

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan pada penelitian ini meliputi bahan baku, bahan untuk pembuatan serbuk, dan bahan untuk analisis kimia. Bahan baku menggunakan ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) yang berasal dari Sidoarjo dalam keadaan hidup. Dengan berat 200-400 gram dengan panjang tubuh ± 25 cm. Bahan yang digunakan untuk pembuatan serbuk yaitu maltodekstrin, *crude* albumin yang diperoleh dari hasil ekstraksi ikan gabus dan *tween* 80. Bahan yang digunakan dalam analisis kimia yaitu serbuk *crude* albumin, *silica gel*, *aquadest*, kain blacu, biuret, *Bovine Serum Albumin* (BSA), NaOH.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat untuk filtrat, alat dalam pembuatan serbuk, alat dalam analisis kimia. Alat untuk memperoleh *crude* albumin antara lain pisau, timbangan digital, baskom, talenan, gelas ukur 100 ml, botol plastik 1500 ml, stopwatch, ekstraktor vakum dan alat pemeras. Alat untuk pembuatan serbuk antara lain oven, ayakan 60 *mesh*, gelas ukur, pipet tetes, pengaduk, loyang, baskom, piring porselen, sendok bahan, blender dan timbangan digital. Alat yang digunakan dalam analisis kimia antara lain pengujian proksimat diantaranya oven, botol timbang, *muffle*, spektrofotometer, desikator, crushable tank, botol film, curs porselen, HPLC, sentrifuse, waterbath, inkubator, cuvet, tabung

reaksi, pipet tetes, pipet volume, gelas ukur, timbangan digital, dan timbangan sartorius.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen merupakan metode yang paling kuat untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat. Rancangan penelitian eksperimen dapat dibedakan menjadi 2 rancangan yaitu rancangan eksperimen murni dan rancangan eksperimen semu (*quasi experiment*). Berdasarkan lokasi penelitian, umumnya penelitian eksperimen dapat dilakukan di klinik (uji klinis) dan dilakukan di lapangan (penelitian intervensional) yang banyak dilakukan pada penelitian operasional (Budiarto dan Dewi, 2001).

Menurut Umar (2002), sebuah eksperimen membutuhkan langkah yang lengkap sebelum eksperimen dilakukan agar data yang diperlukan dapat diperoleh, yang hasilnya nanti dapat mengarahkan periset pada analisis yang obyektif.

Perlakuan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan variasi konsentrasi maltodekstrin yang ditambahkan pada pembuatan serbuk. Pada penelitian ini dilakukan penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk memperoleh berapa konsentrasi maltodekstrin terbaik yang ditambahkan pada pembuatan serbuk yang akan digunakan untuk penelitian utama. Sedangkan penelitian utama adalah untuk memperoleh konsentrasi dekstrin terbaik dengan *range* yang semakin kecil dalam pembuatan serbuk dengan mempertimbangkan kandungan gizi.

3.2.2 Variabel

Variabel adalah sesuatu yang menjadi pusat atau fokus perhatian, yang memberikan pengaruh dan memiliki nilai sehingga dapat berubah. Variabel dapat disebut juga peubah. Variabel merupakan objek penelitian yang dapat menentukan hasil penelitian. Ada beberapa macam variabel yaitu: Variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas yaitu variabel yang sengaja dapat diubah dan dimanipulasi oleh peneliti. Variabel bebas sengaja dibuat bervariasi oleh peneliti. Sedangkan variabel terikat yaitu variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Ketika variabel bebas berubah, variabel terikat ikut berubah (Mutiara, *et al.*, 2008).

Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi maltodekstrin sebagai filler yang ditambahkan dalam pembuatan serbuk. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar albumin, kadar protein, rendemen serbuk, kadar air, kadar abu, daya serap uap air dan organoleptik skoring (aroma dan warna), serta profil asam amino perlakuan optimum serbuk *crude* albumin ikan gabus.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi terbaik maltodekstrin. Setelah ditemukan konsentrasi terbaik digunakan sebagai acuan penelitian utama pada pembuatan serbuk *crude* albumin. Konsentrasi maltodekstrin yang digunakan pada penelitian pendahuluan adalah 5%, 10%, 15%. Penentuan konsentrasi maltodekstrin berdasarkan penelitian Yuliawaty (2015), mengenai pembuatan serbuk instan mengkudu (*Morinda citrifolia* L) dengan penambahan maltodekstrin.

3.3.2 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi maltodekstrin yang optimal pada pembuatan serbuk *crude* albumin. Hasil terbaik dari penelitian pendahuluan digunakan sebagai dasar konsentrasi maltodekstrin penelitian utama. Hasil uji serbuk *crude* albumin pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Serbuk *Crude* Albumin Pada Penelitian Pendahuluan

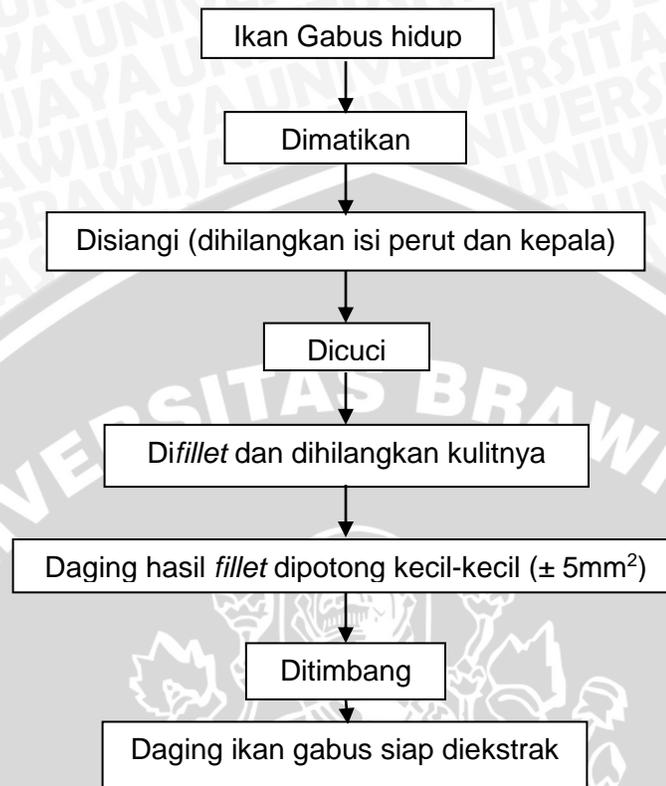
Konsentrasi Maltodekstrin	Kadar Albumin (d/dl)	Kadar Air (%)
5%	0,34	13,78
10%	0,32	13,19
15%	0,31	11,32

Sumber : Data diolah

Konsentrasi yang terbaik dari penelitian pendahuluan adalah maltodekstrin 5% karena mengandung kadar albumin yang tertinggi. Pada penelitian utama menggunakan konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7%, 9% sebagai perlakuan.

3.3.3 Proses Pembuatan *Crude* Albumin Ikan Gabus

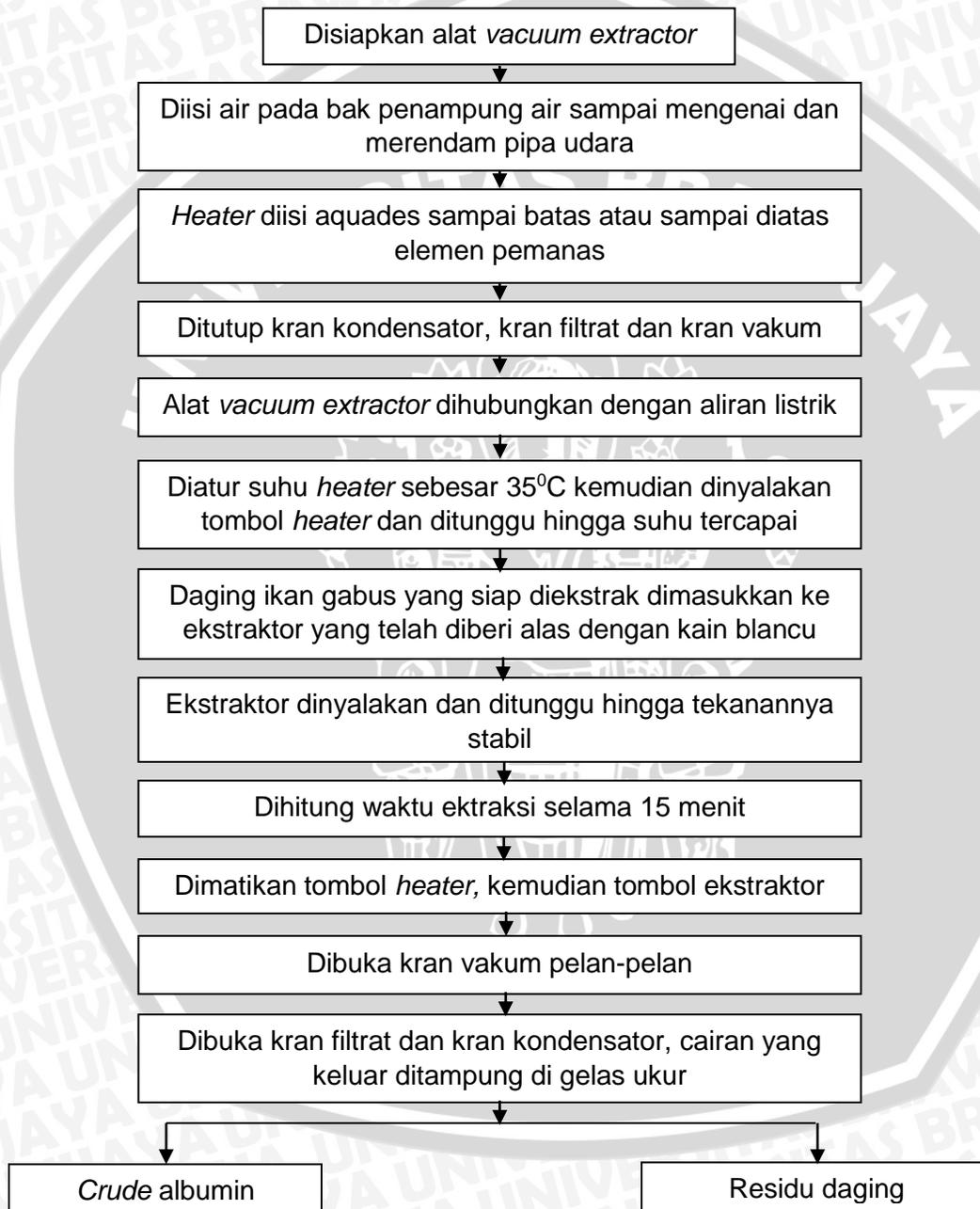
Proses pembuatan *crude* albumin ikan gabus bahan yang disiapkan ikan gabus yang masih hidup kemudian dimatikan. Kemudian dibuang isi perut dan insang. dan *difillet*. Selanjutnya fillet daging yang diperoleh dipisahkan dengan kulitnya dan yang digunakan hanya dagingnya saja. Kemudian dipotong kecil-kecil ($\pm 5 \text{ mm}^2$) dan ditimbang sebanyak 250 g dengan menggunakan timbangan digital. Berat 250 g merupakan kapasitas maksimal yang dapat ditampung oleh vakum ekstrator. Gambar prosedur persiapan bahan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Prosedur Persiapan Bahan

Selanjutnya ekstraksi ikan gabus dengan ekstraktor vakum. Langkah pertama yaitu diisi bak air sampai batas dan merendam pipa pompa, kemudian *heater* diisi dengan pelarut aquades 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 ikan dimasukkan ke *heater* yang telah dilapisi dengan kain saring dan *heater* ditutup rapat. Lalu ekstraktor dinyalakan dan ditunggu hingga tekanannya vakum, setelah tekanan stabil ditunggu hingga 15 menit. Suhu, waktu dan tekanan yang digunakan sesuai dengan hasil dari penelitian sebelumnya yang diketahui bahwa suhu 35°C, waktu 15 menit dan tekanannya vakum merupakan perlakuan yang terbaik yang digunakan untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang terbaik. Setelah didapatkan *crude albumin* dilakukan uji kadar

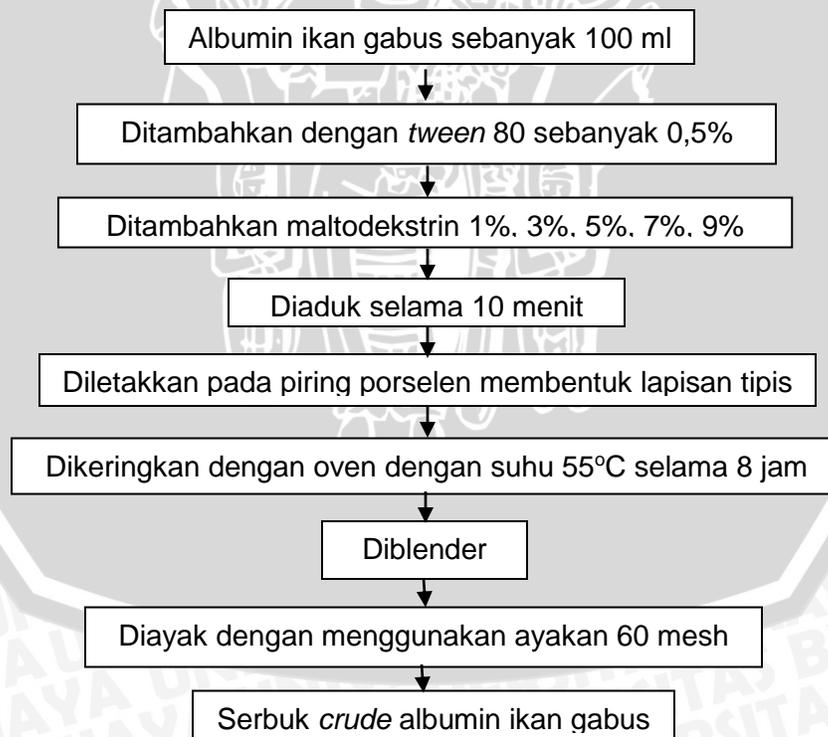
albumin. Dan residu dari pembuatan ekstrak albumin ikan gabus ini dimanfaatkan sebagai bahan diversifikasi produk ikan gabus. Prosedur untuk memperoleh *crude* albumin dari ikan gabus dengan menggunakan ekstraktor vakum dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Prosedur Pembuatan *Crude Albumin*

3.3.4 Proses Pembuatan Serbuk

Proses pembuatan serbuk bahan yang digunakan adalah *crude* albumin ikan gabus sebanyak 100 ml. Kemudian *crude* albumin ikan gabus ditambahkan dengan *tween* 80 sebanyak 0,5% yang berfungsi sebagai *foaming agent*. Selanjutnya ditambahkan dengan maltodekstrin dengan variasi konsentrasi 5%, 10% dan 15%. *Crude* albumin ikan gabus diaduk dengan menggunakan *mixer* ±5 menit sampai terbentuk busa. Bahan yang berbentuk busa tersebut diletakkan pada loyang dengan membentuk lapisan tipis. Kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 55°C selama 8 jam. Selanjutnya dilakukan proses penepungan dengan blender dan diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh untuk mendapatkan serbuk *crude* albumin ikan gabus yang halus dan homogen. Gambar pembuatan serbuk dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pembuatan Serbuk

3.4 Analisis Data

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui konsentrasi maltodekstrin agar menghasilkan yang berkualitas. Analisis data dalam penelitian utama menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 6 perlakuan. Sesuai rumus perhitungan dalam menentukan ulangan dalam suatu penelitian, penelitian ini dilakukan dengan 4 kali ulangan. Rumus perhitungan ulangan adalah:

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

$$(6-1)(r-1) \geq 15$$

$$5(r-1) \geq 15$$

$$5r-5 \geq 15$$

$$5r \geq 15+5$$

$$r \geq 4$$

Keterangan:

t = jumlah perlakuan

r = jumlah ulangan

Model matematik rancangan acak lengkap (RAL) adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \Sigma_{ij}$$

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

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

Keterangan:

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

μ = nilai tengah umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i

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

Model rancangan percobaan pada penelitian utama dapat dilihat pada Tabel. 7

Tabel 7. Model Rancangan Percobaan Pada Penelitian Utama

Perlakuan		Ulangan				Total	Rata-rata
Crude Albumin	Konsentrasi Maltodekstrin	I	II	III	IV		
100 mL	A (1%)	A1	A2	A3	A4	AT	AR
	B (3%)	B1	B2	B3	B4	BT	BR
	C (5%)	C1	C2	C3	C4	CT	CR
	D (7%)	D1	D2	D3	D4	DT	DR
	E (9%)	E1	E2	E3	E4	ET	ER

Langkah selanjutnya adalah membandingkan F hitung dengan F tabel:

1. Jika $F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$, maka tidak berbeda nyata.
2. Jika $F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$, maka sangat berbeda nyata.
3. Jika $F_{tabel 5\%} < F_{hitung} < F_{tabel 1\%}$, maka berbeda nyata.

Apabila hasil perhitungan berbeda nyata maka akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan yang optimal diketahui dari analisis dan organoleptiknya.

3.5 Prosedur Analisis Parameter

3.5.1 Analisis Kadar Albumin

Albumin merupakan protein plasma yang paling tinggi jumlahnya sekitar 60% dan memiliki berbagai fungsi yang sangat penting bagi kesehatan yaitu pembentukan jaringan sel baru, mempercepat pemulihan jaringan sel tubuh yang rusak serta memelihara keseimbangan cairan di dalam pembuluh darah dengan cairan di dalam rongga interstitial dalam batas-batas normal, kadar albumin dalam darah 3,5–5 g/dl (Rusli *et al.*, 2006). Albumin merupakan protein utama dalam plasma manusia (kurang lebih 4,5 g/dl), berbentuk elips dengan panjang 150 Å, mempunyai berat molekul yang bervariasi tergantung jenis spesies. Berat molekul albumin plasma manusia 69.000, albumin telur 44.000 dan didalam daging mamalia 63.000.

Dalam penentuannya analisis kadar albumin diperlukan adanya kurva standar untuk menggambarkan hubungan antara konsentrasi dengan OD. Analisis kadar albumin menggunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA). Diukur berdasarkan panjang gelombang 600 nm. Protein dengan asam fosfotungstat-fosfomolibdat akan memberikan warna biru (Sudarmadji *et al.*, 2010).

Penentuan kadar albumin menurut Kusumangrum *et al.* (2014), menggunakan spektrofotometer dengan albumin sekitar 300 μ g/ml. Kemudian ditambahkan 8 ml reagen lowry B dan didiamkan 10 menit. Lalu ditambahkan 1 ml reagen lowry A diaduk dan didiamkan 20 menit. Kemudian membaca OD (*absorbance*) panjang gelombang 600 nm dengan spektrofotometer. Dilanjutkan dengan membuat kurva standar yang menunjukkan hubungan OD dan konsentrasi pada absis. Prosedur analisis kadar albumin dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.5.2 Analisis Kadar Protein

Analisis kadar protein menggunakan indikator banyaknya nitrogen yang terkandung di dalam bahan pangan. Total nitrogen ahan pangan tidak hanya berasal dari protein tetapi juga berasal dari komponen non-protein. Dengan metode analisis yang digunakan berbeda komponen seperti lipid dan karbohidrat dapat mempengaruhi hasil analisis pangan.

Pada metode spektrofotometer dalam menentukan protein tahap ertama yang dilakukan adalah menggambar kurva standart. Kurva standart dibuat dengan menggunakan larutan protein murni atau larutan protein yang sudah diketahui kadar proteinnya dengan konsentrasi yang semakin meningkat. Kemudian membuat gambar kurva standart yang digunakan untuk menunjukkan hubungan antara kadar protein dengan OD (Sudarmadji *et al.*, 2007).

Pembuatan Reagen Biuret Reagen Biuret dibuat dengan melarutkan 0,15 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 0,6 NaKTartrat dalam labu ukur 50 ml. Kemudian larutan dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, selanjutnya ditambah 30 ml NaOH 10% dan digenapkan aquades. Kurva standar dibuat dengan, disiapkan larutan protein (BSA) dengan konsentrasi 10 mg/ml. Larutan protein tersebut disiapkan dengan cara meningkatkan konsentrasinya yaitu 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mg/ml dalam 0,5 ml. Kemudian diaduk hingga larutan tercampur, lalu ditambahkan ke dalam tabung reaksi 2 ml reagen biuret dan dihomogenisasi lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Diukur absorbansi larutan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

Pengukuran sampel dilakukan dengan cara menimbang 1 g, kemudian ditambah 1 ml NaOH 1 M dan 9 ml aquades. Kemudian dipanaskan dalam *waterbath* selama 10 menit. Kemudian diambil 1 ml supernatan dan ditambah 4 ml reagen biuret. Setelah itu campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Prosedur analisis kadar protein dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.5.3 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air merupakan komponen penting dalam bahan makanan karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur dan cita rasa bahan makanan. Kandungan dalam bahan pangan menentukan *acceptability*, kesegaran dan daya tahan bahan terhadap serangan mikroba (Winarno, 2004). Menurut Sudarmadji *et al.* (2007), prinsip penentuan kadar air dengan metode Thermogravimetri adalah menguapkan air yang ada dalam bahan pangan dengan jalan pemanasan kemudian menimbang bahan sampai berat konstan yang berarti semua air sudah diuapkan.

Metode yang digunakan untuk menentukan kadar air adalah cara pemanasan. Prinsip metode ini adalah sampel dipanaskan pada suhu (100-105)°C hingga didapat berat konstan. Kemudian sampel dihaluskan dan ditimbang sebanyak 2 gram dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya. Lalu sampel dikeringkan didalam oven dengan suhu 105 °C selam 3-5 jam. Selanjutnya dimasukkan di dalam desikator dan ditimbang. Kemudian dimasukkan lagi di dalam oven selama 30 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Perlakuan diulangi sampai berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 miligram). Pengurangan berat adalah banyaknya air dalam bahan. Prosedur analisa kadar protein dapat dilihat pada Lampiran 3.

$$\% \text{ Wb} = \frac{(A+B)-C}{B} \times 100\%$$

Keterangan :

Wb = Kadar air basah

A = Berat botol timbang

B = Berat sampel

C = Berat botol timbang dan sampel sesudah dioven

3.5.4 Analisis Kadar Abu

Analisis kadar abu memiliki tujuan untuk menentukan baik tidaknya suatu proses pengolahan untuk mengetahui jenis bahan yang digunakan dan penentuan abu total berguna sebagai para meter nilsi gizi bahan makanan. Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik (Sudarmadji *et al.*, 2007). Prosedur pengujian kadar abu dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.5.5 Analisis Daya Serap Uap Air (Susanti dan Putri, 2014)

Analisis daya serap uap air adalah untuk mengetahui prosentase daya serap produk terhadap uap air jika disimpan dalam suhu ruang. Analisis daya serap uap air menggunakan toples kaca yang diisi air sesuai volume toples. Kemudian sampel

disimpan dalam toples dengan mengikatnya pada tutup menggunakan benang. Sampel yang terikat, digantung tanpa kontak dengan air. Lalu toples ditutup selama 30 menit dan dihitung nilai penyerapan uap airnya. Prosedur analisis daya serap uap air dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.5.6 Organoleptik Skoring

Organoleptik skoring bertujuan untuk mengurutkan perlakuan terbaik dari sebuah penelitian yang dinyatakan dari skor mulai dari 1 hingga 7. Organoleptik skoring dilakukan dengan menggunakan indera penciuman untuk parameter aroma dan penglihatan untuk parameter warna. Panelis diminta untuk memberikan skor terhadap aroma dengan skala 1 (sangat amis), 2 (amis), 3 (agak amis), 4 (agak tidak amis), 5 (tidak amis), 6 (sangat tidak amis), dan 7 (amat sangat tidak amis). Panelis juga diminta untuk memberikan skor terhadap warna dengan skala 1 (sangat tidak cerah), 2 (tidak cerah), 3 (agak tidak cerah), 4 (agak cerah), 5 (cerah), 6 (sangat cerah), 7 (amat sangat cerah). Selanjutnya, hasil organoleptik skoring dianalisis dengan ANOVA.

3.5.7 De Garmo

De garmo merupakan nilai efektivitas yang diperoleh dikalikan dengan nilai normalisasi dari bobot yang diberikan untuk masing-masing parameter. Langkah terakhir adalah menjumlahkan hasil kali nilai efektivitas dengan nilai normalisasi dari masing-masing alternatif. Nilai jumlah yang terbesar adalah merupakan alternatif pilihan terbaik.

3.5.8 Profil Asam Amino

Profil asam amino dapat dianalisis dengan berbagai peralatan seperti *Amino Acid Analyzer*, *Thin Layer Chromatography (TLC)*, *Ion Exchange Chromatography*, dan *Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometer (LC-MS)*. Kromatografi cair

(*liquid chromatography*) adalah teknik pemisahan senyawa yang tidak tahan terhadap suhu tinggi seperti asam amino, peptida dan protein. *Mass spectrophotometer* (MS) adalah alat yang mampu memberi informasi terkait berat molekul dan struktur senyawa organik. Alat ini juga dapat mengidentifikasi komponen-komponen suatu senyawa. LC-MS digunakan fasa gerak atau pelarut untuk membawa sampel melalui kolom yang berisi padatan pendukung yang dilapisi cairan sebagai fasa diam. Selanjutnya analit dipartisikan di antara fasa gerak dan fasa diam tersebut, sehingga terjadi pemisahan karena adanya perbedaan koefisien partisi. Sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasiomassa/muatan (m/z), yang selanjutnya dideteksi secara elektrik menghasilkan spektramassa. Spektramassa merupakan rangkaian puncak-puncak yang berbeda-beda tingginya (Hermiastuti, 2013)

