

III. METODOLOGI

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi bahan baku, bahan untuk pembuatan serbuk, dan bahan untuk analisis kimia. Bahan baku dalam penelitian ini menggunakan ikan gabus (*Ophicephalus striatus*) yang berasal dari Bendungan Lahor, Sumber Pucung, Malang. Bahan yang digunakan untuk pembuatan serbuk yaitu CMC, crude albumin yang diperoleh dari hasil ekstraksi ikan gabus dan *Tween 80*. Bahan yang digunakan dalam analisis kimia yaitu silica gel, aquadest, kain blacu.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat 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, ekstraktor vakum dan alat press. Alat untuk pembuatan serbuk antara lain oven, ayakan 60 mesh, gelas ukur, pipet tetes, pengaduk, loyang, baskom, dan timbangan digital. Alat yang digunakan dalam analisis kimia antara lain pengujian proksimat diantaranya oven, botol timbang.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Setyanto (2005) eksperimen merupakan sebagai suatu penelitian ilmiah dimana peneliti memanipulasi dan mengontrol satu atau lebih variabel bebas dan melakukan pengamatan terhadap variabel-variabel terikat untuk menemukan

variasi yang muncul bersamaan dengan manipulasi terhadap variabel bebas tersebut. Eksperimen berperan penting dalam mengembangkan proses dan dapat digunakan untuk menyelesaikan permasalahan dalam proses agar kinerja proses meningkat.

Perlakuan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan variasi konsentrasi CMC yang ditambahkan pada pembuatan serbuk. Pada penelitian ini dilakukan penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk memperoleh berapa konsentrasi CMC terbaik yang ditambahkan pada pembuatan serbuk yang akan digunakan untuk penelitian utama. Sedangkan penelitian utama adalah untuk memperoleh konsentrasi CMC optimum untuk menghasilkan serbuk *crude* albumin yang terbaik.

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.

Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi filler yang ditambahkan dalam pembuatan serbuk. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar albumin dan kadar air, kadar protein, daya serap air, kadar abu, rendemen, organoleptik warna dan aroma.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Penelitian Tahap 1

Penelitian tahap 1 bertujuan untuk melakukan preparasi bahan baku dan mengetahui proses ekstraksi ikan gabus dengan menghitung kadar albumin daging ikan gabus. Dalam proses ini ada dua langkah yang dikerjakan yaitu proses preparasi bahan baku dan proses ekstraksi ikan gabus.

3.3.1.1 Preparasi Bahan Baku

Preparasi Bahan baku yang dilakukan ialah mengumpulkan ikan gabus yang masih segar dan hidup yang diperoleh dari Bendungan Lahor, Sumber Pucung, Malang, kemudian ikan dimatikan dengan cara dipukul bagian kepalanya dan dilakukan penyiangan. Sebelum di fillet ikan ditimbang terlebih dahulu, untuk 1 kg ikan utuh didapatkan daging hasil fillet sebanyak 413 gram, sehingga didapat rendemen daging ikan gabus sebesar 41,3%.

$$\begin{aligned}\text{Rendemen daging ikan gabus (\%)} &= \frac{\text{berat akhir daging ikan gabus}}{\text{berat awal ikan gabus}} \times 100\% \\ &= \frac{413}{1000} \times 100\% \\ &= 41,3\%\end{aligned}$$

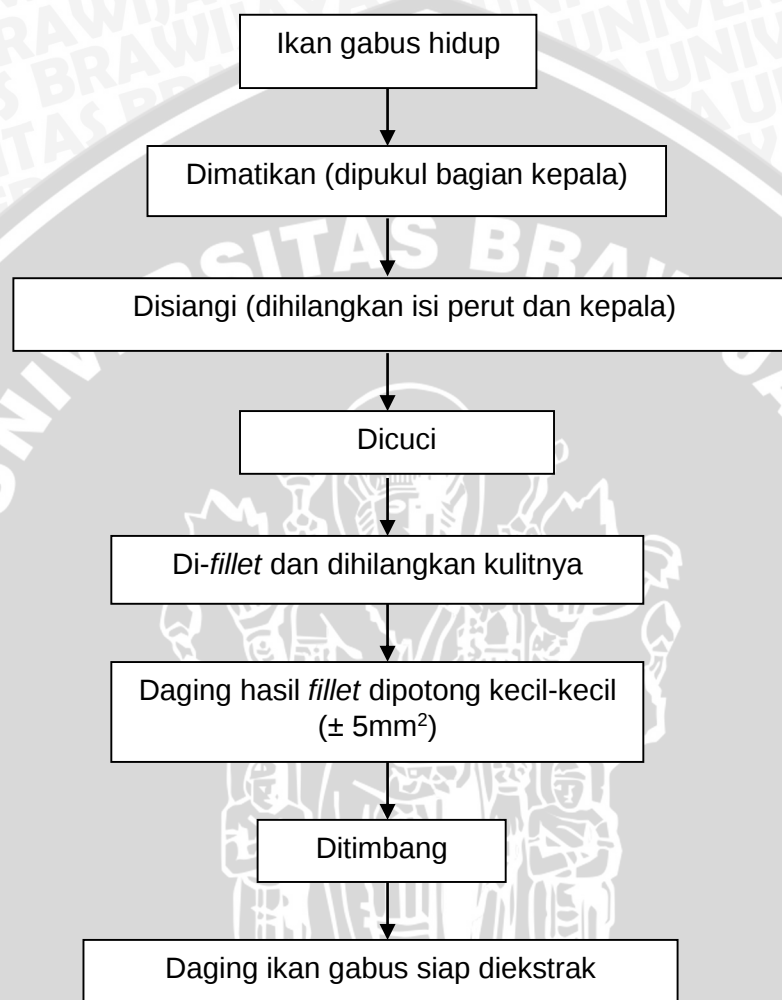
Setelah didapat daging ikan gabus kemudian dilakukan proses ekstraksi dengan ekstraktor vakum hingga didapat filtrat dan residu. Pada proses ekstraksi pertama untuk 300 gram baging, didapatkan filtrat sebanyak 171,81 ml dan residu sebanyak 213,01 g. Rendemen residu yang didapat sebesar 51,58% sedangkan rendemen filtrat sebesar 48,42 %.

$$\begin{aligned}\text{Rendemen residu ikan gabus (\%)} &= \frac{\text{berat akhir daging ikan gabus}}{\text{berat awal ikan gabus}} \times 100\% \\ &= \frac{213,01}{413} \times 100\% \\ &= 51,58\%\end{aligned}$$

$$\text{Rendemen filtrat ikan gabus (\%)} = 100 \% - 51,58\%$$

= 48,42%

Pada setiap kali preparasi bahan, daging yang dipersiapkan untuk satu kali ekstraksi adalah sekitar 250 hingga 300gram daging ikan gabus. Prosedur preparasi sampel dapat dilihat pada Gambar 4.

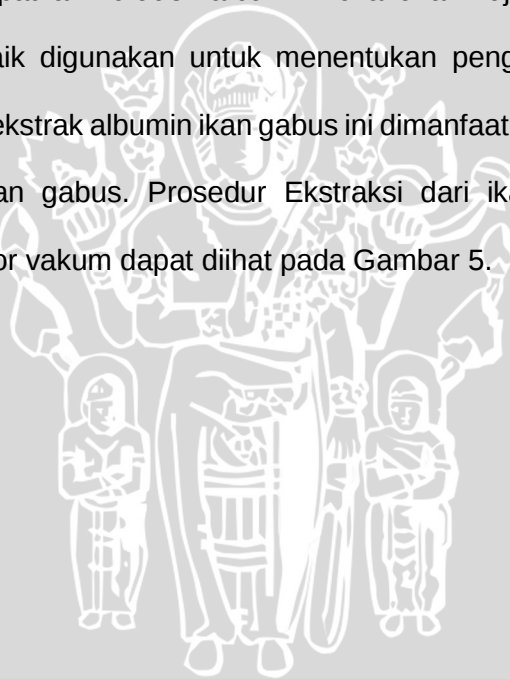


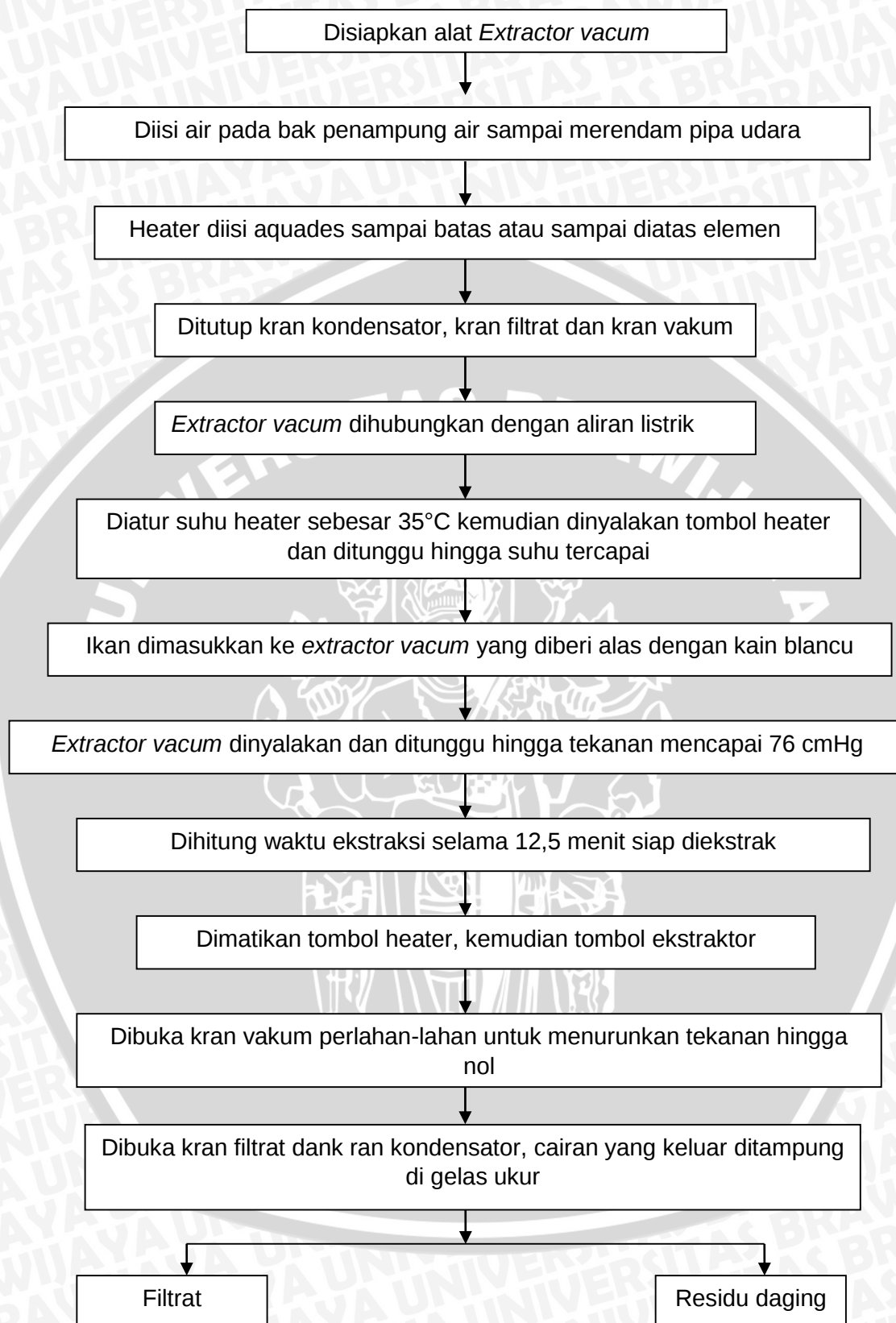
Gambar 4. Prosedur Preparasi Sampel

3.3.1.2 Ekstraksi Ikan Gabus

Ekstraksi ikan gabus dilakukan dengan alat ekstraktor vakum. Prinsip dari alat ini adalah dengan memanaskan daging ikan seperti steam namun dengan suhu tertentu dan kondisi yang vakum. Kelebihan dari alat ini adalah suhu pemanasannya dapat diatur dan kondisi ruang ekstraksinya vakum sehingga lebih mengoptimalkan proses ekstraksi ikan gabus. Langkah pertama proses ekstraksi yaitu diisi bak air ekstraktor vakum sampai batas dan merendam pipa pompa,

kemudian heater diisi dengan pelarut aquades hingga batas garis yang tertera pada selang control 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 yaitu 76 CmHg, setelah tekanan stabil ditunggu hingga 12,5 menit. Suhu, waktu dan tekanan yang digunakan sesuai dengan hasil dari penelitian sebelumnya yang diketahui bahwa suhu 35°C , waktu 12,5 menit dan tekanannya vakum merupakan perlakuan yang terbaik yang digunakan untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang terbaik. Setelah didapatkan crude albumin dilakukan uji kadar albumin. Selanjutnya hasil terbaik digunakan untuk menentukan penggunaan alat. Dan residu dari pembuatan ekstrak albumin ikan gabus ini dimanfaatkan sebagai bahan diversifikasi produk ikan gabus. Prosedur Ekstraksi dari ikan gabus dengan menggunakan ekstraktor vakum dapat dilihat pada Gambar 5.

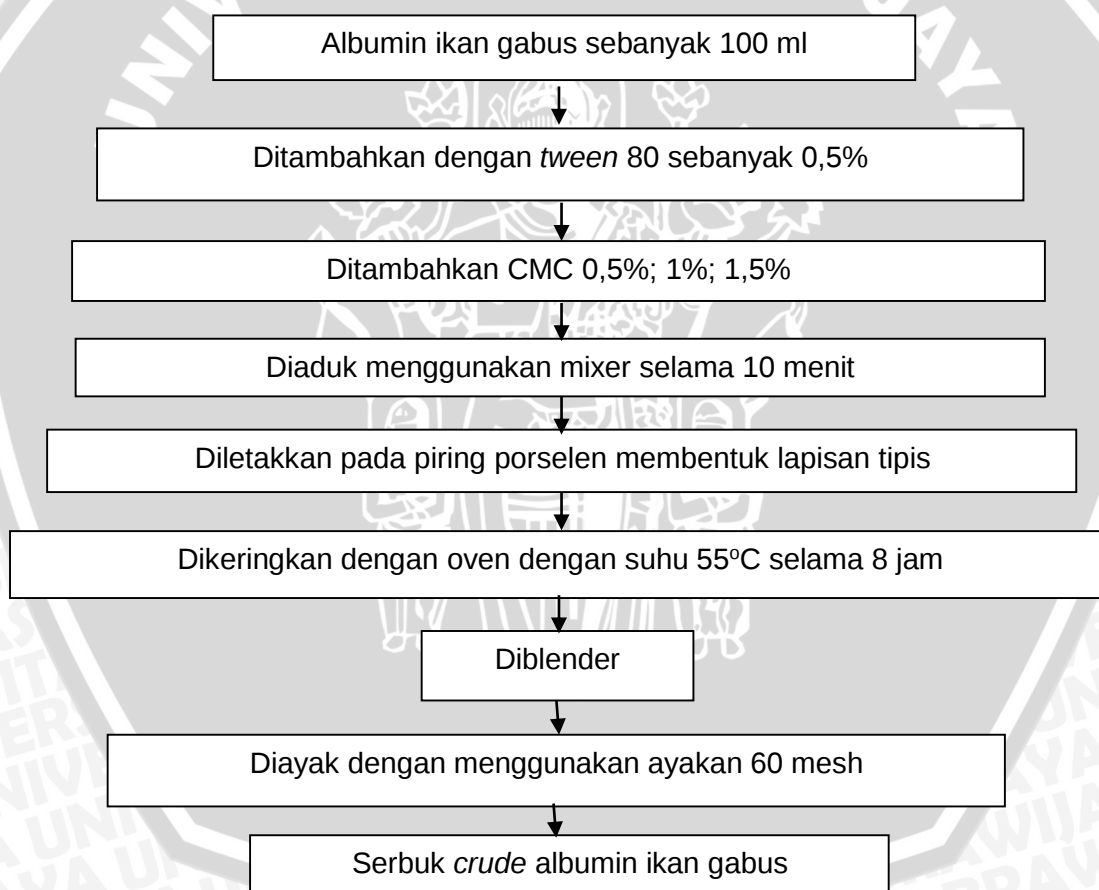




Gambar 5. Prosedur Ekstraksi Ikan Gabus

3.3.2 Penelitian Tahap 2

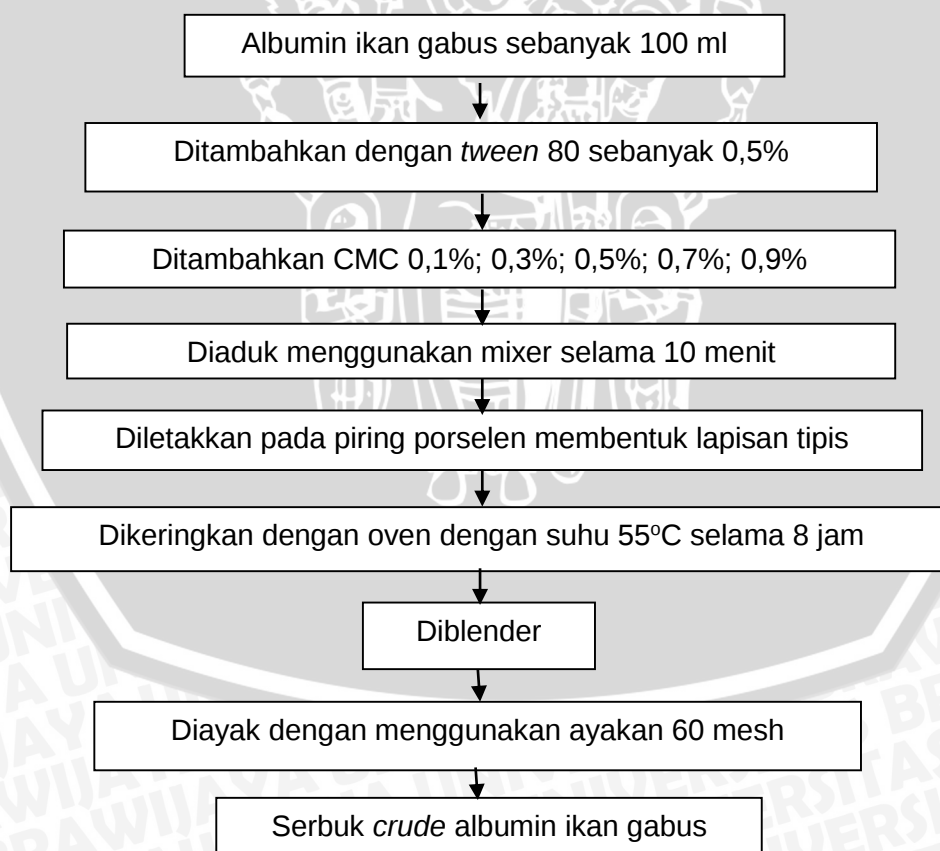
Penelitian tahap 2 bertujuan mencoba penambahan konsentrasi CMC yang berbeda dalam pembuatan serbuk crude ikan gabus. Pembuatan serbuk albumin dilakukan dengan menggunakan metode *Foam-mat Drying*. Perlakuan yang digunakan adalah penambahan CMC dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 1,5% (b/v). Hal ini didasarkan pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Manoi (2006) dalam penelitiannya yakni mengetahui pengaruh CMC terhadap mutu sirup jambu mete. Setelah itu, serbuk dianalisis kadar albumin, kadar protein dan kadar air. Prosedur pembuatan serbuk crude albumin dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Prosedur Pembuatan Serbuk Crude Albumin

3.3.3 Penelitian Tahap 3

Penelitian tahap 3 merupakan penelitian utama yang berfungsi untuk mengetahui penambahan CMC optimum pada proses pembuatan serbuk crude ikan gabus. Penelitian ini didasarkan pada penelitian tahap kedua. Penelitian tahap 3 dilakukan berdasarkan hasil dari penelitian pendahuluan dengan penambahan konsentrasi CMC sebesar 0,1%, 0,3%, 0,5%, 0,7% dan 0,9%, dilakukan uji secara kuantitatif dan kualitatif. Parameter uji kuantitatif meliputi kadar albumin, kadar air, kadar protein rendemen, daya serap air, kadar abu, dan organoleptik sedangkan uji kualitatif yaitu profil asam amino. Prosedur pembuatan serbuk ikan gabus dibagi menjadi 2 yaitu proses ekstraksi crude albumin dapat dilihat pada Gambar 3 dan proses pembuatan serbuk crude albumin ikan gabus dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Proses Pembuatan Serbuk Crude Albumin Ikan Gabus

3.4 Analisis Data

Analisis data ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi CMC agar menghasilkan serbuk yang baik. Rancangan percobaan dalam penelitian utama ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan enam perlakuan. Sesuai rumus perhitungan dalam menentukan ulangan dalam suatu penelitian, penelitian ini dilakukan dengan empat kali ulangan. Rumus perhitungan ulangan adalah sebagai berikut :

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

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

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$r \geq 4$$

Keterangan:

t = Jumlah Perlakuan

r = Jumlah Ulangan

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

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

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

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

Keterangan :

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

μ = nilai tengah umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i

$\sum ij$ = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Model rancangan percobaan penelitian utama dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Model Rancangan Percobaan Pada Penelitian Utama

Konsentrasi CMC	Ulangan				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
A (Kontrol)	A1	A2	A3	A4	AT	AR
B (0,1%)	B1	B2	B3	B4	BT	BR
C (0,3%)	C1	C2	C3	C4	CT	CR
D (0,5%)	D1	D2	D3	D4	DT	DR
E (0,7%)	E1	E2	E3	E4	ET	ER
F (0,9%)	F1	F2	F3	F4	FT	FR

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 dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan yang terbaik.

3.5 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan pada penelitian utama pembuatan serbuk crude albumin yaitu kadar albumin, kadar protein, kadar air, kadar abu, daya serap uap air, uji organoleptik dan profil asam amino.

3.5.1 Analisis Kadar Albumin

Analisis kadar albumin dalam penentuannya diperlukan adanya kurva standar untuk menggambarkan hubungan antara konsentrasi dengan OD. Dalam analisis kadar albumin biasanya digunakan Bovine Serum Albumin (BSA). Konsentrasi protein diukur berdasarkan panjang gelombang 600 nm. Protein dengan asam fosfotungstat-fosfomolibdat akan memberikan warna biru yang bergantung pada konsentrasi protein yang terlihat (Sudarmadji *et al.*, 2010).

Penentuan kadar albumin menurut Kusumangingrum, *et al.* (2014), menggunakan spektrofotometer dengan albumin sekitar 300 μ g/ml. Setelah itu ditambahkan 8 ml reagen lowry B dan didiamkan 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 1 ml reagen lowry A diaduk dan didiamkan 20 menit selanjutnya membaca OD (absorbance) panjang gelombang 600 nm dengan spektrofotometer. Selanjutnya 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 Metode Spektrofotometri Biuret (AOAC, 1995)

Analisis Kadar Protein Metode Spektrofotometri Biuret hal yang dilakukan pertama yakni membuat Reagen Biuret dibuat dengan melarutkan 0,15 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 0,6 NaK Tartrat 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 semua larutan tercampur, lalu ditambahkan ke dalam tabung reaksi 2 mL reagen biuret dan dihomogenisasi lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Diukur absorban masing-masing larutan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

Pengukuran Sampel

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 dihomogenisasi dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer pada

panjang gelombang 550 nm. Prosedur pengujian 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 serta 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 dalam penentuan kadar air adalah cara pemanasan. Prinsip metode ini adalah sampel dipanaskan pada suhu (100-105)°C sampai diperoleh berat yang konstan. Sampel dihaluskan dan ditimbang sebanyak 1-2 gram dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya. Kemudian sampel dikeringkan didalam oven dengan suhu 105 °C selama 3-5 jam tergantung bahannya. Selanjutnya dimasukkan di dalam desikator dan ditimbang. Dipanaskan 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 merupakan banyaknya air dalam bahan. Prosedur analisa kadar protein dapat dilihat pada lampiran 3.

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

Keterangan :

Wb = Kadar air basah

A = Berat botol timbang

B = Berat sampel

C = Berat botol timbang dan sampel sesudah dioven

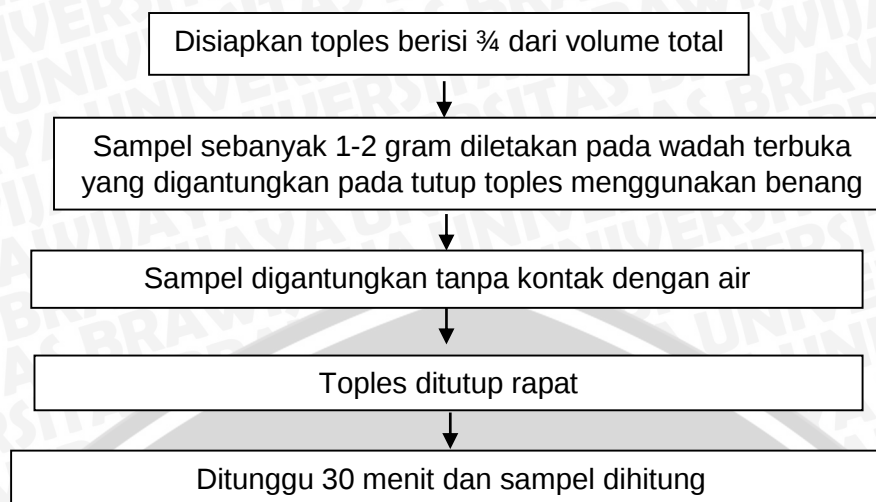
3.5.4 Analisis Kadar Abu

Analisis kadar abu merupakan hal yang penting dalam menentukan parameter kualitas bahan pangan. 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. Tujuan dari penentuan abu total adalah untuk menentukan baik tidaknya suatu proses pengolahan; untuk mengetahui jenis bahan yang digunakan dan penentuan abu total berguna sebagai parameter nilai gizi bahan makanan (Sudarmadji *et al.*, 2007). Prosedur pengujian kadar abu dapat dilihat pada Lampiran 4. Kadar abu dapat dihitung dengan rumus :

$$\frac{\text{berat akhir} - \text{berat kurs porselen}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

3.5.5 Analisis Daya Serap Uap Air

Analisis daya serap uap air bertujuan untuk mengetahui prosentase daya serap produk terhadap uap air jika disimpan dalam suhu ruang. Analisis daya serap uap air dilakukan dengan menggunakan stoples kaca yang diisi air sesuai volume stoples. Kemudian sampel disimpan dalam stoples dengan mengikatnya pada tutup menggunakan benang. Sampel yang terikat, digantung tanpa kontak dengan air. Lalu stoples ditutup rapat selama 30 menit dan dihitung nilai penyerapan uap airnya (Susanti dan Putri, 2014). Prosedur Uji Daya Serap Air dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Prosedur Uji Daya Serap Air

$$\text{Nilai penyerapan uap air} = \frac{\text{Berat akhir} - \text{berat awal}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

3.5.6 Organoleptik

Organoleptik merupakan suatu metode ilmiah yang digunakan untuk mengukur, menganalisis dan menginterpretasikan respon terhadap suatu produk berdasarkan kemampuan indera manusia seperti pengelihatian, penciuman, perasa, peraba, dan pendengaran (Harmain dan Yusuf, 2012). Penilaian organoleptik sangat banyak digunakan untuk menilai mutu dalam industri pangan. Dalam penilaian organoleptik ini sangat dibutuhkan beberapa panel yang bertugas untuk memberikan penilaian berdasarkan kesan subyektif (Susiwi, 2009).

Uji organoleptik dilakukan dengan uji *scoring*. Parameter yang diuji meliputi aroma, dan warna . Panelis yang digunakan sebanyak 20 orang. Penilaian uji *scoring* menggunakan scoring dengan nilai terendah 1 (sangat tidak suka) dan nilai tertinggi 7 (sangat suka).

3.5.7 Analisis Profil Asam Amino

Analisis profil asam amino dapat dilakukan dengan berbagai peralatan, antara lain: Amino Acid Analyzer, Thin Layer Chromatography (TLC), Ion Exchange Chromatography, Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometer (LC-MS), dan sebagainya. Akhir-akhir ini analisis asam amino lebih sering menggunakan kromatografi cair dengan kinerja tinggi atau yang lebih dikenal dengan istilah *High Performance Liquid Chromatography* (Hermiastuti, 2013). Analisis profil asam amino pada penelitian ini menggunakan alat Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometer (LC-MS). Analisis profil asam amino dapat dilihat pada Lampiran 18.

3.6 Penentuan Perlakuan Terbaik

Penentuan perlakuan terbaik pada penelitian ini yaitu menggunakan metode *de garmo*, prinsipnya dengan menentukan nilai indeks evektifitas, yaitu menggunakan nilai terbaik dan terjelek dari suatu parameter yang digunakan. Nilai perlakuan yang telah didapat dikurangi dengan nilai terjelek yang kemudian nilai ini akan dibagi oleh hasil pengurangan dari nilai terbaik dikurangi dengan nilai terjelek. Hasil pengujian metode *de garmo* dapat dilihat pada Lampiran 17.