

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tiga bagian yaitu alat untuk ekstraksi albumin ikan gabus, alat untuk proses pembuatan ekkado dan analisa sampel. Alat untuk ekstraksi sampel albumin dari ikan Gabus, yaitu ekstraktor vakum, pisau, talenan, timbangan digital, gelas ukur 100 ml, beaker glass 250 ml, botol film, stopwatch dan baskom. Alat untuk pembuatan ekkado ikan gabus, yaitu *food processor*, baskom, timbangan digital, sendok, panci, kompor, penggorengan, dan sotel. Alat untuk analisa sampel, antara lain oven, desikator, satu set alat *Gold Fish*, satu set alat Kjeldhal, spektrofotometer, botol film dan *automatic analyzer*.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tiga bagian, yaitu bahan untuk ekstraksi albumin ikan gabus, bahan untuk pembuatan ekkado Ikan dan bahan untuk analisa sampel. Bahan untuk ekstraksi albumin adalah ikan Gabus yang diperoleh dari pasar besar, Malang dalam keadaan hidup dan kain saring. Bahan untuk pembuatan Ekkado ikan, yaitu residu daging ekstraksi albumin dari ikan gabus, garam, tepung tapioka, bawang bombay, minyak goreng, garam, gula, daun bawang, kulit pangsit dan minyak wijen. Bahan untuk analisa sampel antara lain aquades, kertas label dan kertas saring.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, merupakan salah satu metode eksperimen, merupakan salah satu metode statistik yang digunakan sebagai salah satu alat untuk meningkatkan dan

melakukan perbaikan kualitas. Eksperimen berperan penting dalam mengembangkan proses dan dapat digunakan untuk menyelesaikan permasalahan dalam proses agar kinerja proses meningkat (Irawan dan Astuti, 2006). Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian inti.

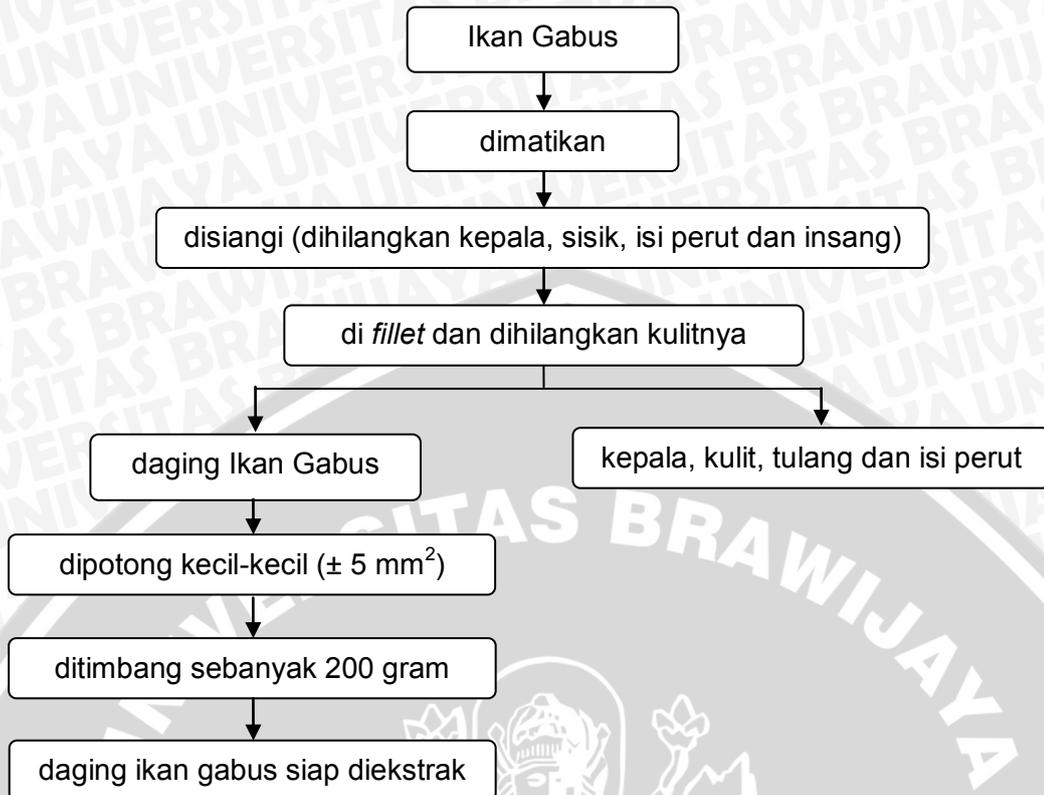
3.2.1 Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi daging ikan gabus yang tepat, sehingga dapat ditentukan range konsentrasi dagingnya. Pada penelitian ini dicari pula formulasi perbandingan antara bumbu-bumbu dengan konsentrasi residu daging ikan, sehingga diperoleh cara pembuatan dan formulasi pembuatan ekkado yang tepat.

Sebelum diolah menjadi ekkado, dilakukan ekstraksi daging ikan gabus terlebih dahulu, berikut tahapan-tahapan dilakukannya ekstraksi menggunakan vacuum ekstraktor.

a. Persiapan Bahan

Ikan gabus yang akan digunakan dalam pembuatan ekkado merupakan ikan gabus hidup yang didapat dari Pasar Besar, Malang. Kemudian dimatikan dan dilakukan penyiangan. Selanjutnya ikan gabus di *fillet* dan dipisahkan dengan kulitnya. Daging yang diperoleh selanjutnya dipotong kecil-kecil (± 5 mm) dan kemudian ditimbang sebanyak 200 g dengan menggunakan timbangan digital. Prosedur ekstraksi dengan vacuum ekstraktor dapat dilihat pada Gambar 3.



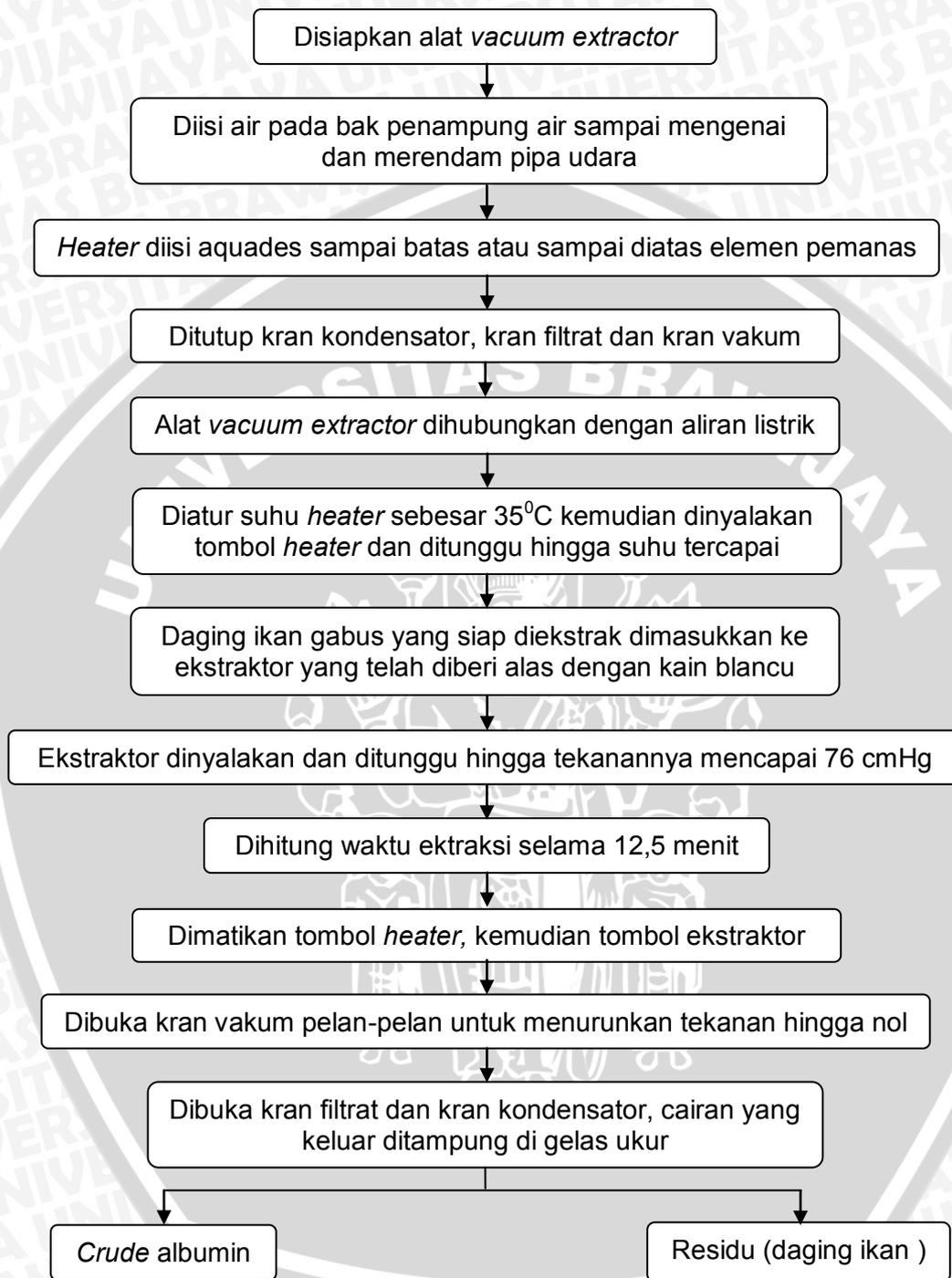
Gambar 3. Ekstraksi Dengan Vacum Ekstraktor

b. Ekstraksi Albumin Ikan Gabus

Ekstraksi albumin ikan gabus menggunakan ekstraktor vakum. Untuk ekstraksi ikan gabus, disiapkan terlebih dahulu alat yang digunakan. Langkah pertama yaitu diisi bak air sampai batas dan merendam pipa pompa, kemudian *heater* diisi dengan pelarut akuades hingga batas garis yang tertera pada selang kontrol pelarut. Kran filtrat, kran kondensat dan kran vakum ditutup. *Heater* dinyalakan pada suhu 35°C dan ditunggu hingga suhu stabil, kemudian daging ikan gabus dimasukkan ke *heater* yang telah dilapisi dengan kain saring dan *heater* ditutup rapat. Kemudian kran vakum ditutup dan ekstraktor dinyalakan dan ditunggu hingga tekanannya mencapai 76 cmHg, setelah tekanan stabil ditunggu hingga 12,5 menit. Residu daging hasil ekstraksi tersebut kemudian dijadikan bahan diversifikasi produk ikan gabus yaitu ekkado ikan gabus. Adapun prosedur untuk memperoleh residu daging dari

ikan gabus dengan menggunakan ekstraktor vakum dapat dilihat pada Gambar

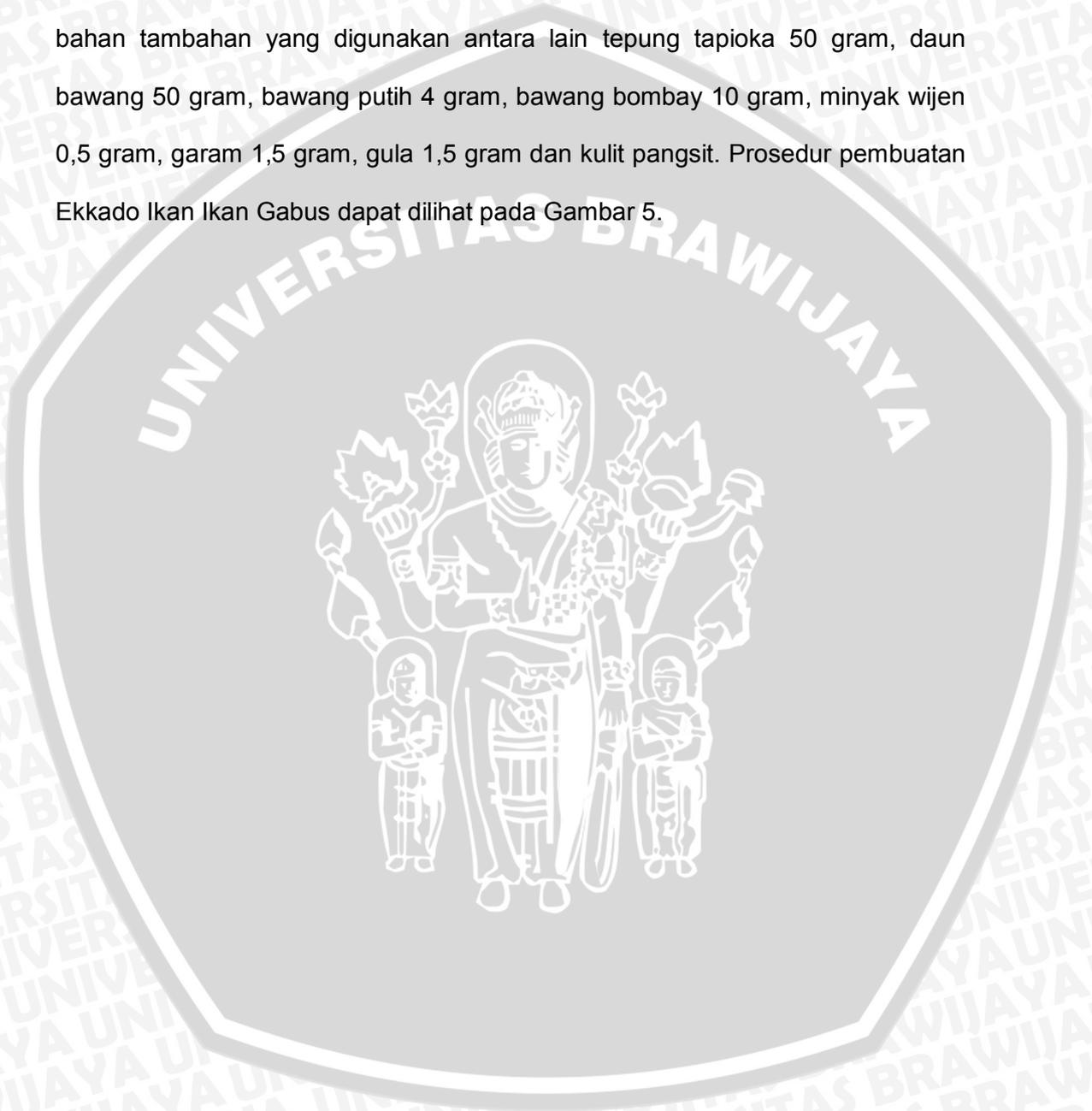
4.



Gambar 4. Prosedur Pembuatan Residu Daging Ikan Gabus

c. **Prosedur Pembuatan Ekkado**

Prosedur pembuatan ekkado ikan adalah disiapkan bahan baku dan bahan tambahan yang akan digunakan. Bahan baku yang digunakan yaitu residu daging ikan gabus yang sudah diekstraksi (25%; 50%; dan 75%), sedangkan bahan tambahan yang digunakan antara lain tepung tapioka 50 gram, daun bawang 50 gram, bawang putih 4 gram, bawang bombay 10 gram, minyak wijen 0,5 gram, garam 1,5 gram, gula 1,5 gram dan kulit pangsit. Prosedur pembuatan Ekkado Ikan Ikan Gabus dapat dilihat pada Gambar 5.





Gambar 5. Prosedur Pembuatan Ekkado Ikan Gabus

3.2.2 Penelitian Inti

pada penelitian inti, hasil dari range terbaik yang didapatkan dari penelitian pendahuluan kemudian dijadikan perlakuan. Dalam penelitian pendahuluan dilakukan perbandingan konsentrasi residu daging ikan dari hasil ekstraksi yaitu 25%, 50%, dan 75% dari total berat bumbu yang digunakan. Setelah dilakuakn uji albumin dan proksimat, didapatkan hasil terbaik terdapat pada konsentrasi

residu daging ikan 50%. Dari hasil tersebut, dilanjutkan pada penelitian inti dengan dilakukan range yaitu 30%, 40%, 50%, 60% dan 70%. Persentase daging tersebut didapat dari formulasi resep antara bahan utama, yaitu ikan gabus, dengan bumbu-bumbu. Formulasi pembuatan ekkado dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Formulasi Pembuatan Ekkado

No	Bahan	Perlakuan				
		30%	40%	50%	60%	70%
1	Daging ikan gabus	35,25 gram	47 gram	58,75 gram	70,5 gram	82,25 gram
2	Tepung tapioka	50 gram	50 gram	50 gram	50 gram	50 gram
3	Daun bawang	50 gram	50 gram	50 gram	50 gram	50 gram
4	Bawang putih	4 gram	4 gram	4 gram	4 gram	4 gram
5	Bawang bombay	10 gram	10 gram	10 gram	10 gram	10 gram
6	Minyak wijen	0,5 gram	0,5 gram	0,5 gram	0,5 gram	0,5 gram
7	Garam	1,5 gram	1,5 gram	1,5 gram	1,5 gram	1,5 gram
8	Gula	1,5 gram	1,5 gram	1,5 gram	1,5 gram	1,5 gram

Perlakuan yang dilakukan pada penelitian inti dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Perlakuan Penelitian Inti Ekkado Ikan Gabus

Konsentrasi Daging	Ulangan		
	1	2	3
A (30%)	A1	A2	A3
B (40%)	B1	B2	B3
C (50%)	C1	C2	C3
D (60%)	D1	D2	D3
E (70%)	E1	E2	E3

Rancangan yang digunakan dalam penelitian inti adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh akan dianalisa menggunakan ANOVA dengan menggunakan microsoft excel. Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ($F_{hitung} > F_{tabel} 5\%$) maka dilanjutkan uji Beda Nyata Tekecil (BNT) untuk menentukan yang terbaik.

Parameter uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah kadar albumin, kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan uji organoleptik. Kemudian dilakukan pemilihan perlakuan terbaik dengan analisa De Garmo

3.3 Variabel Penelitian

Variabel ialah faktor yang mengandung lebih dari satu nilai dalam metode statistic. Variabel terdiri dari variable bebas dan terikat. Variabel bebas ialah faktor yang menyebabkan suatu pengaruh sedangkan variable terikat ialah faktor yang diakibatkan oleh pengaruh tersebut (Konjaraningrat, 1983).

Variabel bebas dalam penelitian ini ialah konsentrasi residu daging ikan gabus yang diberikan berbeda yaitu 30%, 40%, 50%, 60% dan 70% dari berat bumbu-bumbu yang digunakan. Variabel terikat meliputi kadar Albumin, kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu, kadar karbohidrat dan organoleptik.

3.4 Analisis Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian inti adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan lima perlakuan dan tiga kali ulangan. Selain perlakuan pada penelitian ini, semua media percobaan dalam keadaan lingkungan serba sama atau homogen (Yitnosumarto, 1991).

Model matematik Rancangan Acak Lengkap (RAL) adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \sum_{ij}$$

dimana $i = 1, 2, 3, \dots, i$

$J = 1, 2, 3, \dots, j$

Keterangan :

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan pada perlakuan ke- i ulangan ke- j

μ = nilai tengah umum

T_i = pengaruh perlakuan ke- i

\sum_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

I = perlakuan

J = ulangan

Model rancangan percobaan yang digunakan disajikan pada Tabel 15.

Tabel 15. Model Rancangan Percobaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
A (30%)	A1	A2	A1	AT	AR
B (40%)	B1	B2	A2	BT	BR
C (50%)	C1	C2	A3	CT	CR
D (60%)	D1	D2	A4	DT	DR
E (70%)	E1	E2	A5	ET	ER

Keterangan:

A : konsentrasi residu daging ikan gabus 35,25 gram

B : konsentrasi residu daging ikan gabus 47 gram

C : konsentrasi residu daging ikan gabus 58,75 gram

D : konsentrasi residu daging ikan gabus 70,5 gram

E : konsentrasi residu daging ikan gabus 82,25 gram

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.

Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan yang terbaik. Beda Nyata Terkecil (BNT) adalah suatu criteria yang dapat dipakai untuk melakukan uji statistik antara sepasang harga rata-rata yang telah direncanakan (Hairuman, 2004).

3.5 Parameter Uji

Parameter yang diujikan pada penelitian inti ekkado ikan gabus adalah kadar albumin, kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu, dan uji organoleptik.

3.5.1 Kadar Albumin (Metode Spektrofotometer)

Penentuan kadar albumin dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer, yaitu

1. 2 cc contoh atau sampel ditambahkan dengan reagen biuret
2. Panaskan pada suhu 37°C selama 10 menit
3. Dinginkan dan ukur dengan spektronik -20
4. Catat Absorbansinya

Perhitungan % albumin :

$$\text{ppm} = \frac{\text{absorbansi sampel}}{0,0000526 A}$$

$$\% \text{ albumin} = \frac{\text{ppm} \times 25}{\text{berat sampel} \times 10^6} \times 100\%$$

3.5.2 Kadar Protein (Metode Mikro-Kjeldahl)

Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode Makro-Kjeldahl yang dimodifikasi (Sudarmadji *et al.*, 2007), yaitu

1. Timbang 1 g bahan yang telah dihaluskan dan masukkan ke dalam labu Kjeldahl. Kemudian, tambahkan 7,5 g $K_2S_2O_4$ dan 0,35 g HgO dan akhirnya tambahkan 15 ml H_2SO_4 pekat.
2. Panaskan semua bahan dalam labu Kjeldahl dalam almari asam sampai berhenti berasap. Teruskan pemanasan dengan api besar sampai mendidih dan cairan menjadi jernih. Teruskan pemanasan tambahan lebih kurang satu jam. Matikan api pemanasan dan biarkan bahan menjadi dingin.
3. Kemudian tambahkan 100 ml aquades dalam labu Kjeldahl yang didinginkan dalam air es dan beberapa lempeng Zn, juga ditambahkan 15 ml larutan K_2S 4% (dalam air) dan tambahkan perlahan-lahan larutan NaOH 50% sebanyak 50 ml yang sudah didinginkan dalam almari es. Pasanglah labu Kjeldahl dengan segera pada alat distilasi.

4. Panaskan labu Kjeldahl perlahan-lahan sampai dua lapisan cairan tercampur, kemudian panaskan dengan cepat sampai mendidih.
5. Distilat ini ditampung dalam Erlenmeyer yang telah diisi dengan 50 ml larutan standart HCl (0,1 N) dan 5 tetes indicator metal merah. Lakukan distilasi sampai distilat yang tertampung sebanyak 75 ml.
6. Titrasi distilat yang diperoleh dengan standart NaOH (0,1 N) sampai warna kuning.

Perhitungan %N :

$$\%N = \frac{(\text{ml NaOH blanko} - \text{ml NaOH contoh})}{\text{g contoh} \times 1000} \times 100 \times 14,008$$

$$\% \text{ Protein} = \%N \times \text{factor}$$

3.5.3 Kadar Lemak (Metode Goldfish)

Metode yang digunakan untuk mengetahui kadar lemak adalah metode Goldfish, dimana prinsipnya menurut Sudarmadji *et al.*, (2007) adalah mengekstraksi lemak dari sampel dengan pelarut seperti petroleum ether dan dilakukan dengan alat ekstraksi Goldfish. Prosedurnya adalah sebagai berikut :

1. Langkah pertama adalah sampel dikeringkan dalam oven suhu 105 °C selama semalam untuk menghilangkan air dalam sampel.
2. Sampel kering dan halus ditimbang sebanyak 2 gram. Setelah itu sampel tadi diletakkan di atas kertas saring yang telah dikeringkan dan diketahui beratnya. Dilipat menjadi persegi lalu diikat dengan tali. Fungsinya sebagai membran penahan panas ampas sampel sehingga dapat keluar hanya lemak yang larut karena petroleum ether atau petroleum benzene.
3. Kemudian dimasukkan dalam sampel tube dan dipasang tepat di bawah kondensor rangkaian alat goldfish. Bahan pelarut yang digunakan ditempatkan pada gelas piala dan dipasang tepat di bawah kondensor sampai rapat dan tidak dapat diputar lagi.

4. Lalu kran air pendingin diputar dan dialirkan ke kondensor dan alat dinyalakan. Bila gelas piala dipanaskan, uap pelarut akan naik dan didinginkan oleh kondensor sehingga akan mengembun dan menetes pada sampel. Demikian terus-menerus sehingga bahan akan dibasahi oleh pelarut dan lipida akan terekstraksi dan selanjutnya tertampung pada gelas piala.
5. Ekstraksi dilakukan selama 3 jam. Setelah selesai maka alat dimatikan dan kertas saring berisi sampel diambil, setelah tetesan petroleum ether atau benzene dari sampel berhenti, lalu dikeringkan dalam oven suhu 105 °C sampai 30 menit dan ditimbang berat timbal agar sisa petroleum ether atau benzene teruapkan sehingga tidak mengganggu berat akhir.
6. Perhitungan kadar lemak menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Lemak} = \frac{(\text{berat sampel} + \text{berat kertas saring}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.4 Kadar Air (Metode Pengeringan/Thermogravimetri)

Penentuan kadar air dengan menggunakan metode pengeringan (Thermogravimetri) dalam oven dengan cara memanaskan sampel pada suhu 100-105°C sampai diperoleh berat konstan (Sudarmadji *et al.*, 2007).

Perlakuan yang dilakukan dalam penentuan kadar air ini yaitu :

1. Dikeringkan botol timbang bersih dalam oven bersuhu 105 °C selama semalam dengan tutup ½ terbuka
2. Dimasukkan dalam desikator selama 15-30 menit dan timbang beratnya
3. Ditimbang sampel sebanyak 2 gram dan masukkan dalam botol timbang
4. Dikeringkan dalam oven bersuhu 105 °C diamati setiap 2 jam sampai berat konstan
5. Didinginkan dalam desikator selama 15-30 menit
6. Ditimbang berat botol timbang dan sampel
7. Dihitung kadar airnya menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Air (\%WB)} = \frac{(\text{berat botol timbang} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.5 Kadar Abu

Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Kandungan abu dan komposisinya tergantung pada macam bahan dan cara pengabuannya. Kadar abu ada hubungannya dengan mineral suatu bahan. Mineral yang terdapat dalam suatu bahan dapat merupakan dua macam garam yaitu garam organik dan garam anorganik. Penentuan kadar abu adalah dengan mengoksidasikan semua zat organik pada suhu yang tinggi, yaitu sekitar 500-600°C dan kemudian melakukan penimbangan zat yang tertinggal setelah proses pembakaran tersebut (Sudarmadji *et al*, 2007).

Metode yang digunakan dalam analisa kadar abu ini adalah menggunakan metode kering. Prinsip kerja dari metode ini adalah didasarkan pada berat residu pembakaran (oksidasi dengan suhu tinggi sekitar 500-650 °C) terhadap semua senyawa organik dalam bahan. Abu dalam bahan pangan ditetapkan dengan menimbang sisa mineral hasil pembakaran bahan organik pada suhu tinggi sekitar 500-650 °C (Sumardi dan Sasmito, 2007). Prosedurnya penentuan kadar abu adalah sebagai berikut :

1. Dikeringkan porselen dalam oven pada suhu 105 °C selama semalam
2. Dimasukkan desikator selama 15 – 30 menit
3. Ditimbang berat porselen
4. Ditimbang sampel kering halus sebanyak 2 gram
5. Dimasukkan sampel dalam porselen dan abukan dalam muffle bersuhu 650oC sampai seluruh bahan terabukan (abu berwarna keputih-putihan)
6. Dimasukkan dalam desikator selama 15 – 30 menit
7. Ditimbang beratnya
8. Dihitung kadar abunya menggunakan rumus:

$$\text{Kadar abu} = \frac{\text{berat akhir-berat porselen}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.6 Uji Organoleptik

Penilaian organoleptik dilakukan dengan uji hedonic. Parameter yang diuji meliputi rasa, aroma, warna, tekstur, dan keseluruhan produk. Panelis yang digunakan sebanyak 30 orang. Penilaian uji hedonic menggunakan skala garis dengan nilai terendah 1 (amat sangat tidak suka) dan nilai tertinggi 9 (amat sangat suka).

3.5.7 Perlakuan Terbaik dengan Uji De Garmo (De Garmo *et al.*, 1984)

Untuk menentukan kombinasi perlakuan terbaik digunakan metode indeks efektifitas dengan prosedur percobaan sebagai berikut:

1. Mengelompokkan parameter, parameter-parameter fisik dan kimia dikelompokkan terpisah dengan parameter organoleptik.
2. Memberikan bobot 0-1 pada setiap parameter pada masing-masing kelompok. Bobot yang diberikan sesuai dengan tingkat tiap parameter dalam memengaruhi tingkat penerimaan konsumen yang diwakili oleh panelis.

$$\text{Pembobotan} = \frac{\text{Nilai total setiap parameter}}{\text{Nilai total parameter}}$$

3. Menghitung Nilai Efektivitas

$$NE = \frac{Np - Ntj}{Ntb - Ntj}$$

Keterangan : NE = Nilai Efektivitas Ntj = Nilai terjelek

NP = Nilai Perlakuan Ntb = Nilai terbaik

Untuk parameter dengan rerata semakin besar semakin naik, maka nilai terendah sebagai nilai terjelek dan nilai tertinggi sebagai nilai

terbaik. Sebaliknya untuk parameter dengan rerata nilai semakin kecil semakin baik, maka nilai tertinggi sebagai nilai terjelek dan nilai terendah sebagai nilai terbaik.

4. Menghitung Nilai Produk (NP)

Nilai produk diperoleh dari perkalian NE dengan bobot nilai.

$$NP = NE \times \text{bobot nilai}$$

5. Menjumlahkan nilai produk dari semua parameter pada masing-masing kelompok. Perlakuan yang memiliki nilai produk tertinggi adalah perlakuan terbaik pada kelompok parameter.

6. Perlakuan terbaik dipilih dari perlakuan yang mempunyai nilai produk yang tertinggi untuk parameter organoleptik.

