

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan pengikat sistem koloid terdiri dari tepung bekatul, hidrolisat protein kepala udang, plastik, karet, dan serbet. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia terdiri dari aquades, silika gel, benang kasur, kertas saring, H₂SO₄, tablet kjeldahl, aquades, NaOH, indikator *metil orange*, larutan PE (*petroleum eter*) dan kertas label.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk pencampuran hidrolisat protein tepung bekatul terdiri dari baskom, saringan, pipet volume, bola hisap, gelas ukur dan sendok.

Alat-alat yang digunakan untuk analisis kimia terdiri dari pH meter, oven, desikator, loyang, *crushable tang*, *gold fisch*, sampel tube, gelas piala, gelas ukur, corong, timbangan digital, pipet tetes, pipet volume, bola hisap, cawan petri, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass*, cawan porselen, destruksi, destilasi, statif, buret, *hot plate* dan *muffle*.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Manurut Hadi (1985) penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan untuk mengetahui akibat yang ditimbulkan dari suatu perlakuan yang diberikan secara sengaja oleh peneliti. Sejalan dengan hal tersebut, Latipun (2002) mengemukakan bahwa penelitian eksperimen merupakan penelitian yang dilakukan dengan melakukan manipulasi yang bertujuan untuk mengetahui akibat

manipulasi terhadap perilaku individu yang diamati. Penelitian eksperimen pada prinsipnya dapat didefinisikan sebagai metode sistematis guna membangun hubungan yang mengandung fenomena sebab akibat (*causal-effect relationship*) (Sukardi 2011). Selanjutnya, metode eksperimen adalah metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalikan (Sugiyono 2011).

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap yaitu hidrolisat berumur 6 bulan ditambah dengan bekatul dengan tujuan untuk mengetahui hidrolisat protein tepung bekatul berdasarkan analisis proksimat, rendemen, dan pH.

3.2.2 Variabel

Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulan (Sugiyono, 2013). Variabel yang digunakan dalam penelitian dapat diklasifikasikan menjadi: (1) variabel independen (bebas), yaitu variabel yang menjelaskan dan mempengaruhi variabel lain, dan (2) variabel dependen (terikat), yaitu variabel yang dijelaskan dan dipengaruhi oleh variabel independen.

Penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi hidrolisat protein kepala udang vaname dan lama penyimpanan. Konsentrasi hidrolisat protein yang digunakan yakni 100 mL, 200 mL dan 300 mL. Lama penyimpanan yang digunakan yakni 0 hari, 4 hari, dan 8 hari dan 12 hari. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah berat bekatul yang digunakan yaitu 200 g dan analisis proksimat (meliputi kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar protein, dan kadar karbohidrat), rendemen, dan pH.

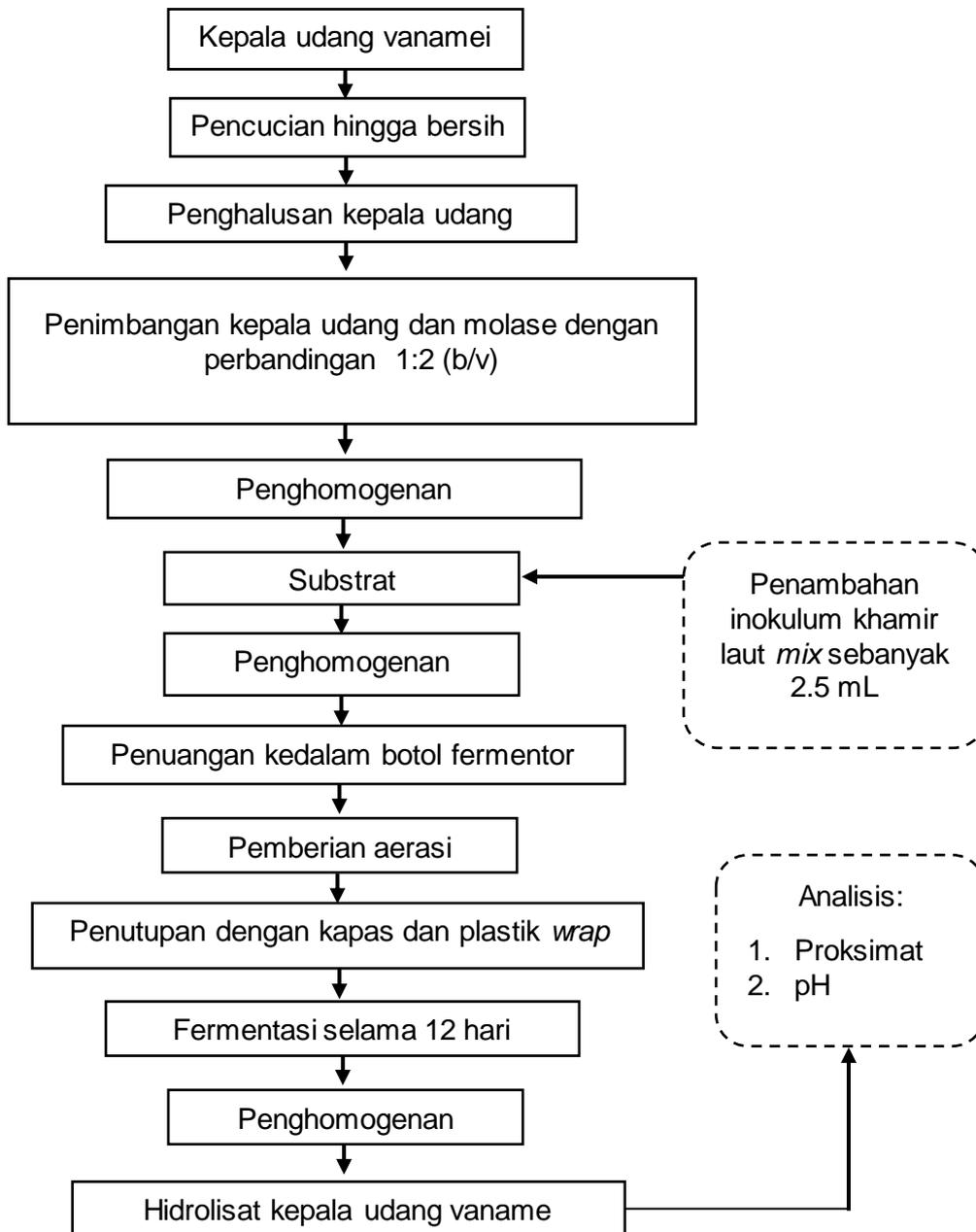
3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

3.3.1 Prosedur Penelitian Pendahuluan Pembuatan hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Prosedur pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yaitu dimulai dari penyiapan kepala udang vaname. Kemudian dilakukan pencucian yang bertujuan supaya kotoran yang menempel bisa hilang. Kemudian dilakukan penghalusan menggunakan mesin penggiling. Setelah itu dilakukan penimbangan kepala udang vaname dan molase dengan perbandingan 1:2 (b/v) dan dilakukan penghomogenaan berfungsi supaya tercampur merata. Selanjutnya ditambahkan inokulum khamir laut mix sebanyak 2,5 mL dan dilakukan penghomogenan. Setelah itu dituang ke dalam botol fermentor. Selanjutnya diberi aerasi bertujuan untuk suplay oksigen kemudian ditutup dengan kapas dan plastik *wrap*. Tujuan ditutup kapas dan plastik *wrap* agar kondisi anaerob terjaga dengan baik dan juga supaya serangga tidak bisa masuk ke dalam botol. Setelah itu di fermentasi selama 12 hari. Selanjutnya dilakukan penghomogenan dan didapatkan hidrolisat protein kepala udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Diagram alir proses pembuatan hidrolisat protein kepala udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dapat dilihat pada Gambar 4.

3.3.2 Diagram Alir Prosedur Penelitian Pendahuluan Pembuatan Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)



Gambar 4. Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname

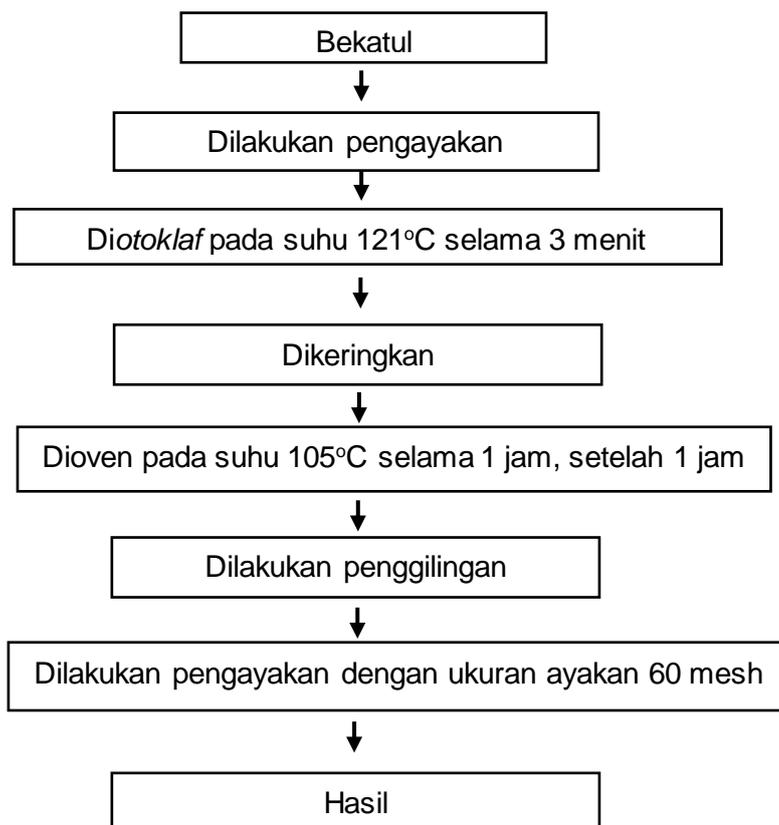
3.3.3 Prosedur Pembuatan Tepung Bekatul

Pada prosedur penelitian ini bekatul yang digunakan akan dibuat tepung terlebih dahulu. Tujuan dibuat tepung terlebih dahulu karena bekatul yang diperoleh dari tempat penggilingan padi masih memiliki tekstur kasar sehingga

perlu dilakukan pembuatan tepung bekatul, jika dimanfaatkan secara langsung dapat menurunkan tingkat kesukaan terhadap produk (Damayanthi *et al.*, 2001).

Prosedur pembuatan tepung bekatul menurut Damayanti dan Dwi (2006), di lakukan pengayakan bekatul segar kemudian di *otoklaf* pada suhu 121°C selama 3 menit, setelah itu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam, setelah 1 jam dikeluarkan dari oven dan digiling kemudian diayak dengan menggunakan ukuran ayakan 60 mesh. Jadilah tepung bekatul yang siap untuk digunakan. Diagram alir prosedur penelitian pendahuluan pembuatan tepung bekatul dapat dilihat pada Gambar 5.

3.3.4 Diagram Alir Prosedur Penelitian Pendahuluan Pembuatan Tepung Bekatul

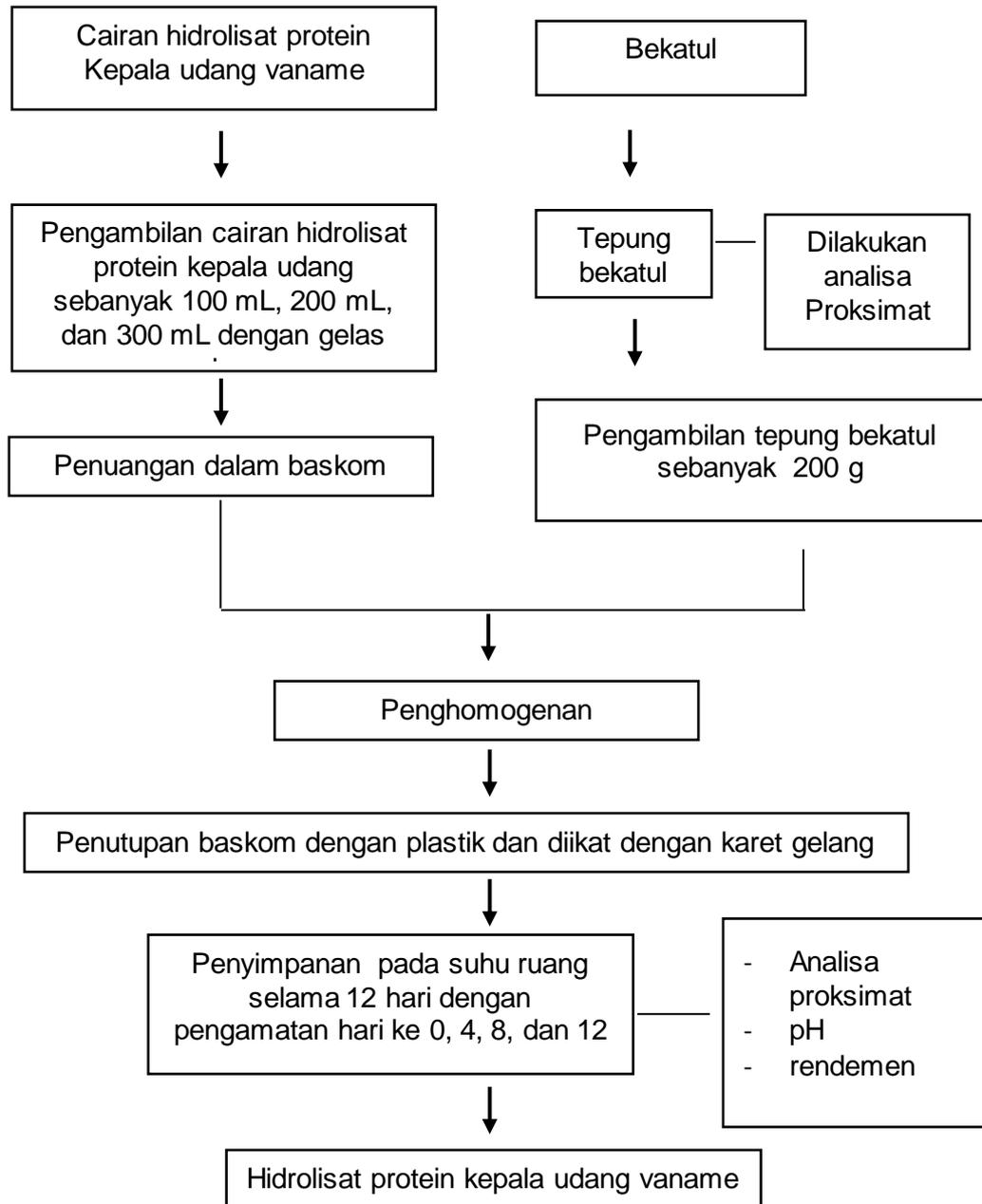


Gambar 5. Diagram Alir Prosedur Penelitian Pendahuluan Pembuatan Tepung Bekatul

3.3.5 Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Beku dengan Tepung Bekatul

Prosedur pembuatan hidrolisat protein tepung bekatul yaitu dimulai dari penimbangan tepung bekatul seberat 200 g. Kemudian dimasukkan dalam baskom. Setelah itu hidrolisat beku di cairkan terlebih dahulu selanjutnya disaring dan didapatkan hidrolisat protein. Setelah itu hidrolisat protein diuji analisa proksimat. Tujuan diuji analisa proksimat yaitu untuk mengetahui kandungan yang ada di hidrolisat protein tersebut. Selanjutnya ditambahkan hidrolisat protein sebanyak 100 mL, 200 mL dan 300 mL dan ditandai sesuai perlakuan, tujuan diberikan konsentrasi yang berbeda adalah untuk mengetahui efektifitas terhadap proses pembuatan hidrolisat protein tepung bekatul. Selanjutnya pencampuran bekatul dengan hidrolisat protein dengan cara bekatul dituang ke baskom sedikit demi sedikit lalu dituang hidrolisat protein sedikit demi sedikit dan dikering anginkan bertujuan agar penyerapannya maksimal, setelah tercampur merata lalu dimasukkan kedalam botol plastik. Lalu ditutup dengan plastik sampel dan disimpan selama 12 hari. Selanjutnya dilakukan pengujian proksimat dengan dilakukan pengujian hari ke 0, 4, 8 dan 12 tujuan dari hari yang berbeda yaitu untuk mengetahui kualitas pasta hidrolisat protein kepala udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) beku. Langkah selanjutnya dilakukan pengujian yang meliputi pH, dan rendemen. Diagram alir proses percampuran hidrolisat protein kepala udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) beku dengan tepung bekatul dapat dilihat pada Gambar 6.

3.3.6 Diagram Alir Prosedur Penelitian Utama Proses Percampuran Hidrolisat Protein Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Beku dengan Tepung Bekatul



Gambar 6. Diagram alir proses percampuran hidrolisat protein kepala udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) beku dengan tepung bekatul.

3.4 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Rancangan percobaan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF) dengan menggunakan 3 kali ulangan. Rancangan penelitian dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

$$H_{ijk} = \pi + K_i + P_j + P_k + (P_j \times P_k) + e_{ijk}$$

Keterangan :

H_{ijk} = Hasil akibat perlakuan ke-j dan perlakuan ke-k pada kelompok ke-i

π = Nilai tengah umum

K_i = Pengaruh kelompok ke-i

P_j = Pengaruh faktor perlakuan ke-j

P_k = Pengaruh faktor perlakuan ke-k

$P_j \times P_k$ = Interaksi perlakuan ke-j dan perlakuan ke-k

e_{ijk} = Error akibat perlakuan ke-j dan perlakuan ke-k pada kelompok ke-i

I = 1, 2, ..., k (k = kelompok)

J = 1, 2, ..., p ke-1 (p = perlakuan ke-1)

K = 1, 2, p ke-2 (p = perlakuan ke-2)

Tabel 3. Rancangan Penelitian pada Berbagai Ulangan

Lama penyimpanan	Perlakuan (Konsentrasi)	Ulangan			Total Σ
		1	2	3	
0	100A	1A1	1A2	1A3	
	200B	2B1	2B2	2B3	
	300C	3C1	3C2	3C3	
4	100A	1A1	1A2	1A3	
	200B	2B1	2B2	2B3	
	300C	3C1	3C2	3C3	
8	100A	1A1	1A2	1A3	
	200B	2B1	2B2	2B3	
	300C	3C1	3C2	3C3	
12	100A	1A1	1A2	1A3	
	200B	2B1	2B2	2B3	
	300C	3C1	3C2	3C3	
Σ					

Keterangan :

1= 100mL 1A1: ulangan 1 1A2: ulangan 2 1A3: ulangan 3

2= 200mL 2B1: ulangan 1 2B2: ulangan 2 2B3: ulangan 3

3= 300mL 3C1: ulangan 1 3C2: ulangan 2 3C3: ulangan 3

Tabel 4. Rancangan Penelitian pada Berbagai Ulangan

Lama Penyimpanan	Perlakuan (Konsentrasi)	Ulangan	Σ	\bar{X}	SD
0	100A	1A123			
	200B	2B123			
	300C	3C123			
4	100A	1A123			
	200B	2B123			
	300C	3C123			
8	100A	1A123			
	200B	2B123			
	300C	3C123			
12	100A	1A123			
	200B	2B123			
	300C	3C123			
Σ					
\bar{X}					
SD					

Keterangan : 1A123/2B123/3C123 = Rata-rata

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon yang diukur dilakukan analisis keragaman (ANOVA atau *Analysis of Variance*) dan jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut BNT pada taraf 5%.

3.5 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi rendemen, kualitas, analisa proksimat (kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar karbohidrat), dan pH.

3.5.1 Rendemen (Purbasari, 2008)

Rendemen dapat diartikan sebagai perolehan jumlah hasil akhir dari suatu proses dan dinyatakan dalam bentuk % (persen). Perhitungan rendemen dapat dilakukan dengan rumus berikut:

$$\text{Rendemen(\%)} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan A = Berat akhir produk hidrolisat protein (g) (setelah penyimpanan)

B = Berat sampel hidrolisat protein (g) (setelah pencampuran)

3.5.2 Analisis Proksimat

Analisa proksimat atau uji suatu produk umumnya dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui berbagai macam kandungan nutrisi dalam produk tersebut. Kandungan yang dilakukan pengujian pada umumnya adalah protein dan asam amino, lemak, karbohidrat, abu dan mineral, serat, dan air. Berbagai macam pengujian tersebut hasilnya dapat digunakan sebagai indikator kualitas dari produk tersebut (Handajani dan Widodo, 2010).

3.5.2.1 Analisis Kadar Air (Sumardi, 2006)

Kadar air merupakan banyaknya air yang menguap dan hilang dari suatu bahan yang disebabkan oleh proses pemanasan dalam suhu 103°C dan hasilnya dinyatakan dalam persen (%) dari berat bahan tersebut. Prosedur penentuan kadar air yakni:

- a. Penimbangan sampel yang telah homogen sebanyak 2-5 g dan peletakan dalam cawan timbang yang telah ditimbang beratnya.
- b. Penempatan cawan dalam oven dengan tutup setengah terbuka agar uap air mudah keluar dan pemanasan dengan suhu 103°C selama 3 jam.
- c. Pengeluaran cawan timbang dari oven dan peletakan cawan kedalam desikator selama 30 menit dengan keadaan cawan tertutup.
- d. Penimbangan berat cawan timbang beserta sampel dan pencatatan berat.
- e. Pemanasan kembali cawan didalam oven dengan suhu dan waktu yang sama, kemudian pendinginan dalam desikator dan penimbangan berat cawan. Apabila didapat perbedaan 0,005 g maka berat telah dianggap konstan.

Perhitungan kadar air dilakukan dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{m}{m_0} \times 100\%$$

Keterangan: m = berat yang menguap dalam gram
m₀ = berat dari sampel awal dalam gram

3.5.2.2 Analisis Kadar Abu (Handajani dan Widodo, 2010)

Prosedur penentuan kadar abu yakni meliputi ;

- a. Persiapan cawan porselin dan pemanasan cawan ke dalam tanur dengan suhu 600°C selama 1 jam.
- b. Pengeluaran cawan porselin dari dalam tanur, lalu pendingin didalam desikator selama 1 jam dan penimbangan cawan porselin (berat a)
- c. Penimbangan sampel awal (berat b)
- d. Peletakkan sampel ke dalam cawan porselin dan pemanasan cawan diatas hot plate dengan suhu 300°C selama 3 jam atau hingga sampel bewarna hitam dan tidak terdapat asap.
- e. Pemanasan kembali cawan ke dalam tanur dengan suhu 600°C selama 2 jam atau hingga sampel bewarna abu putih.
- f. Pengeluaran cawan porselin dari dalam tanur, lalu dilakukan pendinginan didalam desikator selama 1 jam.
- g. Penimbangan berat sampel dan cawan porselin (berat c (g)) kadar abu dalam suatu bahan dapat dihitung dengan rumus :

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

Keterangan : A = berat cawan porselin (g)
B = berat sampel (g)
C = berat cawan porselin dan sampel setelah pemanasan (g).

3.5.2.3 Analisis Kadar Protein (Handajani dan Widodo, 2010)

Penentuan kadar protein dapat ditentukan dengan menghitung total nitrogen dalam bahan. Prosedur penentuan total nitrogen dalam bahan dilakukan dengan mengikuti prosedur berikut:

- a. Pengambilan sampel yang telah halus sebanyak 0,2-0,5 g dan peletakan sampel ke dalam labu Kjeldhal 50 mL.
- b. Penambahan larutan H₂SO₄ dan tablet Kjeldhal sebagai katalisator masing-masing 5 mL dan 2 g.
- c. Pemanasan dalam ruang asam hingga sampel jernih dan tidak berwarna.
- d. Pendinginan sampel lalu penambahan aquades sebanyak 50 mL, Zn sebanyak 1 g, dan NaOH 45% sebanyak 25 mL hingga bersifat basa.
- e. Perlakuan destilasi hingga didapat destilat dalam erlenmeyer yang berisi HDI 0,1 N sebanyak 25 mL dan Phenolphthialin 1 % sebanyak 3 tetes sebagai indikator.
- f. Perlakuan destilasi dihentikan hingga volume erlenmeyer mencapai 60 mL.
- g. Perlakuan titrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga larutan dalam erlenmeyer berwarna merah muda dan jernih dan pencatatan angka titrasi yang didapat.

Perhitungan total nitrogen dalam sampel dapat dilakukan dengan rumus berikut:

$$\%N = \frac{\text{mL NaOH blanko} - \text{mL NaOH contoh}}{\text{gram bahan} \times 10} \times N \text{ NaOH} \times 14,008$$

Persentase angka total nitrogen dapat digunakan untuk menghitung persentase protein dalam sampel, perhitungannya sebagai berikut:

$$\%P = \%N \times \text{faktor koreksi}$$

3.5.2.4 Analisis Kadar Lemak Metode *Goldfish* (Sudarmadji *et al.*, 2007)

Analisis kadar lemak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan metode *goldfish*. Penentuan banyaknya lemak pada metode *goldfish* dapat dilakukan dengan menimbang residu dalam thimble sesudah ekstraksi berakhir dan sudah dikeringkan sampai berat konstan. Selisih bobot sampel sebelum diekstraksi dan bobot residu sesudah ekstraksi dan sudah dikeringkan merupakan lemak yang ada dalam bahan pangan. Keuntungan cara ekstraksi *goldfish* adalah pelarut yang sudah dipakai dapat diperoleh kembali.

Prosedur analisa kadar lemak adalah sebagai berikut :

- Penimbangan sampel sebanyak 5 g.
- Peletakkan dalam oven suhu 105°C selama 24 jam.
- Peletakkan kertas saring dan tali kedalam oven bersamaan dengan sampel.
- Peletakkan kertas saring dan tali kedalam desikator dan penimbangan sampel sebanyak 2 g.
- Penimbangan berat kertas saring dan tali menggunakan timbangan analitik
- Pembungkusan sampel dengan kertas saring
- Peletakkan dalam *sample tubbe goldfish* dan dipasang dibawah kondensor *goldfish*
- Pemasangan gelas piala yang telah diisi potreleum eter
- Pengaliran air pada kondensor dan naikkan pemanas *goldfish* sampai menyentuh gelas piala dan biarkan 3-4 jam
- Pemanas dimatikan dan pengambilan sampel
- Peletakkan sampel dalam oven suhu 105°C sampai berat konstan
- Pendinginan sampel dalam desikator

- Penimbangan sampel dengan timbangan analitik

Rumus perhitungan kadar lemak adalah sebagai berikut:

Kadar Lemak (%) =

$$\frac{(\text{Berat awal} + \text{Berat kertas saring}) - \text{Berat akhir}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100\%$$

3.5.2.5 Analisis Kadar Karbohidrat (Andarwulan *et al.*, 2011)

Kandungan karbohidrat biasanya diberikan sebagai karbohidrat total *by difference*, artinya kandungan tersebut diperoleh dari hasil pengurangan 100% dengan % komponen lain (air, abu, lemak dan protein).

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

3.5.3 Nilai pH (SNI 06-6989,11-2004)

Metode pengukuran pH berdasarkan pengukuran aktifitas ion hidrogen secara potensiometri atau elektrometri dengan menggunakan pH meter. Prosedur analisis pH adalah sebagai berikut:

- Keringkan dengan kertas tissue selanjutnya bilas elektroda dengan air suling.
- Bilas elektroda dengan contoh uji.
- Celupkan elektroda ke dalam contoh uji sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap.
- Catat hasil pembacaan skala atau angka pada tampilan dari pH meter.