

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dimulai dari tahap ekstraksi, optimasi, aplikasi, dan analisis. Waktu Pelaksanaan mulai dari bulan Februari sampai Agustus 2017. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Riset Jurusan Pendidikan Kimia Universitas Pendidikan Indonesia. Pengujian *Total Plate Count* (TPC) dilakukan di Lab Riset Bioteknologi Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

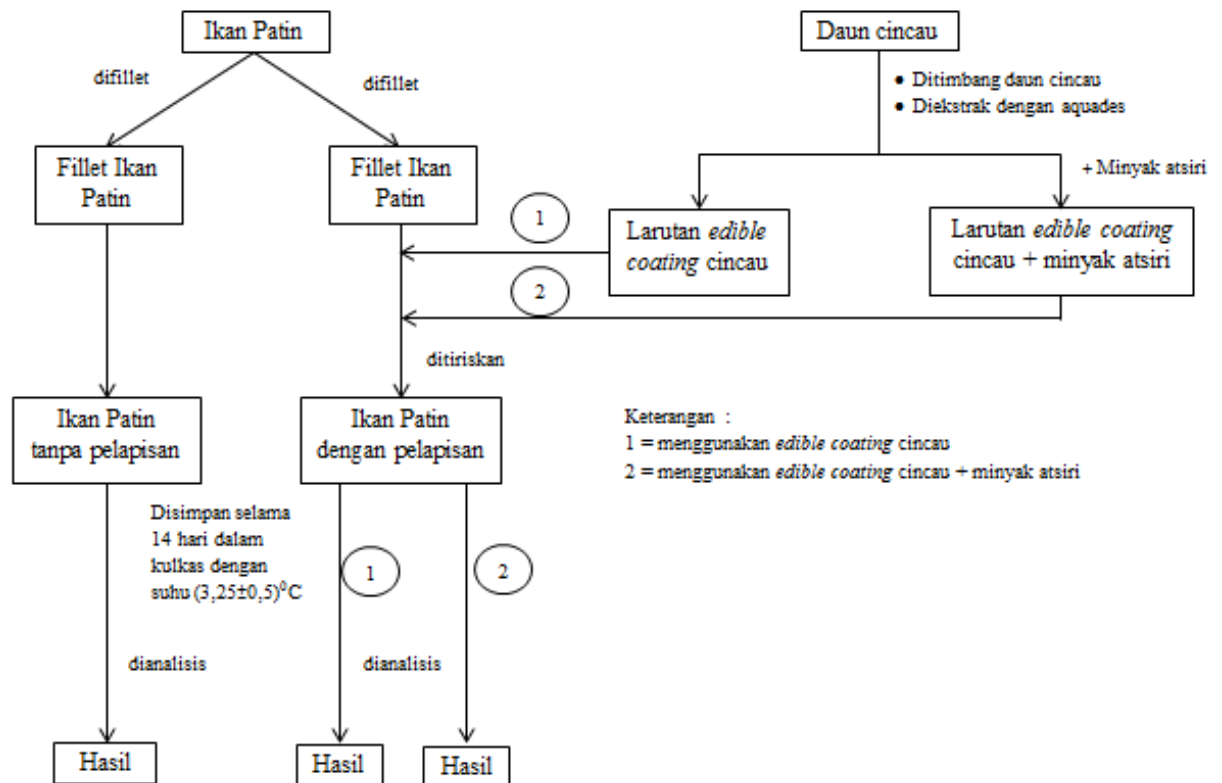
##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas kimia, neraca analitik, oven, lumpang dan alu, kertas saring, corong Buchner, vakum, saringan kain, hot plate, magnetic stirrer, batang pengaduk, spatula, pipet tetes, cawan petri, kulkas, botol vial, GC-MS, dan pH meter.

##### **3.2.2 Bahan**

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah ikan patin (*Pangasius sp.*), bahan edible coating dari cincau hijau pohon (*Premna oblongifolia Merr.*), dan bahan tambahan yang dibutuhkan adalah aquades, minyak atsiri daun jeruk purut, CH<sub>3</sub>COOH 1 M, CaCl<sub>2</sub> anhidrat, NaOH 0,1 M, dan indikator PP 1%.

### 3.3 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1 Bagan alir penelitian

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Determinasi daun cincau

Determinasi daun cincau dilakukan untuk mengetahui jenis daun cincau yang digunakan pada penelitian ini. Daun cincau dilakukan determinasi di Laboratorium Struktur Tumbuhan Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

#### 3.4.2 Analisis kualitatif dan kuantitatif pektin

Tahap analisis kualitatif dan kuantitatif pektin pada daun cincau digunakan prosedur yang dilakukan oleh Yi Chen. dkk (2014). Sebanyak 25 mL ekstrak cincau dicampurkan dengan indikator PP dan 100 mL NaOH 0,1 M. Campuran tersebut diaduk secara konstan selama 30 menit. Sebanyak 50 mL asam asetat 1 M dan 25 mL larutan kalsium klorida (27,5 gram kalsium klorida anhidrat dalam 500 mL aquades) ditambahkan ke dalam campuran, kemudian dilakukan pengadukan kembali selama 1 jam. Campuran tersebut dididihkan selama 2 menit. Pektin yang terendapkan sebagai kalsium pektat dipisahkan dengan cara disaring

Cecep Nazar Nugraha, 2017

**PENGARUH PENGGUNAAN EDIBLE COATING CINCAU HIJAU (*Premna oblongifolia* Merr.) DIPERKAYA MINYAK ATSIRI DAUN JERUK PURUT TERHADAP KUALITAS FILLET IKAN PATIN (*Pangasius*)**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

menggunakan kertas saring. Endapan kalsium pektat dicuci dengan air panas. Endapan tersebut kemudian di keringkan dalam desikator selama semalaman. Kandungan pektin dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$p_c = \frac{(m_1 - m_2) \times 0,9233}{m \times V_1/V}$$

Keterangan :

$P_c$  : kandungan pektin

$m_1$  : massa kalsium pektat pada kertas saring (g)

$m_2$  : massa kertas saring (g)

$m$  : massa daun cincau (g)

$V_1$  : volume ekstrak cincau (mL)

$V$  : volume awal ekstrak cincau (mL)

0,9233 : faktor konversi kalsium pektat

### 3.4.3 Analisis minyak atsiri dengan GC-MS

Analisis minyak atsiri bertujuan untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya. Minyak atsiri yang dianalisis yaitu minyak atsiri daun jeruk purut yang ada di pasaran. Analisis minyak atsiri dilakukan oleh pihak Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA UPI.

### 3.4.4 Pembuatan larutan *edible coating* coating cincau hijau

Pembuatan larutan *edible coating* dilakukan dengan cara mengekstraksi daun cincau dalam pelarut aquades. Cara ekstraksi daun cincau dilakukan secara tradisional yaitu dengan cara meremas daun cincau. Ekstraksi daun cincau dilakukan sampai larutan menjadi hijau dan kental. Pemisahan antara ampas daun cincau dan larutan *edible coating* yaitu dengan menggunakan kain.

### 3.4.5 Pelapisan dan penyimpanan ikan patin

Pelapisan ikan patin dilakukan dengan cara pencelupan ke dalam larutan *edible coating* cincau. Pencelupan dilakukan selama  $\pm 5$  menit dan semua bagian ikan harus terendam seluruhnya. Ikan patin ditiriskan sebelum disimpan dalam

kulkas. Media penyimpanan ikan patin menggunakan wadah *stayrofoam* dan ditutupi dengan aluminium foil. Suhu penyimpanan pada kulkas yaitu  $3,25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

### **3.4.6 Tahap optimasi**

#### **3.4.6.1 Tahap optimasi konsentrasi cincau**

Tahap optimasi konsentrasi cincau bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimum cincau yang memberikan hasil yang efektif dalam pengawetan. Pada tahap optimasi konsentrasi cincau, larutan *edible coating* cincau dibuat 5 variasi konsentrasi yaitu 0%, 2,5%, 5%, 7,5%, dan 10% (berat daun cincau (g) per 100 mL aquades). Penentuan konsentrasi optimum dilakukan dengan cara analisis sensori dan penentuan susut bobot pada daging ikan. Indikator sensori yang digunakan yaitu warna, aroma, dan tekstur daging ikan. Pemberian nilai pada daging ikan dengan skala 1 (sangat buruk), 2 (buruk), 3 (baik), dan 4 (sangat baik). Penentuan susut bobot dilakukan dengan cara menimbang massa ikan. Analisis sensori dan penentuan susut bobot dilakukan setiap hari selama 14 hari penyimpanan.

#### **3.4.6.2 Tahap optimasi konsentrasi minyak atsiri**

Tahap optimasi konsentrasi minyak atsiri bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimum minyak atsiri yang efektif untuk mengawetkan ikan patin. Pada tahap ini dibuat 3 variasi konsentrasi minyak atsiri yaitu 0,5%, 1%, dan 2% (v/b daun cincau) (Y. Alparslan, dkk. 2016). Minyak atsiri ditambahkan ke dalam konsentrasi cincau optimum sambil diaduk selama  $\pm 10$  menit atau sampai larutan homogen. Penentuan konsentrasi optimum dilakukan dengan cara analisis sensori dan penentuan susut bobot pada daging ikan. Indikator sensori yang digunakan yaitu warna, aroma, dan tekstur daging ikan. Pemberian nilai pada daging ikan dengan skala 1 (sangat buruk), 2 (buruk), 3 (baik), dan 4 (sangat baik). Penentuan susut bobot dilakukan dengan cara menimbang massa ikan. Analisis sensori dan penentuan susut bobot dilakukan setiap hari selama 14 hari penyimpanan.

### **3.4.7 Tahap analisis penentuan kualitas ikan patin**

Pada tahap analisis dibuat 3 variasi perlakuan berbeda pada setiap ikan patin yaitu ikan patin kontrol (tanpa pelapisan), ikan patin dilapisi *edible coating*

cincau pada konsentrasi optimum, dan ikan patin yang dilapisi *edible coating* dan minyak atsiri pada konsentrasi optimum. Penentuan kualitas ikan patin dilakukan dengan menentukan nilai pH ikan dan total bakteri selama penyimpanan.

#### 3.4.7.1 Uji pH

Penentuan pH sampel dilakukan berdasarkan prosedur Rita Kaparang, Silvana D.H, dan I Ketut W yang telah dimodifikasi. Penentuan nilai pH dilakukan menggunakan alat pH meter. Sampel ikan ditumbuk sambil ditambahkan aquades dengan perbandingan 1:2 (b/v). Ekstrak ikan disaring menggunakan kertas saring. Kemudian filtrat diukur dengan pH meter yang telah di kalibrasi sebelumnya.

#### 3.4.7.2 Uji total bakteri

Pengujian mikrobiologi bertujuan untuk mengetahui kadar mikroba pada makanan, sehingga dapat menentukan kelayakan makanan tersebut untuk dikonsumsi. Uji mikrobiologi ini juga digunakan untuk mengetahui seberapa besar efektivitas penggunaan *edible coating* dan penambahan minyak esensial ke dalam *edible coating*. Pengukuran total bakteri digunakan metode *Total Plate Count* (TPC) yang dilakukan oleh pihak Laboratorium Riset Bioteknologi Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

Sampel ikan ditimbang sebanyak 1 gram yang sebelumnya telah dicacah terlebih dahulu. Sebanyak 4 tabung reaksi berisi masing-masing 9 mL aquades diberi tanda 1- 4. Selanjutnya dilakukan pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , dan  $10^{-4}$  dengan cara memasukkan 1 gram sampel ke dalam tabung ke-1 ( $10^{-1}$ ), kemudian dipipet 1 mL dimasukkan kembali ke dalam tabung ke-2 ( $10^{-2}$ ), sampai tabung ke-6. Pencuplikan larutan dari tabung 2, 3, dan 4 digunakan pipet steril dan dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri dengan label  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , dan  $10^{-4}$ . Selanjutnya disiapkan media *nutrient agar* dengan suhu  $40^{\circ}\text{C} - 45^{\circ}\text{C}$  sebanyak 3 tabung dengan masing-masing berisi 9 mL kaldu nutrisi agar. Setiap cawan petri yang telah berisi larutan sampel ditambahkan nutrisi agar kemudian dihomogenkan dengan cara memutar cawan petri searah jarum jam dan berlawanan arah jarum jam. Campuran tersebut dibiarkan sampai dingin dan

membeku. Campuran diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam. Koloni bakteri dihitung menggunakan *colony counter*.