

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai dengan bulan Juli 2022 di Laboratorium Riset Kimia Makanan Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat

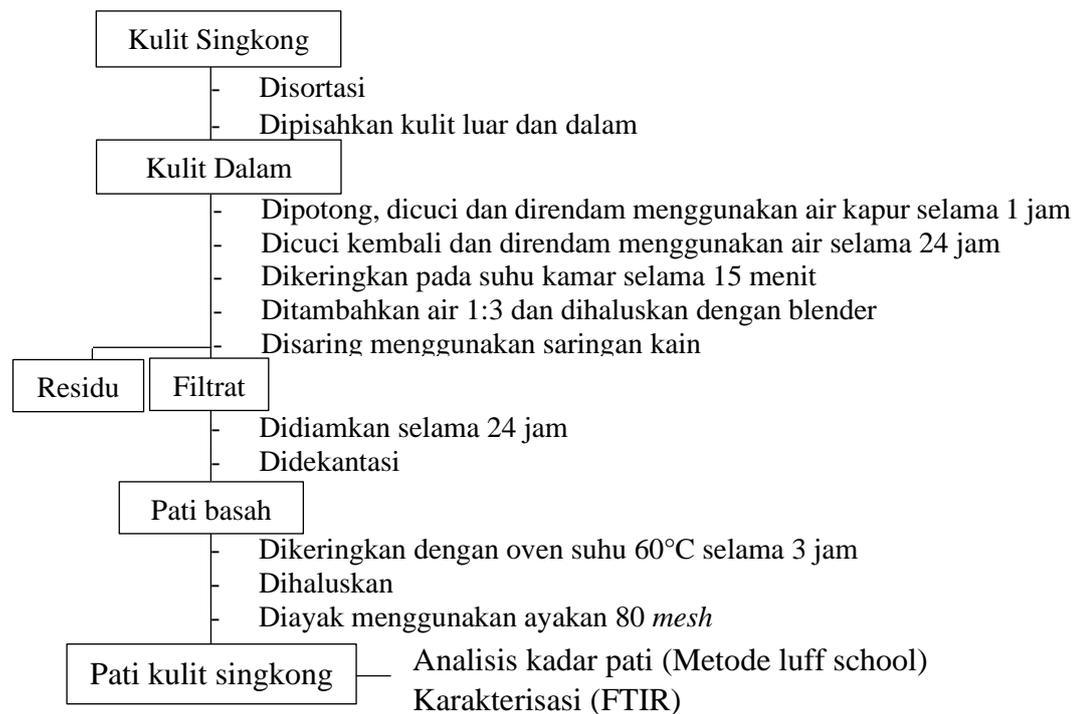
Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi neraca analitik, blender, oven, gelas ukur, gelas kimia, labu ukur, *hot plate*, pipet tetes, pipet ukur, tabung reaksi, rak tabung, cawan petri, pH meter, labu dasar bulat, pendingin *Liebig*, pembakar spirtus, instrumen *Gas Chromatography-Mass Spectrometri* (GC-MS) dan instrumen *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

#### 3.2.2 Bahan

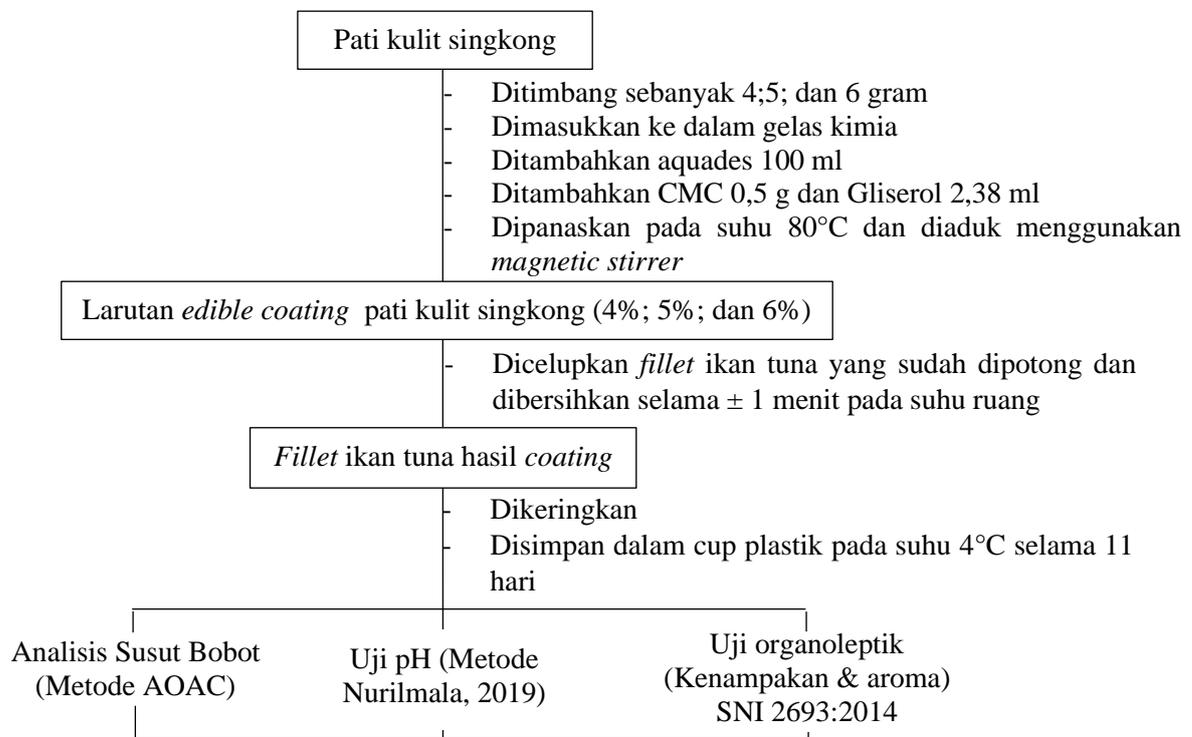
Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *fillet* ikan tuna (*Thunnus albacares*), bahan *edible coating* dari pati kulit singkong, dan bahan tambahan yang dibutuhkan adalah *carboxymethyl cellulose* (CMC), gliserol, minyak esensial kulit jeruk lemon, aquades, etanol 95%, NaOH, asam asetat 1N, kalium iodida, iodium, *nutrient agar*, HCl 25%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1N, amilum, dan larutan *Luff Schoorl*.

### 3.3 Bagan Alir Penelitian

#### 3.3.1 Pembuatan Pati Kulit Singkong



#### 3.3.2 Optimasi konsentrasi pati kulit singkong pada produksi *edible coating*



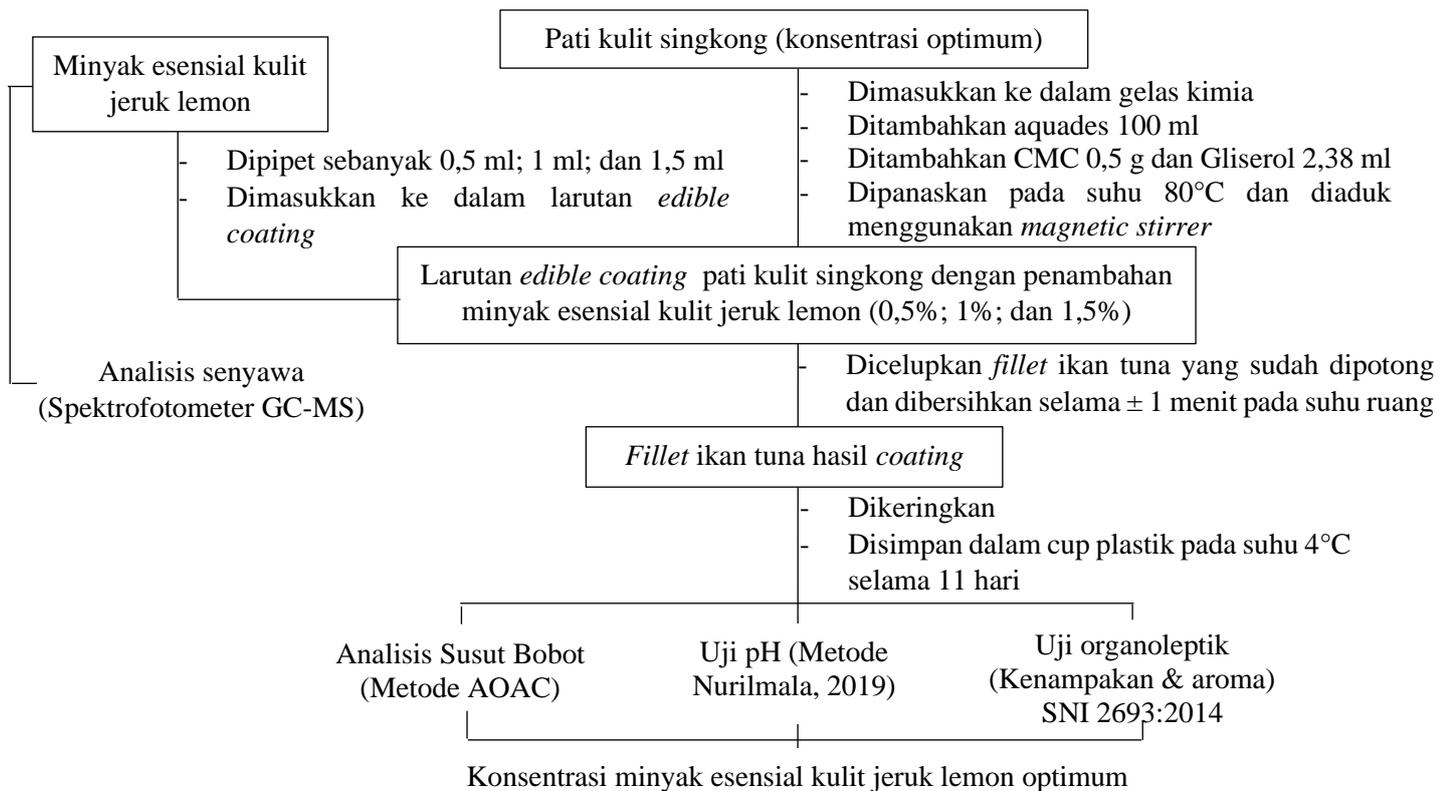
Konsentrasi pati kulit singkong optimum

Putri Kania

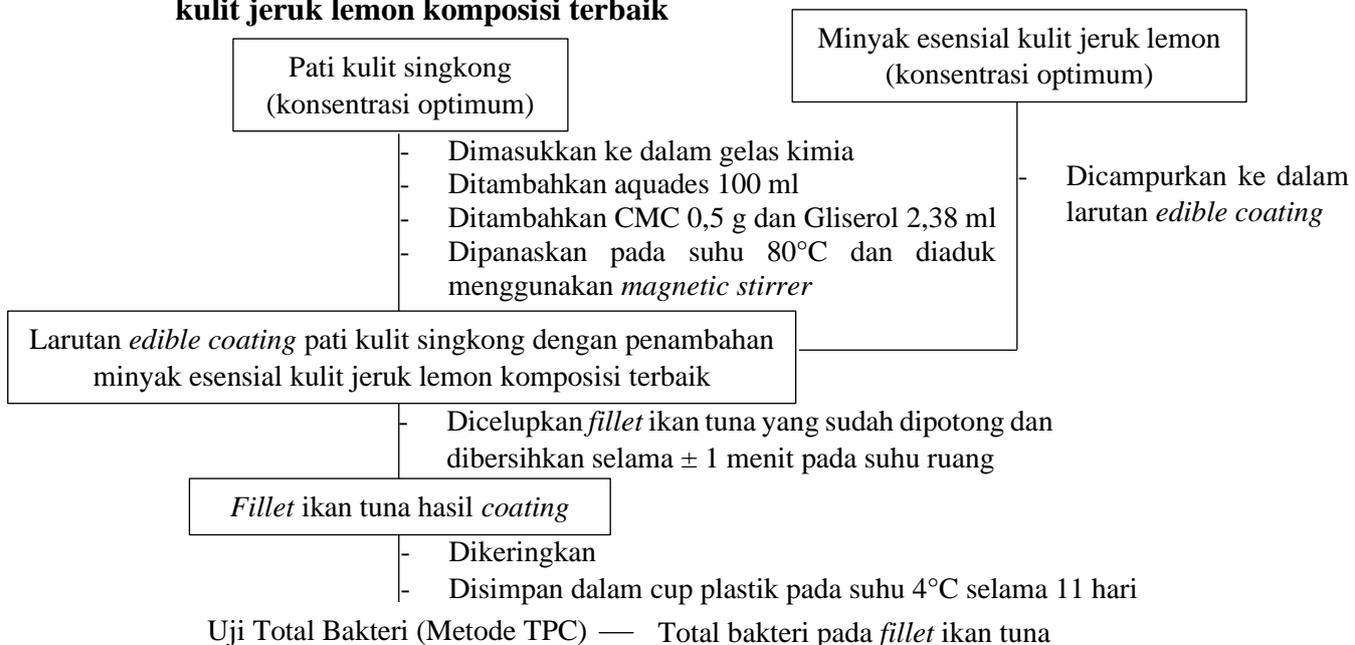
**PEMANFAATAN PATI KULIT SINGKONG DENGAN PENAMBAHAN MINYAK ESENSIAL KULIT JERUK LEMON SEBAGAI EDIBLE COATING PADA FILLET IKAN TUNA (*Thunnus albacares*)**

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

### 3.3.3 Optimasi Konsentrasi Minyak Esensial Kulit Jeruk Lemon Pada Produksi *Edible Coating*



### 3.3.4 Produksi larutan *edible coating* pati kulit singkong dan minyak esensial kulit jeruk lemon komposisi terbaik



Putri Kania, 2022

PEMANFAATAN PATI KULIT SINGKONG DENGAN PENAMBAHAN MINYAK ESENSIAL KULIT JERUK LEMON SEBAGAI EDIBLE COATING PADA FILLET IKAN TUNA (*Thunnus albacares*)

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

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Penentuan Komposisi Terbaik pada Produksi *Edible Coating*

Penentuan komposisi terbaik pada produksi *edible coating* pati kulit singkong dengan penambahan minyak esensial kulit jeruk lemon untuk memperpanjang umur simpan *fillet* ikan tuna dilakukan beberapa tahap. Tahapan tersebut meliputi pembuatan pati kulit singkong, penentuan kadar pati kulit singkong, karakterisasi pati kulit singkong menggunakan spektrofotometer FTIR, karakterisasi minyak esensial kulit jeruk lemon menggunakan spektrofotometer GC-MS, pembuatan larutan *edible coating* dengan variasi konsentrasi pati kulit singkong, pembuatan larutan *edible coating* dengan variasi konsentrasi minyak esensial kulit jeruk lemon pada produksi *edible coating*, dan aplikasi *edible coating* pada *fillet* ikan tuna yang selanjutnya dianalisis dengan indikator susut bobot, pH, dan organoleptik.

##### 3.4.1.1 Pembuatan Pati Kulit Singkong

Pembuatan pati kulit singkong dilakukan berdasarkan metode yang digunakan Alfian,dkk (2020). Tahap pertama yang dilakukan dalam pembuatan pati adalah sortasi kulit singkong yang berkualitas baik. Setelah itu pencucian dilakukan menggunakan air yang mengalir. Kulit singkong yang sudah bersih direndam menggunakan air kapur selama 1 jam untuk menghilangkan kandungan HCN dalam kulit singkong. Kulit singkong dibersihkan kembali dan dilakukan perendaman menggunakan air selama 24 jam. Setelah direndam 24 jam, kulit singkong dihaluskan menggunakan blender dengan penambahan air 1:3. Larutan tersebut disaring dengan saringan kain untuk memisahkan ampas dengan filtratnya. Filtrat tersebut di endapkan selama 24 jam dan setelah itu didekantasi. Endapan yang dihasilkan dikeringkan dengan oven suhu 60°C selama 3 jam. Pati yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan berukuran 80 mesh, hal ini untuk mendapatkan pati kulit singkong bertekstur halus.

##### 3.4.1.2 Penentuan Kadar Pati

Penentuan kadar pati kulit singkong ini berdasarkan metode yang digunakan Ifmaily (2018) dengan sedikit modifikasi. Pati kulit singkong ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* 250 mL kemudian ditambahkan 50

Putri Kania, 2022

**PEMANFAATAN PATI KULIT SINGKONG DENGAN PENAMBAHAN MINYAK ESENSIAL KULIT JERUK LEMON SEBAGAI EDIBLE COATING PADA FILLET IKAN TUNA (*Thunnus albacares*)**

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

mL aquades dan 5 mL HCl 25%. Kemudian dihidrolisis selama 3 jam pada suhu 100°C lalu didinginkan. Selanjutnya larutan dinetralkan dengan NaOH 25% sampai pH 7. Larutan sampel dipindahkan dalam labu takar 100 mL, kemudian tepatkan hingga tanda tera dengan aquades. Larutan ini kemudian disaring kembali menggunakan kertas saring.

Larutan sampel diambil sebanyak 25 mL, dimasukkan ke dalam labu dasar bulat, dan ditambahkan 25 mL larutan *Luff Schoorl*. Dipanaskan selama 10 menit pada pendingin balik, diangkat, dan didinginkan. Kemudian ditambahkan 15 mL KI 20% dan 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%. Dititrasi dengan hati-hati menggunakan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1 N dan indikator larutan kanji 0,5% sebanyak 2-3 mL. Dengan cara yang sama dilakukan juga terhadap blanko dengan mengganti larutan sampel atau filtrat menggunakan aquades. Ditentukan kadar gula yang dinyatakan sebagai glukosa dari filtrat yang diperoleh dengan rumus:

$$\text{Larutan Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ yang digunakan} = \frac{(\text{mL blanko} - \text{mL sampel})}{0,1} \times N (\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3),$$

dimana:

mL blanko = volume Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> yang digunakan untuk titrasi blanko.

mL sampel = volume Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> yang digunakan untuk titrasi sampel.

0,1 = konsentrasi larutan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = konsentrasi larutan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> yang telah distandarisasi.

$$\text{Kadar pati (\%)} = \frac{\text{bobot glukosa} \times Fp \times 0,9}{w} \times 100\%$$

dimana:

Fp = Faktor pengenceran

0,9 = Faktor konversi

W = berat sampel (mg)

### 3.4.1.3 Karakterisasi Pati Kulit Singkong menggunakan Spektrofotometer FTIR

Karakterisasi pati kulit singkong dilakukan menggunakan instrumen *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). FTIR yang digunakan yaitu Shimadzu 8400S., tipe Michelson dengan sistem optik sinar tunggal.

Putri Kania, 2022

**PEMANFAATAN PATI KULIT SINGKONG DENGAN PENAMBAHAN MINYAK ESENSIAL KULIT JERUK LEMON SEBAGAI EDIBLE COATING PADA FILLET IKAN TUNA (*Thunnus albacares*)**

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

#### 3.4.1.4 Karakterisasi Minyak Esensial Kulit Jeruk Lemon menggunakan Spektrofotometer GC-MS

Karakterisasi minyak esensial kulit jeruk lemon dilakukan menggunakan instrumen *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). GC-MS yang digunakan yaitu GCMS–QP 2010 SE, Shimadzu Corp., Japan dengan kolom RT-X 5 MS, panjang 30 meter, dan diameter 0,25 mm.

#### 3.4.1.5 Pembuatan Larutan *Edible Coating* dengan Variasi Konsentrasi Pati Kulit Singkong

Pembuatan *edible coating* pada penelitian ini dilakukan berdasarkan pada metode Rangkuti, dkk (2020) dengan sedikit modifikasi. Timbang pati kulit singkong sebanyak 4 gram; 5 gram; dan 6 gram. Masukkan ke dalam masing-masing gelas kimia dan tambahkan 100 ml aquades. Panaskan larutan tersebut menggunakan hotplate suhu 80°C. Tambahkan gliserol 3% dan CMC 0,5% lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai homogen.

Keterangan masing-masing varian pada *edible coating* pati kulit singkong adalah sebagai berikut:

Kontrol (K) = tanpa perlakuan

P4 = Pati kulit singkong 4% + CMC 0,5% + Gliserol 3%

P5 = Pati kulit singkong 5% + CMC 0,5% + Gliserol 3%

P6 = Pati kulit singkong 6% + CMC 0,5% + Gliserol 3%

#### 3.4.1.6 Pembuatan Larutan *Edible Coating* dengan Variasi Konsentrasi Minyak Esensial Kulit Jeruk Lemon

Pembuatan larutan *edible coating* dilakukan dengan menggunakan konsentrasi pati optimum berdasarkan hasil analisis sebelumnya dengan penambahan CMC 0,5% dan gliserol 3%. Langkah yang dilakukan yaitu mencampurkan bahan ke dalam gelas kimia dan ditambahkan aquades 100 ml. Larutan dipanaskan pada suhu 80°C dan dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* hingga menghasilkan larutan *edible coating* yang homogen. Setelah pati, CMC, dan gliserol tercampur rata, suhu pemanasan diturunkan menjadi 40°C. Jika suhu larutan sudah mencapai 40-45°C minyak esensial kulit jeruk lemon ditambahkan

Putri Kania, 2022

**PEMANFAATAN PATI KULIT SINGKONG DENGAN PENAMBAHAN MINYAK ESENSIAL KULIT JERUK LEMON SEBAGAI EDIBLE COATING PADA FILLET IKAN TUNA (*Thunnus albacares*)**

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

ke dalam larutan. Minyak esensial kulit jeruk lemon yang ditambahkan yaitu 0,5 ml; 1 ml; dan 1,5 ml pada masing-masing gelas kimia (Mahardika, 2019).

Keterangan masing-masing varian pada larutan *edible coating* pati kulit singkong dengan penambahan minyak esensial kulit jeruk lemon adalah sebagai berikut:

M1 = Minyak esensial kulit jeruk lemon 0,5% + Pati kulit singkong (konsentrasi optimum) + CMC 0,5% + Gliserol 3%

M2 = Minyak esensial kulit jeruk lemon 1% + Pati kulit singkong (konsentrasi optimum) + CMC 0,5% + Gliserol 3%

M3 = Minyak esensial kulit jeruk lemon 1,5% + Pati kulit singkong (konsentrasi optimum) + CMC 0,5% + Gliserol 3%

#### **3.4.1.7 Aplikasi *Edible Coating* pada *Fillet* Ikan Tuna**

Sebelum proses *coating*, *fillet* ikan tuna dicuci terlebih dahulu hingga bersih menggunakan air mengalir. *Fillet* ikan tuna dipotong berukuran  $\pm 4 \times 3$  cm dengan berat 4-5g. Proses pelapisan dilakukan dengan mencelupkan *fillet* ikan tuna pada larutan *edible coating* selama  $\pm 1$  menit dan dikeringkan di udara terbuka. Kemudian *fillet* ikan tuna disimpan pada wadah tertutup selama 11 hari penyimpanan dengan suhu 4°C. Setelah itu, *fillet* ikan tuna hasil *coating* dilakukan beberapa analisis (Hermalena, 2022).

#### **3.4.1.8 Analisis Susut Bobot pada *Fillet* Ikan Tuna**

Pengukuran susut bobot dilakukan secara gravimetri, yaitu membandingkan selisih bobot sebelum penyimpanan dengan sesudah penyimpanan. Kehilangan bobot selama penyimpanan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Susut bobot (\%)} = \frac{W - W_a}{W} \times 100\%$$

dimana:

W = bobot *fillet* ikan tuna pada awal penyimpanan

$W_a$  = bobot *fillet* ikan tuna pada akhir penyimpanan

(AOAC dalam Mahardika, 2019)

#### **3.4.1.9 Pengujian pH pada *Fillet* Ikan Tuna**

Putri Kania, 2022

**PEMANFAATAN PATI KULIT SINGKONG DENGAN PENAMBAHAN MINYAK ESENSIAL KULIT JERUK LEMON SEBAGAI EDIBLE COATING PADA FILLET IKAN TUNA (*Thunnus albacares*)**

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

Pengukuran pH *fillet* ikan tuna dilakukan berdasarkan metode Nurilmala (2019) dengan sedikit modifikasi. pH *fillet* ikan tuna diukur menggunakan pH meter. Sebelum dilakukan pengukuran pada sampel, pH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan pH 4, pH 7 dan pH 10. Sampel *fillet* ikan tuna dipotong-potong lalu dihancurkan dan diambil  $\pm 2,5$  gram yang kemudian dilarutkan dengan 22,5 mL aquades. Setelah itu, larutan diencerkan dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas, selanjutnya disaring menggunakan kertas saring dan diukur nilai pH sebanyak tiga kali, kemudian dirata-ratakan.

#### **3.4.1.10 Analisis Organoleptik pada *Fillet* Ikan Tuna**

Analisis organoleptik pada *fillet* ikan tuna dianalisis oleh 15 panelis tidak terlatih meliputi atribut kenampakan dan aroma. Analisis ini dilakukan dengan cara pengamatan dan pemberian nilai (skor) berdasarkan SNI 2693:2014.

#### **3.4.2 Pembuatan Larutan *Edible Coating* Pati Kulit Singkong dan Minyak Esensial Jeruk Lemon Komposisi Terbaik**

Pembuatan larutan *edible coating* dilakukan dengan menggunakan konsentrasi pati optimum dan konsentrasi minyak esensial kulit jeruk lemon optimum dengan penambahan CMC 0,5% dan gliserol 3%. Langkah yang dilakukan yaitu mencampurkan bahan ke dalam gelas kimia dan ditambahkan aquades 100 ml. Larutan dipanaskan pada suhu 80°C dan dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* hingga menghasilkan larutan *edible coating* yang homogen. Setelah pati, CMC, dan gliserol tercampur rata, suhu pemanasan diturunkan menjadi 40°C. Jika suhu larutan sudah mencapai 40-45°C minyak esensial kulit jeruk lemon ditambahkan ke dalam larutan (Mahardika, 2019).

##### **3.4.2.1 Pengujian Total Bakteri *Fillet* Ikan Tuna**

Pengujian total bakteri pada *fillet* ikan tuna dilakukan menggunakan metode Affan, dkk (2017) dengan sedikit modifikasi. Metode uji total bakteri menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada *Nutrient agar* dan dihitung menggunakan metode hitungan cawan (*plate count method*). Sebelum pengujian, semua alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan cara sterilisasi kering menggunakan oven suhu

Putri Kania, 2022

**PEMANFAATAN PATI KULIT SINGKONG DENGAN PENAMBAHAN MINYAK ESENSIAL KULIT JERUK LEMON SEBAGAI EDIBLE COATING PADA FILLET IKAN TUNA (*Thunnus albacares*)**

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

170°C. *Nutrient agar* ditimbang sebanyak 6 gram lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan aquades 300 ml. Larutan *nutrient agar* dipanaskan pada suhu 150°C dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Pemanasan dilakukan sampai warna larutan berubah dari kuning keruh menjadi kuning *clear* atau bening.

Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode *pour plate*. Tahap isolasi bakteri dilakukan dengan cara melakukan pengenceran bertingkat terhadap sampel. Sampel *fillet* ikan tuna ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam 9 ml larutan garam fisiologis kemudian dihomogenkan. Tahap tersebut menjadi pengenceran  $10^{-1}$ . Pengenceran dilakukan hingga  $10^{-3}$ . Dari setiap pengenceran diambil 1 ml dan diinokulasikan ke dalam cawan Petri. Setelah itu, media *nutrient agar* dimasukkan ke dalam cawan Petri sebanyak 12-15ml (suhu 44-46°C) dan dihomogenkan secara perlahan dengan membentuk arah angka 8. Campuran kemudian didiamkan sampai memadat. Setelah memadat, mikroba dibiakan dan diinkubasi selama 48 jam dalam inkubator suhu 37°C lalu dilakukan perhitungan mikroba total menggunakan *colony counter*. Perhitungan angka lempeng total dilakukan sebagai berikut:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Dengan:

N adalah jumlah jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per ml/g;

$\sum C$  adalah jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung;

$n_1$  adalah jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung;

$n_2$  adalah jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung;

d adalah pengenceran pertama yang dihitung.

(SNI 01-2332.3-2006)

### 3.4.3 Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA (*One-way Analysis of Variance*) untuk mendeteksi apakah terdapat pengaruh yang nyata dari perlakuan yang diberikan pada tingkat signifikansi 5% ( $\alpha=0,05$ ). Hasil yang menunjukkan

perbedaan nyata dilakukan uji lanjut menggunakan uji beda nyata *Tukey*'HSD untuk mengetahui perbedaan rerata antar perlakuan (Kartikasari, dkk, 2018).

Putri Kania, 2022

**PEMANFAATAN PATI KULIT SINGKONG DENGAN PENAMBAHAN MINYAK ESENSIAL KULIT JERUK LEMON SEBAGAI EDIBLE COATING PADA FILLET IKAN TUNA (*Thunnus albacares*)**

Universitas Pendidikan Indonesia | [Repository.upi.edu](https://repository.upi.edu) | [perpustakaan.upi.edu](https://perpustakaan.upi.edu)