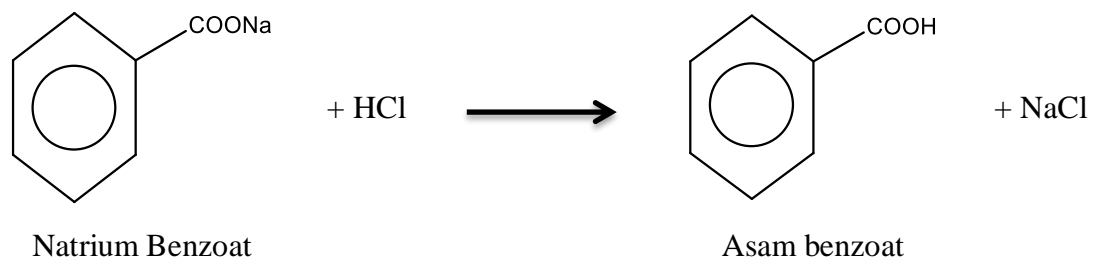
<b>Sampel</b>	<b>LOD</b>	<b>LOQ</b>
A	0,313 ppm	1,043 ppm
B	0,313 ppm	1,043 ppm
C	0,512 ppm	1,706 ppm
D	0,203 ppm	0,677 ppm
E	0,309 ppm	1,029 ppm
<b>Rata-rata</b>	<b>0,33 ppm</b>	<b>1,0996 ppm</b>
<b>SD</b>	<b>0,0406</b>	<b>0,0454</b>

Berdasarkan tabel 4.6 diperoleh batas deteksi pada konsentrasi 0,33 ppm untuk pengujian kadar natrium benzoat menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Ini berarti bahwa natrium benzoat pada konsentrasi tersebut masih dapat terbaca absorbansinya, namun tidak dapat digunakan dalam perhitungan karena dapat

membuat bias perhitungan. Sedangkan batas kuantitasi diperoleh sebesar 1,0996 ppm, konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang tidak menimbulkan bias perhitungan. Perhitungan LOD & LOQ bisa dilihat pada lampiran (3.4.1).

#### 4.4 Penetapan Kadar Natrium Benzoat dalam Sampel

Penetapan kadar natrium benzoat dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis. Natrium benzoat dalam sampel akan bereaksi dengan HCl membentuk asam benzoat dalam suasana asam, reaksi dapat dilihat pada gambar 4.5. Panjang gelombang yang digunakan yaitu 226 nm, kemudian dilakukan penghitungan kadar senyawa natrium benzoat menggunakan persamaan regresi linier  $y=0,0281x + 0,3693$ . Data perhitungan dapat dilihat pada lampiran (4.2).



**Gambar 4.5** Reaksi Na benzoat dengan HCl

Hasil penetapan kadar natrium benzoat menggunakan persamaan regresi linier, didapatkan kadar seperti pada tabel 4.7 dibawah ini.

**Tabel 4.7** Penetapan Kadar Natrium Benzoat Dalam Sari Kedelai

<b>Sampel</b>	<b>Replikasi (R)</b>	<b>Kadar<math>\pm</math>SD (ppm)</b>	<b>Rata-rata (ppm)</b>
A	R1	92,302 $\pm$ 0,039	92,243 $\pm$ 0,039
	R2	92,195 $\pm$ 0,039	
	R3	92,231 $\pm$ 0,039	
B	R1	80,345 $\pm$ 0,039	80,286 $\pm$ 0,039
	R2	80,274 $\pm$ 0,039	
	R3	80,238 $\pm$ 0,039	
C	R1	99,135 $\pm$ 0,063	99,04 $\pm$ 0,063
	R2	98,957 $\pm$ 0,063	
	R3	99,028 $\pm$ 0,063	
D	R1	101,519 $\pm$ 0,025	101,483 $\pm$ 0,025
	R2	101,448 $\pm$ 0,025	
	R3	101,483 $\pm$ 0,025	
E	R1	80,202 $\pm$ 0,038	80,143 $\pm$ 0,038
	R2	80,096 $\pm$ 0,038	
	R3	80,132 $\pm$ 0,038	

Berdasarkan tabel 4.7 diatas diperoleh kadar dalam sampel A sebesar 92,243  $\pm$  0,039 ppm, sampel B sebesar 80,286  $\pm$  0,039 ppm, sampel C sebesar 99,04  $\pm$  0,063 ppm, sampel D sebesar 101,483  $\pm$  0,025 ppm, dan sampel E sebesar 80,143  $\pm$  0,038 ppm. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun 2012, kadar maksimum natrium benzoat yang diperbolehkan dalam pangan susu kedelai adalah 600 mg/kg (ppm). Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa ke-5 sampel sari kedelai yang dianalisis mengandung natrium benzoat dengan kadar dibawah batas maksimum yang ditetapkan, sehingga penggunaan masih dalam konsentrasi aman untuk dikonsumsi.

Natrium benzoat merupakan bahan pengawet dalam makanan atau minuman yang penggunaannya diperbolehkan di Indonesia asalkan kadarnya masih dibawah ambang batas. Namun natrium benzoat juga memiliki dampak negatif bagi kesehatan jika dikonsumsi secara berlebihan dan dalam jangka waktu yang lama. Konsumsi natrium benzoat dalam jangka pendek namun berlebihan dapat menyebabkan mual, muntah, kram perut, rasa kebas dimulut, dan semakin memperburuk keadaan bagi orang yang mengalami kelelahan atau mempunyai penyakit kulit seperti urtikaria dan eksema. Pengawet ini dalam jangka panjang dapat menimbulkan kanker karena bersifat akumulatif dan ada juga laporan yang menunjukkan bahwa pengawet ini dapat merusak sistem syaraf (Hesti *et al.*, 2016).

Penelitian ini memiliki validitas yang baik karena dari keempat parameter validasi yang digunakan semuanya memenuhi persyaratan. Sehingga metode spektrofotometri uv-vis cocok digunakan untuk menentukan kadar natrium benzoat. Kelebihan dari metode ini yaitu metode cukup sederhana, dapat digunakan untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil, hasil yang diperoleh cukup cepat dan akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya S, 2013). Adapun kekurangan dari metode ini yaitu absorpsi dipengaruhi oleh pH larutan, suhu, adanya zat pengganggu, dan kebersihan kuvet; pemakaian hanya pada gugus fungsional yang mengandung electron valensi dengan energy eksitasi rendah; sinar yang dipakai harus monokromatis (Jumriani, 2019).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Dari penelitian yang telah dilakukan, diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan validasi metode yang telah dilakukan, metode spektrofotometri UV-Vis mempunyai validitas yang baik.
2. Kadar natrium benzoat yang terkandung dalam sampel sari kedelai yang telah diuji kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang sudah tervalidasi diperoleh kadar rata-rata sebesar  $90,639 \pm 0,0406$ .
3. Berdasarkan Peraturan BPOM RI No.36 tahun 2013 tentang batas maksimum penggunaan bahan pangan, penggunaan Natrium benzoat pada produk sari buah/sayur dan produk kedelai non fermentasi adalah 600 mg/kg pangan, dengan ADI 0-5 mg/BB. Kelima sampel yang sudah diuji kuantitatif menunjukkan hasil bahwa semua sampel telah memenuhi persyaratan dari BPOM RI yaitu  $< 600$  mg/kg (ppm).

#### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis natrium benzoat pada produk pangan lainnya dengan menggunakan instrumen yang berbeda.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait lokasi pengambilan sampel penelitian, karena lokasi yang diambil dalam penelitian ini masih dalam lingkup yang sempit.
3. Pemerintah melalui BPOM untuk memberikan penyuluhan kepada masyarakat dan khususnya industri kecil mengenai kadar penggunaan natrium benzoat yang aman untuk dijadikan bahan pengawet kedalam produk pangan serta dampak terlalu sering mengkonsumsi natrium benzoat bagi kesehatan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afiyanti, *et al.* 2016. Analisis Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*Glycine max L.*) Varietas Grobogan pada Kondisi Cekaman Genangan. *Jurnal SAINS dan Seni ITS*. Surabaya: Jurusan Biologi FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Vol. 5, No. 2, Hal. E-29 – E-33
- BPOM RI. 2013. *Bahan Tambahan Pangan yang Diizinkan Penggunaannya*. Edisi Pertama. InfoPOM Vol. 14 No. 2 Maret-April 2013.
- Cahyadi, W. 2009. *Analisis & Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: PT. Bumi Aksara. Hal. 3-9.
- Cazes, J. 2005. *Encyclopedia of Chromatography Second Edition (volume one)*. Florida: Taylor and Francis Group Florida USA.
- Chipley, J. R. 2005. *Sodium Benzoate and Benzoic Acid*. Di dalam P. M. Davidson, J. N. Sofos, dan A. L. Branen (eds). *Antimicrobials in Food 3<sup>rd</sup> ed.* CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Cicik, *et al.* 2017. Validasi Metode Spektrofotometri untuk Penentuan Kadar Formaldehid pada Pembalut Wanita yang Beredar Di Pasaran. *Journal Ilmiah Pharmacy of Science*. Surabaya: Akademi Farmasi Surabaya, Universitas Airlangga. Vol. 2, No. 1, Hal. 9-16
- David, G. dan Watson. 2009. *Analisis Farmasi*. Edisi II. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Fessenden, R.J. and J.S. Fessenden. 1986. *Kimia Organik Dasar Edisi Ketiga*. Jilid I. Terjemahan oleh A.H. Pudjaatmaka. Jakarta : Erlangga. Hal. 441-442.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2012. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal. 379-393.
- Hesti, *et al.* 2016. Analisis Kandungan Zat Pengawet Natrium Benzoat pada Sirup Kemasan Botol yang Diperdagangkan di Mall Mandonga dan Hypermart Lippo Plaza Kota Kendari. *J. Sains dan Teknologi Pangan*. Vol. 1, No. 1, p. 51-57, ISSN: 2527-6271.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian, I (3)*. Hal. 117-135.
- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA, Universitas Indonesia. Hal. 40-59.
- Harvey, David. 2013. *Modern Analytical Chemistry*. USA : The McGraw-Hill Companies
- Ika Purwaningsih, Sri Sudewi, dan Jemmy Abidjulu. 2016. Analisis Senyawa Benzoat pada Saus Sambal di Rumah Makan Ayam Goreng Cepat Saji di Manado. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 5(3). Hal. 48-56.
- International Conference on Harmonization (ICH). 2005. *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)*. Geneva: International Conference on Harmonization.



- Jumriani. 2019. *Spektrofotometri UV-Vis*. <https://andarupm.co.id/spektrofotometri-uv-vis>. Diakses pada tanggal 10 Juli 2020 pukul 12.40.
- Khomsan, A. 2003. *Pangan dan Gizi untuk Kesehatan*. Jakarta: PT. Rajagrafindo, Persada.
- Khopkar, S. M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Edisi I. Jakarta: UI Press. Hal. 216.
- Khopkar, S. M. 2003. *Kimia Analisis*. Jakarta: UI-Press. Halaman 419.
- Manurung. 2012. Analisis Bahan Pengawet Natrium Benzoat pada Saus Tomat dan Saus Cabai Secara Spektrofotometer UV-Vis. *Skrpisi*. Medan: Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Negeri Medan.
- Miller, J. C., and Miller, J. H. 2010. *Statistic for Analytical Chemistry, 3<sup>rd</sup> Ed*. New York : John-Wiley and Sons, Inc.
- Mulja, M. dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumen*, Cetakan I. Surabaya: Airlangga University Press. Hal. 26-32.
- Nurhayati, Siadi, K., dan Harjono. 2012. Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat dan Lama Penyimpanan pada Kadar Fenolat Total Pasta Tomat. *Indonesian Journal of Chemical Science*. Vol. 1 (2), Hal. 159-162.
- Permenkes R.I. No. 033 Tahun 2012. *Tentang Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Depkes R.I.
- Rina Fauziah, *et al.* 2016. Identifikasi dan Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Susu Kedelai yang Dijual di Banjarmasin Tengah. *Jurnal Farmasi*. Banjarmasin: Akademi Farmasi ISFI.
- Riyanto, Ph.D. 2014. *Validasi & Verifikasi Metode Uji*. Yogyakarta : Deepublish.
- Ryan Rustian, *et al.* 2015. Analisis Kuantitatif Pengawet Natrium Benzoat pada Susu Kedelai yang Dijual di Daerah Cibuntu Menggunakan Spektrofotometri UV Sinar Tampak. *Jurnal Farmasi*. Bandung: Program Studi Farmasi FMIPA, Universitas Islam Bandung.
- Romadhani, H. 2016. Validasi Metode Penetapan Kadar Tablet Floating Metformin Hidroklorida dengan Spektrofotometri. *Skripsi*. Purwokerto: Fakultas farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Septiani, D. 2016. Kajian Kandungan Logam Berat Mangan (Mn) dan Nikel (Ni) pada Sedimen di Pesisir Teluk Lampung. *Analit : Analytical and Environment Chemistry*, E-ISSN 2540-8267. Volume 1, No 01.
- Skoog D. A., *et al.* 1996. *Fundamentals of Analytical Chemistry, 7<sup>th</sup> Edition*. Philadelphia: Saunders College Publishing.
- Standar Nasional Indonesia No. 01-0222-1995. 1995. *Tentang Batas Maksimum Penggunaan Natrium Benzoat*. Jakarta: Depkes RI.
- Stanojevic, D., Comic, L., Stefanovic and Solujic-Sukdolak. 2009. Antimicrobial Effects of Sodium Benzoate, Sodium Nitrite and Potassium Sorbate and Their Synergistic Action In Vitro. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15 (4), Hal. 307-311.

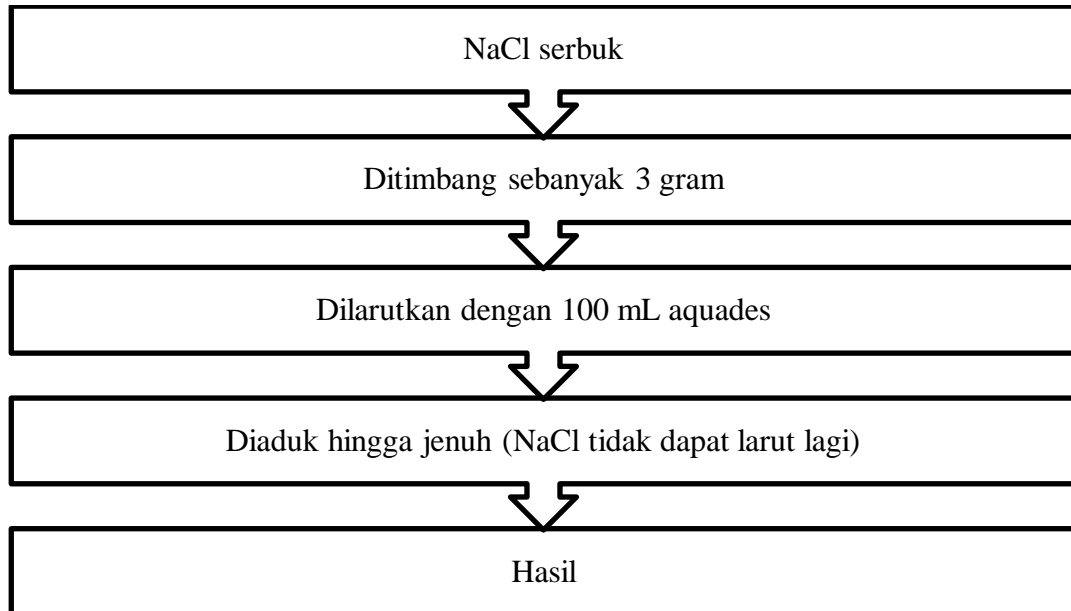
- Suhartati, T. 2013. *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Lampung: Anugrah Utama Raharja.
- Sukmawati, *et al.* 2018. Optimasi dan Validasi Metode Analisis dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoscus manihot* L.) yang Diukur Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Manado : Prodi Farmasi FMIPA UNSRAT. Vol. 7, No. 3, ISSN 2302-2493.
- Undang-undang No. 8. 2012. *Tentang Pangan*. Jakarta: Depkes RI.
- Utami, N. P. 2011. Penetapan Kadar Asam Benzoat dalam Saus Cabai Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Skripsi*. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatra Utara.
- Watson, G. D. 2012. *Pharmaceutical Analysis : A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical*. Penerjemah : Syarief, W. R. 2009. *Analisis Farmasi : Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi*. Edisi II. Jakarta : EGC. Hal. 9. 110.
- Wijaya, H. 2009. *Bahan Tambahan Pangan; Pengawet*. Bogor: Institut Pertanian Bogor Press. Hal. 5
- WHO. 2000. *Benzoic Acid and Sodium Benzoate*. Geneva: World Health Organization. Hal. 26.
- Yuwono, M., dan Indrayanto, G. 2005. Validation of Chromatographic Methods of Analysis. *Journal*. Vol. 32. Hal. 252.
- Yahya, S. 2013. *Spektrofotometri UV-Vis*. Jakarta : Erlangga.

## LAMPIRAN

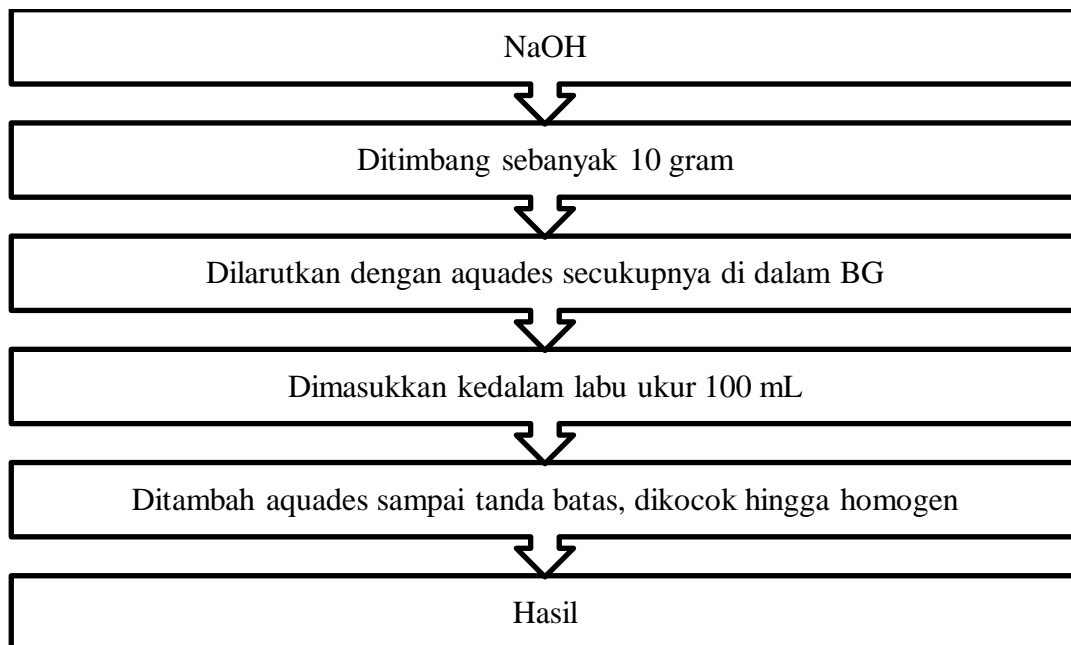
### Lampiran 1. Uji Kualitatif

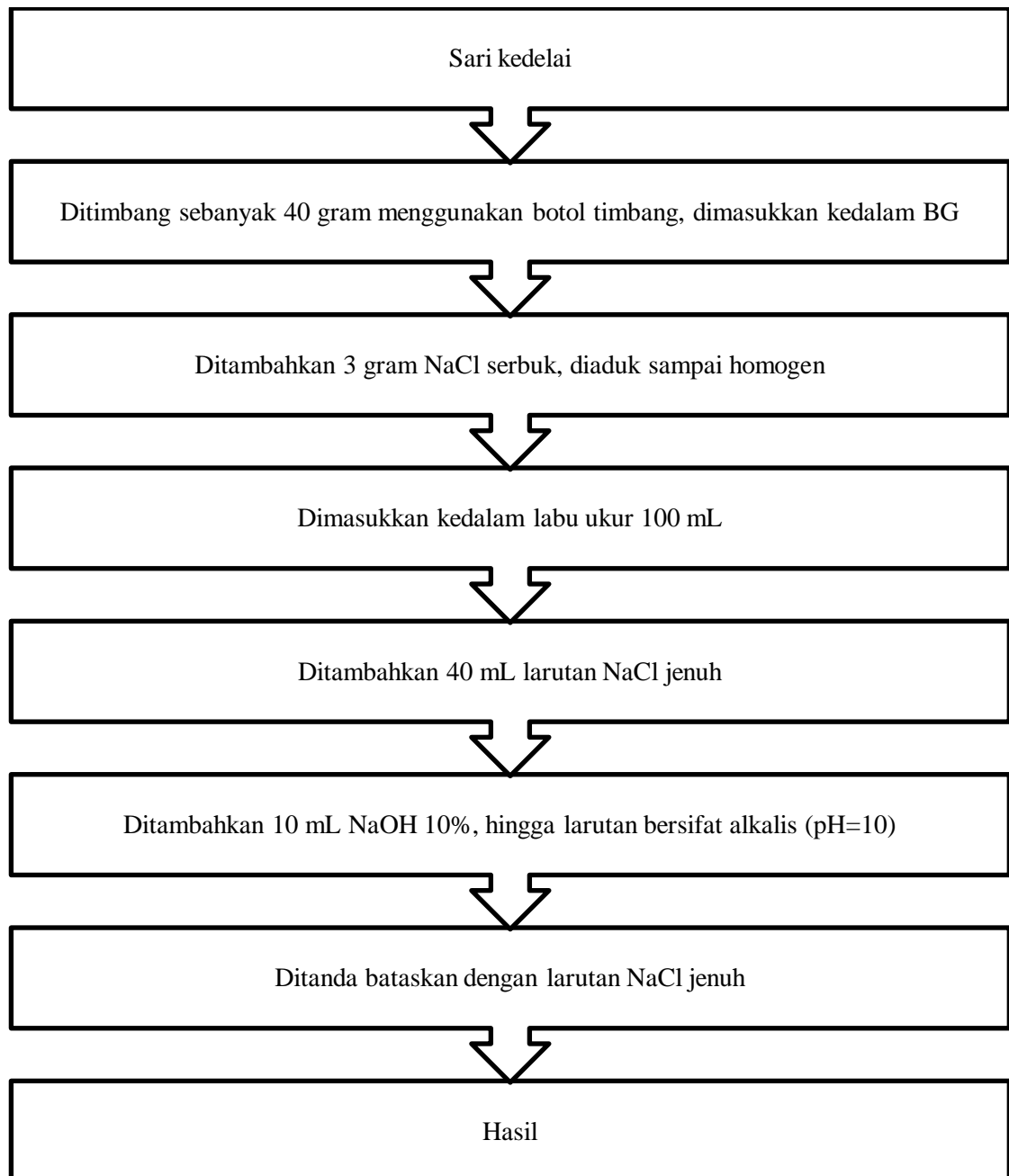
#### 1.1 Cara Kerja

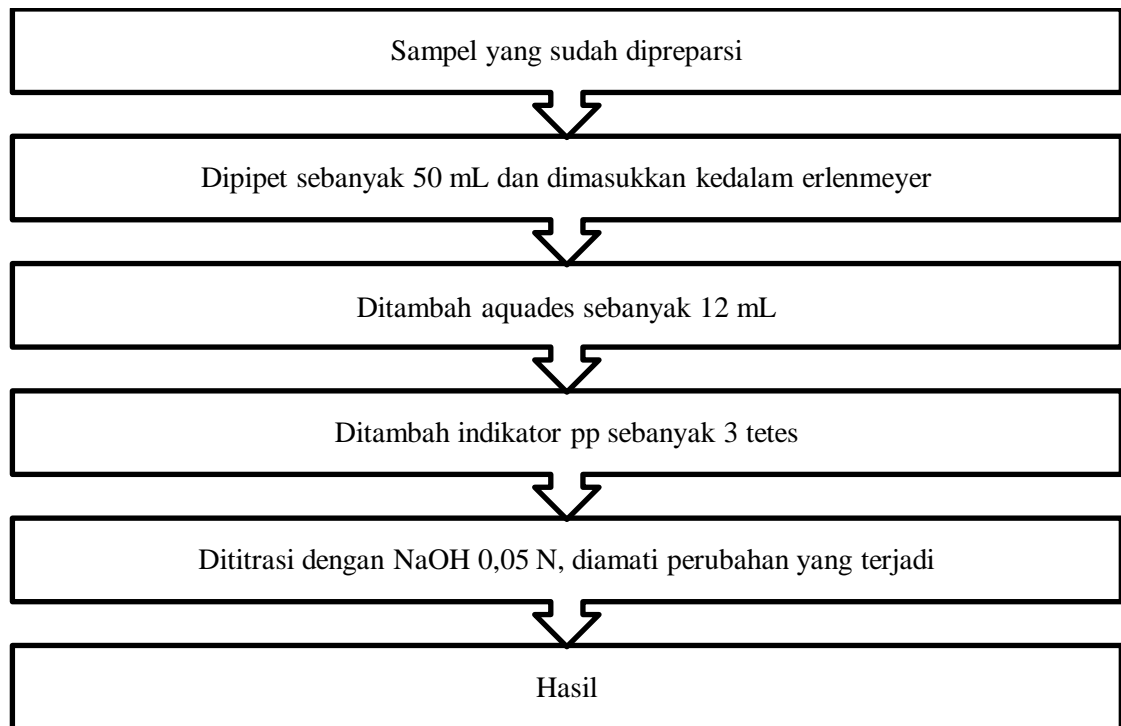
##### a. Pembuatan larutan NaCl jenuh



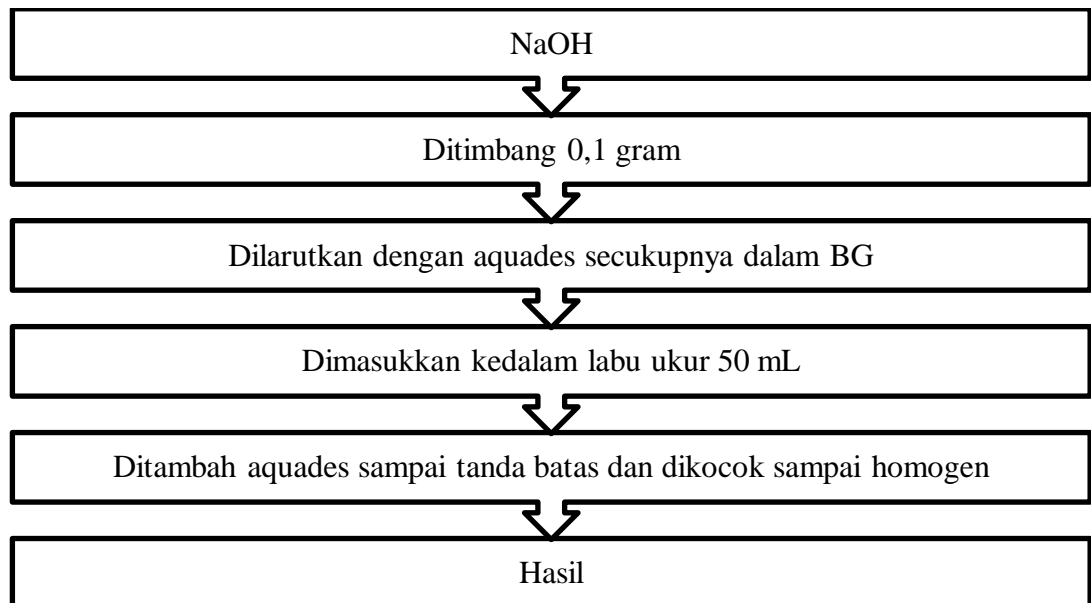
##### b. Pembuatan NaOH 10% dalam 100 mL



**c. Preparasi sampel**

**d. Analisis kualitatif dengan metode titrasi**

**CATATAN :** Jika terjadi perubahan warna dari putih ke merah muda menandakan positif mengandung natrium benzoat.

**e. Pembuatan NaOH 0,05 N sebanyak 50 mL**

## 1.2 Perhitungan Preparasi

### a. Pembuatan NaOH 10% dalam 100 mL

$$\frac{10}{100} \times 100 \text{ mL} = 10 \text{ gram dalam 100 mL}$$

### b. Pembuatan NaOH 0,05 N sebanyak 50 mL (0,05 L)

Diket : N NaOH = 0,05 N

$$V \text{ NaOH} = 0,05 \text{ L}$$

Dit : massa NaOH ....?

$$\begin{aligned} \text{Jawab : Mr NaOH} &= (1 \times \text{Ar Na}) + (1 \times \text{Ar O}) + (1 \times \text{Ar H}) \\ &= (1 \times 23) + (1 \times 16) + (1 \times 1) \\ &= 40 \text{ gr/mol} \end{aligned}$$

$$N \text{ NaOH} = \frac{\text{mol} \times \text{ekuivalen}}{\text{volume}}$$

$$0,05 = \frac{\text{mol} \times 1}{0,05 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} \text{mol NaOH} &= 0,05 \times 0,05 \text{ L} \\ &= 0,0025 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{massa NaOH} &= \text{mol NaOH} \times \text{Mr} \\ &= 0,0025 \text{ mol} \times 40 \text{ gr/mol} \\ &= 0,1 \text{ gr} \end{aligned}$$

### 1.3 Dokumentasi



Larutan NaOH 0,05 N



Larutan NaOH 10%



Larutan NaCl jenuh



Seperangkat alat titrasi



Proses titrasi



Kontrol -



Kontrol + sebelum dititrasi



Kontrol + setelah dititrasi



Sampel sebelum dilakukan proses titrasi



Sampel setelah dilakukan proses titrasi

#### 1.4 Data Hasil

<b>Sampel</b>	<b>Perubahan warna</b>	<b>Keterangan</b>
A	Putih – merah muda	+
B	Putih – merah muda	+
C	Putih – merah muda	+
D	Putih - merah muda	+
E	Putih - merah muda	+

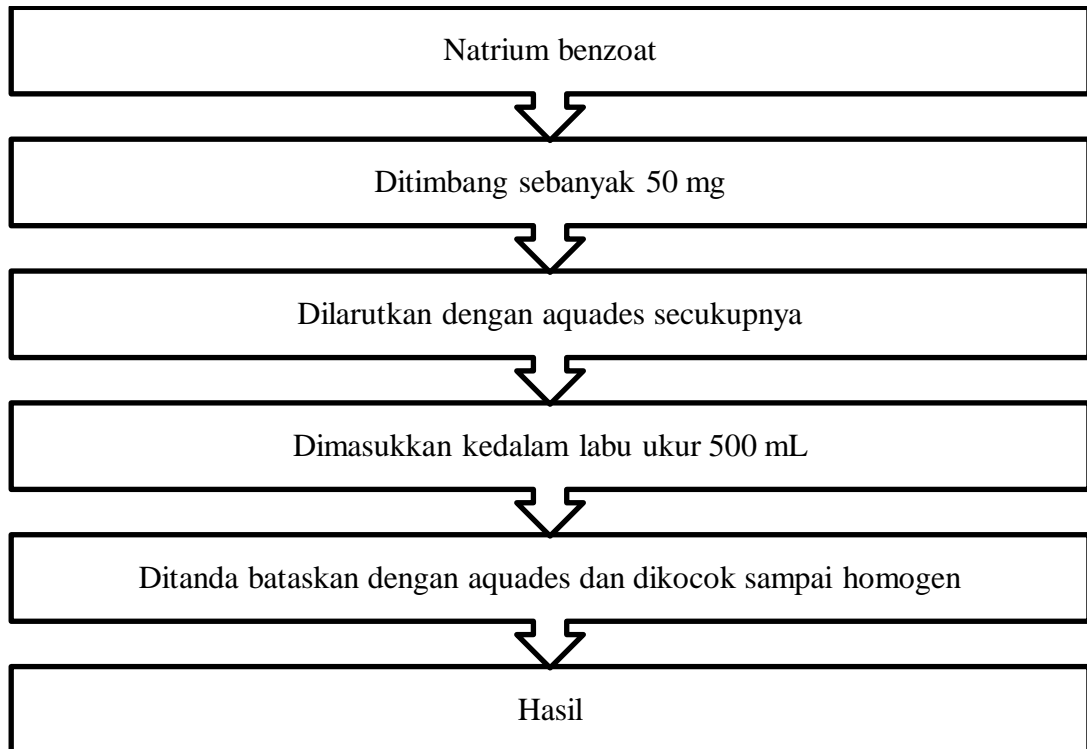
Keterangan : (+) menandakan sampel mengandung natrium benzoat.



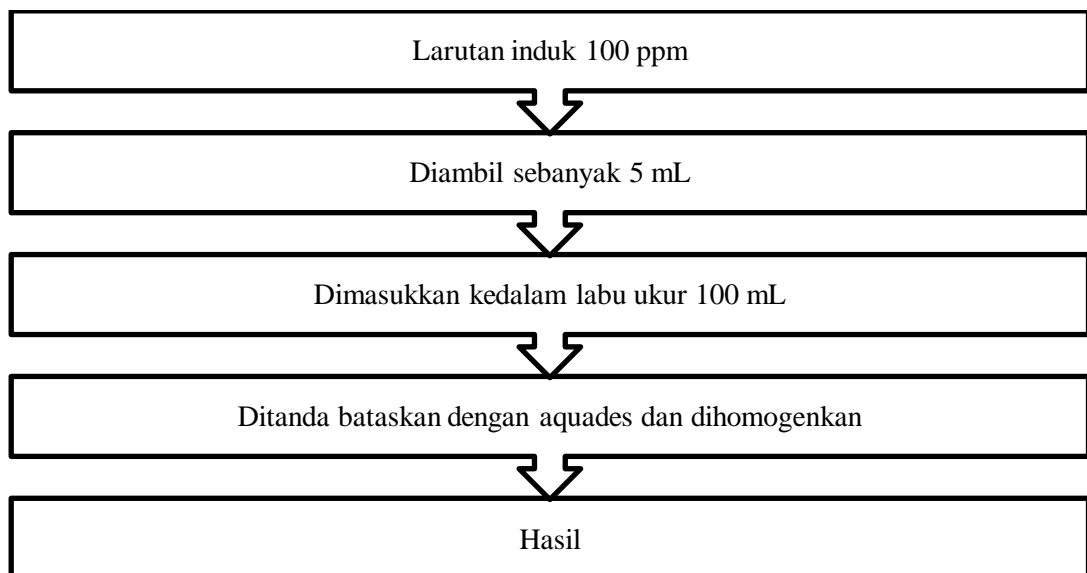
## Lampiran 2. Optimasi Panjang Gelombang

### 2.1 Cara Kerja

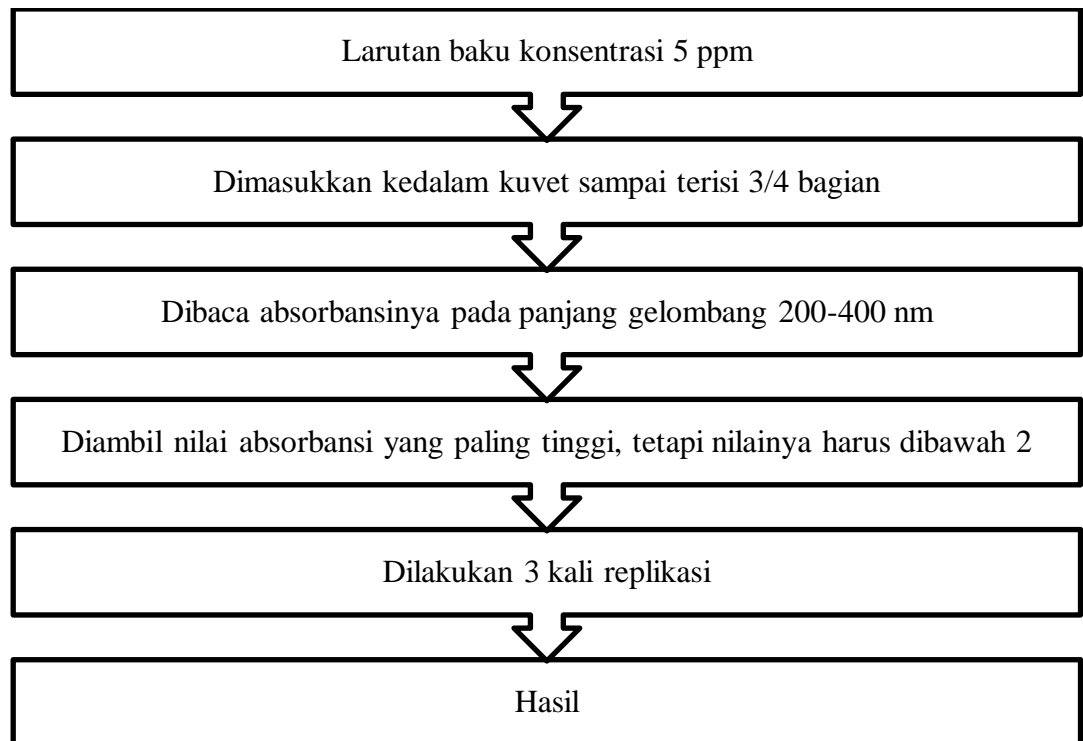
#### a. Pembuatan larutan induk Na benzoat 100 ppm sebanyak 500 mL



#### b. Pembuatan larutan baku 5 ppm sebanyak 100 mL



**c. Penentuan panjang gelombang optimum**



**2.2 Perhitungan Preparasi**

**a. Pembuatan larutan induk Na benzoat 100 ppm sebanyak 500 mL**

$$100\text{ppm} = \frac{x \text{ mg}}{0,5 \text{ L}}$$

$$x = 100 \text{ ppm} \times 0,5 \text{ L}$$

$$x = 50 \text{ mg}$$

**b. Pembuatan larutan baku 5 ppm sebanyak 100 mL**

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$5 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL} = 100 \text{ ppm} \times V2$$

$$500 \text{ mL} = 100 \times V2$$

$$V2 = 500 \text{ mL} : 100$$

$$V2 = 5 \text{ mL}$$

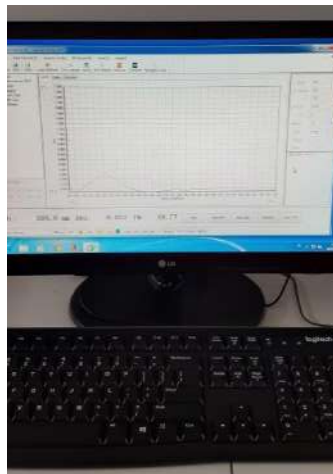
### 2.3 Dokumentasi



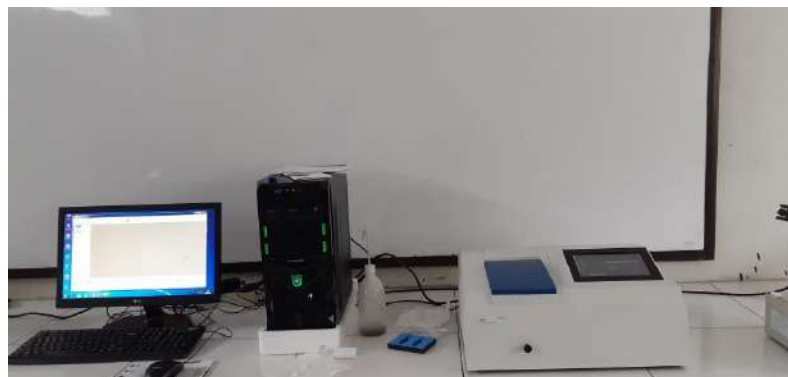
Instrumen spektrofotometer UV-  
Vis



Pada waktu memasukkan kuvet kedalam  
spektrofotometer UV-Vis



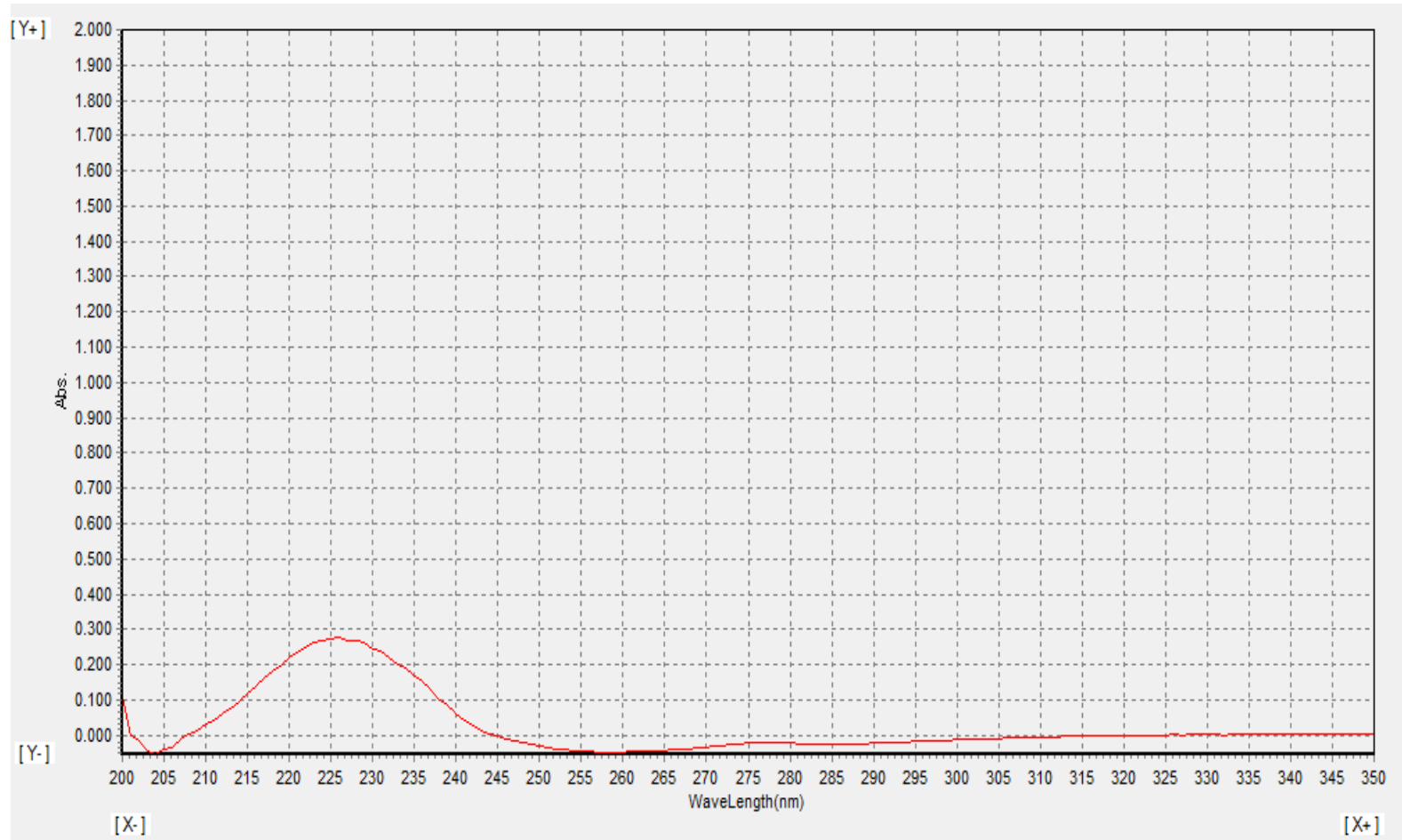
Pada waktu melihat hasil absorbansi panjang gelombang optimum



Instrumen spektrofotometer UV-Vis yang sudah terhubung ke seperangkat komputer

## 2.4 Data Hasil

Grafik optimasi panjang gelombang standar natrium benzoat konsentrasi 5 ppm



**Tabel panjang gelombang maksimum dan absorbansi standar natrium benzoat konsentrasi 5 ppm**

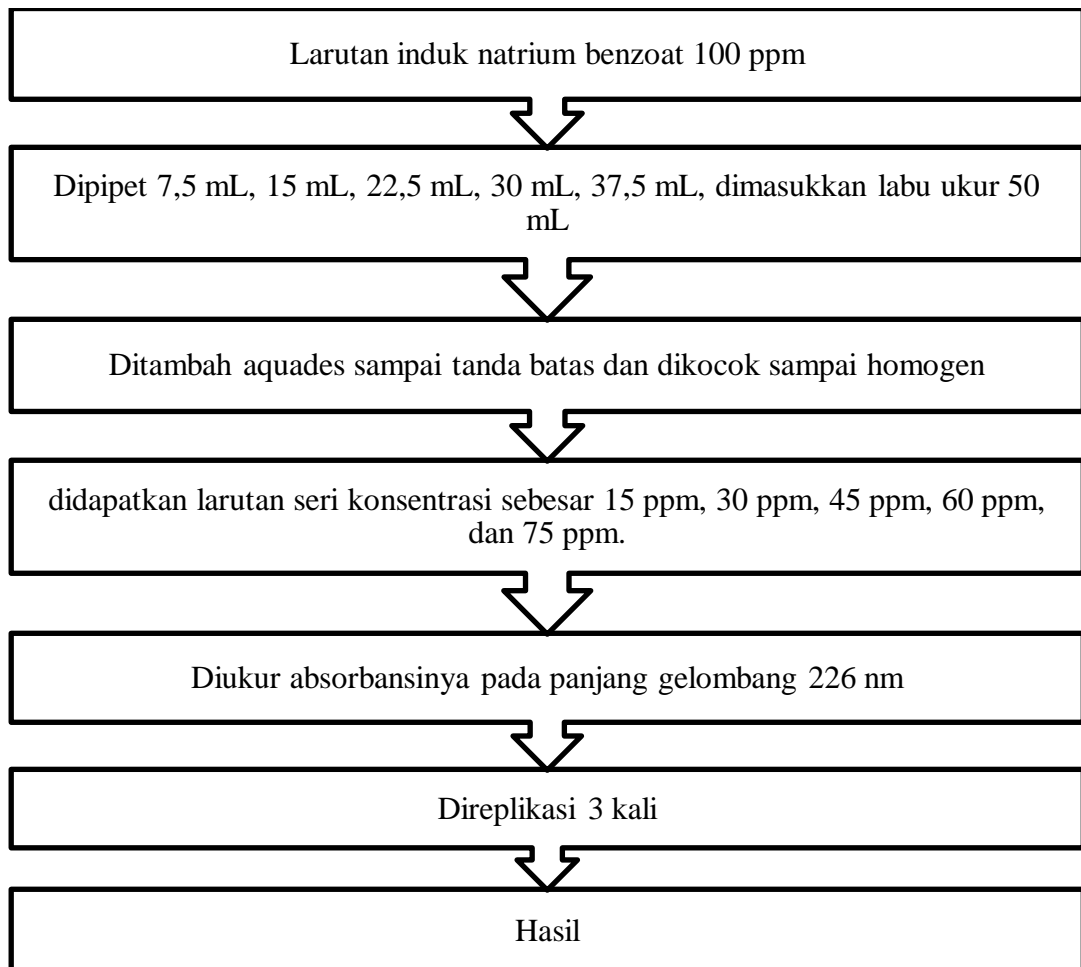
Wave	Abs.
214.0nm	0.096
215.0nm	0.121
216.0nm	0.137
217.0nm	0.162
218.0nm	0.181
219.0nm	0.198
220.0nm	0.221
221.0nm	0.233
222.0nm	0.248
223.0nm	0.263
224.0nm	0.267
225.0nm	0.273
226.0nm	0.275
227.0nm	0.269
228.0nm	0.269
229.0nm	0.261
230.0nm	0.244
231.0nm	0.238
232.0nm	0.221
233.0nm	0.203
234.0nm	0.191

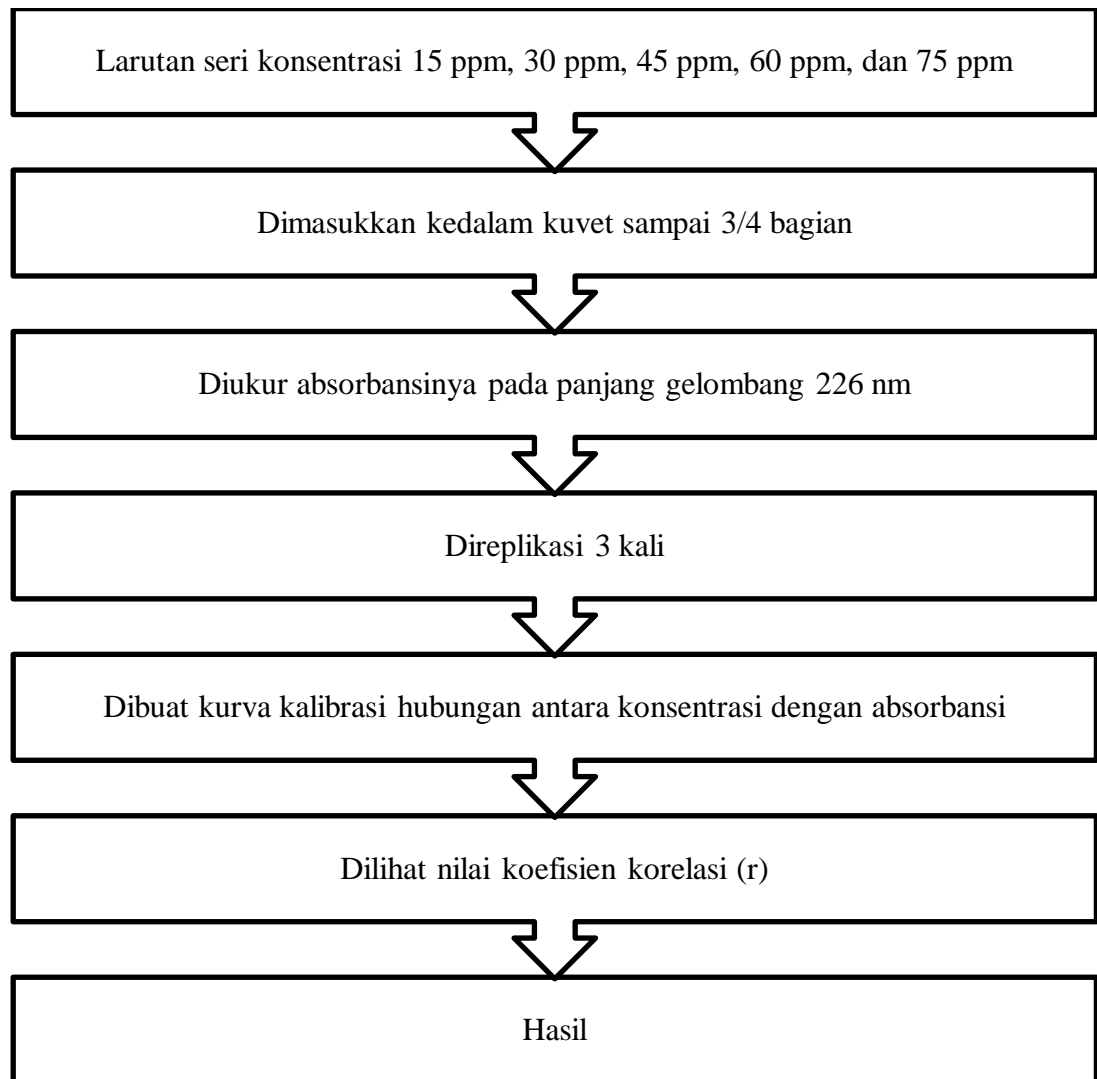
### Lampiran 3. Validasi Metode

#### 3.1 Linearitas

##### 3.1.1 Cara Kerja

- a. Pembuatan variasi konsentrasi 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm dalam 50 mL aquades



**b. Uji linearitas**

### 3.1.2 Perhitungan Preparasi

#### a. Perhitungan absorbansi sampel

Perhitungan ini digunakan untuk mendapatkan nilai konsentrasi kasar analit dalam sampel. Konsentrasi kasar ini akan digunakan untuk menentukan variasi konsentrasi yang dibutuhkan dalam uji linearitas.

##### a) Sampel A

<b>Sampel A</b>	<b>Absorbansi</b>
Replikasi 1	3,099
Replikasi 2	3,222
Replikasi 3	2,569
<b>Rata-rata</b>	<b>2,963</b>

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi kasar} &= \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar} \\ &= \frac{2,963}{0,275} \times 5 \text{ ppm} \\ &= 53,87 \text{ ppm} \end{aligned}$$

##### b) Sampel B

<b>Sampel B</b>	<b>Absorbansi</b>
Replikasi 1	2,669
Replikasi 2	2,633
Replikasi 3	2,579
<b>Rata-rata</b>	<b>2,627</b>

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi kasar} &= \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar} \\ &= \frac{2,627}{0,275} \times 5 \text{ ppm} \\ &= 47,76 \text{ ppm} \end{aligned}$$



## c) Sampel C

Sampel	Absorbansi
Replikasi 1	3,155
Replikasi 2	3,155
Replikasi 3	3,155
<b>Rata-rata</b>	<b>3,155</b>

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi kasar} &= \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar} \\
 &= \frac{3,155}{0,275} \times 5 \text{ ppm} \\
 &= 57,36 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

## d) Sampel D

Sampel	Absorbansi
Replikasi 1	3,222
Replikasi 2	3,222
Replikasi 3	3,222
<b>Rata-rata</b>	<b>3,222</b>

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi kasar} &= \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar} \\
 &= \frac{3,222}{0,275} \times 5 \text{ ppm} \\
 &= 58,58 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

## e) Sampel E

Sampel	Absorbansi
Replikasi 1	2,645
Replikasi 2	2,645
Replikasi 3	2,579
<b>Rata-rata</b>	<b>2,623</b>

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi kasar} &= \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar} \\ &= \frac{2,623}{0,275} \times 5 \text{ ppm} \\ &= 47,69 \text{ ppm} \end{aligned}$$

**b. Pembuatan variasi konsentrasi 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm dalam 50 mL aquades**

**a) 15 ppm**

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \text{ ppm} \times V_1 &= 15 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL} \\ 100 \times V_1 &= 750 \text{ mL} \\ V_1 &= 750 \text{ mL} : 100 \\ V_1 &= 7,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

**b) 30 ppm**

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \text{ ppm} \times V_1 &= 30 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL} \\ 100 \times V_1 &= 1500 \text{ mL} \\ V_1 &= 1500 \text{ mL} : 100 \\ V_1 &= 15 \text{ mL} \end{aligned}$$

**c) 45 ppm**

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \text{ ppm} \times V_1 &= 45 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL} \\ 100 \times V_1 &= 2250 \text{ mL} \\ V_1 &= 2250 \text{ mL} : 100 \\ V_1 &= 22,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

**d) 60 ppm**

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \text{ ppm} \times V_1 &= 60 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$100 \times V1 = 3000 \text{ mL}$$

$$V1 = 3000 \text{ mL} : 100$$

$$V1 = 30 \text{ mL}$$

e) **75 ppm**

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 75 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$$

$$100 \times V1 = 3750 \text{ mL}$$

$$V1 = 3750 \text{ mL} : 100$$

$$V1 = 37,5 \text{ mL}$$

### 3.1.3 Dokumentasi



Larutan induk Na benzoat 100 ppm



Larutan seri konsentrasi 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm

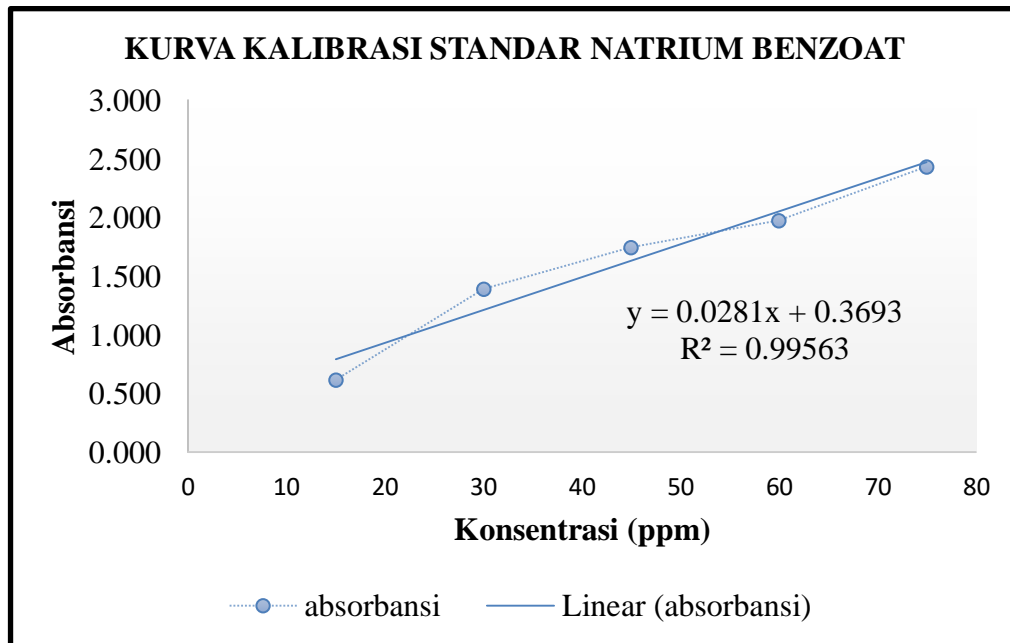
### 3.1.4 Data Hasil

**Tabel Absorbansi standar natrium benzoat 5 ppm dan sampel sari kedelai**

Panjang Gelombang	Absorbansi	Keterangan
226 nm	0,275	Standar
226 nm	2,963	Sampel A
226 nm	2,627	Sampel B
226 nm	3,155	Sampel C
226 nm	3,222	Sampel D
226 nm	2,623	Sampel E

**Nilai absorbansi larutan variasi konsentrasi natrium benzoat dengan spektrofotometri UV-Vis**

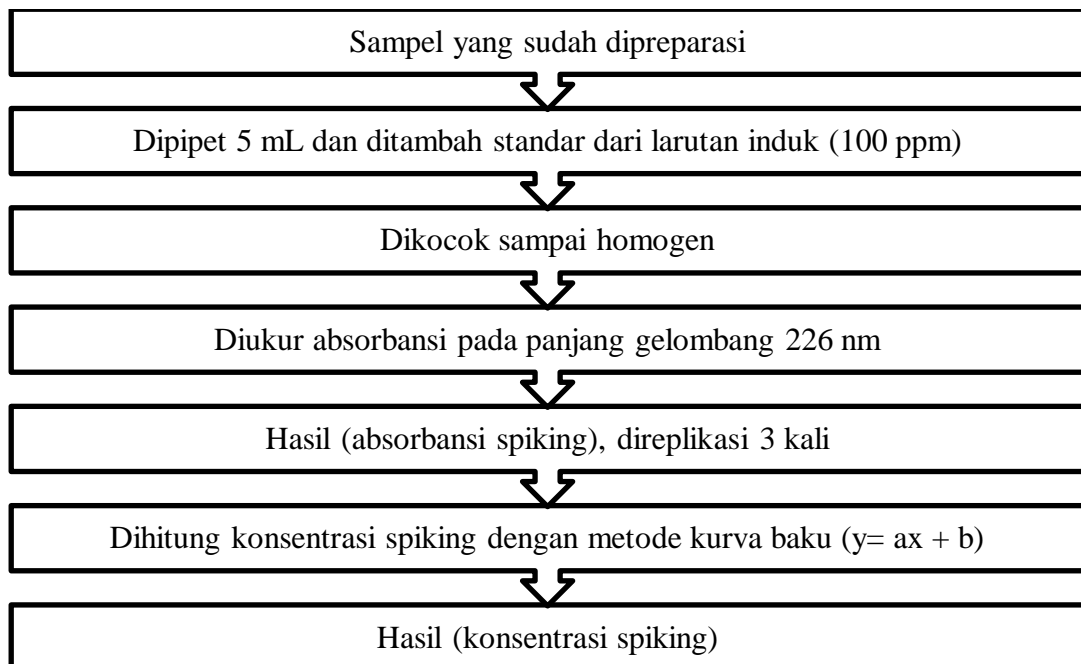
Konsentrasi Kasar (ppm)	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
53,87	15	0,620
47,76	30	1,389
57,36	45	1,744
58,58	60	1,976
47,69	75	2,431



### 3.2 Akurasi

#### 3.2.1 Cara Kerja

- Metode Spiking



### 3.2.2 Perhitungan Preparasi

#### a. Perhitungan Konsentrasi Spiking

##### a) Sampel A

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi standar yang ditambahkan} &= \frac{1}{2} \times \text{konsentrasi analit dalam sampel} \\ &= \frac{1}{2} \times 92,243 \text{ ppm} \\ &= 46,12 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$46,12 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL} = 100 \text{ ppm} \times V2$$

$$230,6 \text{ mL} = 100 \times V2$$

$$V2 = 230,6 \text{ mL} : 100$$

$$V2 = 2,306 \text{ mL (diambil dari larutan induk 100 ppm)}$$

- Konsentrasi spiking

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$4,227 = 0,0281x + 0,3693$$

$$4,227 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$3,8577 = 0,0281x$$

$$x = \frac{3,8577}{0,0281}$$

$$x = 137,28 \text{ ppm}$$

##### b) Sampel B

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi standar yang ditambahkan} &= \frac{1}{2} \times \text{konsentrasi analit dalam sampel} \\ &= \frac{1}{2} \times 80,286 \text{ ppm} \\ &= 40,143 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$40,143 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL} = 100 \text{ ppm} \times V2$$

$$200,72 \text{ mL} = 100 \times V2$$

$$V2 = 200,72 \text{ mL} : 100$$

$$V2 = 2,007 \text{ mL (diambil dari larutan induk 100 ppm)}$$

- **Konsentrasi spiking**

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,723 = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,723 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$3,3537 = 0,0281x$$

$$x = \frac{3,3537}{0,0281}$$

$$x = 119,35 \text{ ppm}$$

**c) Sampel C**

$$\text{Konsentrasi standar yang ditambahkan} = \frac{1}{2} \times \text{konsentrasi analit dalam sampel}$$

$$= \frac{1}{2} \times 99,04 \text{ ppm}$$

$$= 49,52 \text{ ppm}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$49,52 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL} = 100 \text{ ppm} \times V2$$

$$247,6 \text{ mL} = 100 \times V2$$

$$V2 = 247,6 \text{ mL} : 100$$

$$V2 = 2,476 \text{ mL (diambil dari larutan induk 100 ppm)}$$

- **Konsentrasi spiking**

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$4,513 = 0,0281x + 0,3693$$

$$4,513 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$4,1437 = 0,0281x$$

$$x = \frac{4,1437}{0,0281}$$

$$x = 147,46 \text{ ppm}$$

**d) Sampel D**

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi standar yang ditambahkan} &= \frac{1}{2} \times \text{konsentrasi analit dalam sampel} \\ &= \frac{1}{2} \times 101,483 \text{ ppm} \\ &= 50,742 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\ 50,742 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL} &= 100 \text{ ppm} \times V2 \\ 253,71 \text{ mL} &= 100 \times V2 \\ V2 &= 253,71 \text{ mL} : 100 \\ V2 &= 2,54 \text{ mL (diambil dari larutan induk 100 ppm)} \end{aligned}$$

• **Konsentrasi spiking**

$$\begin{aligned} y &= 0,0281x + 0,3693 \\ 4,616 &= 0,0281x + 0,3693 \\ 4,616 - 0,3693 &= 0,0281x \\ 4,2467 &= 0,0281x \\ x &= \frac{4,2467}{0,0281} \\ x &= 151,13 \text{ ppm} \end{aligned}$$

**e) Sampel E**

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi standar yang ditambahkan} &= \frac{1}{2} \times \text{konsentrasi analit dalam sampel} \\ &= \frac{1}{2} \times 80,143 \text{ ppm} \\ &= 40,072 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\ 40,072 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL} &= 100 \text{ ppm} \times V2 \\ 200,36 \text{ mL} &= 100 \times V2 \\ V2 &= 200,36 \text{ mL} : 100 \\ V2 &= 2,003 \text{ mL (diambil dari larutan induk 100 ppm)} \end{aligned}$$



- **Konsentrasi spiking**

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,717 = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,718 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$3,3477 = 0,0281x$$

$$x = \frac{3,3477}{0,0281}$$

$$x = 119,14 \text{ ppm}$$

**b. Perhitungan % recovery**

**a) Sampel A**

$$\begin{aligned} \% \text{ recovery} &= \frac{\text{konsentrasi spiking} - \text{konsentrasi sampel}}{\text{konsentrasi standar}} \times 100\% \\ &= \frac{137,28 - 92,243}{46,12} \times 100\% \\ &= \frac{45,037}{46,12} \times 100\% \\ &= 0,9765 \times 100\% \\ &= 97,65\% \end{aligned}$$

**b) Sampel B**

$$\begin{aligned} \% \text{ recovery} &= \frac{\text{konsentrasi spiking} - \text{konsentrasi sampel}}{\text{konsentrasi standar}} \times 100\% \\ &= \frac{119,35 - 80,286}{40,143} \times 100\% \\ &= \frac{39,064}{40,143} \times 100\% \\ &= 0,9731 \times 100\% \\ &= 97,31\% \end{aligned}$$

**c) Sampel C**

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{konsentrasi spiking} - \text{konsentrasi sampel}}{\text{konsentrasi standar}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{147,46 - 99,04}{49,52} \times 100\% \\
 &= \frac{48,42}{49,52} \times 100\% \\
 &= 0,978 \times 100\% \\
 &= 97,8\%
 \end{aligned}$$

**d) Sampel D**

$$\begin{aligned}
 \% \text{ recovery} &= \frac{\text{konsentrasi spiking} - \text{konsentrasi sampel}}{\text{konsentrasi standar}} \times 100\% \\
 &= \frac{151,13 - 101,483}{50,742} \times 100\% \\
 &= \frac{49,647}{50,742} \times 100\% \\
 &= 0,9784 \times 100\% \\
 &= 97,84\%
 \end{aligned}$$

**e) Sampel E**

$$\begin{aligned}
 \% \text{ recovery} &= \frac{\text{konsentrasi spiking} - \text{konsentrasi sampel}}{\text{konsentrasi standar}} \times 100\% \\
 &= \frac{119,14 - 80,143}{40,072} \times 100\% \\
 &= \frac{38,997}{40,072} \times 100\% \\
 &= 0,9732 \times 100\% \\
 &= 97,32\%
 \end{aligned}$$

### 3.2.3 Data Hasil

**Tabel Nilai Absorbansi Spiking**

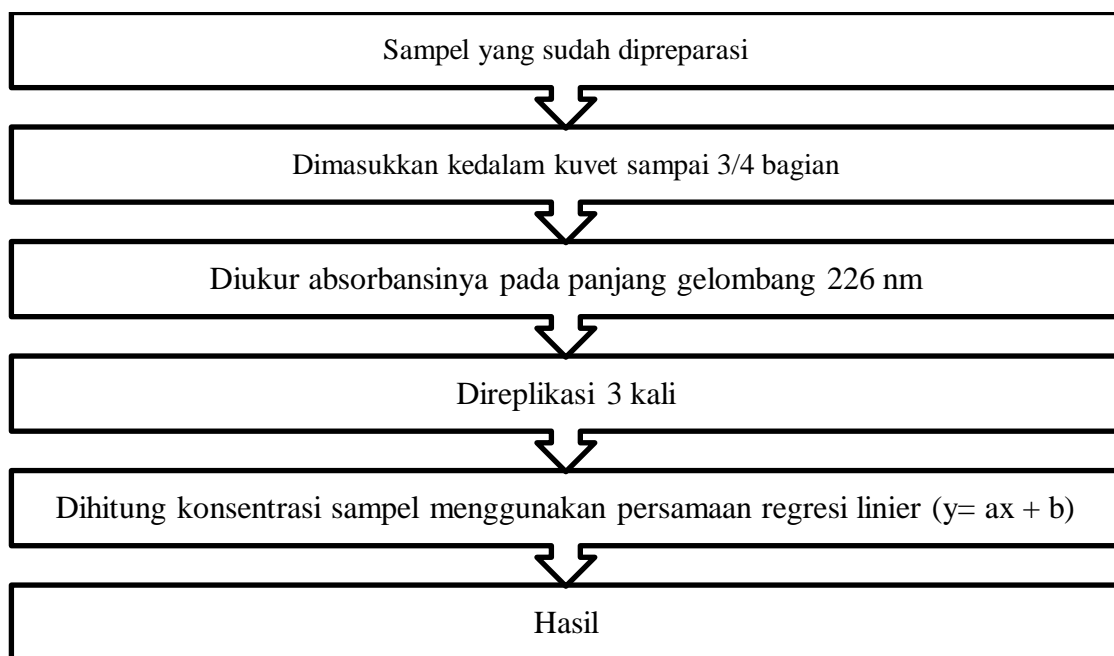
Sampel	Absorbansi spiking			Absorbansi rata-rata
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
A	4,228	4,225	4,227	4,227
B	3,725	3,723	3,720	3,723
C	4,514	4,511	4,513	4,513
D	4,618	4,615	4,616	4,616
E	3,718	3,715	3,717	3,717

**Tabel Hasil Perolehan Kembali (% recovery)**

Sampel	Konsentrasi spiking (ppm)	% recovery
A	137,28	97,65%
B	119,35	97,31%
C	147,46	97,8%
D	151,13	97,84%
E	119,14	97,32%
<b>Rata-rata</b>	<b>134,872</b>	<b>97,58%</b>

### 3.3 Presisi

#### 3.3.1 Cara Kerja



#### 3.3.2 Perhitungan RSD

##### a. Sampel A

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\sum \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{(X_1 - \bar{X})^2 + (X_2 - \bar{X})^2 + (X_3 - \bar{X})^2}{n-1}}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= \sqrt{\frac{(902,302-92,243)^2+(92,195-92,243)^2+(92,231-92,243)^2}{5-1}} \\
&= \sqrt{\frac{(0,059)^2+(-0,048)^2+(-0,012)^2}{4}} \\
&= \sqrt{\frac{0,003481+0,002304+0,000144}{4}} \\
&= \sqrt{\frac{0,005929}{4}} \\
&= \sqrt{0,00148225} \\
&= 0,0385
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\text{RSD} &= \frac{SD}{x} \times 100\% \\
&= \frac{0,0385}{92,243} \times 100\% \\
&= 0,042\% \text{ (sangat teliti)}
\end{aligned}$$

#### b. Sampel B

$$\begin{aligned}
SD &= \sqrt{\sum \frac{(Xi-\bar{x})^2}{n-1}} \\
&= \sqrt{\frac{(X1-\bar{X})^2+(X2-\bar{X})^2+(X3-\bar{X})^2}{n-1}} \\
&= \sqrt{\frac{(80,345-80,286)^2+(80,274-80,286)^2+(80,238-80,286)^2}{5-1}} \\
&= \sqrt{\frac{(0,059)^2+(-0,012)^2+(-0,048)^2}{4}} \\
&= \sqrt{\frac{0,003481+0,000144+0,002304}{4}} \\
&= \sqrt{\frac{0,005929}{4}}
\end{aligned}$$

$$= \sqrt{0,00148225}$$

$$= 0,0385$$

$$\text{RSD} = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0385}{80,286} \times 100\%$$

$$= 0,048\% \text{ (sangat teliti)}$$

### c. Sampel C

$$\text{SD} = \sqrt{\sum \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{(X_1 - \bar{X})^2 + (X_2 - \bar{X})^2 + (X_3 - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{(99,135 - 99,04)^2 + (98,957 - 99,04)^2 + (99,028 - 99,04)^2}{5-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{(0,095)^2 + (-0,083)^2 + (-0,012)^2}{4}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,009025 + 0,006889 + 0,000144}{4}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,016058}{4}}$$

$$= \sqrt{0,0040145}$$

$$= 0,063$$

$$\text{RSD} = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

$$= \frac{0,063}{99,04} \times 100\%$$

$$= 0,064\% \text{ (sangat teliti)}$$

**d. Sampel D**

$$\begin{aligned}
SD &= \sqrt{\sum \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \\
&= \sqrt{\frac{(X_1 - \bar{X})^2 + (X_2 - \bar{X})^2 + (X_3 - \bar{X})^2}{n-1}} \\
&= \sqrt{\frac{(101,519 - 101,483)^2 + (101,448 - 101,483)^2 + (101,483 - 101,483)^2}{5-1}} \\
&= \sqrt{\frac{(0,036)^2 + (-0,035)^2 + (0)^2}{4}} \\
&= \sqrt{\frac{0,001296 + 0,001225 + 0}{4}} \\
&= \sqrt{\frac{0,002521}{4}} \\
&= \sqrt{0,00063025} \\
&= 0,025
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
RSD &= \frac{SD}{x} \times 100\% \\
&= \frac{0,025}{101,483} \times 100\% \\
&= 0,025\% \text{ (sangat teliti)}
\end{aligned}$$

**e. Sampel E**

$$\begin{aligned}
SD &= \sqrt{\sum \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \\
&= \sqrt{\frac{(X_1 - \bar{X})^2 + (X_2 - \bar{X})^2 + (X_3 - \bar{X})^2}{n-1}} \\
&= \sqrt{\frac{(80,202 - 80,143)^2 + (80,096 - 80,143)^2 + (80,132 - 80,143)^2}{5-1}}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \sqrt{\frac{(0,059)^2 + (-0,047)^2 + (-0,011)^2}{4}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,003481 + 0,002209 + 0,000121}{4}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,005811}{4}} \\
 &= \sqrt{0,00145275} \\
 &= 0,038
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{RSD} &= \frac{SD}{x} \times 100\% \\
 &= \frac{0,038}{80,143} \times 100\% \\
 &= 0,048\% \text{ (sangat teliti)}
 \end{aligned}$$

### 3.3.3 Data Hasil

Tabel Hasil Uji Presisi

Sampel	Konsentrasi (ppm)	SD	RSD (%)
A	92,243	0,0385	0,042
B	80,286	0,0385	0,048
C	99,04	0,063	0,064
D	101,483	0,025	0,025
E	80,143	0,038	0,048
<b>Rata-rata</b>		<b>0,0406</b>	<b>0,0454</b>

## 3.4 LOD & LOQ

### 3.4.1 Perhitungan

#### a. Sampel A

$$\begin{aligned}
 \text{LOD} &= \frac{3 \times SB}{slope} \\
 &= \frac{3 \times 0,0385}{0,3693}
 \end{aligned}$$

$$= \frac{0,1155}{0,3693}$$

$$= 0,313 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times SB}{\text{slope}}$$

$$= \frac{10 \times 0,0385}{0,3693}$$

$$= \frac{0,385}{0,3693}$$

$$= 1,043 \text{ ppm}$$

**b. Sampel B**

$$\text{LOD} = \frac{3 \times SB}{\text{slope}}$$

$$= \frac{3 \times 0,0385}{0,3693}$$

$$= \frac{0,1155}{0,3693}$$

$$= 0,313 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times SB}{\text{slope}}$$

$$= \frac{10 \times 0,0385}{0,3693}$$

$$= \frac{0,385}{0,3693}$$

$$= 1,043 \text{ ppm}$$

**c. Sampel C**

$$\text{LOD} = \frac{3 \times SB}{\text{slope}}$$

$$= \frac{3 \times 0,063}{0,3693}$$

$$= \frac{0,189}{0,3693}$$



$$= 0,512 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{LOQ} &= \frac{10 \times SB}{\text{slope}} \\ &= \frac{10 \times 0,063}{0,3693} \\ &= \frac{0,63}{0,3693} \\ &= 1,706 \text{ ppm} \end{aligned}$$

**d. Sampel D**

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= \frac{3 \times SB}{\text{slope}} \\ &= \frac{3 \times 0,025}{0,3693} \\ &= \frac{0,075}{0,3693} \\ &= 0,203 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{LOQ} &= \frac{10 \times SB}{\text{slope}} \\ &= \frac{10 \times 0,025}{0,3693} \\ &= \frac{0,25}{0,3693} \\ &= 0,677 \text{ ppm} \end{aligned}$$

**e. Sampel E**

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= \frac{3 \times SB}{\text{slope}} \\ &= \frac{3 \times 0,038}{0,3693} \\ &= \frac{0,114}{0,3693} \end{aligned}$$

$$= 0,309 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{LOQ} &= \frac{10 \times SB}{\text{slope}} \\ &= \frac{10 \times 0,038}{0,3693} \\ &= \frac{0,38}{0,3693} \\ &= 1,029 \text{ ppm} \end{aligned}$$

### 3.4.2 Data Hasil

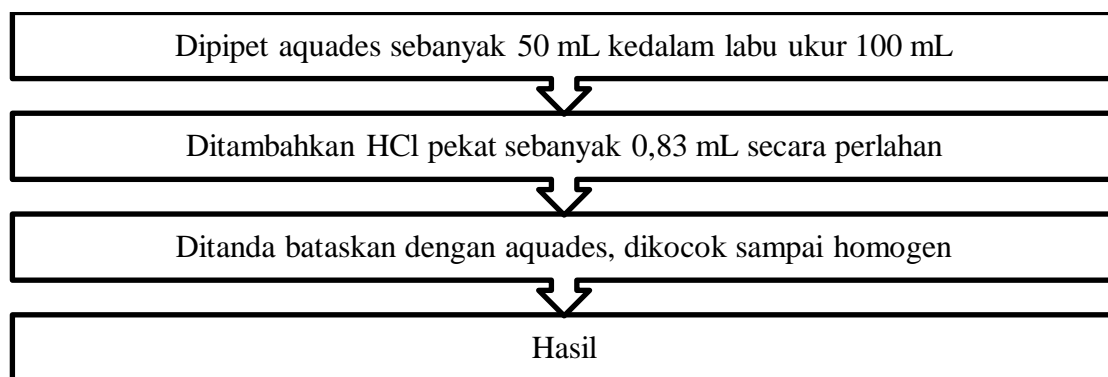
**Tabel Hasil Uji LOD & LOQ**

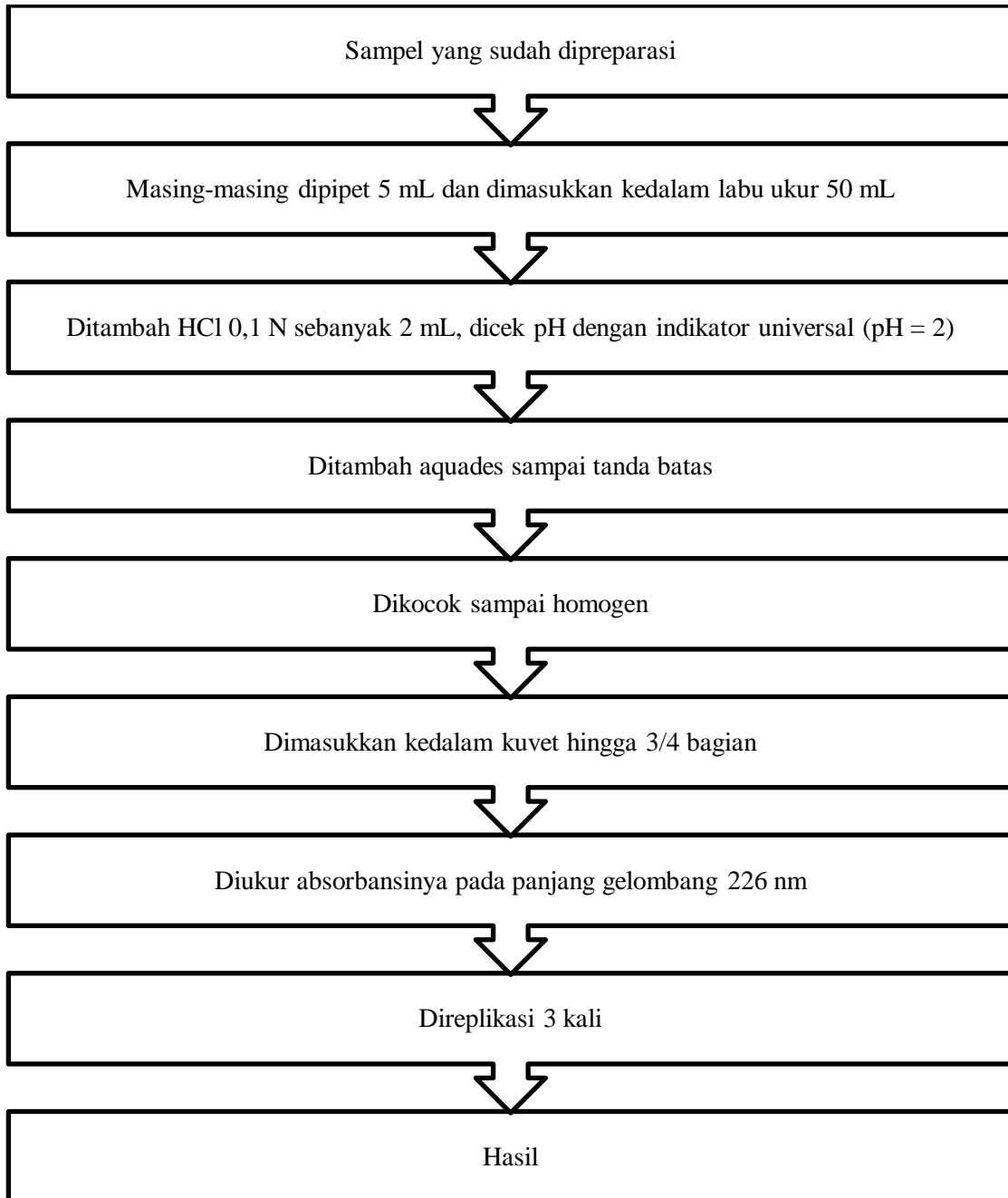
Sampel	LOD	LOQ
A	0,313 ppm	1,043 ppm
B	0,313 ppm	1,043 ppm
C	0,512 ppm	1,706 ppm
D	0,203 ppm	0,677 ppm
E	0,309 ppm	1,029 ppm
<b>Rata-rata</b>	<b>0,33 ppm</b>	<b>1,0996 ppm</b>

## Lampiran 4. Penetapan Kadar Na benzoat dalam Sampel

### 4.1 Cara Kerja

#### a. Pembuatan larutan HCl 0,1 N sebanyak 100 mL



**b. Penetapan kadar**

## 4.2 Perhitungan Preparasi

### a. Pembuatan larutan HCl 0,1 N sebanyak 100 mL

$$\begin{aligned}
 M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\
 0,1 \text{ N} \times 100 \text{ mL} &= 12,06 \times V2 \\
 10 \text{ mL} &= 12,06 \times V2 \\
 V2 &= 10 : 12,06 \\
 V2 &= 0,83 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

### b. Perhitungan Penetapan Kadar

#### a) Sampel A

- Replikasi 1

$$\begin{aligned}
 y &= 2,963 \\
 y &= 0,0281x + 0,3693 \\
 2,963 &= 0,0281x + 0,3693 \\
 2,963 - 0,3693 &= 0,0281x \\
 2,5937 &= 0,0281x \\
 x &= \frac{2,5937}{0,0281} \\
 x &= 92,302 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

- Replikasi 2

$$\begin{aligned}
 y &= 2,960 \\
 y &= 0,0281x + 0,3693 \\
 2,960 &= 0,0281x + 0,3693 \\
 2,960 - 0,3693 &= 0,0281x \\
 2,5907 &= 0,0281x \\
 x &= \frac{2,5907}{0,0281} \\
 x &= 92,195 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

- **Replikasi 3**

$$\begin{aligned}
 y &= 2,961 \\
 y &= 0,0281x + 0,3693 \\
 2,961 &= 0,0281x + 0,3693 \\
 2,961 - 0,3693 &= 0,0281x \\
 2,5917 &= 0,0281x \\
 x &= \frac{2,5917}{0,0281} \\
 x &= 92,231 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

**b) Sampel B**

- **Replikasi 1**

$$\begin{aligned}
 y &= 2,627 \\
 y &= 0,0281x + 0,3693 \\
 2,627 &= 0,0281x + 0,3693 \\
 2,627 - 0,3693 &= 0,0281x \\
 2,2577 &= 0,0281x \\
 x &= \frac{2,2577}{0,0281} \\
 x &= 80,345 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

- **Replikasi 2**

$$\begin{aligned}
 y &= 2,625 \\
 y &= 0,0281x + 0,3693 \\
 2,625 &= 0,0281x + 0,3693 \\
 2,625 - 0,3693 &= 0,0281x \\
 2,2557 &= 0,0281x \\
 x &= \frac{2,2557}{0,0281} \\
 x &= 80,274 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

- **Replikasi 3**

$$y = 2,624$$

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$2,624 = 0,0281x + 0,3693$$

$$2,624 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$2,2547 = 0,0281x$$

$$x = \frac{2,2547}{0,0281}$$

$$x = 80,238 \text{ ppm}$$

c) **Sampel C**

- **Replikasi 1**

$$y = 3,155$$

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,155 = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,155 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$2,7857 = 0,0281x$$

$$x = \frac{2,7857}{0,0281}$$

$$x = 99,135 \text{ ppm}$$

- **Replikasi 2**

$$y = 3,150$$

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,150 = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,150 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$2,7807 = 0,0281x$$

$$x = \frac{2,7807}{0,0281}$$

$$x = 98,957 \text{ ppm}$$

- **Replikasi 3**

$$y = 3,152$$

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,152 = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,152 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$2,7827 = 0,0281x$$

$$x = \frac{2,7827}{0,0281}$$

$$x = 99,028 \text{ ppm}$$

**d) Sampel D**

- **Replikasi 1**

$$y = 3,222$$

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,222 = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,222 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$2,8527 = 0,0281x$$

$$x = \frac{2,8527}{0,0281}$$

$$x = 101,519 \text{ ppm}$$

- **Replikasi 2**

$$y = 3,220$$

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,220 = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,220 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$2,8507 = 0,0281x$$

$$x = \frac{2,8507}{0,0281}$$

$$x = 101,448 \text{ ppm}$$

- **Replikasi 3**

$$y = 3,221$$

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,221 = 0,0281x + 0,3693$$

$$3,221 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$2,8517 = 0,0281x$$

$$x = \frac{2,8517}{0,0281}$$

$$x = 101,483 \text{ ppm}$$

e) **Sampel E**

- **Replikasi 1**

$$y = 2,623$$

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$2,623 = 0,0281x + 0,3693$$

$$2,623 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$2,2537 = 0,0281x$$

$$x = \frac{2,2537}{0,0281}$$

$$x = 80,202 \text{ ppm}$$

- **Replikasi 2**

$$y = 2,620$$

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$2,620 = 0,0281x + 0,3693$$

$$2,620 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$2,2507 = 0,0281x$$

$$x = \frac{2,2507}{0,0281}$$

$$x = 80,096 \text{ ppm}$$



- **Replikasi 3**

$$y = 2,621$$

$$y = 0,0281x + 0,3693$$

$$2,621 = 0,0281x + 0,3693$$

$$2,621 - 0,3693 = 0,0281x$$

$$2,2517 = 0,0281x$$

$$x = \frac{2,2517}{0,0281}$$

$$x = 80,132 \text{ ppm}$$

### 4.3 Dokumentasi



Larutan HCl 0,1 N



Instrument Spektrofotometer UV-Vis



Sampel susu kedelai

#### 4.4 Data Hasil

**Tabel Penetapan Kadar Natrium Benzoat Dalam Sari Kedelai**

Sampel	Replikasi (R)	Kadar $\pm$ SD (ppm)	Rata-rata (ppm)
A	R1	92,302 $\pm$ 0,039	92,243 $\pm$ 0,039
	R2	92,195 $\pm$ 0,039	
	R3	92,231 $\pm$ 0,039	
B	R1	80,345 $\pm$ 0,039	80,286 $\pm$ 0,039
	R2	80,274 $\pm$ 0,039	
	R3	80,238 $\pm$ 0,039	
C	R1	99,135 $\pm$ 0,063	99,04 $\pm$ 0,063
	R2	98,957 $\pm$ 0,063	
	R3	99,028 $\pm$ 0,063	
D	R1	101,519 $\pm$ 0,025	101,483 $\pm$ 0,025
	R2	101,448 $\pm$ 0,025	
	R3	101,483 $\pm$ 0,025	
E	R1	80,202 $\pm$ 0,038	80,143 $\pm$ 0,038
	R2	80,096 $\pm$ 0,038	
	R3	80,132 $\pm$ 0,038	