BAB III
METODOLOGI

III.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam Penentuan Nitrogen Total, Ferum Total, dan Absorben Indeks adalah sebagai berikut:

1. Asam nitrat (HNO_3) Merck
2. Amonium ferro Sulfat ($NH_4FeSO_4.12H_2O$) Merck
3. Hidroksilamin hidroklorida ($NH_2OH.HCL$) Merck
4. Natrium asetat ($CH_3COONa.3H_2O$) Merck
5. O - Fenantrolin monohidrat ($C_{18}H_8N_2.H_2O$) Merck
6. Asam klorida (HCl) Merck
7. Asam sulfat (H_2SO_4) Merck
8. Kjeltabs (3,5 g K_2SO_4 dan 0,4 g $CuSO_4.5\ H_2O$) FOSS
9. Bromkresol hijau($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$) Riedel de Haen
10. Metil merah ($C_{15}H_{15}N_3O_2$)
11. Larutan natrium hidroksida 1 : 4 (NaOH)
12. Akuades
13. Sampel AJI-NO-MOTO® dengan kode LC, RC, FC-B, FC-A, SLC, RC-X, FC-X, dan CP-X

III.2. Alat

Alat yang digunakan dalam Penentuan Nitrogen Total, Ferum Total, dan Absorben Indeks adalah sebagai berikut:

1. Neraca Mettler Toledo MS
2. Labu Takar PYREX 50 mL
3. Stirer R Labinco L46
4. Dispenser Calibrex 520
5. Water bath
6. Pendingin Neslab

7. Tabung Kjeltec FOSS
8. Tabung Nesler
9. Digestor FOSS
10. Kjeltec Auto 1030 Analyzer FOSS TM 2300
11. Spektrofotometer Hitachi U-2000
12. Spektrofotometer Hitachi U-2900

III.3. Cara Kerja

III.3.1. Penentuan Nitrogen Total dalam MSG

1. Pembuatan Campuran Indikator Bromkresol

1) Dibuat larutan asam borat dengan cara 100 gram asam borat dilarutkan dengan akuades hingga volume 10 L. (Larutan A)
2) Dibuat indikator bromkresol dengan cara 0,1 gram bromkresol hijaudilarutkan dengan metanol hingga volume larutannya mencapai 100 mL. (Larutan B)
3) Dibuat indikator metil merah dengan cara 0,1 gram metil merah dilarutkan dengan metanol hingga volume larutannya mencapai 100 mL. (Larutan C)
4) Sebanyak 10 L Larutan A, 100 mL Larutan B, dan 70 mL Larutan C dicampur hingga homogen.
5) Ditambahkan beberapa tetes NaOH hingga warna menjadi hijau tua dan digojog homogen. Campuran indikator bromkresol siap digunakan.

2. Penentuan Nitrogen Total dalam MSG

1) Sebanyak 0,5 gram sampel MSG dalam tabung kjeltec, kemudian ditambahkan 1 mL akuades dan digojog hingga homogen.
2) Ditambahkan 10 mL H_2SO_4 pekat dan 1 tablet kjeltabs.
3) Didestruksi selama 1 jam pada suhu 400^o C.
4) Didiamkan hingga suhu 60^o C - 70^o C, kemudian ditambahkan 40 mL akuades ke dalam tabung.
5) Diukur kadar N total dengan menggunakan kjeltec.

III.3.2. Penentuan Ferum Total dalam MSG

1. Pembuatan larutan baku dan kurva kalibrasi

1) Diambil 10 mL larutan Fe 1000 mg/L dan dimasukkan dalam labu takar 100 mL.
2) Ditambahkan akuades hingga tepat pada tanda tera dan digojog hingga homogen, sehingga dihasilkan larutan Fe 100 mg/L.
3) Diambil 0,25; 0,5; 1,25; 1,5; dan 2,5 mL larutan Fe 100 mg/L kemudian dimasukkan dalam masing-masing labu takar 50 mL.
4) Ditambahkan ke dalam labu takar tersebut 2,5 mL larutan HCl 1 : 4 dan 1,5 mL hidroksilamin hidroklorida 20%, kemudian digojog.
5) Dipanaskan menggunakan *water bath* pada suhu 100^{o} C selama 10 menit.
6) Didinginkan hingga suhu 21^{o}C, kemudian ditambahkan larutan CH_3COONa sebanyak 2 mL dan 2,5 mL larutan o-fenantrolin.
7) Ditambahkan akuades hingga volumenya tepat mencapai 50 mL dan dihomogenkan.
8) Didiamkan selama 10 menit, kemudian diukur absorbansi setiap larutan dengan spektrofotometer HITACHI U 2900 pada panjang gelombang 510 nm.
9) Langkah-langkah tersebut dilakukan pula pada larutan blanko (larutan yang berisi pereaksi tanpa ada penambahan sampel).
10) Hasil pembacaan absorbansi, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Ditentukan persamaan regresi linear serta koefisien regresinya.

2. Penentuan Fe^{2+} sebagai ferum total

1) Ditimbang secara teliti 5 gram sampel MSG dan dimasukkan dalam labu takar 50 mL.
2) Ditambahkan ± 25 mL akuades dan dihomogenkan.
3) Ditambahkan ke dalam labu takar tersebut 2,5 mL larutan HCl 1 : 4 dan 1,5 mL hidroksilamin hidroklorida, kemudian digojog.
4) Dipanaskan menggunakan *water bath* pada suhu 100^{o} C selama 10 menit.

5) Didinginkan hingga suhu 21^{o} C, kemudian ditambahkan larutan CH_3COONa sebanyak 2 mL dan 2,5 mL larutan o-fenantrolin.
6) Ditambahkan akuades hingga volumenya tepat mencapai 50 mL dan dihomogenkan.
7) Didiamkan selama 10 menit, kemudian diukur absorbansi setiap larutan dengan spektrofotometer HITACHI U 2900 pada panjang gelombang 510 nm.
8) Dihitung konsentrasi Fe^{2+} sebagai Fe total menggunakan persamaan regresi linier yanga telah diperoleh.

III.3.3. Penentuan Absorben Indeks dalam MSG

1. Ditimbang 6 gram sampel dan dimasukkan dalam tabung nesler.
2. Ditambahkan 20 mL akuades dan dicampur hingga homogen.
3. Diukur absorbansi larutan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.