

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan sebuah survei tentang kandungan asam lemak tak jenuh pada makanan tradisional Jawa Timur. Terdapat sepuluh kelompok makanan yang disurvei yaitu bakso, tahu tek, pecel, rujak cingur, tahu campur, rawon, soto ayam, soto daging, sate kambing, dan sate ayam. Penelitian ini merupakan studi pendahuluan untuk mengetahui gambaran umum kandungan asam lemak tak jenuh omega enam pada makanan tradisional Jawa Timur.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah makanan tradisional Jawa Timur yang dijual di wilayah Kota Malang. Ada sepuluh kelompok makanan yang diteliti yaitu bakso malang, rawon, soto daging, soto ayam, sate ayam, sate kambing, pecel, rujak cingur, tahu tek, dan tahu campur.

1.2.2 Sampel

Jumlah penjual pada sepuluh kelompok makanan tradisional Jawa Timur yang diteliti, tidak diketahui. Jumlah sampel yang diteliti ditentukan secara proporsional untuk semua kelompok makanan. Terdapat masing-masing 5 sampel. Tiap sampel diambil dari satu tempat penjual makanan yang berbeda dalam kelompok makanan tersebut. Metode pengambilan sampel dilakukan dengan cara *convenience sampling* (non-random).

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Februari 2013 s.d. Mei 2013 di Laboratorium Biokimia Universitas Muhammadiyah Malang.

1.4 Variabel penelitian

- Kadar asam lemak tak jenuh omega enam
- Kelompok makanan tradisional Jawa Timur

1.5 Definisi Operasional

A. Makanan Tradisional

Makanan tradisional Jawa Timur adalah makanan dan minuman, termasuk makanan jajanan serta bahan campuran yang digunakan secara tradisional dan telah lama berkembang secara spesifik di daerah atau masyarakat Indonesia. Makanan tradisional yang diteliti adalah bakso, rawon, soto daging, soto ayam, sate ayam, sate kambing, pecel, rujak cingur, tahu tek, dan tahu campur.

Pada porsi makanan rawon yang dimasukkan dalam analisis lemak tak jenuh omega enam adalah kuah beserta bumbunya, sedangkan pada soto ayam yang dimasukkan dalam analisis lemak tak jenuh omega enam adalah kuah beserta bumbu tanpa bahan pelengkap seperti telur, bihun, dan sayuran pelengkap. Pada soto daging yang dimasukkan dalam analisis lemak tak jenuh omega enam adalah kuah beserta bumbu tanpa bahan pelengkap seperti bihun dan sayuran pelengkap.

Pada bakso yang dimasukkan dalam analisis lemak tak jenuh omega enam adalah bakso beserta kuahnya tanpa bahan pelengkap seperti gorengan dan saus. Pada tahu campur yang dimasukkan dalam

analisis lemak tak jenuh omega enam adalah semua bahan tahu campur seperti tahu, mie, sayuran, bumbu, dan tulang muda. Pada sate kambing yang dimasukkan dalam analisis lemak tak jenuh omega enam adalah daging kambing beserta bumbu saus kacang. Pada sate ayam yang dimasukkan dalam analisis lemak tak jenuh omega enam adalah daging ayam beserta bumbu saus kacang.

Pada tahu tek yang dimasukkan dalam analisis lemak tak jenuh omega enam adalah tahu dan bumbu kacang tanpa lontong. Pada rujak cingur yang dimasukkan dalam analisis lemak tak jenuh omega enam adalah beberapa jenis buah seperti timun dan bengkuang serta irisan mulut sapi. Pada pecel yang dimasukkan dalam analisis lemak tak jenuh omega enam adalah sayuran beserta bumbu saus kacang.

B. Asam Lemak Tak Jenuh Omega Enam

Asam lemak tak jenuh omega enam dalam penelitian ini adalah asam linoleat, dengan satuan ukuran gram per 100 gram makanan. Kadar asam lemak tak jenuh diukur dengan melihat nilai absorbansi pada alat spektrofotometri.

4.6 Alat Instrumen

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- ✓ *Blender*
- ✓ Timbangan
- ✓ Botol *Schoot*
- ✓ Corong Pemisah
- ✓ Gelas ukur
- ✓ Pipet Ukur
- ✓ Serbuk Silika
- ✓ Larutan Heksan
- ✓ Kolom Kromatografi
- ✓ Statif
- ✓ Klem
- ✓ Glass Woll
- ✓ Larutan Na₂SO₄
- ✓ Larutan Metanol
- ✓ Gelas Kimia
- ✓ Tabung Reaksi
- ✓ Spektrofotometer dan Kuvet

4.7 Prosedur Penelitian

Untuk mendapatkan kadar lemak tak jenuh pada makanan kita melakukan persiapan sampel, persiapan kolom kromatografi, dan pemisahan fraksi lipid.

Pada persiapan sampel dengan proses:

1. Menghomogenkan bahan sampel dengan menggunakan *blender* kemudian menimbang sebanyak 10 g, lalu memasukkan ke dalam botol *schoot*.
2. Memberikan perbandingan larutan methanol dan heksan dengan perbandingan 1:1 sebanyak 50 mL, kemudian menutup botol dan

mengocok selama 1 menit, kemudian mendinginkan selama 60 menit pada suhu ruangan dan mengocok selama 1 menit. Proses dilakukan selama 12 jam dengan metode yang sama seperti di atas.

3. Menyaring larutan ke dalam corong pemisah, kemudian memisahkan pada corong pisah, dengan mengambil larutan fase bawah ke dalam gelas kimia, dan menampung larutan fase atas ke gelas kimia yang lain untuk ditampung.
4. Melakukan reekstraksi dengan menambahkan larutan fase bawah dengan 50 mL perbandingan larutan methanol:heksan, dan memisahkan fase yang terjadi antara fase atas dan fase bawah. Fase bawah dibuang. Jika larutan fase atas yang ditampung kurang dari 50 mL, maka ditambahkan ke dalamnya larutan heksan hingga mencapai volume 50 mL.

Pada persiapan kolom kromatografi dengan proses:

1. Menyiapkan kolom kromatografi dan memasangnya dengan benar.
2. Mengisi dengan glass wool dan memasukkan hingga dasar kolom, dengan ketebalan 2-5 cm.
3. Mengisi kolom dengan campuran Na_2SO_4 dan serbuk silika (1:1) setinggi 20 cm.



Gambar 4.1 Kolom Kromatografi (Dokumen Pribadi)

Pada pemisahan fraksi lipid dengan proses:

1. Memasukkan terlebih dahulu 25 mL dari perbandingan larutan methanol:heksan yaitu 1:1, kemudian menunggu sampai ada laruta yang keluar kira-kira sampai 6 jam.
2. Jika sudah terdapat larutan yang keluar, kemudian memasukkan larutan yang telah disiapkan ke dalam kolom dan tunggu untuk ditampung sampai 4 jam kemudian.
3. Setelah 4 jam, memasukkan perbandingan larutan methanol:heksan (1:1) sebanyak 25 mL.
4. Mencatat waktu penuangan sebagai titik awal pengembangan.
5. Menampung larutan yang keluar dari kran pada jam ke-8 dari titik pengembangan dan membiarkan larutannya keluar terlebih dahulu sampai menit ke-20 kemudian menampung larutan setelah menit

ke-20 sampai menit ke-40 untuk mendapatkan asam lemak tak jenuh rantai ganda.

6. Mengukur absorbansi pada λ 360 nm dan menentukan kadar fraksi asam lemak ditentukan dengan kurva standar.
7. Membandingkan dengan bahan standar dari laboratorium untuk kada asam lemak tak jenuh dengan asam lemak linoleat.

4.8 Pengumpulan Data

Setiap sampel makanan sebelum dianalisis di laboratorium, diukur beratnya per gram dan dicatat. Hasil kadar asam lemak tak jenuh omega enam yang didapatkan dari laboratorium biokimia Universitas Muhammadiyah Malang akan digabungkan dengan data berat per porsi yang diukur ke dalam tabel gabungan (*master table*).

4.9 Analisis Data

Data yang telah ditabulasikan dihitung rata-rata dan simpang baku per 100 gram bahan makanan dan per porsi. Untuk menilai distribusi data dilakukan uji normalitas *Shapiro-wilk* dengan standar nilai $p > 0,05$. Kemudian, terdapat uji *one-way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui beda rata-rata kadar asam lemak tak jenuh omega enam antar kelompok makanan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 20. Untuk mengetahui dimana letak perbedaan tiap makanan, dilakukan uji *Post-Hoc LSD (Least Significant Difference)*.