

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan pemeriksaan laboratorium dengan pendekatan kuantitatif yang bertujuan untuk penentuan kadar protein total menggunakan metode Kjeldhal yang terdapat pada ekstrak daging ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berdasarkan perbedaan proses pengolahannya.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian ini dimulai dari bulan Januari 2024 hingga April 2024. Tempat yang digunakan untuk penelitian adalah laboratorium kimia Universitas Borneo Lestari dan Balai Standarisasi dan Jasa Pelayanan Industri (BSJPI) Banjarbaru.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah semua ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang berada di Kabupaten Banjar.

3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) umur 3 bulan yang diambil di Kolam Runjat yang berada di jalan Melati Guntung Mas Karang Intan Kabupaten Banjar Provinsi Kalimantan Selatan.

3.4 Variabel dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Bebas

Variable bebas pada penelitian ini adalah sampel ekstrak daging ikan nila (*Oreochromis niloticus*) umur 3 bulan dengan cara digoreng, dibakar, diasap, dan dipepes.

3.4.2 Variabel terikat

Variable terikat pada penelitian ini adalah kadar protein total yang terdapat pada ekstrak daging ikan nila (*Oreochromis niloticus*) umur 3 bulan dengan cara digoreng, dibakar, diasap, dan dipepes dengan metode Kjeldhal.

3.4.3 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Pengukuran	Skala	Kategori	
Bebas	Protein	Merupakan jumlah kandungan protein total pada daging ikan nila	Metode Kjeldhal, Ekstraksi, Preparasi	Rasio	Protein Kasar
	Goreng	Merupakan cara pengolahannya yaitu dengan cara di goreng	Termometer	Nominal	Suhu 150-300°C (Sundari dkk., 2016)
Terikat	Bakar	Merupakan cara pengolahannya yaitu dengan cara di bakar	Termometer	Nominal	Suhu 165°C (Louisiana 2020)
	Asap	Merupakan cara pengolahannya yaitu dengan cara di asap	Termometer	Nominal	Suhu 60-70°C (Lukas Wibowo S dkk., 2021)
	Pepes	Merupakan cara pengolahannya yaitu dengan cara di pepes	Termometer	Nominal	Suhu 80°C (Asniwati Zainuddin dkk., 2022)

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi gelas (*Iwaki*[®] *Pyrex*[®]), alat penyulingan (destilasi) (*Pyrex*[®]), alat sentrifugasi (*NEST*[®]), alat titrasi (*hBARSCI*), blender (*Philips*), kulkas (*LG*) kompor (*Rinnai*), alat pemanggang (*Magic*), alat penggoreng (*Stein Cookware*), panci steam (*Oxone*), labu Kjeldhal 100 ml, labu ukur (*Pyrex*[®]), pemanas listrik/hot plate (*Thermo*), mikropipet (*Dragon lab*[®]), *shaker waterbath*, tabung reaksi (*Pyrex*), timbangan analitik (*OHAUS*[®]8028-SERIES)

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi aquadest (*Waterone*), asam sulfat (H_2SO_4) (pa) (*Emsure*[®]), asam borat (H_3BO_3) (pa) (*Emsure*[®]), asam klorida (HCL) (pa) (*Supelco*), tembaga (II) sulfat ($CuSO_4$) (pa) (*Emsure*[®]), ikan nila (*Oreochromis niloticus*), natrium hidroksida (NaOH) (pa) (*Emsure*[®]), indicator phenolphthalein (PP) (*Supelco*), larutan buret, selenium (*Supelco*), kertas saring *Whatman* NO.1.

3.5.2 Jalan Penelitian

a. Penyiapan Ikan Nila

Sampel ikan nila yang digunakan diperoleh dari Tambak yang ada di Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan, ikan nila yang

sudah diperoleh langsung dibersihkan (dihilangkan insang, sisik, dan isi perut) terlebih dahulu sampai benar-benar bersih, sehingga tidak ada darah dan lender yang tertinggal, lalu daging ikan nila di potong kecil-kecil.

b. Preparasi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Sesuai dengan Perlakuannya

Ikan nila dimasak sesuai dengan empat perlakuan yang diberikan antara lain penggorengan, pemanggangan, pengasapan, dan pemepesan.

1. Ikan Nila Perlakuan-1

Perlakuan ikan nila dengan cara penggorengan, daging ikan diambil sebanyak 250 gr lalu digoreng pada suhu 140-170°C dengan lama pemasakan selama 9-10 menit (Yunita dkk., 2022). Selama proses pemasakan dilakukan pengukuran suhu dengan menggunakan termometer digital pada setiap menit sampai matang.

2. Ikan Nila Perlakuan-2

Perlakuan ikan nila dengan cara pemanggangan, daging ikan diambil sebanyak 250 gr lalu dipanggang pada suhu sekitar 165°C dengan lama pemasakan selama 10-15 menit diatas alat pemanggang (Louisiana, 2020). Selama proses pemasakan dilakukan pengukuran suhu dengan menggunakan termometer digital pada setiap menit sampai matang.

3. Ikan Nila Perlakuan-3

Perlakuan ikan nila dengan cara pengasapan, daging ikan diambil sebanyak 250 gr lalu diasap pada suhu 60-70°C dengan lama pemasakan selama 2 jam (Lukas dkk., 2021). Selama proses pemasakan dilakukan pengukuran suhu dengan menggunakan termometer digital pada setiap menit sampai matang.

4. Ikan Nila Perlakuan-4

Perlakuan ikan nila dengan cara pemepesan, daging ikan diambil sebanyak 250 gr lalu dipepes pada suhu 80°C menggunakan wajan yang telah dipanaskan dengan lama pemasakan 20 menit (Asniwati dkk., 2022). Selama proses pemasakan dilakukan pengukuran suhu dengan menggunakan termometer digital pada setiap menit sampai matang.

c. Proses Ekstraksi Daging Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Pada proses ekstraksi daging ikan nila akan dilakukan dengan cara dikukus (steam), daging ikan nila dikukus selama 30 menit pada suhu 75-80°C sebanyak 250 gram. Timbang daging ikan nila kemudian dihaluskan dengan cara diblender dengan menggunakan air dengan perbandingan 1:1 (250 g daging ikan : 250 ml air). Ikan yang sudah diblender dimasukkan ke dalam wadah, lalu dimasukkan ke dalam panci yang telah berisi air yang sudah dimasak pada suhu 75-80°C lalu kukus selama 30 menit.

(Ramadhani, 2023). Pada proses akhir ekstraksi air yang diperoleh dikumpulkan dan disaring dengan kertas *Whatman* No.1. hasil ekstraksi yang didapat selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit dan diambil bagian atas (*supernatan*) kemudian dipekatkan dengan menggunakan *waterbath*. Ekstrak yang didapatkan kemudian disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan (Ramadhani, 2023).

d. Uji Analisis Kualitatif Protein Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Analisis kualitatif dapat dilakukan dengan uji identifikasi protein menggunakan pereaksi biuret 500 µl ekstrak daging ikan nila dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 4-5 tetes reagen biuret, reaksi positif jika terbentuk warna biru violet (Ramadhani, 2023).

e. Uji Analisis Kuantitatif Dengan Penetapan Kadar Protein Total Pada Ekstrak Daging Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Daging ikan Nila pada masing-masing perlakuan ditimbang digoreng sebanyak 2,78 gram dibakar sebanyak 2,54 gram, dipepes sebanyak 2,80 gram dan diasap sebanyak 2,62 gram. Lalu dimasukkan kedalam labu kjeldahl . Ditambahkan 25ml larutan asam sulfat (p.a) (Digoyang). Dan tambahkan 5gr selenium (CuSO_4). Campuran dipanaskan diatas pemanas listrik atau kompor sampai mendidih atau sampai larutan berubah warna menjadi kehijau-hijauan atau jernih dan sampai tidak

mengeluarkan asap. Proses ini akan berlangsung sekitar 4 jam, lalu didinginkan. Kemudian pada hasil yang diperoleh dimasukkan kedalam labu ukur 250ml lalu diincirkan menggunakan air suling sampai tanda batas (Dikocok).

Kemudian sebanyak 25ml larutan sampel dimasukkan ke dalam labu destilasi ditambahkan 100ml air suling dan batu didih. Lalu tambahkan 3 tetes indicator pp dan NaOH 30% hingga berubah berwarna merah. Pipet 10ml asam borat 2% kedalam penampung erlynmeyer 250ml tambahkan 3 tetes indicator campuran conway (metil merah dan bromo kresol hijau). Kemudian hasil destilasi yang diperoleh ditampung sampai volume ± 100 ml. Destilasi yang diperoleh kemudian dititrasi menggunakan larutan HCL 0,01N sampai berubah dari warna biru muda menjadi warna bening atau semu merah muda (Pink) (Baristan, 2024).

Rumus perhitungan kadar protein total (Mega, 2013)

$$\text{Kadar Protein Total} = \frac{(V1-V2) \times N \times 0,014 \times f.kxf.p}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

V1 = volume HCL 0,01 N yang digunakan penitratan sampel

V2 = belangko

N = normalitas HCL = 0,0155

W = bobot cuplikan

f.k = faktor konversi protein dari makanan secara umum = 6,25

f.p = faktor pengenceran = 10

3.6 Pengolahan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental, dimana pada pengukuran kadar protein total memiliki perhitungan dengan rumus:

$$\text{Kadar Protein Total} = \frac{(V1-V2) \times N \times 0,014 \times f.k \times f.p}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

V1 = volume HCL 0,01 N yang digunakan penitratan sampel

V2 = belangko

N = normalitas HCL = 0,0155

W = bobot cuplikan

f.k = faktor konversi untuk protein dari makanan secara umum = 6,25

f.p = faktor pengenceran = 10

3.7 Analisis Data

3.7.1 Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif yang akan dilakukan menggunakan pereaksi biuret hasil positif pada reaksi biuret yaitu dihasilkan sampel berwarna ungu.

3.7.2 Analisis Kuantitatif

a. Kadar Protein Total

Data yang diperoleh dari perhitungan kadar protein total ekstrak daging ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Menggunakan rumus sebagai berikut.

b. Rumus

Rumus perhitungan kadar protein total (Mega, 2013)

$$\text{Kadar Protein Total} = \frac{(V1-V2) \times N \times 0,014 \times f.kxf.p}{W} \times 100\%$$