

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 2 (dua) tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Tujuan dari penelitian pendahuluan yaitu untuk mengetahui kualitas tinta cumi selama penyimpanan suhu ruang dan menentukan interval penyimpanan pada suhu dingin. Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui kualitas tinta cumi selama penyimpanan suhu dingin. Parameter uji yang dilakukan dengan sampel tinta cumi yaitu rendemen, TPC, pH, TVB, TMA, dan spektrofotometer UV-Vis.

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada uji derajat keasaman dan penghitungan susut bobot yaitu pH meter dan timbangan analitik. Alat-alat yang digunakan pada proses pengujian TPC adalah alat gelas (tabung reaksi, gelas ukur, *beaker glass*, erlenmeyer, pipet serologis, pipet volume), hot plate, *magnetic bar*, *magnetic stirrer*, *colony counter*, autoklaf, *stomacher*, botol pengencer 20 mL, inkubator  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , inkubator  $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , timbangan dengan ketelitian 0,0001 g, *waterbath* sirkulasi suhu  $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Alat-alat yang digunakan pada proses pengujian TVB dan TMA adalah *beaker glass*, erlenmeyer, gelas ukur, mikrobiuret, statif, corong, pipet, bola hisap, cawan conway dan inkubator  $35^{\circ}\text{C}$ . Alat yang digunakan pada proses pembuatan melanin yaitu sentrifus Labogene Scan Speed 1580R dan alat untuk pengujian melanin yaitu spektrofotometer UV-Vis (Pharo 300M).

### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan utama penelitian adalah tinta cumi (*Loligo sp.*) yang berasal dari hasil samping pabrik PT Dharmindo Samudera Abadi, Rembang, Jawa Tengah. Bahan yang digunakan untuk uji pH antara lain larutan penyangga dan akuades. Bahan yang digunakan untuk analisis TPC antara lain *butterfield's phosphate buffered* (BPB), *plate count agar*, alkohol, dan akuades. Bahan untuk analisis TVB dan TMA antara lain  $K_2CO_3$ , larutan TCA 7%, vaselin, indikator tashiro, HCl, formaldehid 37%, kertas saring. Bahan untuk analisis melanin yaitu akuades.

### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Eksperimen adalah suatu cara untuk mencari hubungan sebab akibat (hubungan kausal) antara dua faktor yang sengaja ditimbulkan oleh penelitian dengan mengeliminasi atau mengurangi atau menyisihkan faktor-faktor lain yang mengganggu. Eksperimen selalu dilakukan dengan maksud untuk melihat akibat suatu perlakuan (Arikunto, 2013).

Metode eksperimen menurut Jaedun (2011) adalah penelitian yang dilakukan terhadap variabel dan data-data yang belum ada melalui pemberian perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati dan diukur dampaknya. Penelitian eksperimen dilakukan dengan cara memberikan perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna menghadirkan suatu kejadian atau keadaan yang akan diteliti akibatnya.

Metode ini dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja kepada obyek penelitian untuk mengetahui adanya akibat terhadap variabel terikat. Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut,

kemudian ditarik kesimpulan (Sugiyono, 2013). Adapun variabel-variabel dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah penyimpanan tinta cumi pada suhu dingin.
2. Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini ialah kualitas tinta cumi dengan parameter TPC, pH, TVB, TMA, dan spektrofotometer UV-Vis.

### **3.3 Rancangan Penelitian**

#### **3.3.1 Penelitian Pendahuluan**

Rancangan penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui nilai TPC, pH, TVB, TMA, rendemen melanin, dan absorbansi melanin sehingga dapat diperoleh kualitas tinta cumi selama penyimpanan suhu ruang (27°C) sebagai acuan untuk penelitian utama. Terdapat 8 perlakuan yang terdiri dari penyimpanan hari ke – 0 (kontrol), hari ke – 1, hari ke – 2, hari ke – 3, hari ke – 4, hari ke – 5, hari ke – 6, dan hari ke – 7. Lama penyimpanan dan waktu pengamatan dilakukan setiap 24 jam sekali. Uji statistik yang digunakan pada tahap ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola searah. Data peubah yang diamati dianalisis secara statistik menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA). Jika analisisnya berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji lanjut. Model analisis data menurut Steel, Torrie (1991), sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + A_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

- $Y_{ij}$  = Respon percobaan karena pengaruh perlakuan lama penyimpanan pada suhu ruang taraf ke-i, ulangan ke-j  
 $\mu$  = Pengaruh rata-rata  
 $A_i$  = Taraf ke-i perlakuan lama penyimpanan

$\varepsilon_{ij}$  = Pengaruh kesalahan percobaan karena pengaruh perlakuan ke-i ulangan ke-j  
 I = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8  
 J = 1, 2, 3

Model matematik Rancangan Acak Lengkap (RAL) adalah:

$$(n - 1) (r - 1) \geq 15$$

Dimana n = perlakuan  
 r = ulangan

sehingga banyaknya ulangan dapat dihitung sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 (8 - 1) (r - 1) &\geq 15 \\
 7 (r - 1) &\geq 15 \\
 7r - 7 &\geq 15 \\
 7r &\geq 15 + 7 \\
 7r &\geq 22 \\
 r &\geq 3 \text{ Ulangan}
 \end{aligned}$$

Rancangan percobaan penelitian pendahuluan dengan parameter TPC, pH, TVB, TMA, dan UV-Vis dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Model Rancangan Percobaan pada Penelitian Pendahuluan

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A0	A0.1	A0.2	A0.3
A1	A1.1	A1.2	A1.3
A2	A2.1	A2.2	A2.3
A3	A3.1	A3.2	A3.3
A4	A4.1	A4.2	A4.3
A5	A5.1	A5.2	A5.3
A6	A6.1	A6.2	A6.3
A7	A7.1	A7.2	A7.3

Keterangan:

A0 : Penyimpanan suhu ruang hari ke-0  
 A1 : Penyimpanan suhu ruang hari ke-1  
 A2 : Penyimpanan suhu ruang hari ke-2  
 A3 : Penyimpanan suhu ruang hari ke-3  
 A4 : Penyimpanan suhu ruang hari ke-4  
 A5 : Penyimpanan suhu ruang hari ke-5  
 A6 : Penyimpanan suhu ruang hari ke-6  
 A7 : Penyimpanan suhu ruang hari ke-7

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan, dengan uji F pada taraf 5%. Langkah selanjutnya ialah

membandingkan antara F hitung dengan F tabel:

- Jika F hitung < F tabel 5 %, maka perlakuan tidak berbeda nyata.
- Jika F hitung > F tabel 1 %, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat berbeda nyata.
- Jika F tabel 5 % < F hitung < F tabel 1 %, maka perlakuan menyebabkan hasil berbeda nyata.

### 3.3.2 Penelitian Utama

Rancangan penelitian utama dilakukan untuk mengetahui nilai TPC, pH, TVB, TMA, dan UV-Vis sehingga dapat diperoleh kualitas tinta cumi selama penyimpanan suhu dingin (5°C). Analisis data yang digunakan dalam penelitian utama ialah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 4 perlakuan yang terdiri dari penyimpanan hari ke – 0 (kontrol), hari ke – 4, hari ke – 8, dan hari ke – 12 dengan 6 kali ulangan. Waktu penyimpanan dan pengamatan dilakukan setiap 4 hari sekali, hal ini dilakukan berdasarkan hasil yang telah diperoleh dari penelitian pendahuluan. Uji statistik yang digunakan pada tahap ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola searah.

Model matematik Rancangan Acak Lengkap (RAL) adalah:

$$(n - 1) (r - 1) \geq 15$$

Dimana n = perlakuan  
r = ulangan

sehingga banyaknya ulangan dapat dihitung sebagai berikut:

$$\begin{aligned} (4 - 1) (r - 1) &\geq 15 \\ 3 (r - 1) &\geq 15 \\ 3r - 3 &\geq 15 \\ 3r &\geq 15 + 3 \\ 3r &\geq 18 \\ r &\geq 6 \end{aligned}$$

Ulangan

Adapun model rancangan percobaan pada penelitian utama dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Model Rancangan Percobaan pada Penelitian Utama

Perlakuan	Ulangan					
	1	2	3	4	5	6
A0	A0.1	A0.2	A0.3	A0.4	A0.5	A0.6
A1	A1.1	A1.2	A1.3	A1.4	A1.5	A1.6
A2	A2.1	A2.2	A2.3	A2.4	A2.5	A2.6
A3	A3.1	A3.2	A3.3	A3.4	A3.5	A3.6

Keterangan:

- A0 : Penyimpanan suhu dingin hari ke-0  
 A1 : Penyimpanan suhu dingin hari ke-4  
 A2 : Penyimpanan suhu dingin hari ke-8  
 A3 : Penyimpanan suhu dingin hari ke-12

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Penelitian Pendahuluan

- **Penerimaan dan Preparasi Sampel**

Kantung tinta cumi dari spesies *Loligo* dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam botol dengan berat bersih 750 mL, selanjutnya disimpan dalam keadaan beku  $-40^{\circ}\text{C}$ . Tinta cumi diperoleh dari hasil samping pabrik PT. Dharmindo Samudra Abadi di Rembang, Jawa Tengah. Tinta cumi beku selanjutnya di masukkan ke dalam coolbox berisi es batu dan es kering (3 : 1) untuk di distribusikan kepada pembeli. Tinta cumi beku yang diperoleh, dikeluarkan dari coolbox dan di *thawing* dengan cara disimpan di suhu ruang ( $27^{\circ}\text{C}$ ) sampai mencair. diambil kantung tinta dari bagian tubuh cumi-cumi. Setelah mencair dikeluarkan kantung tinta dari dalam botol dan dipisahkan tinta dari kantungnya, lalu dikumpulkan dalam wadah steril. Identifikasi sampel dapat dilihat pada Gambar 6 dan Gambar 7.



**Gambar 6.** Sampel Cumi-Cumi (*Loligo* sp.)



**Gambar 7.** Sampel Tinta Cumi (*Loligo* sp.) dalam Kemasan.

- **Penyimpanan Tinta Cumi pada Suhu Ruang**

Langkah pertama yang dilakukan yaitu sterilisasi botol yang akan digunakan sebagai wadah penyimpanan sampel tinta cumi menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Tinta cumi ditimbang sebanyak 100 g dengan berat basah menggunakan timbangan digital. Setelah ditimbang, tinta cumi dimasukkan ke dalam botol yang sudah di sterilisasi dan ditutup rapat. Selanjutnya tinta cumi di simpan pada suhu ruang (27°C) dan diamati pada hari ke – 0, hari ke – 1, hari ke – 2, hari ke – 3, hari ke – 4, hari ke – 5, hari ke – 6, dan hari ke – 7. Sampel tinta cumi dilakukan uji TPC, pH, TVB, TMA, lalu diisolasi kandungan melaninnya dan di uji UV-Vis.

- **Isolasi Melanin Berdasarkan Metode Wang, *et al.* (2014)**

Tinta cumi ditimbang sebanyak 10 g dengan berat basah menggunakan timbangan digital. Setelah ditimbang, tinta cumi diencerkan dengan menggunakan akuabides sebanyak 200 ml ke dalam beaker glass 500 ml. Cairan tinta cumi dihomogenkan menggunakan spatula, lalu dipindahkan ke botol sentrifus polikarbonat. Dilakukan ultra-sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 g selama 2 menit dan kemudian supernatan dibuang. Selanjutnya disuspensikan kembali ke dalam akuabides dengan cara vortex-mixing dan diaduk dengan batang gelas, dan kemudian dilakukan ultra-sentrifugasi. Prosedur pencucian seperti itu diulang sebanyak enam kali dan didapatkan melanin.

#### **3.4.2 Penelitian Utama**

Setelah didapatkan hasil mengenai kualitas tinta cumi selama penyimpanan suhu ruang, selanjutnya dilakukan penelitian utama untuk mengetahui kualitas tinta cumi selama penyimpanan suhu dingin. Tinta cumi ditimbang sebanyak 100 g dengan berat basah menggunakan timbangan digital. Setelah ditimbang, tinta cumi dimasukkan ke dalam wadah gelas dan ditutup rapat. Selanjutnya tinta cumi di simpan pada suhu dingin (5°C). Sampel tinta cumi diamati pada hari ke – 0, hari ke – 4, hari ke – 8, dan hari ke – 12. Sampel tinta cumi dilakukan uji TPC, pH, TVB, TMA, dan uji UV-Vis untuk sampel melanin cumi.

#### **3.5 Analisis Sampel**

Analisa yang dilakukan terhadap sampel tinta cumi meliputi analisa proksimat, derajat keasaman (pH), TPC, TVB, TMA, susut bobot (rendemen) melanin, dan absorbansi melanin.

### 3.5.1 Analisis Proksimat

- **Kadar Air (Sudarmaji, et al. 2007)**

Pengujian kadar air menggunakan metode oven, pertama botol timbang dioven pada suhu 105°C selama 2 jam, kemudian dipindahkan kedalam desikator selama 30 menit, lalu ditimbang beratnya (A). Selanjutnya Sampel disiapkan, dihaluskan dan timbang sebanyak 5 g (B). Sampel dimasukkan kedalam botol timbang dan dioven selama 24 jam pada suhu 105°C. Sampel dimasukkan kedalam desikator selama 30 menit dan ditimbang beratnya (C). Perhitungan % kadar air dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{(a + b) - c}{b} \times 100\%$$

Keterangan:

a = Berat botol timbang kosong (g)

b = Berat sampel (g)

c = Berat botol timbang + sampel kering (g)

- **Kadar Abu (Sudarmaji, et al. 2007)**

Sebanyak 2 – 5 g sampel ditimbang dalam cawan porselen kering dan telah diketahui beratnya. Cawan porselen yang berisi sampel diarangkan menggunakan kompor listrik sampai asapnya hilang. Setelah itu dipijarkan dalam muffle pada suhu 600°C sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan sambil diaduk. Kemudian cawan porselen dan abu didinginkan dalam desikator selama kurang lebih 15 menit. Setelah dingin abu ditimbang.

Penentuan prosentase kadar abu di bawah ini:

$$\text{Kadar abu} = \frac{a - b}{c} \times 100\%$$

Keterangan:

a : berat cawan dan sampel awal (g)

b : berat cawan dan sampel setelah menjadi abu (g)

c : berat sampel awal (g)

- **Kadar Protein (Sudarmaji, et al. 2007)**

Pengujian kadar protein dengan metode Kjeldhal yaitu pengujian kadar protein kasar yaitu sampel sebanyak 1 gram dimasukkan kedalam labu kjeldhal. Kemudian ditambahkan sebanyak 7,5 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan ditambahkan 15 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Selanjutnya semua bahan dipanaskan dalam labu kjeldhal hingga mendidih dan cairan menjadi jernih. Pemanasan dilanjutkan kurang lebih satu jam dan dibiarkan hingga bahan menjadi dingin. Kemudian ditambahkan 100 mL aquades dan beberapa lempeng Zn, juga ditambahkan 15 mL K<sub>2</sub>S 4%. Kemudian ditambahkan larutan NaOH 50% sebanyak 50 mL secara perlahan-lahan. Kemudian didistilasi dan dipanaskan sampai homogen dan mendidih. Distilat ditampung dalam erlenmeyer yang telah diisi dengan larutan standar HCl 0,1 N dan 5 tetes indikator metil merah. Selanjutnya distilat dititrasi menggunakan larutan standar NaOH 0,1 N sampai berwarna kuning. Lakukan juga terhadap blanko. Kadar protein dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\%N = \frac{(\text{mL NaOH} - \text{mL NaOH sampel})}{\text{Berat sampel (g)} \times 1000} \times 100\%$$

$$\%Protein = \%N \times 6,25$$

- **Kadar Lemak (Sudarmaji, et al. 2007)**

Ditimbang sampel kering bubuk sebanyak 5 g. Dibungkus sampel dengan kertas saring dan diikat dengan tali kasur yang sudah dikeringkan dan diketahui beratnya. Kemudian dipasang pada *sample tube* dan dipasang pada bagian bawah kondensor sampai rapat dan tidak dapat diputar lagi. Dialirkan air pendingin, kemudian dinaikkan pemanas sampai menyentuh gelas piala. Setelah itu, diekstraksi selama 3-4 jam. Setelah ekstraksi dikeringkan sampel dalam oven dengan suhu 100°C sampai berat konstan dan ditimbang berat sampel. Perhitungan kadar lemak dengan rumus:

$$\text{Kadar lemak} = \frac{a - c}{b} \times 100\%$$

Keterangan:

a = berat sampel dan berat kertas saring dan tali kasur (g)

b = berat sampel (g)

c = berat akhir (g)

- **Kadar Karbohidrat (Sudarmaji, et al. 2007)**

Pengukuran kadar karbohidrat menggunakan metode *by difference* yaitu dilakukan dengan cara mengurangkan 100% dengan komponen gizi lainnya (kadar air, abu, lemak, dan protein). Rumus yang digunakan adalah:

$$\% \text{Kadar karbohidrat} = 100\% - \%(\text{air} + \text{protein} + \text{lemak} + \text{abu})$$

### 3.5.2 Pengujian *Total Plate Count* (TPC) (BSN, 2015)

Pengujian TPC dimaksudkan untuk mengetahui jumlah total mikroorganisme yang terdapat dalam suatu bahan makanan. Prinsip penentuan TPC yaitu setelah sampel diinkubasi, mikroorganisme ditumbuhkan pada media agar dan dibiarkan berkembang biak sehingga membentuk koloni yang dapat langsung dihitung. Penentuan TPC dapat dilakukan dengan metode cawan agar tuang (*pour plate*) yaitu dengan menanamkan sampel ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan media agar, dan metode cawan sebar (*spread plate*) yaitu dengan menuangkan media agar ke dalam cawan petri kemudian sampel diratakan pada permukaan agar. Perhitungan TPC menggunakan rumus sebagai berikut:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n1) + (0,1 \times n2)] \times d}$$

Keterangan:

N : jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni/mL atau koloni/g

ΣC : jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n1 : jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n2 : jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d : pengenceran pertama yang digunakan

### 3.5.3 Pengujian Derajat Keasaman (pH) (AOAC, 2005)

Pengukuran derajat keasaman (pH) dilakukan menggunakan pH meter (AOAC No. 935.57, 2005). Sebelum digunakan pH meter dihidupkan terlebih dahulu agar stabil selama 15 sampai 30 menit. Selanjutnya pH meter distandarisasi dengan buffer fosfat pH 4 dan buffer fosfat pH 7. Sampel ditimbang sebanyak 5 g, dihancurkan lalu dilarutkan ke dalam 25 mL aquades dan dikocok sampai homogen. Pengukuran pH dilakukan dengan mencelupkan elektroda pH meter ke dalam larutan sampel.

### 3.5.4 Pengujian *Total Volatile Base* (TVB) (BSN, 2009)

Menurut Topatubun, *et al.* (2008), TVB dimaksudkan untuk menganalisis basa-basa mudah menguap yang terbentuk pada suatu produk pangan sebagai akibat dari hasil penguraian komponen gizi oleh aktivitas mikroorganisme. Penurunan nilai TVB terjadi dengan seiring bertambahnya suhu penyimpanan. TVB dapat dijadikan sebagai indeks kesegaran ikan, Batas penerimaan ikan di tinjau dari kandungan TVB yaitu sebesar 20 – 30mg/100 gram.

Pengujian nilai TVB pada penelitian ini bertujuan untuk menentukan jumlah kandungan senyawa basa volatile yang terbentuk pada tahap kemunduran mutu tinta cumi. Prinsip dari analisis TVB adalah menguapkan senyawa basa volatile (amin, mono-, di-, dan trimetilamin). Senyawa tersebut selanjutnya diikat oleh asam borat dan dititrasi dengan larutan HCL. Sampel tinta cumi sebanyak 15 g ditambah 45 mL larutan TCA 7% kemudian dihomogenkan selama 1 menit. Hasil yang didapat disaring menggunakan kertas saring sehingga filtrate yang diperoleh berwarna jernih. Larutan asam borat 1 mL dimasukkan ke bagian *inner chamber* cawan Conway dan tutup cawan diletakkan dengan posisi hamper menutupi cawan. Sebanyak 1 mL filtrat dimasukkan ke bagian kiri *outer chamber* menggunakan pipet lain, ditambah 1 mL larutan K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

jenuh ke bagian kanan *outer chamber* sehingga  $K_2CO_3$  tidak bercampur. Cawan ditutup setelah sebelumnya diolesi vaselin. Cawan Conway diputar perlahan agar kedua cairan di *outer chamber* tercampur. Pengukuran blanko dilakukan dengan prosedur yang sama tetapi filtrat diganti dengan larutan TCA 5%, kemudian cawan Conway diinkubasi pada suhu  $37^\circ C$  selama 2 jam. Selanjutnya larutan asam borat dalam *inner chamber* pada blanko dititrasi dengan larutan HCL 0,02 N sampai berubah warna menjadi merah muda. Cawan Conway berisi sampel dititrasi menggunakan larutan yang sama sampai berubah warna menjadi merah muda. Kadar TVB dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Mg N\% TVB} = \frac{Vc - Vb \times N \text{ HCL} \times 14,007 \times fp \times 100}{\text{Berat Sampel}}$$

Keterangan:

Vc : ml titrasi sampel  
 Vb : ml titrasi blanko  
 Fp : faktor pengenceran

### 3.5.5 Pengujian *Trimethylamine (TMA)* (BSN, 2009)

Sampel yang telah preparasi ditimbang sebanyak 25 gram, kemudian ditambahkan larutan TCA 7%. Selanjutnya larutan disaring menggunakan kertas saring hingga didapatkan filtrat yang jernih. Dimasukkan 1 mL larutan asam borat ke bagian dalam *inner chamber* cawan Conway. Masukkan 1 mL filtrat ke bagian kiri *outer chamber*, dan 1 mL larutan  $K_2CO_3$  dan 0,05 mL larutan formalin 38% ke bagian kanan *outer chamber*. Cawan ditutup setelah sebelumnya diolesi menggunakan vaselin. Cawan Conway diputar perlahan sehingga larutan di bagian *outer chamber* tercampur. Pengukuran blanko dilakukan dengan proses yang sama, namun filtrat sampel diganti dengan larutan TCA 5%. Cawan Conway diinkubasi pada suhu  $37^\circ C$  selama 2 jam. Larutan asam borat dalam *inner chamber* cawan Conway yang berisi blanko dititrasi dengan larutan HCL setelah disimpan selama 2 jam. Setelah diinkubasi, larutan asam borat dititrasi

menggunakan larutan HCL 0,02 N sampai berubah warna menjadi merah muda. Dilakukan hal yang sama pada blanko. Kadar TMA dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Mg N\% TMA} = \frac{V_c - V_b \times N \text{ HCL} \times 14,007 \times f_p \times 100}{\text{Berat Sampel}}$$

Keterangan:

V<sub>c</sub> : ml titrasi sampel  
 V<sub>b</sub> : ml titrasi blanko  
 F<sub>p</sub> : faktor pengenceran

### 3.5.6 Rendemen (Zahiruddin, *et al.* 2008)

Prosedur perhitungan rendemen ditentukan berdasarkan presentase berat akhir bahan terhadap berat bahan baku sebelum diproses dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

### 3.6.7 Spektrofotometer UV-Vis (Guo, *et al.*, 2013)

Spektrometer UV-Vis adalah teknik analisis spektrometer yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultra violet dekat (190 nm – 380 nm) dan sinar tampak (380 nm – 780 nm) dengan menggunakan instrumen spektrometer (Behera, *et al.* 2012). Metode spektrometer UV-Vis adalah salah satu metode analisis kimia untuk menentukan unsur logam, baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif. Spektrometer merupakan metode analisis yang didasarkan pada besarnya nilai absorpsi suatu zat terhadap radiasi sinar elektromagnetik.

Prinsip kerja spektrometer berdasarkan hukum Lambert-Beer, bila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan) maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan. Absorban adalah suatu polarisasi cahaya yang terserap oleh bahan atau komponen kimia tertentu pada panjang gelombang tertentu sehingga akan memberikan warna tertentu terhadap bahan Sinar yang dimaksud bersifat monokromatis dan mempunyai

panjang gelombang tertentu. Persyaratan hukum Lambert-Beer antara lain radiasi yang digunakan harus monokromatik, energi radiasi yang di absorpsi oleh sampel tidak menimbulkan reaksi kimia, dan sampel (larutan) yang mengabsorpsi harus homogen.

Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Analisis kualitatif adalah analisis di mana zat diidentifikasi atau diklasifikasikan atas dasar kimia atau sifat fisik. UV -Vis spectroscopy melibatkan pengukuran fraksi radiasi elektromagnetik yang dapat diserap atau dikirimkan oleh sampel. Senyawa kemudian dapat diidentifikasi secara kualitatif dengan membandingkan spektrum penyerapan dengan spektrum senyawa yang dikenal.

Dalam analisis spektrometer terdapat tiga daerah panjang gelombang elektromagnetik yang digunakan, yaitu daerah UV (200-380 nm), daerah visible (380-700 nm), daerah inframerah (700-3000 nm). Pada analisis kualitatif dengan metode UV-Vis Spectrometer dapat ditentukan 2 hasil yaitu pemeriksaan kemurnian spektrum UV-Vis dan penentuan panjang gelombang maksimum.

Tinta cumi-cumi alami dan fraksi larutan melanin dilarutkan dalam air deionisasi dengan konsentrasi akhir 0,5  $\mu\text{g}$  / mL. Sampel dipindai dengan spektrofotometer UV-visible.