

BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tata Cara Penelitian

3.1.1. Variabel yang digunakan :

- a. Jarak dari garis pantai :
± 1 km, ± 2 km, ± 3 km
- b. Jenis ikan : - Beronang (*Siganus sp.*)
- Kerapu (*Ephinephelus sp.*)
- Kerong-kerong (*Lutjanus sp.*)

3.1.2. Peralatan yang digunakan :

- a. Labu destruksi (labu Kjeldahl 500 mL)
- b. Pemanas
- c. Statif dan Klem
- d. Labu alas bulat
- e. Pendingin
- f. Respirator
- g. Neraca analitis
- h. Oven
- i. Gelas ukur
- j. Labu takar
- k. Buret
- l. Erlenmeyer
- m. Pipet mata

- n. Adaptor
- o. Gelas arloji
- p. Pipa bengkok

3.1.3. Zat-zat yang dipakai :

- a. Asam sulfat pekat p.a
- b. Serbuk selenium
- c. Aquades
- d. Batu didih
- e. NaOH 40 % p.a
- f. Asam borat 4 %
- g. HCl 0,2 N p.a
- h. NaOH 0,2 N p.a
- i. Metil merah
- j. Metil biru
- k. Phenolphthalein

3.2. Langkah Kerja

3.2.1. Penyiapan sampel

Sampel berupa ikan segar yang langsung ditangkap dari laut dan diasinkan dengan cara kering. Sampel kemudian dikeringkan dalam oven sampai bebas air.

3.2.2. Penyiapan larutan

a. Larutan NaOH 40 % :

Dilarutkan 400 gr NaOH dalam 1 L aquades.

b. Larutan H_3BO_3 4 % :

Dilarutkan 40 gr H_3BO_3 dalam 1 L aquades.

c. Larutan HCL 0,2 N :

HCl pekat 18 mL diencerkan menjadi 1 L.

d. Larutan NaOH 0,2 N :

Dilarutkan 2 gr NaOH dalam 250 mL aquades.

e. Indikator :

Metil biru 0,2 % : dilarutkan 0,2 gr metil biru dalam 100 mL alkohol.

Metil merah 0,2 % : dilarutkan 0,2 gr metil merah dalam 100 mL alkohol.

Larutan indikator : 200 mL 0,2 % metil merah + 100 mL 0,2 % metil biru.

3.2.3. Standardisasi larutan

a. Standardisasi larutan NaOH

$KHC_8H_4O_4$ (Kalium Hidrogen Phthalat) sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 25 mL aquades, kemudian dititrasi dengan 0,2 N NaOH.

b. Standardisasi larutan HCl

HCl 0,2 N 25 mL + phenolphthalein 2 tetes,

kemudian dititrasi dengan NaOH 0,2 N.

3.2.4. Penetapan kadar protein

a. Destruksi sampel

Dimasukkan 1 gr sampel ke dalam labu Kjeldahl 500 mL. Kemudian ditambah 3 gr serbuk selenium dan 15 mL H_2SO_4 pekat.

Setelah itu dipanaskan pada nyala api kecil, setelah 10 menit api dibesarkan hingga cairan jernih.

b. Destilasi

Hasil destruksi didinginkan, diencerkan dengan 30 mL aquadest dan ditambah batu didih serta 75 mL NaOH 40.%. Kemudian didestilasi hingga 2/3 cairan tersuling.

c. Titrasi

Destilat ditampung dalam 25 mL asam borat 4 % dan indikator. Kemudian dititrasi dengan HCl 0,2 N.

3.2.5. Uji kualitatif protein dan asam amino

a. Tes Umum :

- tes Ninhidrin

larutan protein + reagen ninhidrin

- tes Biuret

larutan protein + NaOH + CuSO_4 encer

b. Tes khusus

- Tes Ksanthoprotein

larutan protein + asam nitrat pekat,
didihkan, ditambah amonia

- Tes Molisch

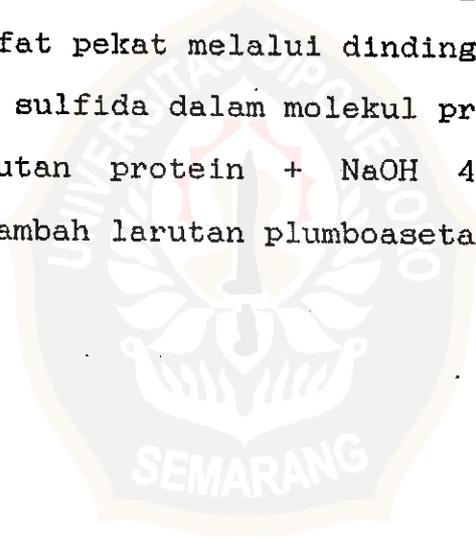
larutan protein + α -naphthol, dikocok,
ditambah asam sulfat pekat melalui dinding

- Tes Hopkins Cole

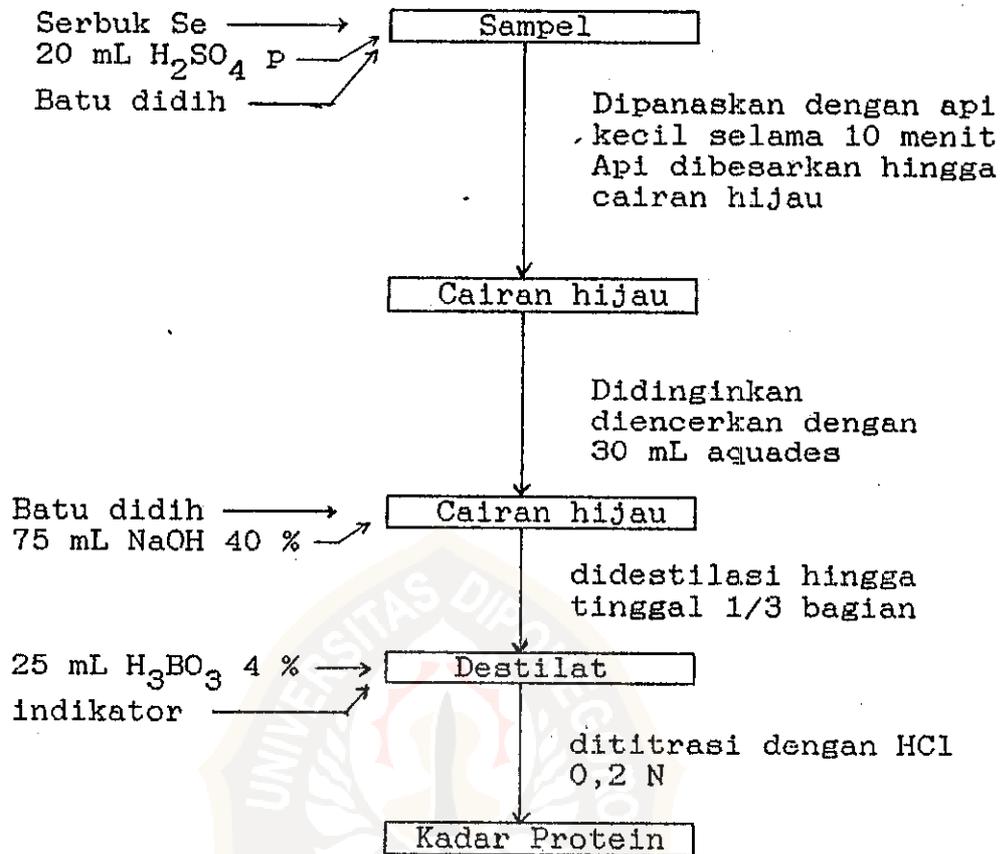
larutan protein + asam gliksilat + asam
sulfat pekat melalui dinding

- Tes sulfida dalam molekul protein

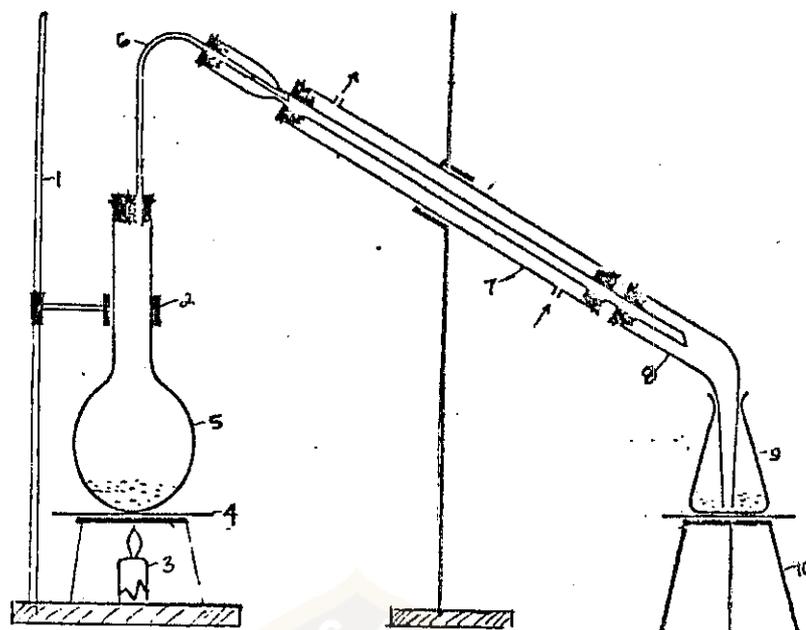
larutan protein + NaOH 40 %, didihkan,
ditambah larutan plumboasetat.



3.3. Skema Kerja Penentuan Kadar Protein



3.4. Gambar Rangkaian Alat



Gambar 1. Gambar Rangkaian Alat Destilasi
(Blaedel, 1963)

Keterangan gambar :

- | | |
|------------------|-----------------|
| 1. Statif | 6. Pipa bengkok |
| 2. Klem | 7. Pendingin |
| 3. Pemanas | 8. Adaptor |
| 4. Kawat asbes | 9. Erlenmeyer |
| 5. Labu Kjeldahl | 10. Kaki tiga |