

BAB 3

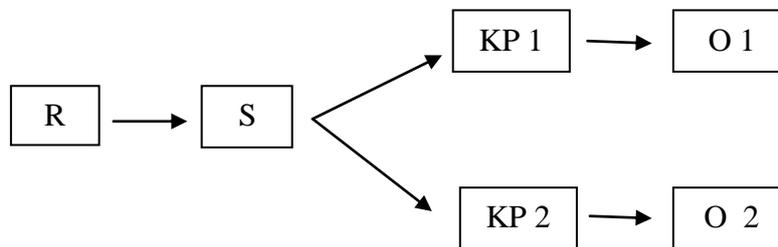
METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

3.1.1. Jenis penelitian

Jenis penelitian ini adalah observasional analitik dengan tujuan Untuk mengetahui perbandingan kadar protein pada susu sapi dengan metode pasteurisasi.

3.1.2. Rancangan penelitian



Keterangan :

R : Rancangan

S : Sampel

KP 1 : Perlakuan dengan metode LTLT

KP 2 : Perlakuan dengan metode HTST

O 1 : Observasi kadar protein dengan metode LTLT

O 2 : Observasi kadar protein dengan metode HTST

3.2. Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah susu sapi yang diperoleh dari pabrik susu di Pujon, Batu.

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah Susu sapi yang diambil dari pabrik susu Pujon Kota Malang dengan jumlah replikasi sebanyak 16 yang diperoleh dari rumus berikut (Hidayat, 2012) :

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

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

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

$$1r - 1 \geq 15$$

$$1r = 15 + 1$$

$$r = 16$$

Keterangan :

t : Banyak kelompok perlakuan

R : Jumlah replikasi

Dari rumus diatas jumlah replikasi adalah 16 replikasi, pada penelitian ini menggunakan 2 perlakuan Jadi sample yang dibutuhkan adalah $16 \times 2 = 32$ sampel susu sapi.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Kesehatan Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2016 sampai dengan Juli 2017.

3.4. Variabel penelitian dan Definisi operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

- A. Variabel Bebas : Metode pasteurisasi dengan menggunakan proses HTST dan LTLT
- B. Variabel Terikat : Kadar protein pada susu sapi
- C. Variabel Kontrol : Volume air, berat susu, jenis susu, suhu, waktu pemanasan.

3.4.2 Definisi Operasional

A. Variabel Bebas

Perbedaan metode pasteurisasi yang dikategorikan menjadi 2 yaitu :

1. Metode High Temperature Short Time

High temperature short ti yaitu proses pasteurisasi yang dipanaskan dengan suhu 71° selama 15 menit.

2. Metode Low Temperature Long Time

Low temperature long time yaitu proses pasteurisasi yang dipanaskan dengan suhu 65° selama 30 menit.

B. Variabel terikat

Kadar protein pada susu sapi. Angka yang menunjukkan kadar protein di nyatakan dalam satuan %.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Pengumpulan data kadar protein dikumpulkan dengan cara pengamatan melalui pengujian laboratorium dengan tahap sebagai berikut :

3.5.1 Prinsip

Gugus amino (NH_2) dari asam amino dioksidasi dengan H_2SO_4 pekat dengan katalisator CuSO_4 menjadi NH_3 dan selanjutnya dioksidasi menjadi ion ammonium (NH_4HSO_4). Ion ammonium dengan reagen Nessler (K_2HgI_4) akan membentuk warna kuning coklat yang diukur pada panjang gelombang 425 nm

3.5.2 Alat dan Bahan

3.5.2.1 Alat

Peralatan Alat yang perlu dipersiapkan saat perlakuan sampe Labu kjeldahl Spektrofotometer, Labu ukur, Tabung Nessler, pipet volume, Bunsen.

3.5.2.2 Bahan

Susu sapi dengan metode High Temperature Short Time dan Low Temperature Long Time, Reagen Nessler, Larutan Induk Amonia, Larutan Garam Rochele, Larutan NaOH 6 N, H_2SO_4 pekat, Aquades bebas NH_3 , katalisator *selenreaction* (CuSO_4 dan K_2SO_4).

3.5.3 Prosedur

3.5.3.1 Penyiapan Larutan Standard

Larutan 314,1 mg NH_4Cl dengan aquades bebas NH_3 , sampai 1000 mL.

3.5.3.2. Membuat Kurva Kalibrasi

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 ukur 500 ml dengan aquadest sampai tanda batas. 1 ml . 0,1 mg NH₄ (10 ppm).

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

11,0 ppm → 10,0 ml add 100 ml aquadest dalam labu ukur

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

4. Menambahkan 2 tetes garam rochele

5. Menambahkan 1,5 ml reagenNessler

6. Warna yang terjadi segera diperiksa dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang.

7. Kemudian dibuat grafik absorbance dan konsentrasi. Pembuatan kurva 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:

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

3.5.3.3 Penetapan Kadar Protein

1. Penetapan kadar protein dengan menggunakan metode pasteurisasi

High Temperatur Short Time :

- a. Sampel di pipet sebanyak 10 ml, lalu dimasukkan dalam labu Kjedadhl yang kering.
- b. Menambahkan 2-3 gram campuran CuSO_4 dan K_2SO_4 , menambahkan 25 ml H_2SO_4 pekat dan batu didih, campur sampai rata.
- c. 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.
- d. Ambil 0,1 ml masukkan dalam tabung nessler
- e. Netralkan dengan NaOH, add kan dengan aquades sampai 25 ml.
- f. Menambahkan 2 tetes garam rochele dan 1 ½ ml reagennessler
- g. Membuat larutan blanko, 25 ml aquades + 2 tetes garam rochele + 1 ml reagennessler

h. Dibaca absorbannya dengan γ 425 nm, dan dikonversikan dengan kurva kalibrasi.

2. Penetapan kadar protein dengan menggunakan metode pasteurisasi

Low Temperature Long Time :

- a. Sampel di pipet sebanyak 10 ml, lalu dimasukkan dalam labu Kjedadahl yang kering
- b. Menambahkan 2-3 gram campuran CuSO_4 dan K_2SO_4 , menambahkan 25 ml H_2SO_4 pekat dan batu didih, campur sampai rata.
- c. 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.
- d. Ambil 0,1 ml masukkan dalam tabung nessler.
- e. Netralkan dengan NaOH, add kan dengan aquades sampai 25 ml.
- f. Menambahkan 2 tetes garam rochele dan 1 $\frac{1}{2}$ ml reagen nessler
- g. Membuat larutan blanko, 25 ml aquades + 2 tetes garam rochele + 1 ml reagen nessler.
- h. Dibaca absorbannya dengan γ 425 nm, dan dikonversikan dengan kurva kalibrasi.