

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis penelitian dan Pendekatan Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Penelitian eksperimen merupakan penelitian yang dilakukan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendali.

Faktor perlakuan meliputi penambahan pengawet pada ikan menggunakan garam, khitosan dan tanpa perlakuan (kontrol). Tanpa perlakuan yang dimaksud yaitu tanpa menambah pengawet apapun.

Faktor I : Cara Perlakuan

Garam (G) : dengan penambahan garam

Khitosan (C) : dengan penambahan khitosan

Blanko : tanpa pengawet

Faktor II : Lama Pengawetan

L1 : Lama pengawetan 1 hari

L2 : Lama pengawetan 2 hari

L3 : Lama pengawetan 3 hari

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Tadris Kimia Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan IAIN Walisongo Semarang. Penelitian dilaksanakan pada tanggal 3 sampai 14 Februari 2014.

### C. Variabel dan Indikator Penelitian

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

#### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat.<sup>1</sup> Dalam penelitian ini variabel bebasnya adalah variasi waktu pengawetan dan variasi konsentrasi kedua pengawet sama.

#### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas.<sup>2</sup> Dalam penelitian ini disebut variabel terikat adalah ikan kembung (*Rastrellinger sp*).

#### 3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga hubungan variabel independen terhadap dependen tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang

---

<sup>1</sup> Sugiyono, *Metode Penelitian Pendidikan*, (Bandung: ALFABETA, 2013), hlm.60-61

<sup>2</sup> Sugiyono, *Metode Penelitian Pendidikan*, hlm.61

tidak teliti.<sup>3</sup> Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah kadar protein.

#### **D. Teknik Pengumpulan Data**

##### 1. Sumber Data Primer

Data Primer adalah data yang memberi informasi langsung kepada pengumpul data.<sup>4</sup> Data utama dalam penelitian ini diperoleh dari data uji laboratorium.

##### 2. Sumber Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang tidak memberi informasi langsung kepada pengumpul data.<sup>5</sup> Data sekunder dalam penelitian ini diperoleh dari hasil dokumentasi yang berupa foto dan literatur terkait.

#### **E. Uji Laboratorium**

##### 1. Alat dan Bahan

###### a. Pengawetan

Alat-alat yang digunakan

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

---

<sup>3</sup> Sugiyono, *Metode Penelitian Pendidikan*, hlm.64

<sup>4</sup> Andi Prastowo, *Metode Penelitian Kualitatif Dalam Perspektif Rancangan Penelitian*, (Yogyakarta: Ar-Ruzz Media, 2011), hlm. 211.

<sup>5</sup> Andi Prastowo, *Metode Penelitian Kualitatif Dalam Perspektif rancangan Penelitian*, hlm. 211.

Bahan yang digunakan

- 1) Ikan kembung (*Rastrellinger sp*)
- 2) 300 g garam
- 3) Khitosan *food grade*
- 4) Aquades
- 5) Asam asetat 1%
- 6) Aluminium foil

b. Pengujian kadar protein

Alat-alat yang digunakan

- 1) Spektrofotometer UV
- 2) Sentrifugator
- 3) Blender
- 4) Gelas beker
- 5) Kuvet
- 6) Pipet

Bahan-bahan yang digunakan

- 1) ikan kembung (*Rastrellinger sp*),
- 2) 0,5 g bovin serum albumin larutan
- 3) 30 ml NaOH 10%
- 4) 1,5 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- 5) 0,6 g  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$
- 6) Amonium sulfat kristal
- 7) Aquades
- 8) Buffer asam asetat pH 5

## 2. Cara kerja

### a. Pendahuluan

Membersihkan ikan kembung (*Rastrellinger sp*), dari kotoran luar menggunakan air sampai dalam keadaan bersih.

### b. pengawetan

1) Memasukkan ikan dalam gelas beker.

2) Memasukkan pengawet kedalam wadah aluminium sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan.

a) Ikan diawetkan dengan garam (G), dengan 3 variasi penggunaan garam yaitu 8%, 12% dan 20% garam. Penggaraman yang digunakan adalah penggaraman basah. Garam dilarutkan dalam aquades kemudian dimasukkan pada masing-masing daging ikan.

b) Ikan yang diawetkan dengan khitosan (C), dengan menggunakan 3 variasi konsentrasi khitosan yang digunakan yaitu 8%, 12%, dan 20%, khitosan dilarutkan dalam asam asetat 1% dan larutan dimasukkan pada masing-masing daging ikan.

c) Ikan yang tidak diawetkan yang digunakan sebagai kontrol.

d) Menutup wadah aluminium dengan menggunakan aluminium foil.

e) Mengawetkan selama 1 hari, 2 hari dan 3 hari.

- f) Mengamati dan menguji kadar protein pada ikan setelah pengawetan selama 1hari, 2 hari dan 3 hari

c. 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. Keuntungan menggunakan metode biuret adalah cepat dan sederhana. Metode biuret juga mempunyai ketepatan lebih besar dibanding kjeldhal.<sup>6</sup>

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

---

<sup>6</sup> Anang M. Legowo, dkk, *Analisis Pangan*, (Semarang: Fakultas Peternakan, 2007), hlm.30

- 2) Pembuatan larutan induk bovin serum albumin (BSA)  
Sebanyak 0,5 g bovin serum albumin ditimbang secara seksama lalu dilarutkan dalam aquades sampai 10,0 mL sehingga kadar larutan induk (Li) sebesar 5,0%.
- 3) Pembuatan kurva baku
  - a) Memasukkan larutan induk (Li), pereaksi biuret, dan aquades 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

- b) Setelah tepat 10 menit, absorbansinya dibaca pada  $\lambda$  540 nm terhadap blanko yang terdiri atas 2 ml pereaksi Biuret dan 2 ml aquades.<sup>7</sup>
- 4) Ikan yang sudah diawetkan selama beberapa hari diambil dan dicuci bersih. Ikan diblender hingga halus kemudian dilarutkan dengan aquades. Sampel yang terlarut diambil 10 ml, kemudian diendapkan dengan menambahkan amonium sulfat kristal. Protein yang mengendap dipisahkan menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan 4.500 rpm selama 10 menit.

---

<sup>7</sup> Abdul rohman dan Sumantri, *AnalisisMakanan*, (Yogyakarta: Gajah Mada University PRESS), hlm. 15-16

Larutannya dipisahkan dari endapannya. Endapan yang dihasilkan merupakan protein, kemudian dilarutkan kembali dengan buffer asam asetat pH 5 sampai 10 mL. Larutan protein diambil 2 ml ditambah pereaksi Biuret dan buffer asetat pH 5 untuk pengukuran kuantitatif. Setelah 10 menit absorbansinya dibaca pada  $\lambda$  540 nm. Blanko yang digunakan terdiri atas pereaksi Biuret dan buffer asetat pH 5.<sup>8</sup>

- 5) Kadar protein dihitung berdasarkan persamaan regresi kurva standar:

$$Y = a + Bx$$

Y = nilai absorbansi

X = konsentrasi protein<sup>9</sup>

### 3. Uji Laboratorium

Uji laboratorium pada penelitian ini digunakan untuk memperoleh data perbedaan kadar protein pada ikan kembung (*Rastrellinger sp*) yang diawetkan dengan menggunakan garam dan khitosan untuk memperoleh data pengaruh banyaknya pengawet yang digunakan.

---

<sup>8</sup> Abdul rohman dan Sumantri, *Analisis Makanan*, hlm. 17

<sup>9</sup> Abdul rohman dan Sumantri, *Analisis Makanan*, hlm.12



Tabel 3.2 Tabel Pengumpulan Data

Cara Pengawetan	Variasi Pengawet	Variasi Waktu	Nilai Absorbansi	Kadar Protein (%)
Garam (G)	G1 – 8%	1 hari		
		2 hari		
		3 hari		
	G2– 12%	1 hari		
		2 hari		
		3 hari		
	G3– 20%	1 hari		
		2 hari		
		3 hari		
Khitosan(C)	C1 – 8%	1 hari		
		2 hari		
		3 hari		
	C2– 12%	1 hari		
		2 hari		
		3 hari		
	C3– 20%	1 hari		
		2 hari		
		3 hari		
Tanpa Pengawet (blanko)	Tanpa perlakuan	-		

## F. Teknik Analisis Data

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

### 1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Analisis kuantitatif protein dengan menggunakan spektrofotometri UV Visibel adalah dengan menentukan panjang gelombang maksimal. Optimasi panjang gelombang dilakukan pada panjang gelombang 400-600 nm.

## 2. Pembuatan Kurva Standar

Pembuatan kurva standar dilakukan untuk mengetahui konsentrasi dan absorbansi dari protein standar. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan cara memvariasikan larutan standar dengan konsentrasi 5; 7,5; 10; 12,5 dan 15%. Data yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi kemudian dianalisis dengan membuat kurva larutan standar, sehingga diperoleh garis regresi linier yang dibuat grafik konsentrasi (X) dan absorbansi (Y).

## 3. Penentuan Kadar Protein

Penentuan kadar protein dalam sampel dengan cara mensubstitusikan absorbansi sampel kedalam persamaan garis regresi  $Y = aX + b$  yang diperoleh dari larutan standar.<sup>10</sup>

---

<sup>10</sup> 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%201.IV.%20DAFTAR%20PUSTAKA.pdf>, diakses tanggal 21 Februari 2014