

# BAB 3

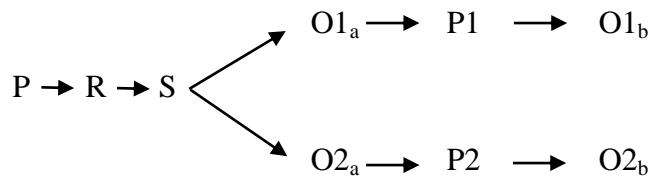
## METODE PENELITIAN

### 3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

#### 3.1.1. Jenis penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan tujuan Untuk mengetahui perbandingan kadar protein pada susu formula yang diseduh dengan air mendidih dan air dispenser.

#### 3.1.2. Rancangan penelitian



Keterangan :

P : Populasi

R : Random

S : Sampel

O1<sub>a</sub> : Observasi sebelum diberi air mendidih

O2<sub>a</sub> : Observasi sebelum diberi air dispenser

P1 : Perlakuan saat diberi air mendidih

P2 : Perlakuan saat diberi air dispenser

O1<sub>b</sub> : Observasi sesudah diberi air mendidih

O2<sub>b</sub> : Observasi sesudah diberi air dispenser

## 3.2. Populasi dan Sampel Penelitian

### 3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah susu formula hewani yang dikonsumsi bayi berusia 0-6 bulan kemasan karton 400g yang terdapat di pasar swalayan daerah Pucang, Surabaya

### 3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah susu formula yang dikonsumsi bayi berusia 0-6 bulan, diambil secara acak sebanyak 1 sampel, selanjutnya diberi 2 perlakuan dengan perhitungan sebanyak 16 kali. Sehingga banyak sampel 32kali . Yang ditentukan dengan rumus berikut :

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(2-1)(r-1) \geq 15$$

$$1r-1 \geq 15$$

$$1r \geq 15 + 1$$

$$1r \geq 16$$

$$r = 16/1$$

$$r = 16$$

## 3.3. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Kesehatan Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya pada bulan Juni 2017

### **3.4. Variabel penelitian**

**3.4.1 Variabel bebas** : Suhu air mendidih dan air dispenser

**3.4.2 Variabel terikat** : Kadar protein pada susu formula

**3.4.3 Variabel kontrol** : Volume air, berat susu, jenis susu,

### **3.5 Definisi Operasional Variabel**

#### **3.5.1 Air mendidih**

Air mendidih adalah air yang dididihkan diatas api dimana mendidih adalah peristiwa penguapan zat cair yang terjadi di seluruh bagian zat cair tersebut. Peristiwa ini dapat dilihat dengan munculnya gelembung-gelembung yang berisi uap air dan bergerak dari bawah ke atas dalam zat cair suhu yang di dihasilkan adalah  $\geq 100^{\circ}\text{C}$

#### **3.5.2 Air Dispenser**

Air dispenser adalah suatu alat yang dibuat sebagai alat pengkondisi temperatur air minum baik air panas maupun air dingin. Temperatur air panas yang biasa dihasilkan adalah  $\leq 90^{\circ}\text{C}$  sedangkan air temperatur air dingin yang bisa dihasilkan adalah  $\leq 15^{\circ}\text{C}$

#### **3.5.3 Kadar Protein Susu Formula**

Kadar protein susu formula adalah banyaknya protein yang terdapat dalam susu formula. Banyaknya protein dalam susu formula tersebut adalah 10 gram protein.

#### **3.5.4 Volume air**

Volume air adalah takaran banyaknya air yang digunakan untuk menyeduh susu formula yaitu 30 ml air.

### **3.5.5 Berat sampel**

Berat sampel adalah takaran banyaknya sampel yang digunakan untuk penelitian, yaitu 4 gram sampel susu formula

### **3.5.6 Jenis sampel**

Jenis sampel yang digunakan adalah susu formula bayi berusia 0-6 bulan

## **3.6 Metode Pengumpulan Data**

Pengumpulan data kadar protein dikumpulkan dengan cara observasi atau pengamatan melalui pengujian laboratorium

## **3.7 Tahapan penelitian**

### **3.7.1 Perlakuan sampel**

Sampel di analisa kadar proteinnya di laboratorium Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya

### **3.7.2 Metode penelitian**

Menggunakan metode kombinasi antara Kjeldahl dan Nessler

### **3.7.3 Prinsip Pemeriksaan**

Gugus amino ( $\text{NH}_2$ ) dari asam amino dioksidasi dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dengan katalisator  $\text{CuSO}_4$  menjadi  $\text{NH}_3$  dan selanjutnya dioksidasi menjadi ion ammonium ( $\text{NH}_4\text{HSO}_4$ ). Ion ammonium dengan reagen Nessler ( $\text{K}_2\text{HgI}_4$ ) akan membentuk warna kuning coklat yang diukur pada panjang gelombang 425 nm.

### **3.7.4 Peralatan**

Alat yang perlu dipersiapkan saat perlakuan sampel yaitu : Labu kjeldahl, Spektrofotometer, Labu ukur, Tabung Nessler, Pipet Volume, Bunsen.

### 3.7.5 Reagensia

#### 1. Reagen Nessler

100 gram  $\text{HgI}_2$  dan 70 gram KI dilarutkan bersama aquades, diaduk sambil ditambah larutan dingin dari 160 gram NaOH dalam 500mL aquades, dan diencerkan sampai 1000mL.

#### 2. Larutan Induk Amonia

314,4 mg  $\text{NH}_4\text{Cl}$  dilarutkan dengan aquades bebas  $\text{NH}_3$  lalu diencerkan sampai 1000mL (1 mL = 0,1 mg  $\text{NH}_4$  = 100 ppm).

#### 3. Larutan Garam Rochele

50 gram Kalium Natrium Tetrahidrat dilarutkan dalam 100 mL aquades, bila dalam larutan terdapat Amonia, maka larutan tersebut harus dididihkan menjadi 30 mL, setelah dingin diencerkan kembali menjadi 100 mL.

#### 4. Larutan NaOH 6 N

#### 5. $\text{H}_2\text{SO}_4$ pekat

#### 6. Aquades bebas $\text{NH}_3$

#### 7. Katalisator *selenreaction* ( $\text{CuSO}_4$ dan $\text{K}_2\text{SO}_4$ )

### 3.7.6 Bahan

Susu formula

### 3.7.7 Cara kerja

1. Susu di analisa kadar proteinnya terlebih dahulu tanpa diseduh menggunakan air.
2. susu diseduh dengan menggunakan air mendidih
3. susu diseduh dengan menggunakan air dispenser

4. masing masing sampel yang sudah diseduh kemudian dianalisa kadar proteinnya sesuai prosedur permintaan.

#### **a. Persiapan Standard Kalibrasi**

##### 1. Penyiapan Larutan Standard

Larutan 314,1 mg  $\text{NH}_4\text{Cl}$  dengan aquades bebas  $\text{NH}_3$ , sampai 1000 mL.

##### 2. Membuat Kurva Kalibrasi

###### 2.1 Larutan Induk Amonia 100 ppm diencerkan menjadi 10 ppm:

50 ml larutan induk amonia 100 ppm dimasukkan dalam labu ukur 500 ml dengan aquadest sampai tanda batas. 1 ml ~ 0,1 mg  $\text{NH}_4$  (10 ppm).

###### 2.2 Larutan 10 ppm diencerkan dibuat deret standart :

0,0 ppm → aquadest add 100 ml dalam labu ukur

0,2 ppm → 2,0 ml add 100 ml aquadest dalam labu ukur

0,4 ppm → 4,0 ml add 100 ml aquadest dalam labu ukur

0,6 ppm → 6,0 ml add 100 ml aquadest dalam labu ukur

0,8 ppm → 8,0 ml add 100 ml aquadest dalam labu ukur

1,0 ppm → 10,0 ml add 100 ml aquadest dalam labu ukur

2.3 Dari masing-masing tabung diambil 25 ml lalu dimasukkan dalam tabung Nessler.

2.4 Menambahkan 2 tetes garam rochele

2.5 Menambahkan 1,5 ml reagenNessler

2.6 Warna yang terjadi segera diperiksa dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 425 nm.

2.7 Kemudian dibuat grafik absorbance dan konsentrasi. Pembuatan kurva standard grafik absorbance dan konsentrasi pada saat hubungan

absorbance dan konsentrasi linier, maka harus dipastikan hubungan yang terjadi memenuhi persamaan garis lurus :

$$X = \frac{Y - a}{b}$$

Keterangan :

X = Kadar (ppm)

Y = Absorben

a = Koef. Arah

b = Perpotongan dengan sumbu Y

Sehingga untuk menggambarkan grafik, menggunakan persamaan:

$$X = \frac{Y - 0.0021}{0.1921}$$

#### **b. Penetapan Kadar Protein**

1. Sampel di pipet sebanyak 3 ml, lalu dimasukkan dalam labu Kjedahl yang kering
2. menambahkan 2-3 gram campuran  $\text{CuSO}_4$  dan  $\text{K}_2\text{SO}_4$
3. menambahkan 25 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dan batu didih, campur sampai rata
4. Kemudian destruksi sampai semua asapnya hilang, setelah itu ditingkatkan pemanasan sampai mendidih. Dan pemanasan dihentikan setelah campuran menjadi hijau jernih atau tidak berwarna, lalu dilarutkan dengan aquades dan masukkan dalam labu ukur 250 ml dan di addkan.
5. Ambil 0,1 ml masukkan dalam tabung nessler
6. Netralkan dengan NaOH, add kan dengan aquades sampai 25 ml
7. Menambahkan 2 tetes garam rochele dan 1 ½ ml reagen nessler

8. Membuat larutan blanko

25 ml aquades + 2 tetes garam rochele + 1 ml reagenessler

9. Dibaca absorbannya dengan  $\gamma$  425 nm, dan dikonversikan dengan kurva kalibrasi

### 3.7.8 Perhitungan

$$\text{Kadar protein \%} = \frac{100}{BS} \times \frac{\text{Ar N}}{\text{Mr NH}_4} \times D \times F \times K$$

Keterangan :

BS = Berat sampel

D = Banyaknya pengenceran

K = Absorban yang sudah dikonversikan pada spektrofotometer

F = Faktor (6,38)

### 3.8 Tabulasi data

Seluruh data analisa kadar protein pada sampel susu yang diseduh dengan air mendidih dan air dispenser, ditabulasikan kedalam table sebagai berikut :

**Table 3.1 : Tabulasi data hasil penelitian perbandingan kadar protein pada susu formula yang diseduh dengan air dispenser dan air mendidih.**

Replikasi	Kadar Protein (%)	
	Air Dispenser	Air Mendidih
1		
...		
16		
<b>Jumlah (<math>\Sigma</math>)</b>		
<b>Rata- rata</b>		
<b>Sd</b>		



### **3.9 Metode analisa data**

Setelah diperoleh perbandingan kadar protein pada susu formula, kemudian data dianalisis dengan uji T bebas, untuk membandingkan rata-rata kadar dari dua perlakuan yang berbeda dengan tingkat kesalahan 5%.