

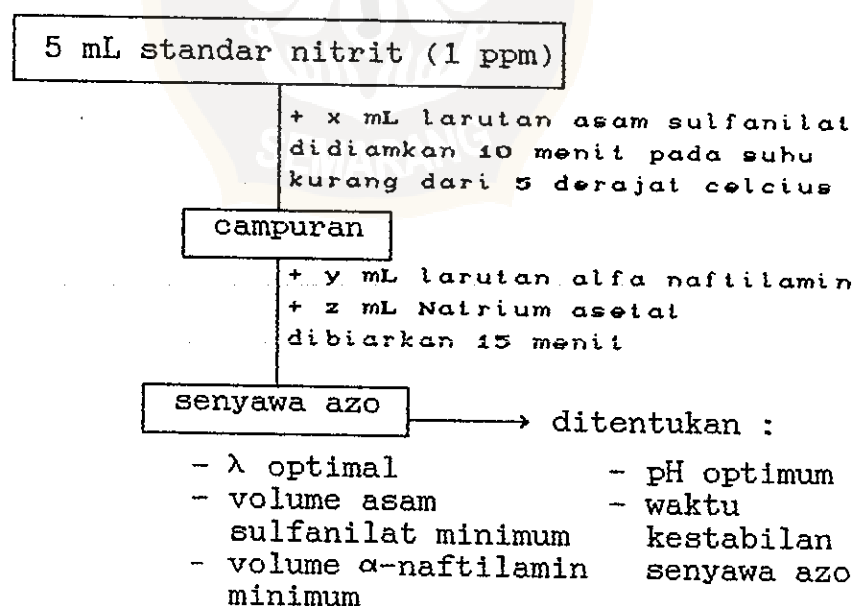
BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

Sebelum analisa sampel dilakukan, terlebih dulu ditentukan panjang gelombang optimum serapan senyawa azo yang terbentuk, volume minimum larutan asam sulfanilat dan larutan α -naftilamin yang dibutuhkan untuk pembuatan senyawa azo, pH optimum senyawa azo dan waktu kestabilannya.

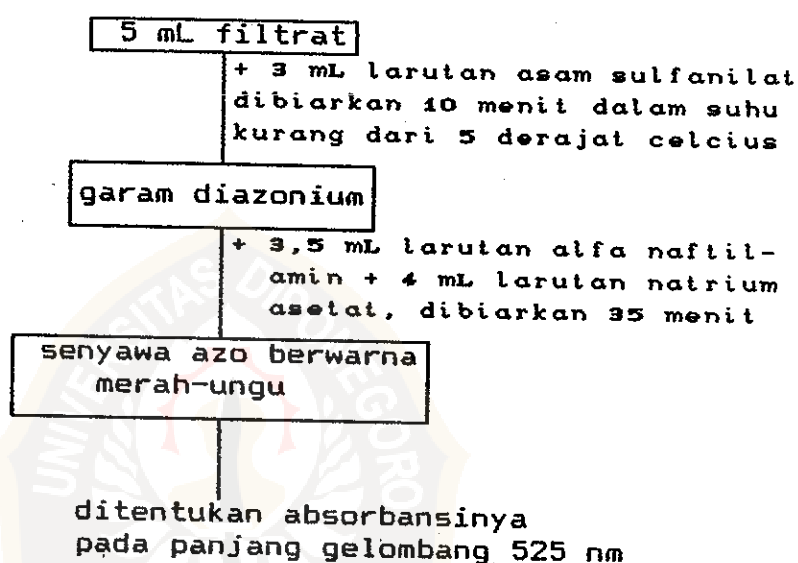
Pada saat optimasi digunakan larutan natrium nitrit standar 1 ppm (sebagai variabel tetap), sedangkan variabel tidak tetapnya adalah volume larutan asam sulfanilat, volume larutan α -naftilamin, volume larutan natrium asetat, dan waktu reaksi.

Tahap-tahap dalam optimasi dapat dilihat dalam diagram alur kerja sebagai berikut :



Variabel tetap dalam analisa sampel adalah panjang gelombang, volume larutan asam sulfanilat dan volume larutan α -naftilamin, volume larutan natrium asetat, waktu reaksi diazotasi, waktu reaksi kopling dan berat sampel, sedang variabel tidak tetapnya adalah jenis corned beef.

Tahap-tahap dalam analisa sampel dapat dilihat dalam diagram alur sebagai berikut :



3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Alat

Alat yang digunakan :

- Spektrofotometer UV/VIS Shimadzu
- penangas air
- labu takar
- corong dan kertas saring
- penyaring buchner

- gelas pengaduk
- blender
- neraca analitis
- labu takar, gelas kimia dan alat-alat gelas lain yang biasa digunakan dalam praktikum

3.1.2. Bahan

Bahan yang digunakan :

- Asam sulfanilat (kristal)
- α -naftilamin (kristal)
- Natrium nitrit (kristal)
- Asam klorida pekat
- Natrium asetat anhidrat (kristal)
- Larutan merkuri klorida (2 N)
- Aquabides
- Sampel A,B,C (corned beef merk I)
- Sampel D,E,F (corned beef merk II)

3.2. Pembuatan Larutan

a. Stok larutan natrium nitrit (1000 ppm)

Sebanyak 1.5 g natrium nitrit kering dilarutkan dalam aquabides di dalam labu takar 1 liter, ditambah kloroform untuk melindungi larutan dari bakteri, kemudian ditambah aquabides sampai tanda batas.

b. Larutan nitrit standar (1 ppm)

Sebanyak 50 mL stok larutan nitrit diencerkan menjadi 1 liter. Kemudian diambil 20 mL larutan dan diencerkan menjadi 1 liter.

c. Larutan natrium asetat 2 M

Sebanyak 16.5 g natrium asetat anhidrat dilarutkan dengan aquabides dalam labu takar 100 mL.

d. Larutan asam sulfanilat

Sebanyak 1,5 gram asam sulfanilat dilarutkan dalam 70 mL asam klorida pekat dan diencerkan menjadi 250 mL dengan aquabides.

e. Larutan α -naftilamin

Sebanyak 1,5 g α -naftilamin dilarutkan dalam 75 mL aquabides yang telah ditambah 1 mL asam klorida pekat, lalu diencerkan menjadi 250 mL.

3.3. Penyiapan Sampel

Sebanyak 2,5 g sampel yang telah dihaluskan dimasukkan dalam beakerglass 250 mL dan ditambah 25 mL aquabides panas (80° C) dan diaduk kuat-kuat sampai diperoleh campuran yang homogen. Campuran dipindah ke labu takar 250 mL, ditambah aquabides 100 mL (panas), kemudian ditempatkan dalam penangas air selama 2 jam. Setelah itu ditambah 3 mL larutan HgCl_2 2 N, digoyang-goyang supaya

homogen lalu didiamkan sampai suhunya mencapai suhu kamar dan diencerkan sampai tanda batas. Kemudian campuran disaring dan diambil filtratnya untuk dianalisa.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Penentuan kondisi-kondisi pendukung reaksi dengan larutan nitrit standar

a. Penentuan panjang gelombang optimum

Sebanyak 5 mL larutan standar dimasukkan dalam labu takar 25 mL, ditambah 2 mL asam sulfanilat dan dibiarkan selama 10 menit dalam keadaan dingin (suhu $< 5^{\circ}$ C). Kemudian ditambah 2 mL larutan α - α -naftilamin dan 1 mL larutan natrium asetat 2 M, diencerkan dengan aquabides sampai tanda batas dan dibiarkan selama 15 menit. Larutan dimasukkan dalam kuvet yang sudah bersih dan dilakukan pengukuran serapan pada λ 480-580 nm dengan selang 5 nm. Dibuat kurva absorbansi versus panjang gelombang dan ditentukan panjang gelombang optimumnya.

b. Penentuan volume minimum asam sulfanilat yang dibutuhkan untuk membuat senyawa azo

Sebanyak 5 mL larutan NaNO_2 standar dimasukkan dalam labu takar 25 mL, ditambah 1 mL larutan asam sulfanilat dan dibiarkan selama 10 menit dalam

keadaan dingin. Lalu ditambah 2 mL larutan alfa- α -naftilamin diencerkan sampai tanda batas dan dibiarkan selama 15 menit. Dimasukkan dalam kuvet yang sudah bersih dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 525 nm.

Pengerjaan yang sama dilakukan untuk variasi penambahan asam sulfanilat 1,5-5,0 mL dengan selang 0,5 mL. Dibuat kurva absorbansi versus mL asam sulfanilat dan ditentukan batas minimal larutan asam sulfanilat yang dibutuhkan.

- c. Penentuan volume minimum α -naftilamin yang dibutuhkan untuk membuat senyawa azo

Sebanyak 5 mL larutan nitrit standar dimasukkan dalam labu takar 25 mL ditambah 3 mL asam sulfanilat dan dibiarkan selama 10 menit pada suhu $< 5^{\circ}\text{C}$. Kemudian ditambah 1 mL larutan α -naftilamin, diencerkan sampai tanda batas, didiamkan selama 15 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 525 nm. Pengerjaan yang sama dilakukan untuk variasi penambahan α -naftilamin 1,5-5,0 mL dengan selang 0,5 mL. Dibuat kurva absorbansi versus mL α -naftilamin dan ditentukan batas minimal larutan α -naftilamin yang dibutuhkan.

- d. Penentuan pH optimum senyawa azo

Sebanyak 5 mL larutan sodium nitrit standar dimasukkan dalam labu takar 25 mL, ditambah 3 mL la-

rutan asam sulfanilat dan dibiarkan 10 menit dalam keadaan dingin. Ditambah 3,5 mL larutan α -naftilamin dan 1 mL larutan natrium asetat 2 M, lalu diencerkan sampai tanda batas dan didiamkan selama 15 menit. Larutan dimasukkan dalam kuvet yang sudah bersih untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 525 nm.

Pengerjaan yang sama dilakukan untuk variasi penambahan larutan natrium asetat 1,5-5,0 mL dengan selang 0,5 mL serta diukur pH-nya. Dibuat kurva absorbansi vs pH dan ditentukan pH optimumnya.

- e. Penentuan waktu pengembangan warna senyawa azo dan waktu kestabilan senyawa azo

Ke dalam labu takar 25 mL dimasukkan 5 mL larutan nitrit standar, ditambah 3 mL larutan asam sulfanilat dibiarkan 10 menit dalam keadaan dingin. Kemudian ditambah 3,5 mL larutan α -naftilamin, 4 mL larutan natrium asetat, diencerkan sampai tanda batas. Pengukuran absorbansi dilakukan setelah 5 menit dan tiap 5 menit berikutnya sampai 240 menit. Dibuat kurva absorbansi vs waktu dan ditentukan waktu yang dibutuhkan untuk mencapai absorbansi maksimum dan waktu kestabilannya.

3.4.2. Analisa sampel

Hasil optimasi diterapkan pada analisa sampel dengan harapan reaksi pengembangan warna akan berjalan dengan kecepatan yang sama. Dari optimasi yang telah dilakukan diperoleh panjang gelombang optimum pada 525 nm volume asam sulfanilat dan alfa-naftilamin minimum yang dibutuhkan untuk pembuatan senyawa azo adalah 3 mL dan 3,5 mL sedangkan penambahan larutan natrium asetat optimum adalah 4 mL.

Sampel yang digunakan adalah corned beef merk I dan II. Merk I diambil 3 sampel (sampel A,B,C), merk II diambil 3 sampel (sampel D,E,F). Masing-masing filtrat dari hasil penyiapan sampel diambil sebanyak 5 mL dimasukkan dalam labu takar 25 mL, ditambah 3 mL larutan asam sulfanilat didiamkan selama 10 menit dalam keadaan dingin (suhu $<5^{\circ}$ C), kemudian ditambah 3,5 mL larutan larutan α -naftilamin, 4 mL larutan natrium asetat 2 M, diencerkan sampai tanda batas lalu didiamkan selama 35 menit untuk pengembangan warna. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 525 nm.

3.4.3. Pembuatan kurva standar

Dibuat seri larutan standar sodium nitrit masing-masing 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 7 mL, 8 mL, 9 mL, 10 mL dalam labu takar 25 mL, Ditambah 3 mL asam sulfanilat, dibiarkan 10 menit dalam keadaan dingin.

Kemudian ditambah 3,5 mL larutan α -naftilamin 4 mL larutan sodium asetat, diencerkan sampai tanda batas, lalu dibiarkan selama 35 menit. Dimasukkan dalam kuvet yang sudah bersih dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 525 nm. Dibuat kurva standar nitrit.

