

### III. MATERI DAN METODE

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan September 2014-Februari 2015 di Laboratorium Teknologi Pascapanen dan Laboratorium Nutrisi dan Kimia, Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.

#### 3.2. Materi Penelitian

##### 3.2.1 Bahan

Bahan dasar pembuatan gelatin tulang sapi adalah; tulang sapi bagian paha sebanyak 12 kg yang berasal dari Rumah Pemotongan Hewan (RPH) Pekanbaru, HCl 5% dan Aquades. Bahan kimia yang diperlukan dalam penelitian ini adalah bahan untuk analisis kadar protein, kadar lemak, kadar abu, kadar air dan karbohidrat.

##### 3.2.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah peralatan untuk proses pembuatan gelatin seperti toples untuk merebus, mangkuk tempat bahan, saringan, *waterbath*, dan oven. Alat untuk analisis kadar protein, lemak, kadar abu, kadar air dan karbohidrat menggunakan timbangan analitik, lemari asam, labu destilasi, gelas ukur 100 ml, pipet volume 25 ml, mikroskop elektron, tabung *Erlenmeyer*, labu Kjedral, alat destruksi dan alat destilasi. Pada analisis kadar abu meliputi cawan, timbangan analitik, tanur dan desikator dan alat pada analisis kadar air meliputi botol, desikator, timbangan analitik, oven serta analisis kadar lemak yang meliputi *petroleum eter*.

### 3.3 Metode penelitian

#### 3.3.1. Rancangan percobaan

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada 3 taraf perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah proses ekstraksi gelatin pada suhu yang berbeda (65°C, 75°C dan 85°C), rancangan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pembanding : gelatin komersial

- A. Pengestrakan tulang paha sapi pada suhu 65°C
- B. Pengestrakan tulang paha sapi pada suhu 75°C
- C. Pengestrakan tulang paha sapi pada suhu 85°C

Adapun perlakuan suhu pengestrakan penelitian ini dengan menggunakan tulang paha sapi dapat dilihat pada Tabel 3.1.

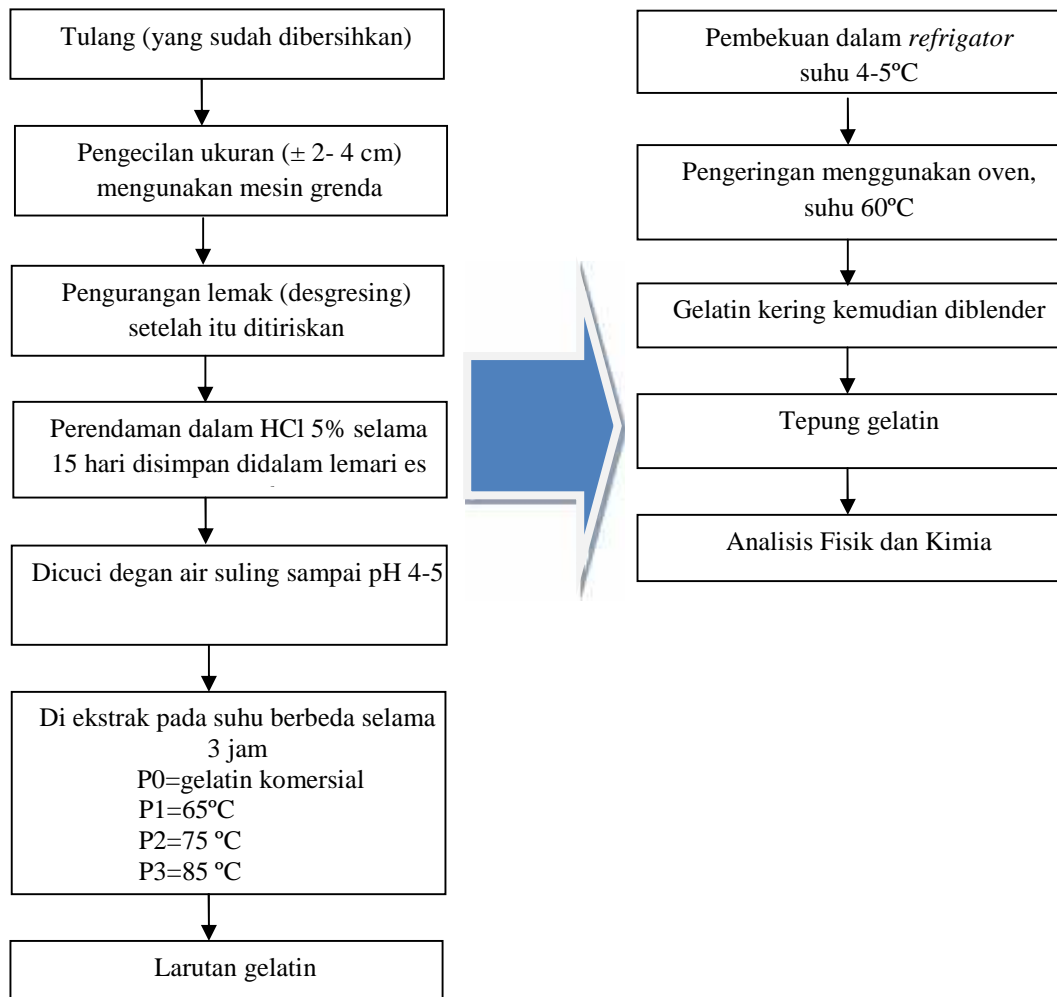
Tabel 3.1. Perlakuan suhu ekstraksi penelitian dengan menggunakan tulang paha sapi

Perlakuan/Ulangan	U1	U2	U3	U4
A1 (65°C)	A1U1	A1U2	A1U3	A1U4
A2 (75°C)	A2U1	A2U2	A2U3	A2U4
A3 (85°C)	A3U1	A3U2	A3U3	A3U4

Perbandingan hasil penelitian dengan menggunakan gelatin komersial sebagai pembanding dengan menggunakan gelatin sapi komersial. Bahan baku gelatin komersial sebagian berasal dari tulang dan kulit sapi.

### 3.4. Prosedur penelitian

Penelitian dilakukan sesuai dengan prosedur pembuatan ekstrak gelatin tulang sapi, pengolahan sampai tahap analisis variabel penelitian yang disajikan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Tahap pembuatan gelatin tulang sapi (Hinterwaldner, 1977).

1. Penyiapan bahan baku, terdiri atas pembersihan tulang sapi dari dagingnya dengan menggunakan pisau. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan sebagian dari daging yang berlebihan dan kotoran-kotoran yang menempel pada tulang terlepas, agar tidak mengganggu proses berikutnya. Kemudian tulang dipotong

kecil-kecil lalu dicuci dengan air berulang-ulang sampai bersih, setelah itu ditimbang sebanyak 1000 gram.

2. Tahap pengurangan lemak (*degreasing*)

Tulang yang telah ditimbang direbuskan pada suhu 85°C selama 3 jam, ini bertujuan untuk mengurangi lemak, kemudian tiriskan. Selanjutnya tulang direndam dalam HCl sesuai dengan variabel yang dikerjakan.

3. Tahap ekstraksi

Tulang yang telah mengalami pencucian berulang kali kemudian tulang hasil dari perendaman asam (*ossein*) kemudian di ekstrak. Proses ekstraksi dimulai dengan menempatkan *ossein* dalam toples kaca dan ditambahkan akuades 600 ml, kemudian dipanaskan didalam *shaker bath* pada suhu sesuai taraf perlakuan. Pemanasan ini akan menghasilkan larutan gelatin dan sisa ossein. Keduanya dipisahkan dengan menggunakan saring atau kain kasa.

4. Pendinginan

Larutan gelatin yang diperoleh masih dalam keadaan encer. Kemudian dilakukan pendinginan dalam ruangan pendingin 10°C.

5. Pengeringan

Gelatin yang telah berbentuk gel selanjutnya dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C sampai diperoleh gelatin kering dengan kadar air pada kisaran 9-16%. Selanjutnya dilakukan proses penghalusan (*grinding*), sehingga diperoleh gelatin kering dalam bentuk butiran halus, kemudian dianalisis sifat fisik dan kimianya.

### 3.5. Peubah Penelitian

Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah: analisa fisik rendemen, pH meter, kekuatan gel dan analisa proksimat, uji meliputi kadar air, kadar abu, lemak, dan kadar protein.

### 3.6. Prosedur Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan terhadap gelatin tulang sapi dengan pengamatan parameter sebagai berikut:

#### 1. Rendemen (AOAC 1995).

Rendemen diperoleh dari perbandingan berat kering *sheet* gelatin yang dihasilkan dengan bahan segar (tulang yang telah dibersihkan dari sisa daging dan lemak). Rendemen dapat diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat kering gelatin}}{\text{Berat bahan segar}} \times 100\%$$

#### 2. Nilai pH (Modifikasi British Standar 757, 1975)

Nilai pH diukur dengan menggunakan pH meter Hanna HI 99163 yang telah dikalibrasi. Kalibrasi dilakukan dengan mencelupkan ujung *elektroda* pH meter ke dalam larutan *buffer* pH 4 hingga mencapai nilai 4. Sampel 0,2 g dilarutkan ke dalam 20 ml akuades bersuhu 80°C dan dihomogenkan. Nilai pH diukur dengan mencelupkan ujung *elektroda* pH meter ke dalam larutan gelatin hingga nilai yang terbaca di layar pH meter stabil. Kalibrasi pH meter dilakukan pada setiap pergantian sampel.

#### 3. Kekuatan Gel (AOAC 1995)

Larutan gelatin dengan konsentrasi 6,67% (b/b) disiapkan dengan akuades. Larutan diaduk dengan menggunakan magnetic stirrer sampai homogen kemudian dipanaskan sampai suhu 60°C selama 15 menit. Tuang larutan

dalam Standard Bloom Jars (botol dengan diameter 58-60 mm, tinggi 85 mm), tutup dan diamankan selama 2 menit. Inkubasi pada suhu 10°C selama 16-18 jam. Selanjutnya diukur menggunakan alat TA-XT plus texture analyzer pada kecepatan probe 0,5 mm/detik dengan kedalaman 4 mm. Kekuatan gel dinyatakan dalam satuan gram bloom.

#### 4. Kadar Air (AOAC, 1993)

Cawan crusibel yang bersih dikeringkan di dalam oven listrik pada suhu 110°C selama 1 jam dan didinginkan dalam desikator selama 1 jam kemudian cawan crusibel ditimbang beratnya (X), selanjutnya sampel ditimbang sebanyak 1-2 g (Y) dimasukkan kedalam cawan crusibel dan dikeringkan didalam oven listrik dengan suhu 110°C selama 8 jam, setelah pengeringan selesai sampel dan cwan crusibel didinginkan didalam desikator selama 1 jam, kemudian ditimbang beratnya (Z). Kadar air dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Air} = \frac{(X + Y) - Z}{Y} \times 100\%$$

Keterangan :

X= Berat cawan crusibel

Y= Berat sampel

Z = Berat cawan crusibel dan sampel yang telah dikeringkan.

#### 5. Kadar Abu (Foss Analytical, 2003<sup>a</sup>)

Cawan crusibel dipanaskan dalam oven pada suhu 110°C selama 1 jam, didinginkan dalam desikator lalu ditimbang (W1). Selanjutnya sampel ditimbang sebanyak 1 g kemudian dimasukkan ke dalam cawan crusibel (W2).

Cawan crusibel diletakkan dalam tanur pengabuan, dan dibakar pada suhu 525°C selama 3 jam kemudian cawan didinginkan dalam desikator lalu ditimbang (W3). Kadar abu dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Abu \%} = \frac{(W1 + W2) - W3}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W1 =Berat crusibel (g)

W2 =Berat cawan sampel (g)

W3 =Berat crusibel + sampel setelah tanur (g)

6. Kadar Lemak (Foss Analytical, 2003<sup>b</sup>)

Sampel ditimbang sebanyak 2 g (X), dimasukkan ke dalam timbel dan ditutup dengan kapas. Timbel yang berisi sampel dimasukkan/diletakkan pada *soxtex*, alat dihidupkan dan dipanaskan sampai suhu 135°C dan air dialirkan, timbel diletakkan pada *soxtec* pada posisi *rinsing*. Setelah suhu 135°C dimasukkan *aluminium cup* (yang sudah ditimbang beratnya, Z) dan berisi petroleum benzene 70 ml ke *soxtec*, lalu ditekan star dan jam, *soxtec* pada posisi *boiling*, dilakukan selama 20 menit. *Soxtec* ditekan pada posisi *rinsing* selama 40 menit, kemudian pada posisi *recovery* 10 menit, kran pada *soxtec* dengan posisi melintang. *Aluminium cup* dan lemak dimasukkan ke dalam oven selama 2 jam pada suhu 135°C, lalu dimasukkan dalam desikator, setelah dingin dilakukan penimbangan (Y). Kadar lemak dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{Y - Z}{X} \times 100\%$$

Dimana :

Z = Berat *aluminium cup* + lemak

X= Berat *aluminium cup*

Y= Berat sampel

7. Kadar Protein Kasar (Foss Analytical, 2003<sup>a</sup>)

Sampel ditimbang dengan seksama sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam *digestion tubes straight*. Kemudian ditambah katalis (1,5 g K<sub>3</sub>SO<sub>4</sub> dan 7,5 mg MgSO<sub>4</sub>) sebanyak 2 buah dan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sebanyak 6 ml ke dalam *digestion tubes straight*. Sampel didestruksi dalam lemari asam pada suhu 425°C selama 4 jam atau sampai cair menjadi jernih (kehijauan). Sampel didinginkan, ditambahkan aquades 30 ml secara perlahan-lahan. Sampel dipindahkan ke dalam alat destilasi. Disiapkan *Erlenmeyer* 250 ml yang berisi 25 ml larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 7 ml metilen red dan 10 ml brom kresol green. Ujung tabung kondensor harus terendam di bawah larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>. Ditambahkan larutan NaOH 30 ml ke dalam *Erlenmeyer*, kemudian didestilasi selama (5 menit). Tabung kondensor dibilas dengan air dan bilasannya ditampung dalam *Erlenmeyer* yang sama. Sampel dititrasi dengan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda, dilakukan juga penetapan blangko.

Kadar protein kasar dihitung menggunakan rumus :

$$\%N = \frac{(\text{ml titran} - \text{ml Blanko}) \times \text{Normalitas HCl} \times 14,007}{\text{Berat Sampel (mg)}} \times 100\%$$

$$\% \text{protein} = \% N \times \text{faktor konversi}$$

Keterangan : faktor konversi : 5,5



### 3.7. Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap 3 perlakuan dan 4 ulangan yang mengacu pada rumus Steel dan Torrie (1995). Model matematis Rancangan Acak Lengkap adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  : Pengamatan pada perlakuan ke i dan ulangan ke j

$\mu$  : Rataan umum

$\tau_i$  : Pengaruh perlakuan ke i

$\epsilon_{ij}$  : Pengaruh acak pada perlakuan ke i dan ulangan ke j

i : Perlakuan 1,2,3

j : Ulangan 1,2,3,4

Tabel 3.2. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (DB)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kudrat Tengah (KT)	F hit	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	t - 1	JKP	KTP	KTP/KTG	-	-
Galat	t (r-1)	JKG	KTG	-	-	-
Total	t r - 1	JKT	-	-	-	-

Pengolahan Data:

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{y..^2}{tr}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} = \sum Y_{ij}^2 - \text{FK}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} = \sum \frac{y..^2}{r} - \text{FK}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} = \text{JKT} - \text{JKP}$$

$$\text{F hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTG}}$$

Data uji fisik menggunakan sidik ragam. Jika perlakuan berpengaruh nyata, yaitu  $F_{hit} > F_{tabel}$  ( $\alpha = 0,05$ ) atau ( $\alpha 0,01$ ) akan diuji lanjut menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) menurut Steel dan Torrie (1995).

Hipotesis

H<sub>0</sub> = Perbedaan suhu ekstraksi tidak mempengaruhi kualitas fisik dan kimia gelatin tulang paha sapi.

H<sub>1</sub> = Perbedaan suhu ekstraksi mempengaruhi kualitas fisik dan kimia gelatin tulang paha sapi.