

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta yang beralamatkan Jalan Letjen Sutoyo, Mojosongo, Kecamatan Jebres, Kota Surakarta, Jawa Tengah pada tanggal 3 - 24 Juni 2022.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan meliputi : serbuk kalium dihidrogen ftalat ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) (Merck), serbuk kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) (Merck), serbuk dinatrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4) (Merck), serbuk natrium hidrogen karbonat (NaHCO_3) (Merck), serbuk natrium karbonat anhidrat (Na_2CO_3), asam sulfat pekat (H_2SO_4) (Merck), n-heksana (Merck), Kristal Na_2SO_4 (Merck), kristal NaCl (Merck), Akuades (H_2O) (ABE).

3.3 Alat Penelitian

Alat yang digunakan meliputi : botol kaca bermulut lebar dengan volume 1 L, botol kaca bermulut lebar volume 500 ml, botol polietilen, pH meter (Eutach Instruments pH 6+), gelas ukur 100 ml (Pyrex), oven (Memmert), desikator (Glaswerk Werthem GL 32), seperangkat alat destilasi, kertas saring *Whatman* berukuran pori 2,5 μm , Erlenmeyer (Iwaki), corong pisah 250 ml (Schott Duran), neraca analitik (OHAUS), spatula.

3.4 Prosedur Penelitian

Pengambilan contoh uji dilakukan di saluran pembuangan air limbah rumah makan di tiga kategori rumah makan yang berbeda di daerah Kabupaten Karanganyar. Kategori rumah makan tersebut antara lain adalah rumah makan cepat saji, rumah makan masakan tradisional, dan *coffee shop*. Pemilihan lokasi sampling berdasarkan banyak pengunjung dan waktu operasi rumah makan dengan rata-rata 50 orang per harinya yang diperoleh berdasarkan survey lokasi. Air limbah yang berasal dari kamar mandi tidak dibuang pada saluran yang sama dengan hasil pencucian bahan makan dan peralatan makan. Pengambilan contoh uji dilakukan untuk analisis pH menggunakan metode *grab sampling*, sedangkan untuk analisis minyak dan lemak menggunakan metode komposit waktu (gabungan waktu) yang diambil pada waktu pencucian peralatan makan yang telah digunakan. Analisis pH dilakukan saat pengambilan contoh uji untuk analisis minyak dan lemak.

3.4.1. Prosedur Pengambilan Contoh Uji (SNI 6989.59:2008)

- a. Wadah yang digunakan untuk mengambil contoh uji, dibilas terlebih dahulu dengan menggunakan contoh uji sebanyak 3 kali.
- b. Setiap pengambilan contoh uji dilakukan pengukuran pH.
- c. Pengambilan contoh uji untuk pengujian minyak lemak menggunakan botol kaca mulut lebar dengan volume 500 ml sebanyak 2 kali. Dilakukan perlakuan yang sama setiap pengambilan pada waktu puncak.
- d. Mencampurkan contoh uji yang diambil pada waktu puncak 1 & 2 untuk pengujian dua kali pengulangan.
- e. Apabila tidak langsung dianalisis maka diawetkan dengan menambahkan H_2SO_4 (1:1) sampai $\text{pH} \leq 2$.

- f. Disimpan pada suhu 4°C.

3.4.2. Analisis pH (SNI 6989.11:2019)

a. Pembuatan Larutan *Buffer* pH

1. Larutan *Buffer* pH 4

Menimbang 0,5064 g $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ dilarutkan dalam 50 ml akuades.

2. Larutan *Buffer* pH 7

Menimbang 0,1694 g KH_2PO_4 dan 0,1767 g Na_2HPO_4 dilarutkan dalam 50 ml akuades.

3. Larutan *Buffer* pH 10

Menimbang 0,1046 g NaHCO_3 dan 0,1320 g Na_2CO_3 dilarutkan dalam 50 ml akuades.

b. Persiapan Pengujian

Dilakukan kalibrasi internal pH meter dengan minimal 2 larutan *buffer* dengan rentang pH yang telah diketahui. Kalibrasi pH dapat dilakukan dengan cara :

1. Elektroda dibilas dengan air bebas mineral, selanjutnya dikeringkan dengan kertas tisu.
2. Mencelupkan elektoda ke dalam larutan *buffer* pH 4 hingga pH meter menunjukkan pembacaan yang stabil.
3. Hasil pembacaan yang tertampil di pH meter dibandingkan dengan rentang pengukuran, lalu dicatat.
4. Dilakukan cara yang sama dengan mengganti larutan *buffer* pH 6,8 dan 10.

5. Apabila hasil pembacaan dari 2 larutan *buffer* pH telah memenuhi rentang pengukuran maka pH meter dapat digunakan untuk mengukur pH contoh uji.
- c. Prosedur Pengujian Sampel
1. Elektroda dibilas dengan air bebas mineral, selanjutnya dikeringkan dengan kertas tisu.
 2. Mencelupkan elektroda ke dalam contoh uji hingga pH meter menunjukkan pembacaan yang stabil.
 3. Hasil pembacaan yang tertampil di pH meter dicatat.
 4. Elektroda dibilas dengan akuades dan dilap dengan tisu setelah pengukuran.
 5. Melakukan pengukuran sebanyak 2 kali pengulangan.

3.4.3. Analisis Kadar Minyak Lemak (SNI 6989.10:2011)

- a. Memasukkan sebanyak 150 ml contoh uji ke dalam corong pisah kering
- b. Contoh uji yang diasamkan dengan H_2SO_4 1:1 sampai $\text{pH} \leq 2$, kemudian dimasukkan dalam corong pisah. Fungsi dari penurunan pH adalah untuk membuat contoh uji memiliki suasana asam, sehingga minyak dapat larut pada pelarut organik nonpolar yang digunakan.
- c. Bilas wadah contoh uji dengan n-heksana sebanyak 30 ml, kemudian hasil bilasan dimasukkan ke dalam corong pisah.
- d. Dikocok dengan kuat selama ± 2 menit. Selanjutnya dibiarkan beberapa saat sampai membentuk 2 fasa, yaitu fasa air dan fasa n-heksana. Fasa air berada di lapisan bawah, sedangkan fasa n-heksana berada di lapisan atas dikarenakan adanya perbedaan massa jenis air dan n-heksana, di mana massa jenis air lebih besar dari pada massa jenis n-heksana.

- e. Fasa air dan fasa n-heksana dipisahkan. Apabila pada fasa n-heksana terdapat emulsi, ditambahkan dengan NaCl dan dikocok dengan kuat sampai emulsi tidak ada. Endapan garam dikeluarkan ke dalam wadah yang sama dengan fasa air. Emulsi terbentuk karena adanya campuran yang tidak stabil dari 2 cairan yang pada dasarnya tidak saling tercampur. Emulsi dapat terbentuk akibat dari minyak dan air yang dikocok keras. Air dan minyak yang tercampur membentuk emulsi yang tidak stabil, sehingga apabila dibiarkan beberapa saat akan terjadi pemisahan kembali antara air dan minyak. Untuk menstabilkan emulsi yang terbentuk, diperlukanlah suatu zat pengemulsi, yaitu dengan menggunakan NaCl yang bersifat netral (Mulyani & Sujarwanta, 2018).
- f. Fasa n-heksana dimasukkan ke dalam wadah penampungan.
- g. Melakukan ekstraksi sebanyak 2 kali dengan 30 ml n-heksana.
- h. Fasa n-heksana yang telah digabungkan dalam Erlenmeyer dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang telah diketahui beratnya (W_0) dengan cara melalui corong kaca yang berisi 10 g kristal Na_2SO_4 anhidrat.
- i. Dilakukan pemanasan dengan penangas air pada suhu 70°C sampai pelarut terlihat habis menguap dan didinginkan
- j. Dikeringkan Erlenmeyer dalam oven dengan suhu $70^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ selama 30 – 45 menit.
- k. Dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang Erlenmeyer sampai didapat berat tetap (W_1).
- l. Dihitung kadar minyak dan lemak.
- m. Dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali.

3.5 Analisis Data

3.5.1. Penentuan Analisis Derajat Keasaman (pH)

Angka yang terbaca pada pH meter merupakan pH yang terukur dalam contoh uji.

3.5.2. Perhitungan Analisis Kadar Minyak Lemak

$$\text{Kadar minyak lemak (mg/l)} = \frac{(W_1 - W_0) \times 1000}{V}$$

Dengan keterangan, yaitu :

W_0 : Berat Erlenmeyer kosong (mg)

W_1 : Berat Erlenmeyer minyak dan lemak (mg)

V : Volume contoh uji (ml)

3.5.3. Perhitungan Perbedaan Persen Relatif (%RPD)

Perbedaan persen relatif (*Relative Percent Difference/ RPD*) terhadap 2 penentuan (replikasi) untuk analisis pH dan minyak lemak adalah < 10%, dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\% RPD = \frac{\text{hasil pengukuran} - \text{duplikat pengukuran}}{(\text{hasil pengukuran} + \text{duplikat pengukuran})/2} \times 100 \%$$

Apabila % *RPD* minyak lemak kurang dari 10%, maka data pengujian dua kali pengulangan dapat dirata – rata. Namun, jika % *RPD* minyak lemak melebihi 10 %, maka analisis harus mengulangi analisis.