

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Pendekatan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratorium. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalkan.¹

Faktor perlakuan meliputi pengawetan menggunakan garam, khitosan dan tanpa menggunakan pengawet dengan lama pengawetan yang bervariasi yaitu selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Berat bahan pengawet yang bervariasi yang membedakannya.

Faktor I : Cara Pengawetan

N : Tanpa pengawet

G : Cara Pengawetan menggunakan Garam

C : Cara pengawetan menggunakan Khitosan

Faktor II : Berat Pengawet yang digunakan

G (Garam) : G1 : konsentrasi garam yang digunakan 20%.

G2 : konsentrasi garam yang digunakan 12%.

G3 : konsentrasi garam yang digunakan 8%.

¹ Sugiyono, *Metode Penelitian Pendidikan*, (Bandung : Alfabeta, 2010), hlm. 107

C (Khitosan) : C1 : konsentrasi khitosan yang digunakan 20%.

C2 : konsentrasi khitosan yang digunakan 12%.

C3 : konsentrasi khitosan yang digunakan 8%.

Faktor III : Lama Pengawetan

L1 : Pengawetan selama 24 jam.

L2 : Pengawetan Selama 48 jam.

L3 : Pengawetan Selama 72 jam.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Tadris Kimia Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan IAIN Walisongo Semarang mulai dari pengawetan sampai dilakukan uji kadar protein menggunakan metode dengan menggunakan standar albumin.

Penelitian ini dilakukan selama 8 hari mulai tanggal 10 Februari - 17 Februari 2014.

C. Variabel dan Indikator Penelitian

Variabel adalah segala sesuatu yang terbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya.

Variabel mempunyai bermacam-macam jenis, pada penelitian ini menggunakan dua variabel, yaitu variabel Independen dan variabel Dependen.

1. Variabel Bebas

Variabel ini sering disebut sebagai variabel stimulus, prediktor, antecedent. Dalam bahasa Indonesia sering disebut dengan variabel bebas. Variabel bebas adalah merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi penyebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen (terikat).

Variabel independen pada penelitian ini adalah pengawet yang digunakan untuk mengawetkan ikan yaitu berupa garam dan khitosan, serta waktu untuk pengawetan yaitu selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

2. Variabel Terikat

Variabel ini sering disebut dengan variabel output, kriteria, konsekuen. Dalam bahasa Indonesia sering disebut sebagai variabel terikat. Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya bebas.² Variabel dependen pada penelitian ini adalah kadar protein dalam daging ikan tuna (*Thunnus sp*).

² Sugiyono, *Metode Penelitian Pendidikan*, hlm. 60-61

D. Teknik Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan

a. Pengawetan

Bahan-bahan yang digunakan :

- 1) Ikan
- 2) 300 gram garam
- 3) Khitosan *food grade*
- 4) Asam Asetat 1%
- 5) Aluminium Foil
- 6) Aquades

Alat-alat yang digunakan :

- 1) wadah aluminium
- 2) 3 gelas beker 250 ml

b. Pengujian

Bahan-bahan yang digunakan

- 1) 1,5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- 2) 0,6 g $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$
- 3) 30 ml natrium hidroksida 10%
- 4) 0,5 g bovin serum albumin
- 5) Amonium sulfat kristal
- 6) Aquades
- 7) Buffer asam asetat pH 5

Alat-alat yang digunakan :

- 1) Gelas beker
- 2) Kuvet

- 3) Spektrofotometer UV
 - 4) Blender
 - 5) Sentrifugator
 - 6) Pipet
2. Cara Kerja

a. Pengawetan

Pengawetan yang digunakan yaitu dengan penggaraman basah. Menurut Ir. Rabiatul Adawyah penggaraman dilakukan dengan memasukkan ikan ke dalam larutan garam.³ Perbedaan dari penelitian ini yaitu dengan divariasinya konsentrasi garam yang digunakan dan juga adanya perbedaan waktu yang digunakan. Cara kerjanya sebagai berikut :

- 1) Membersihkan ikan tuna (*Thunnus sp*) dari darah dan kotoran menggunakan air sampai dalam keadaan bersih.
- 2) Memasukkan ikan tuna dalam gelas beker.
- 3) Memasukkan pengawet ke dalam gelas beker sesuai dengan konsentrasi yang digunakan.
 - a) Ikan diawetkan dengan garam (G), dengan 3 variasi konsentrasi garam yaitu 20%, 12% dan 8%.

³ Rabiatul Adawyah, *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*, (Jakarta : Bumi Aksara, 2007)hlm. 48

- b) Ikan yang diawetkan dengan khitosan (C), dengan menggunakan 3 variasi konsentrasi khitosan yang digunakan yaitu 20%, 12% dan 8%. Khitosan dilarutkan dalam asam asetat 1% dan dimasukkan pada masing-masing ikan.
 - c) Ikan yang tidak diawetkan (kontrol) yang digunakan sebagai kontrol.
- 4) Menutup gelas beker dengan menggunakan aluminium foil.
 - 5) Masing-masing perlakuan diawetkan selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam.
 - 6) Mengamati dan menguji kadar protein pada ikan tuna (*Thunnus sp*) setelah pengawetan selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam.
- b. Pengujian

Analisis protein yang digunakan yaitu dengan metode Biuret menggunakan alat spektrofotometer UV pada panjang gelombang 540 nm. Metode ini hanya dapat digunakan untuk protein terlarut. Pada penetapan kadar protein secara spektrofotometri digunakan bovin serum albumin (BSA) sebagai pembanding karena memberikan tingkat keakuratan yang tinggi. Prosedur penetapan kadar protein dengan metode Biuret adalah sebagai berikut :

1) Pembuatan pereaksi Biuret

Tembaga (II) sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) sebanyak 1,5 g dan 0,6 g kalium natrium tatar ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) dilarutkan dalam aquades dalam labu takar 100 mL. Larutan ditambah 30 mL natrium hidroksida 10% sambil dikocok-kocok dan selanjutnya ditambah aquades sampai garis tanda.

2) Pembuatan larutan induk bovin serum albumin (BSA)

Bovin serum albumin ditimbang sebesar 0,5 g lalu dilarutkan dalam aquades sampai 10,0 mL sehingga kadar larutan induk (Li) sebesar 5,0%.

3) Pembuatan kurva baku

Pembuatan kurva baku dengan cara memasukkan larutan induk, pereaksi biuret, dan aquades dalam kuvet dengan komposisi sebagai berikut. Tabel 3.1 berikut merupakan contoh komposisi larutan dalam kuvet.

Tabel 3.1 Komposisi larutan Standar

Li (ml)	Pereaksi Biuret (ml)	Aquades (ml)
0,2	2	1,8
0,3	2	1,7
0,4	2	1,6
0,5	2	1,5
0,6	2	1,4

Setelah tepat 10 menit dari penambahan pereaksi Biuret, absorbansinya dibaca pada panjang

gelombang 540 nm. Blanko yang digunakan terdiri atas 2 ml pereaksi Biuret dan 2 ml aquades.

4) Cara Mempersiapkan Sampel

Ikan yang sudah diawetkan selama beberapa hari diambil kemudian dicuci bersih dengan aquades. Ikan diblender hingga halus dan dilarutkan dengan aquades. Sampel protein yang terlarut diambil 10 ml, kemudian diendapkan dengan menambahkan amonium sulfat kristal (jumlahnya tergantung dari jenis proteinnya, kalau perlu sampai mendekati kejenuhan amonium sulfat dalam larutan). Protein yang mengendap dipisahkan dengan sentrifugasi dengan kecepatan 4.500 rpm selama 10 menit, lalu larutannya dipisahkan dari endapannya. Endapan yang dihasilkan merupakan protein, kemudian dilarutkan kembali dengan buffer asam asetat pH 5 sampai 10 mL. Sampel larutan protein diambil 2 ml kemudian ditambah pereaksi Biuret dan ditambah dengan buffer asetat pH 5 untuk pengukuran kuantitatif. Setelah 10 menit dari penambahan pereaksi Biuret, absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 540 nm. Blanko yang digunakan terdiri atas pereaksi Biuret dan buffer asetat pH 5.⁴

⁴Abdul rohman dan Sumantri, *AnalisisMakanan*, hlm. 15-17

3. Uji laboratorium

Uji laboratorium atau riset laboratorium adalah melakukan eksperimen melalui percobaan tertentu dengan menggunakan alat-alat atau fasilitas yang tersedia di laboratorium penelitian.⁵ Uji laboratorium pada penelitian ini dilakukan untuk memperoleh data perbedaan kadar protein pada daging ikan tuna (*Thunnus sp*) yang diawetkan dengan menggunakan garam dan khitosan. Tabel 3.2 menunjukkan tabel untuk hasil pengamatan yang telah dilakukan.

Tabel 3.2 Tabel Hasil Pengamatan

Cara Pengawetan	Variasi Pengawetan	Lama Pengawetan	Nilai Absorbansi	Kadar Protein
N(Blanko)	-	-		
G	G1 (20%)	L1		
		L2		
		L3		
	G2 (12%)	L1		
		L2		
		L3		
	G3 (8%)	L1		
		L2		
		L3		
C	C1 (20%)	L1		
		L2		
		L3		
	C2 (12%)	L1		
		L2		
		L3		
	C3 (8%)	L1		
		L2		
		L3		

⁵Rosady Roslan, *Metodologi Penelitian Public Relations dan Komunikasi*, (Jakarta: PT Raja Grafindo Persada, 2004), hlm.32.

E. Teknik Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan melalui beberapa tahapan yaitu :

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Langkah pertama yang dilakukan dalam analisis kuantitatif protein dengan menggunakan spektrofotometri UV Visibel adalah dengan menentukan panjang gelombang maksimal yang digunakan, sehingga larutan sampel akan memberikan absorbansi yang maksimal.

Penentuan panjang gelombang yang memberikan absorbansi maksimal yaitu dengan melakukan pengamatan terhadap larutan standar protein (albumin) dengan beberapa konsentrasi. Optimasi panjang gelombang dilakukan pada panjang gelombang 400-600 nm.

2. Pembuatan Kurva Standar

Langkah kedua yang dilakukan dalam analisis kuantitatif protein dengan menggunakan spektrofotometri UV Visibel adalah dengan membuat kurva standar. Pembuatan kurva standar dilakukan untuk mengetahui konsentrasi dan absorbansi dari protein standar. Sehingga apabila absorbansi dari sampel diketahui, maka kadar protein dalam sebuah sampel dapat diketahui kadarnya dengan cara menghitung dengan mensubstitusikan ke persamaan kurva standar $Y = aX + b$.

Pembuatan kurva standar dapat dilakukan dengan cara memvariasi larutan standar dengan konsentrasi 5; 7,5 ; 10 ; 12,5 dan 15 %. Data yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi larutan standar tersebut kemudian dianalisis dengan cara membuat kurva larutan standar, sehingga dapat diperoleh garis regresi linier yang dibuat grafik konsentrasi (X) vs Absorbansi (Y).

3. Penentuan Kadar Protein

Penentuan kadar protein dalam sampel dengan cara mensubstitusikan absorbansi sampel ke dalam persamaan garis regresi $Y = aX + b$ yang diperoleh dari larutan standar.⁶

⁶ Nur Rahmah Rizqi Handayani, Skripsi, “ Kualitas Berbagai Produk VCO (*Virgin Coconut Oil*) Ditinjau Dari Kadar Protein dan Logam “, <http://digilib.uin-suka.ac.id/5181/1/BAB%20I.IV.%20DAFTAR%20PUSTAKA.pdf>, diakses tanggal 21 Februari 2014