

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian eksperimental laboratorik. Dalam penelitian ini mempunyai beberapa tahapan yaitu: pembuatan larutan stok siklamat, larutan baku siklamat, preparasi sampel, dan analisis sampel menggunakan KCKT.

##### **B. Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengujian Obat, Makanan, dan Kosmetik Universitas Islam Indonseia.

Waktu penelitian meliputi tahap persiapan, tahap pelaksanaan, dan tahap penyelesaian, dimulai sejak bulan januari 2017 sampai bulan mei 2017.

##### **C. Instrumen Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat dan bahan sebagai berikut:

**Tabel 2.** Alat Penelitian

| <b>ALAT</b> |                      |                                    |
|-------------|----------------------|------------------------------------|
| <b>No</b>   | <b>Nama Alat</b>     | <b>Sumber/ Merek dan Tipe</b>      |
| 1           | Timbangan Digital    | Mettler Toledo <sup>®</sup> SX 205 |
| 2           | Alat-alat gelas lab. | Pyrex <sup>®</sup>                 |

|    |                        |  |
|----|------------------------|--|
| 3  | Pipet Volume           | Pyrex <sup>®</sup>                                 |
| 4  | Membran Filter 0,45 µm | Whatman <sup>®</sup>                               |
| 5  | KCKT                   | Waters <sup>®</sup> e2695                          |
| 6  | Detektor UV-Vis        | Waters <sup>®</sup> 2475                           |
| 7  | Kolom (fase diam KCKT) | Phenomenex <sup>®</sup> C-18 10 µm; 3,9 x<br>300mm |
| 8  | <i>Ultrasonic bath</i> | Branson <sup>®</sup>                               |
| 9  | Vakum                  | Gast <sup>®</sup>                                  |
| 10 | Alat sentrifugasi      | Hanil <sup>®</sup>                                 |

**Tabel 3.** Bahan Penelitian

| <b>BAHAN</b> |   |  |
|--------------|---|--|
| <b>No</b>    | <b>Nama Bahan</b>   | <b>Sumber/ Merek dan Tipe</b>          |
| 1            | Standar Siklambat   | Supelco <sup>®</sup> / grade p.a       |
| 2            | Minuman Berenergi   | Nomor Registrasi<br>POMSD152246XXX     |
| 3            | Aquabidestilata   | PT. Ikapharmindo Putramas <sup>®</sup> |
| 4            | Asetonitril   | J.T. Baker <sup>®</sup> / grade HPLC   |
| 5            | Kalium dihidrogen fosfat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) | Merck <sup>®</sup> / grade p.a         |
| 6            | Asam fosfat   | Merck <sup>®</sup> / grade p.a         |

---

|   |                                     |                                |
|---|-------------------------------------|--------------------------------|
| 7 | Kalium heksasioferat (II) trihidrat | Merck <sup>®</sup> / grade p.a |
| 8 | Zink sulfat heptahidrat             | Merck <sup>®</sup> / grade p.a |

---

#### **D. Cara Kerja**

##### **1. Pembuatan Fase Gerak**

###### a. Larutan dapar fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) pH 3,5

Dilartukan 0,85 g kalium dihidrogen fosfat dengan 400 ml aquabides di dalam gelas beker 500 ml, disesuaikan pH nya menjadi 3,5 menggunakan asam fosfat, kemudian ditambahkan aquabides sampai tanda batas.

###### b. Fase gerak dapar fosfat dan asetonitril (80:20)

Larutan dapar fosfat sebanyak 400 ml dimasukkan dalam labu ukur 500 ml, ditambahkan asetonitril sebanyak 100 ml dan dicampur sampai homogen dan disaring menggunakan membran filter 0,45  $\mu\text{m}$  dan dilakukan *degassing* selama 15 menit menggunakan *ultrasonic bath*.

##### **2. Analisis Kondisi Optimum KCKT**

Sistem KCKT yang digunakan mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Hatta (2013), dengan kondisi percobaan sebagai berikut:

|                |   |
|----------------|---|
| Fase diam      | : C <sub>18</sub>                           |
| Fase gerak     | : dapar fosfat pH 3,5 : asetonitril (80:20) |
| Elusi          | : Isokratik                                 |
| Volume injeksi | : 20 µl                                     |
| Kecepatan alir | : 1 ml/menit                                |
| Detektor UV    | : panjang gelombang 195 nm                  |

### **3. Pembuatan Larutan Stok**

Ditimbang seksama 20 mg standar siklamat. Dimasukkan dalam labu ukur 100 ml dan dilarutkan dengan aquabides sampai tanda batas (konsentrasi larutan 0,2 g/kg).

### **4. Pembuatan Larutan Baku Siklamat**

Dibuat larutan baku siklamat dengan konsentrasi 0,01 g/kg; 0,02 g/kg; 0,04 g/kg; 0,08 g/kg; 0,1 g/kg; dan 0,2 g/kg dengan menggunakan labu ukur 10 ml. Konsentrasi tersebut diperoleh dengan memipet 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 4 ml, 5 ml, 10 ml dari larutan stok 0,2 g/kg siklamat dan ditambahkan aquabides sampai tanda batas.

Larutan baku yang dibuat diinjeksikan sebanyak 20 µl pada KCKT. Masing-masing nilai luas area yang diperoleh digunakan untuk membuat persamaan garis  $y = bx + a$

## 5. Larutan Pengekstraksi

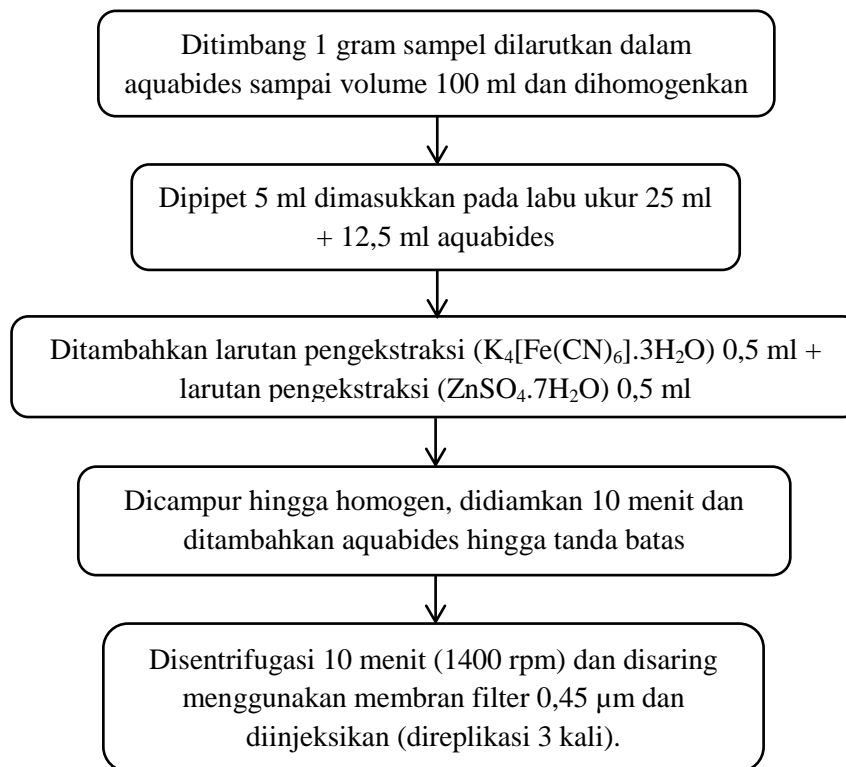
### a. Larutan pengestraksi 1

Dilarutkan 7,5 g kalium heksasianoferat (II) trihidrat ( $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ ) ke dalam 50 ml aquabides.

### b. Larutan Pengekstraksi 2

Dilarutkan 15 g zink sulfat heptahidrat ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) ke dalam 50 ml aquabides.

## 6. Penetapan Kadar Siklamat



**Gambar 3.** Skema Penetapan Kadar Siklamat