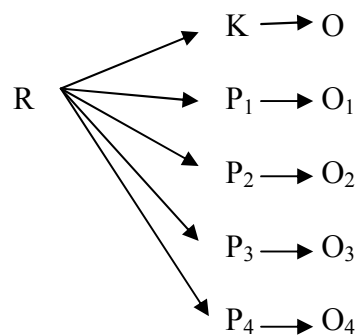


BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan rancangan penelitian eksperimental laboratorium dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh lama perebusan kacang merah terhadap kadar protein. Dengan rancangan penelitian sebagai berikut :



Gambar 3.1 Rancangan penelitian(Hidayat AA., 2010)

Keterangan :

R : Random

K : Kontrol (tanpa perlakuan) 0 menit

P₁ : Kacang merah dengan lama perebusan 15 menit

P₂ : Kacang merah dengan lama perebusan 20 menit

P₃ : Kacang merah dengan lama perebusan 25 menit

P₄ : Kacang merah dengan lama perebusan 30 menit

O : Observasi kacang merah tanpa perebusan

O₁ : Observasi kacang merah setelah perebusan 15 menit

O₂ : Observasi kacang merah setelah perebusan 20 menit

O₃ : Observasi kacang merah setelah perebusan 25 menit

O₄ : Observasi kacang merah setelah perebusan 30 menit

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Kacang merah kering yang dijual dipasar Wonokromo Surabaya.

3.2.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah kacang merah kering yang diperoleh di pasar Wonokromo Surabaya.

Dalam penelitian ini, untuk setiap perlakuan dilakukan masing – masing sebanyak 5 kali pengulangan yang berdasarkan rumus jumlah sampel :

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

$$(r-1)(5-1) \geq 15$$

$$(r-1)(4) \geq 15$$

$$r-1 \geq 15/4$$

$$r-1 \geq 3,75$$

$$r \geq 3,75 + 1$$

$$r \geq 4,75 = 5 \text{ (Hidayat AA, 2010)}$$

keterangan :

r = Replikasi atau pengulangan

t = Perlakuan

Berdasarkan rumus diatas dimana untuk menentukan jumlah replikasi dari banyaknya perlakuan, maka jumlah sampel keseluruhan yang dipergunakan dalam penelitian adalah 25 sampel dari 5 perlakuan dengan setiap perlakuan mendapat 5 kali pengulangan.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

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

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan januari sampai juli 2014, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan mei 2014.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini, variabel penelitian terdiri dari :

1. variabel bebas : Lama perebusan
2. variabel terikat : Kadar protein
3. variabel kontrol : Suhu, jenis kacang merah, berat sampel, volume air untuk merebus

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

1. Lama Perebusan

Lama perebusan adalah waktu yang digunakan untuk merebus kacang merah dengan suhu 100°C dengan variasi waktu perebusan yaitu 0 menit (kontrol, 15 menit, 20 menit, 25 menit dan 30 menit.

2. Kadar Protein

Kadar protein adalah kuantitas unsur nitrogen yang terkandung dalam kacang merah yang diperiksa di laboratorium dengan metode kjeldhal termodifikasi dan diukur menggunakan spektrofotometer.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data pengaruh kadar protein diperoleh dengan cara observasi tidak langsung, yaitu dengan melalui uji laboratorium dengan langkah – langkah sebagai berikut :

3.5.1 Prinsip Pemeriksaan

Protein didekstruksi untuk memecah ikatan nitrogen dari bentuk yang kompleks. Nitrogen yang terbebas ditentukan dengan spektrofotometer dengan reagen Nessler.

3.5.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, gelas arloji, labu ukur 250 ml, labu kjeldhal 500 ml, bunsen, gelas ukur, pipet pasteur, corong, erlenmeyer 250 ml, beaker glass, spektrofotometer. Sampel yang diambil adalah kacang merah kering.

3.5.3 Prosedur Pemeriksaan

a. Pemilihan Sampel

Sampel yang dipilih dalam penelitian ini memiliki ciri-ciri seperti : warna bijinya bertotol-totol merah tua dan buahnya berbentuk polong memanjang.

Sampel berupa kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) sebanyak masing-masing sampel 50gram (tiap sampel terdapat 15-30 buah kacang merah) yang diperoleh dari pasar wonokromo Surabaya.

b. Persiapan Sampel

1. Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) yang telah dipilih sesuai kriteria fisik lalu diambil bagian buahnya, sedangkan kulitnya dibuang.
2. Sampel direbus dengan waktu dan suhu yang telah ditentukan, kemudian dihaluskan atau diblender , kemudian di periksa kadar proteinnya sesuai prosedur pemeriksaan.

c.Reagensia

1. Katalisator (4 gr Schelien + 3 gr $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 190 gr Na_2SO_4 Anhidrat / K_2SO_4 anhidrat)
2. H_2SO_4 pekat, Aquadest, NaOH 45%
3. Reagen Nessler

d. Prosedur :

- 1) Menyiapkan seluruh alat ,bahan dan reagensia.
- 2) Sampel yang sudah dipersiapkan dengan perlakuannya masing – masing ,ambil pecahkan dengan pengaduk dan kocok didalam beaker glass.

- 3) Menimbang sampel 2 – 3 gr pada neraca analitik, dan masukkan ke dalam labu Kjeldhal.
- 4) Menambahkan 2 gr Katalisator, dan tambahkan 20 ml H₂SO₄ pekat kedalam labu Kjeldhal menjadi satu dengan sampel.
- 5) Mendestruksi sampai jernih (± 2 jam).
- 6) Dinginkan, kemudian masukkan ke dalam labu ukur, tambahkan aquades 250 ml hingga garis miniskus lalu kocok dan homogenkan.
- 7) Dari labu ukur ambil 5 ml dengan pipet ukur dan netralkan dengan NaOH 40% cek pH larutan dengan kertas pH, lalu tambahkan aquades 25 ml kocok dan homogenkan,.
- 8) Menambahkan reagen NESSLER kocok dan homogenkan
- 9) Segera baca pada spektrofotometer dengan λ 425 nm dan catat absorbansinya dan dikonversikan dengan kurva kalibrasi.

Sumber : Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya, 2014.

3.5.4 Perhitungan dan Reaksi

1. Perhitungan kadar protein menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar protein (\%)} = \frac{100}{BS} \times D \times \frac{Ar N}{Ar NH_4} \times K \times F$$

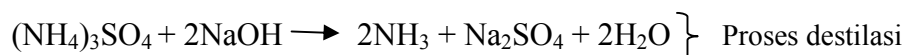
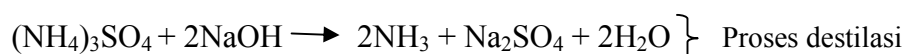
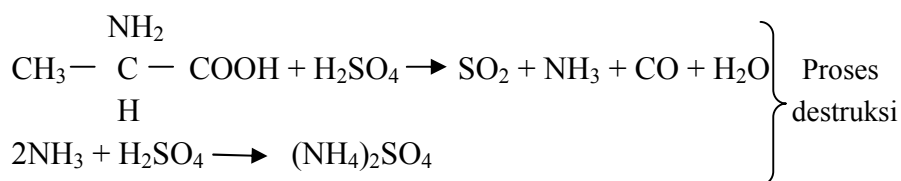
Keterangan : BS = Berat sampel (mg sampel)

D = Banyaknya pengenceran ($\frac{250}{0,05} \times \frac{25}{1000}$)

K = Kadar NH₄⁺

F = Faktor konversi (6,25)

2. Reaksi





Sumber : Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya, 2014.

3.5.5 Tabulasi Data

Data hasil pengujian laboratorium ditabulasikan kedalam tabel yang tersaji seperti berikut ini :

Tabel 3.1 Data hasil kadar protein Kacang Merah berdasarkan lama perebusan

No	Sampel	kadar protein %				
		0 menit	15 menit	20 menit	25 menit	30 menit
1	1					
2	2					
3	3					
4	4					
5	5					
JUMLAH						
RATA – RATA						
SD						

3.6 Metode Analisis Data

Setelah diperoleh hasil dalam bentuk tabel, selanjutnya dianalisa dengan uji Anova untuk mengetahui adanya pengaruh lama perebusan Kacang Merah terhadap kadar protein dengan α 0.05 (5%).