

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah Anggur Merah (*Vitis vinifera* L.) yang diedarkan di sekitar Kota Karawang, sedangkan bahan tambahan yang digunakan yaitu larutan aquadest, asam nitrat p.a (HNO₃ 65%), asam nitrat 0,5 M, asam perklorat p.a (HClO₄) (PT. Merck Tbk), larutan timbal 1000 ppm (PT. Merck Tbk), larutan tembaga 1000 ppm (PT. Merck Tbk), larutan KI 0,5 N (PT. Merck Tbk), larutan NaOH 2 M (PT. Merck Tbk), larutan HCl 2 M, Amilum *Oryza sativa* (PT. Merck Tbk) dan larutan NH₄SCN.

3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortir, stemper, neraca analitik, tabung reaksi (Iwaki), *hot plate*, corong (Pirex), kertas saring *whatman* no. 42, gelas kimia (Pirex), labu erlenmeyer (Pirex), labu ukur (Pirex), gelas ukur (Pirex), pipet ukur (Herma), bola hisap, botol coklat, batang pengaduk, sendok tanduk, spatula, aluminium foil, pipet volume (Pirex) dan Spektrofotometer Serapan Atom (SensAA) tipe GBC *Scientific Equipment*.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan berlangsung pada bulan Januari sampai April 2021. Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Buana Perjuangan Karawang dan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) yang beralamat di Jalan Tentara Pelajar No. 3 RT 04/RW 05, Menteng, Kecamatan Bogor Barat, Kota Bogor, Jawa Barat 16111.

3.4 Prosedur Percobaan

3.4.1 Pembuatan Larutan Baku Standar Timbal

A. Pembuatan Larutan Induk Pb 1000 ppm

Menimbang 1 gram $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, kemudian memasukkannya ke dalam labu ukur 1000 ml dan menambahkan aquadest sampai tanda batas.

B. Pembuatan Larutan Baku Pb 100 ppm

Mengukur 100 ml dengan menggunakan gelas ukur dari larutan induk 1000 ppm, lalu memasukan ke dalam labu ukur 1000 ml, dan menambahkan aquadest sampai tanda batas.

C. Pembuatan Deret Larutan Standar

Memipet larutan baku 100 ppm ke dalam labu ukur 50 ml masing-masing 0,05 ml, 0,1 ml, 0,15 ml, 0,2 ml dan 0,25 ml untuk pembuatan larutan standar 0,1 mg/L; 0,2 mg/L; 0,3 mg/L; 0,4 mg/L dan 0,5 mg/L.

3.4.2 Pembuatan Larutan Baku Standar Tembaga

A. Pembuatan Larutan Induk Cu 1000 ppm

Menimbang 1 gram CuSO_4 , kemudian memasukkannya ke dalam labu ukur 1000 ml dan menambahkan aquadest sampai tanda batas.

B. Pembuatan Larutan Baku Pb 100 ppm

Mengukur 100 ml dengan menggunakan gelas ukur dari larutan induk 1000 ppm, lalu memasukan ke dalam labu ukur 1000 ml, dan menambahkan aquadest sampai tanda batas.

C. Pembuatan Deret Larutan Standar

Memipet larutan baku 100 ppm ke dalam labu ukur 100 ml masing-masing 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml, 4,0 ml dan 5,0 ml untuk pembuatan larutan standar 0,5 mg/L; 1,0 mg/L; 2,0 mg/L; 4,0 mg/L dan 5,0 mg/L.

3.4.3 Determinasi Tanaman

Tujuan dari determinasi tanaman adalah untuk mengetahui kebenaran identitas dari suatu tanaman, dan memastikan apakah tanaman tersebut benar-benar tanaman yang diinginkan. Dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari. Tanaman Anggur (*Vitis vinifera* L.) yang digunakan untuk penelitian ini dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) yang beralamat di Jl. Raya Jakarta-Bogor KM 46, Cibinong Science Center, Bogor 16911.

3.4.4 Preparasi Sampel

Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan adalah buah Anggur Merah yang diperoleh dari perkebunan buah anggur di daerah Desa Tamansari, Kecamatan Pangkalan, Kabupaten Karawang dan dari penjual buah Anggur Merah dipinggir jalan wilayah Kota Karawang yang dijual pada hari pertama dan hari ketiga. Adapun ketentuan sampel buah Anggur Merah yang akan digunakan dengan persyaratan sebagai berikut :

A. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi merupakan ciri umum yang dimiliki oleh sampel penelitian yang diperoleh dari banyaknya populasi dan terjangkau yang akan diteliti (Setiadi, 2013). Kriteria inklusi pada penelitian ini antara lain: buah Anggur lokal berwarna Merah yang diperoleh dari Desa Tamansari, Kec. Pangkalan, Kab. Karawang dan buah Anggur Merah yang dijual dipinggir jalan sekitar Kota Karawang.

B. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi merupakan ciri yang dimiliki sampel di luar kriteria inklusi (Setiadi, 2013). Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah buah anggur busuk, buah Anggur Hitam lonjong, bulat dan Anggur Hijau.

Selanjutnya yaitu proses pembuatan sampel dengan memotong kecil-kecil seluruh sampel Anggur Merah yang diperoleh dari berbagai lokasi, kemudian menghaluskan semua bagian buah beserta kulit (tanpa biji) dengan mortir sampai homogen.

3.4.5 Destruksi Basah Terbuka

Menimbang sampel Anggur Merah sebanyak 1 gram, lalu memasukan ke dalam gelas kimia 100 ml, lalu menambahkan larutan HClO_4 dan HNO_3 sebanyak 15 ml dengan perbandingan (1:1) ke dalam gelas kimia, lalu memanaskan larutan diatas *hot plate* sampai berubah warna menjadi tidak berwarna dengan suhu 100°C . Selanjutnya mendinginkan larutan pada suhu kamar dan menyaring dengan kertas *Whatman* No. 42. Lalu memasukan filtrat ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan menggunakan HNO_3 0,5 M sampai tanda batas. Simpan ke dalam botol coklat (Evans *et al.*, 2011).

3.4.6 Identifikasi Timbal dan Tembaga dalam Sampel

Identifikasi merupakan proses yang dilakukan sebelum menentukan konsentrasi logam berat yang terdapat pada sampel, adapun menurut (Vogel, 1985) identifikasi logam berat timbal atau Pb yaitu dengan menambahkan 2 sampai 3 tetes pereaksi HCl 2 M (hasil positif menunjukkan endapan putih), NaOH 2 M (hasil positif menunjukkan endapan putih), dan KI 0,5 N (hasil positif menunjukkan endapan kuning) pada tiap-tiap 1 ml sampel uji. Sedangkan untuk mengidentifikasi logam berat tembaga atau Cu sampel sebanyak 1 ml sampel ditambahkan pereaksi KI 0,5 N dan *Amilum Oryza sativa* (hasil positif menunjukkan larutan coklat tua) dan ammonium tiosianat (hasil positif menunjukkan endapan hitam).

3.4.7 Penentuan Kadar Timbal dan Tembaga dalam Sampel

Sampel yang telah diuji sebelumnya dengan metode destruksi basah terbuka yang telah di letakan dalam botol coklat, selanjutnya menentukan kadar timbal dan tembaga yang terdapat didalam sampel dengan menggunakan instrument Spektrofotometer Serapan Atom pada panjang gelombang 217 nm untuk timbal dan 324,8 nm untuk tembaga. Pengujian kadar dilakukan sebanyak dua kali pengulangan pada masing-masing sampel uji (Syukri, 2012). Pengujian kadar dilakukan sebanyak dua kali pengulangan pada masing-masing sampel uji (Syukri, 2012). Penentuan konsentrasi Pb dan Cu dalam sampel ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linier dengan rumus :

$$y = bx + a$$

Keterangan :

x = konsentrasi sampel

b = *slope*

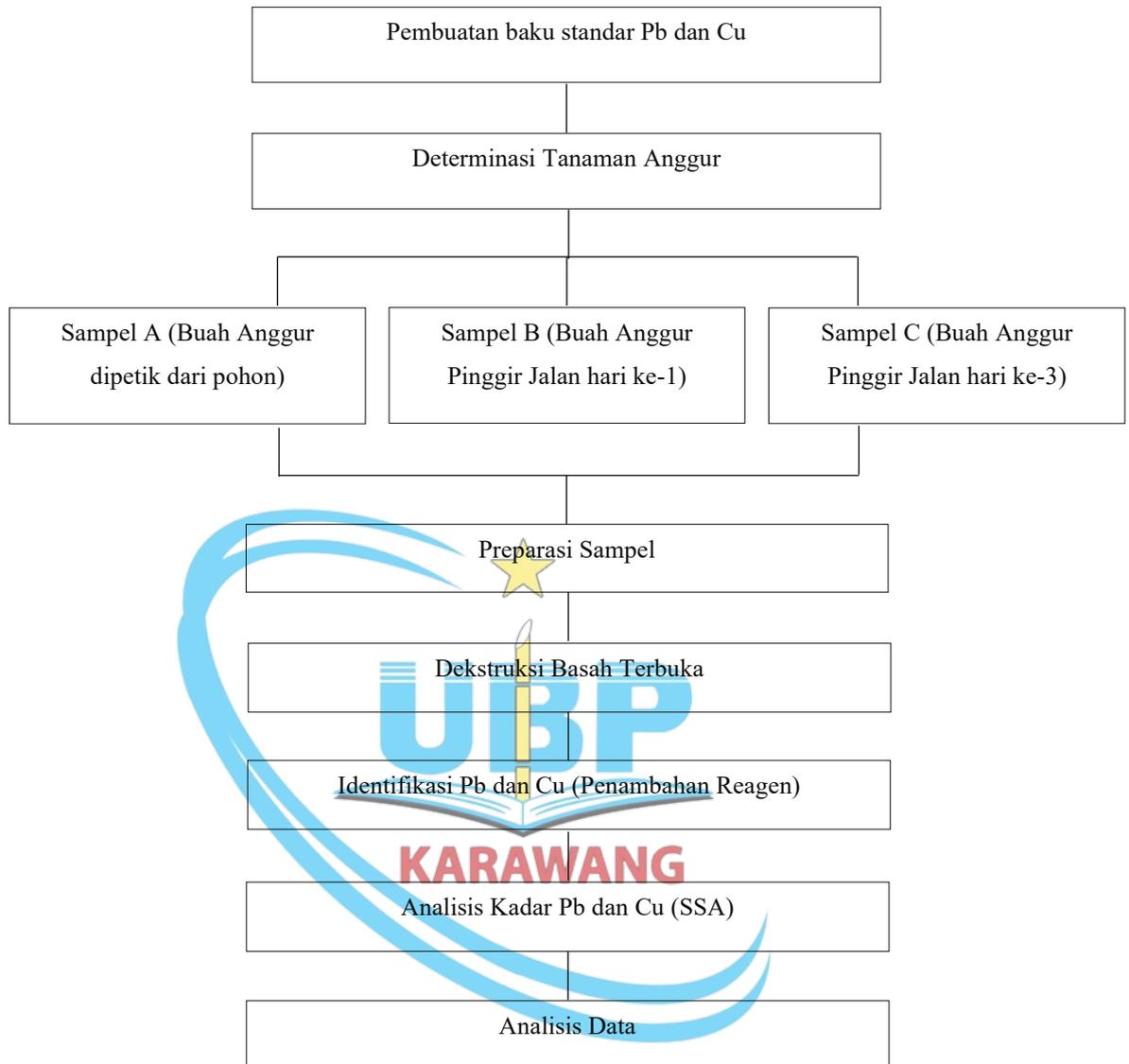
y = absorbansi sampel

a = intersep

3.5 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif melalui data hasil pengukuran dengan menggunakan tabel. Hasil analisis kandungan logam berat timbal dan tembaga pada buah Anggur yang dijual di Kota Karawang dibandingkan dengan syarat standar batas maksimum timbal pada Peraturan BPOM No. 5 tahun 2018 tentang batas pencemaran logam berat dalam makanan pada buah-buahan yaitu 0,2 mg/kg. Kemudian ambang batas maksimum kadar tembaga yaitu 5,0 mg/kg (SNI 01-3834-2004). Serta mengamati ada atau tidaknya pengaruh metabolit sekunder flavonoid terhadap penurunan kadar timbal dan tembaga pada buah Anggur yang dijual di Kota Karawang.

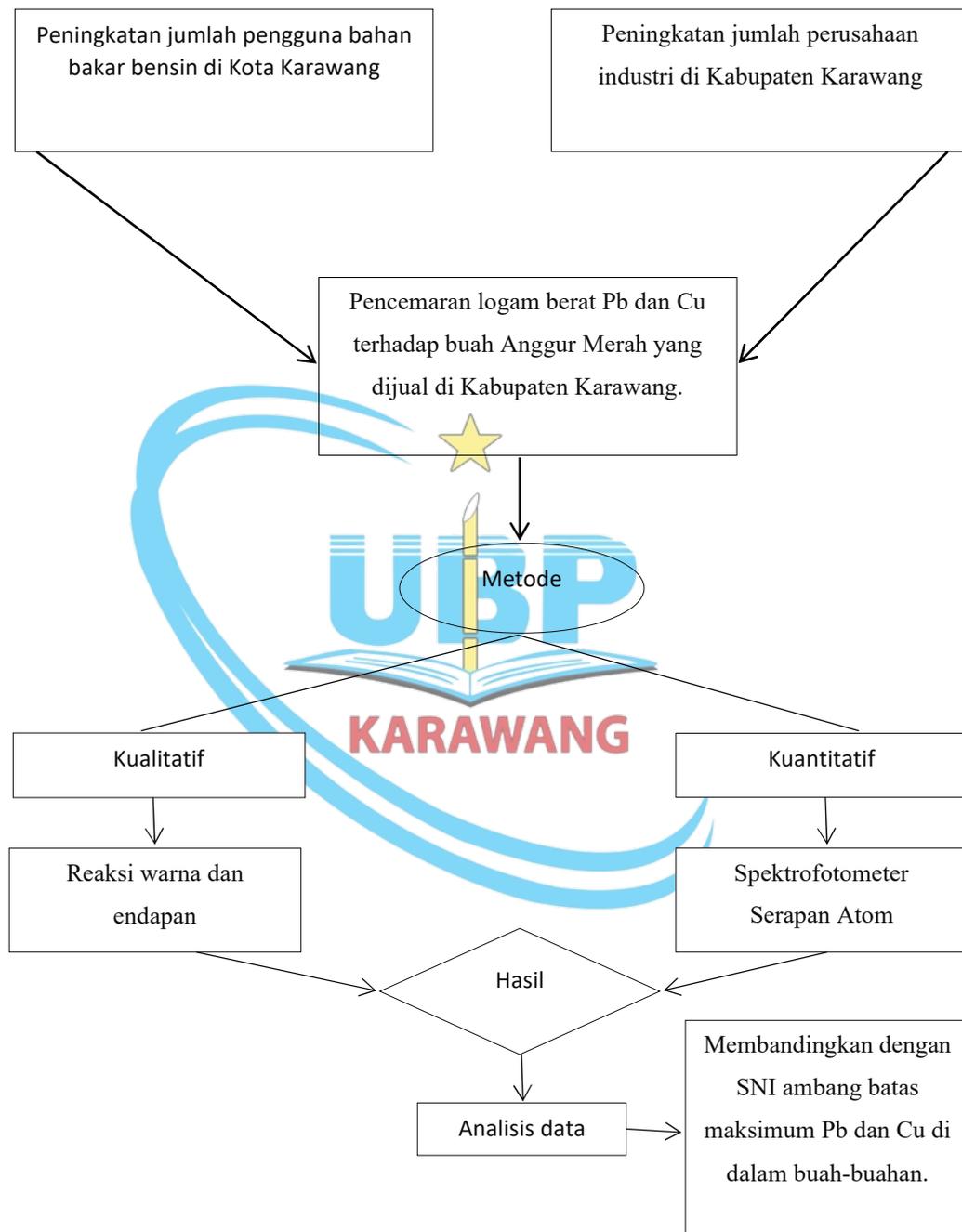
3.6 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.7 Kerangka Pemikiran

Gambaran secara sistematis mengenai kerangka penelitian ini dapat di cermati pada gambar dibawah ini :



Gambar 3.2 Kerangka Pemikiran