

BAB III METODE PENELITIAN

A. JENIS DAN DESAIN PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian in-vitro yang dilakukan di Laboratorium dengan metode pendekatan kuantitatif. Sedangkan desain penelitian yang digunakan adalah desain observasional untuk mengetahui kandungan nutrisi dalam teripang untuk memenuhi angka kebutuhan gizi serta membandingkan kandungan nutrisi kalsium, magnesium, fosfor, protein, dan zat besi pada teripang susu, teripang gosok, dan teripang gamat dengan susu kemasan dan juga mengetahui jenis teripang yang memiliki kandungan terbaik untuk kesehatan tulang.

B. POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN

Populasi pada penelitian ini adalah jenis teripang gamat duri, teripang gosok, dan teripang susu yang didapatkan dari beberapa distributor teripang kering yang dibeli secara *online* dan langsung mendatangi distributor sedangkan sampel susu kemasan adalah jenis susu kemasan yang dijual bebas di minimarket.

Sampel pada penelitian ini adalah teripang gamat duri, teripang gosok, dan teripang susu yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, yaitu :

1. Kriteria Inklusi
 - a. Dikeringkan dengan proses yang benar.
 - b. Kandungan garam diperkirakan 1-3%.
2. Kriteria eksklusi
 - a. Proses pengeringan harus sempurna.

- b. Belum diolah dan dicampur dengan bahan apapun.

Sampel yang diperlukan teripang gamat duri, teripang gosok, dan teripang susu dengan berat total masing-masing jenis sebesar 200-400 gram untuk pengujian 5 macam nutrisi yaitu : protein, kalsium, fosfor, magnesium, zat besi.

C. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

1. Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian yang digunakan dalam pengujian ini adalah Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM) yang beralamat di Jalan Kaliurang KM. 4, Sekip Utara, Daerah Istimewa Yogyakarta.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian yang dibutuhkan dalam pengujian ini adalah selama 5 minggu yaitu pada bulan Februari – Maret 2017.

D. VARIABEL DAN DEFINISI OPERASIONAL

1. Variabel

Variabel-variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Variabel kontrol : Kandungan nutrisi teripang.

- b. Variabel pembanding : Kandungan nutrisi susu.

2. Definisi Operasional

Teripang adalah salah satu hewan laut yang masuk kedalam filum *Echinodermata*. Semua sampel sudah dalam keadaan kering dan diukur dengan timbangan makanan tradisional, skala yang digunakan

adalah numerik, dengan jumlah total masing-masing sampel yang dibutuhkan adalah 200-400 gram.

E. INSTRUMEN PENELITIAN

Penelitian ini akan menguji kandungan nutrisi yang terkandung dalam teripang gamat, teripang gosok, dan teripang susu yang terdiri dari 5 macam nutrisi, yaitu : protein, kalsium, magnesium, fosfor, zat besi. Terdapat tiga metode yang akan digunakan, yaitu : metode Spektrofotometri (untuk menguji fosfor), metode SSA (untuk menguji kalsium, magnesium, dan zat besi), metode Kjeldahl (untuk menguji protein).

1. Metode Spektrofotometri

Tabel 1. Alat dan Bahan Metode Spektrofotometri.

ALAT	BAHAN
1. Spektrofotometer UV-VIS	1. Teripang
2. Timbangan Analitik	2. Larutan asam klorida (HCl)
3. Corong gelas	1:3
4. Tanur (<i>furnance</i>)	3. Pereaksi molibdat vanadat
5. Cawan Porselin	4. KH ₂ PO ₄ (<i>Pa</i>)
6. Labu Ukur 50 mL dan 10 mL	5. HNO ₃
7. Pipet Volum 5 mL dan 10 mL	6. Aquadest
8. Pipet Tetes	
9. Batang Pengaduk	
10. <i>Hot Plate</i>	
11. Bunsen Spritus	
12. Oven	
13. Penangas Air	
14. <i>Beaker Glass</i>	

2. Metode Spektrofotometri Serapan Atom

Tabel 2. Alat dan Bahan Metode SSA.

ALAT	BAHAN
1. Spektrofotometer Serapan Atom	1. Teripang
2. Cawan porselen	2. Air suling
3. Gelas piala 100 ml, 500 ml	3. Asam klorida
4. Gelas ukur 25 ml, 50 ml, dan 100 ml	4. Asam nitrat
5. Labu ukur 10 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml	5. Kalsium karbonat
6. Pemanas listrik	
7. Tanur listrik (<i>furnance</i>)	
8. Pipet volume 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 10 ml	
9. Neraca analitik	

3. Metode Kjeldahl

Tabel 3. Alat dan Bahan Metode Kjeldahl.

ALAT	BAHAN
1. Botol timbang	1. Teripang
2. Labu takar	2. NaOH 0,1 N
3. <i>Beaker glass</i>	3. NaOH 10 N
4. Erlenmeyer	4. Asam oksalat
5. Gelas ukur	5. <i>Aquadest</i>
6. Labu Kjeldahl	
7. Batang pengaduk	
8. Pipet volume	
9. <i>Filler</i>	
10. Sendok tanduk	

F. CARA PENGUMPULAN DATA

1. Proses Pengeringan Sampel Teripang

Teripang yang sudah dipilih untuk dijadikan sampel dalam penelitian ini, kemudian dikeringkan dengan cara :

- a. Pengeluaran isi perut (*evicerasi*), dilakukan dengan cara pembelahan melalui irisan pada bagian perutnya memanjang dengan panjang secukupnya. Pisau yang digunakan harus tajam dan tipis. Isi perut dikeluarkan dan segera dicuci bersih pada bagian dinding perut sampai bebas dari darah dan sisa isi perut. Air yang digunakan dapat berupa air tawar atau air laut yang bersih.
- b. Perebusan, bertujuan untuk membuat tekstur teripang menjadi kenyal, memberikan sedikit rasa asin yang sekaligus dapat berfungsi untuk membunuh dan mencegah tumbuhnya mikroorganisme pembusuk. Perebusan dilakukan dalam air mendidih dengan konsentrasi garam $\pm 15\%$ selama 20 – 30 menit.
- c. Pengasapan, dilakukan dengan tujuan untuk mengurangi (menurunkan) kadar air dalam tubuh teripang.
- d. Pengeringan, pengeringan teripang dapat dilakukan dengan penjemuran dibawah sinar matahari atau menggunakan alat pengering mekanis (*mechanical dryer*). Pada pengeringan dengan sinar matahari, teripang diletakkan diatas parapara dengan ketinggian ± 1 meter. Pengeringan dengan cara ini memakan waktu 2 – 3 hari tergantung cuaca dan ukuran teripang. Apabila dalam

pengeringan menggunakan *mechanical dryer* agar suhu pengeringan disesuaikan dengan panas matahari ($\pm 50^{\circ}\text{C}$).

2. Penyimpanan Sampel

Teripang kering disimpan dalam suhu ruangan yang tidak terlalu tinggi dengan kelembaban yang rendah.

3. Metode Spektrofotometri (pengujian Fosfor)

a. Preparasi larutan

1) Larutan asam klorida (1:3), larutan ini dibuat dengan melarutkan 60 mL HCl 38% kedalam 180 mL aquadest.

2) Pereaksi molibdat vanadat, larutan ini dibuat dengan melarutkan 20 g amonium molibdat kedalam 200 mL aquadest panas kemudian dinginkan. Melarutkan 1 g amonium metavanadat kedalam 125 mL aquadest panas, dan mendinginkannya kemudian menambahkan 160 mL HCl, dan memasukkannya kedalam labu ukur 1 liter. Pertama memasukkan larutan vanadat kemudian menambahkan larutan molibdat sambil diaduk dan terakhir menambahkan aquadest sampai tanda batas.

b. Pembuatan larutan standar fosfor

Larutan baku induk, menimbang $\pm 1,5354$ g KH_2PO_4 (*Pa*) dan mengeringkannya di dalam oven selama 2 jam pada suhu 105°C kemudian memindahkannya secara kuantitatif kedalam labu ukur

50 mL, menambahkan aquadest sebagai pelarut sampai tanda batas kemudian dinginkan dalam lemari pendingin.

c. Preparasi sampel

- 1) Menimbang dengan seksama 10 g sampel teripang kedalam cawan porselen dengan mengarangkan diatas api bunsen.
- 2) Memasukkan sampel teripang kedalam oven selama 3 jam untuk mengurangi kadar air.
- 3) Memasukkan sampel teripang kedalam tanur pengabuan pada suhu 6000 °C sampai bebas karbon (3-4 jam) dan dinginkan.
- 4) Memasukkan abu sampel kedalam beker glas 250 mL.
- 5) Menambahkan 40 mL HCl (1:3) dan beberapa tetes HNO₃.
- 6) Memanaskan dalam *water batch*, dan dinginkan
- 7) Memindahkan secara kuantitatif kedalam labu ukur 10 mL.
- 8) Menambahkan aquadest sampai tanda batas.
- 9) Ulangi untuk sampel teripang yang lain.

d. Pembuatan kurva standar

- 1) Dipipet larutan standar baku masing-masing sebanyak 1,4; 2,8; 4,2; 5,7; 7,1 mL kedalam labu ukur 10 mL.
- 2) Menambahkan pereaksi molibdat vanadat kedalam semua labu ukur, labu tersebut terdiri dari 5 labu ukur yang berisi larutan baku kerja dan 1 labu ukur yang berisi larutan sampel masing-masing sebanyak 2 mL.

3) Menambahkan aquadest sampai tanda batas, dikocok sampai homogen.

4) Membiarkan larutan selama 10 menit untuk pembentukan warna, kemudian ukur absorbansi masing-masing larutan di dalam kuvet gelas dengan spektrofotometer pada panjang gelombang Optimum.

e. Penentuan panjang gelombang optimum

1) Diambil larutan standar baku kerja yang digunakan untuk pembuatan kurva standar dengan konsentrasi 0,7%.

2) Dalam labu 10 ml dimasukkan 4,28 ml larutan induk, 2 ml reagen dan 3,72 aquadest didiamkan selama 10 menit.

3) Kemudian diukur absorban larutan standar dan blanko pada panjang gelombang 380-450 nm dengan kenaikan panjang gelombang 5 nm.

4) Panjang gelombang yang memiliki absorban tertinggi merupakan panjang gelombang optimum.

f. Penentuan kadar fosfor

1) Dipipet 2 mL larutan sampel kedalam labu ukur 10 mL.

2) Menambahkan pereaksi molibdat-vanadat kedalam semua labu ukur yang berisi larutan baku kerja dan yang berisi sampel masing-masing sebanyak 2 mL.

3) Menambahkan aquadest sampai tanda batas, dikocok sampai homogen.

4) Membiarkan larutan selama 10 menit untuk pembentukan warna, kemudian ukur absorbansi masing-masing larutan di dalam kuvet gelas dengan spektrofotometer pada panjang gelombang Optimum.

4. Metode SSA (pengujian Kalsium, Magnesium, dan zat besi)

a. Pembuatan sampel

1) Sampel ditimbang 5 g dalam cawan porselen kemudian diabukan selama 2 jam suhu 5000 °C dan dibiarkan dingin.

2) Abu dari teripang yang telah dipanaskan dibasahkan dengan 10 tetes air dan dengan hati-hati ditambahkan 3 – 4 ml (1 : 1), 1000-1200 °C.

3) Didinginkan, abu dilarutkan dalam HCl (1 : 1), kemudian larutan dipindahkan ke dalam labu tenkukur 50 ml dan diencerkan dengan air suling hingga batas tanda.

4) Ulangi untuk sampel teripang yang lain.

b. Pembuatan larutan baku

Larutan baku disiapkan dengan melarutkan 0,624 g kalsium karbonat dalam 25 ml HCL 3N dalam labu tenkukur 250,0 ml kemudian diencerkan sampai tanda dengan air suling (1000 ppm).

Dari larutan ini dipipet 10 ml kedalam labu tenkukur 100 ml kemudian dicukupkan volumenya sampai tanda dengan air suling (100 ppm). Dari larutan ini dipipet 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, dan 5 ml kemudian dimasukkan kedalam labu tenkukur 10 ml dan

dicukupkan volumenya dengan air suling hingga batas tanda sehingga diperoleh larutan baku dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Ulangi untuk pembuatan larutan baku magnesium dan zat besi.

c. Pembuatan kurva baku

Larutan baku dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm diukur serapannya menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom pada panjang gelombang 422,7 nm dengan lampu katoda kalsium, magnesium, atau zat besi. Kurva baku dibuat dengan cara memplotkan nilai absorban terhadap konsentrasi larutan (ppm).

d. Pengukuran serapan dalam sampel secara Spektrofotometer Serapan Atom.

Larutan sampel diukur serapannya dengan alat spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 422,7 nm menggunakan lampu katoda kalsium, magnesium, atau zat besi.

5. Metode Kjeldahl (pengujian Protein)

a. Pembakuan

- 1) Timbang seksama asam oksalat 0,3152 gram.
- 2) Tambahkan aquadest 50 ml di labu takar.
- 3) Homogenkan.

b. Preparasi sampel

- 1) Menimbang sampel sebanyak 2 gram.

- 2) Memasukkan sampel dalam labu kjeldahl.
- 3) Menambahkan 1 butir tablet kjedahl, batu didih, dan asam sulfat pekat, memasukkan secara perlahan melalui dinding labu.
- 4) Mendekstruksikan campuran, mula-mula dengan api kecil hingga keluar asap putih, lalu membesarkan api hingga larutan jernih berwarna biru kehijauan.
- 5) Mendinginkan larutan tersebut, lalu menambahkan 100 ml aquadest melalui dinding.
- 6) Menambahkan NaOH 10 N perlahan-lahan lewat dinding labu hingga terbentuk endapan biru.
- 7) Memasukkan serbuk seng secukupnya dan menghubungkan dengan kondensor.
- 8) Mengisi labu penampung dengan 50 ml HCl 0,1 N menggunakan buret.
- 9) Menambahkan indikator warna metil merah secukupnya.
- 10) Melakukan destilasi hingga cairan sisa 1/3 nya.
- 11) Menitrasi kelebihan HCl dengan NaOH 0,1 N.
- 12) Melakukan penetapan blanko.
- 13) Ulangi untuk sampel teripang yang lain.

G. UJI VALIDITAS DAN RELIABILITAS

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, dikalibrasi secara berkala oleh teknisi yang berpengalaman dan lembaga yang berlisensi minimal 3 bulan

sekali untuk mendapatkan hasil yang optimal. Sedangkan sampel hanya di uji sekali pada saat penelitian, tidak dilakukan pengujian ulang.

H. ANALISIS DATA

Data Angka Kecukupan Gizi (AKG) diambil dari Permenkes RI Nomor 75 tahun 2013 tentang “Angka Kecukupan Gizi yang Dianjurkan Bagi Bangsa Indonesia”. Kemudian dilakukan pengamatan apakah hasil pengujian sampel teripang sudah memenuhi data AKG tersebut.

Hasil dari pemeriksaan laboratorium yang meliputi pemeriksaan kandungan kalsium, magnesium, fosfor, protein, dan zat besi pada teripang gamat, teripang gosok, dan teripang susu akan dirata-rata kemudian dibandingkan dengan rata-rata kandungan nutrisi tersebut pada susu kemasan. Sebelumnya akan dicari perbedaan rata-ratanya apakah signifikan atau tidak menggunakan uji rata-rata (*mean*) 2 populasi independen (*independent sample test*) yang menggunakan program SPSS 15.00. setelah itu akan dilanjutkan dengan perbandingan secara manual dari rata-rata sampel.

Untuk mencari kandungan nutrisi yang tertinggi dari teripang gamat duri, teripang gosok, dan teripang susu akan digunakan analisis variansi satu arah (*one way anova*) yang menggunakan program SPSS 15.00 untuk mengetahui kesamaan rata-rata dan dilanjutkan dengan perbandingan secara manual dengan cara mencari kandungan tertinggi atau nilai maksimal dari hasil laboratorium. Hasil rata-rata kandungan nutrisi kalsium, magnesium, fosfor, protein, dan zat besi antara teripang teripang gamat, teripang gosok, dan teripang susu akan dibandingkan.

I. ETIKA PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan penulis tidak melanggar kode etik yang dibuktikan dengan disetujuinya penelitian ini oleh komite etik FKIK UMY.