

BAB IV

PROSEDUR PENELITIAN

4.1. Pengambilan dan Determinasi Bahan

Ikan teri galer (*Stolephorus indicus* Van Hasselt) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Pasar Induk Caringin Bandung, Jawa Barat. Determinasi dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Bahan yang digunakan yaitu seluruh bagian tubuh ikan.

4.2. Pengolahan Bahan

Pengolahan bahan dibagi menjadi dua perlakuan yaitu dengan pengeringan dan tanpa pengeringan yang meliputi sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan dan sortasi kering. Perajangan dilakukan dengan cara memotong bagian tubuh ikan menjadi tiga bagian yaitu kepala, badan dan ekor ikan. Setelah itu sebagian bahan dikeringkan didalam pengering buatan yang dilengkapi lampu 5Watt sebanyak 4buah, dengan suhu 39°C dan sebagiannya lagi tidak dikeringkan.

4.3. Pemeriksaan Makroskopik

Pemeriksaan makroskopik meliputi panjang total tubuh, bentuk dan warna badan ikan. Pengukuran panjang tubuh ikan dilakukan dengan menggunakan alat ukur penggaris.

4.4. Analisis Parameter Standar Simplisia

4.4.1. Penetapan kadar abu total

Dua sampai tiga gram serbuk simplisia ditimbang, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian diratakan dan dipijarkan perlahan – lahan hingga arang habis, didinginkan lalu ditimbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat hilang, maka ditambahkan air panas kemudian disaring dengan kertas saring bebas abu. Sisa dan kertas saring dipijarkan dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, diuapkan, dipijarkan, kemudian ditimbang hingga bobotnya tetap. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara, kemudian dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut : (Depkes RI, 2000: 17).

$$\text{Kadar abu} = \frac{\text{Berat abu (g)}}{\text{Berat bahan awal (g)}} \times 100 \%$$

4.4.2. Penetapan kadar air

Pengukuran kadar air dilakukan dengan metode azeotroph. Bahan uji didestilasi dengan pelarut yang tidak bercampur dengan air, seperti toluen. Toluene yang akan digunakan, dijenuhkan terlebih dahulu. Sebanyak 200 ml toluen dan 2 ml air dimasukkan ke dalam labu, kemudian dihubungkan ke alat.

Tabung penerima dan pendingin dibilas dengan air dan dikeringkan. Dimasukkan ke dalam labu kering sejumlah simplisia yang ditimbang saksama diperkirakan mengandung 2 ml sampai 4 ml air. Lebih kurang 200 ml toluen yang telah dijenuhkan dengan air, dimasukkan ke dalam labu, dihubungkan ke alat (Depkes RI, 2000: 16).

Toluen dituangkan ke dalam tabung penerima melalui alat pendingin. Labu dipanaskan dengan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mulai mendidih larutan disuling dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik, hingga sebagian air tersuling, kemudian kecepatan penyulingan ditingkatkan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersuling, bagian dalam pendingin dicuci dengan toluen sambil dibersihkan dengan sikat tabung yang disambungkan pada sebuah kawat tembaga yang telah dibasahi dengan toluen. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Tabung penerima pendingin dibiarkan hingga mencapai suhu kamar. Jika ada tetes air yang melekat pada pendingin tabung penerima digosok dengan karet yang dikaitkan pada sebuah kawat tembaga dan dibasahi dengan toluen hingga tetes air turun. Setelah air dan toluen memisah sempurna, volume air dibaca kadar air dihitung dalam persen. Kadar air dihitung dengan rumus (Depkes RI, 2000: 16) :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{ml air} \times \text{BJ air}}{\text{Berat zat awal (g)}} \times 100 \%$$

4.4.3. Penetapan susut pengeringan

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 1 atau 2 gram, dimasukkan ke dalam cawan penguap yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Pengeringan dilakukan pada suhu 105°C selama 10 menit lalu dimasukkan dalam eksikator hingga suhu dingin dan ditimbang. Pengeringan dilakukan hingga didapat bobot simplisia atau ekstrak antara 2 penimbangan, perbedaannya tidak lebih dari 0,25 %. Susut pengeringan dihitung dengan rumus (Depkes RI, 2000: 13) :

$$\text{Susut pengeringan} = \frac{\text{Berat zat yang dipanaskan (g)}}{\text{Berat zat awal (g)}} \times 100 \%$$

4.5. Ekstraksi

Dalam penelitian ini ekstrak diperoleh dengan cara panas yaitu soxhlet menggunakan pelarut n-heksan. Ditimbang sejumlah simplisia, kemudian dimasukkan ke dalam tabung berpori (dibuat dari kertas saring dengan ukuran yang sesuai), kemudian ditempatkan di bagian dalam alat soxhlet. Bagian bawah soxhlet disambungkan dengan labu destilasi yang berisi cairan pelarut (n-heksan) dan batu didih, sedangkan bagian atas soxhlet disambungkan dengan kondensor. Perbandingan antara simplisia dan pelarut yaitu 1 : 2. Kemudian aliran air yang masuk ke kondensor dibuka, lalu pemanasnya dinyalakan. Setelah itu proses ekstraksi dilakukan hingga tetesan ekstrak tidak berwarna lagi, kemudian didinginkan dan disimpan di dalam wadah penampung.

4.6. Analisis Parameter Mutu Minyak

4.6.1. Organoleptik

Minyak ikan dideskripsikan dari sifat organoleptik berupa bentuk, bau dan warna dengan menggunakan pancaindera.

4.6.2. Penetapan angka asam

Sebanyak 1 gram sampel minyak dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan 50 mL etanol 95%. Campuran selanjutnya dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk selama 10 menit. Setelah itu kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N dengan indikator fenolftalein sampai terbentuk warna merah muda (Maulana, 2013: 38).

4.6.3. Penetapan angka peroksida

Sebanyak 2 gram sampel minyak dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan 12 ml pelarut yang terdiri dari 60% asam asetat glasial dan 40% kloroform lalu dikocok sampai semua minyak larut. Kemudian ke dalam campuran tersebut ditambahkan 0,2 ml KI jenuh (sebagai katalisator analisis) dan didiamkan selama 2 menit pada ruang gelap dengan sesekali dikocok. Larutan ditambah 12 ml aquades. Iod yang dilepaskan selanjutnya dititrasi dengan natrium tiosulfat 0,01 N. Dilakukan pengerjaan yang sama terhadap blanko (Maulana, 2013: 38).

4.6.4. Penetapan Angka Penyabunan

Minyak disaring untuk membuang bahan asing dan kandungan air. Ditimbang 4-5 gram dalam erlenmeyer 250 mL. Kemudian ditambahkan perlahan-lahan 50 mL NaOH 0,5 N dengan pipet. Labu erlenmeyer dihubungkan dengan pendingin tegak dan sampel dididihkan dengan hati-hati sampai sampel tersabunkan sempurna yaitu jika diperoleh larutan yang bebas dari butir-butir lemak. Selanjutnya larutan didinginkan dan bagian dalam dari pendingin tegak dibilas dengan air. Kemudian larutan ditambahkan 1 mL indikator fenolftalain, dan dititrasi dengan HCl 0,5 N sampai warna merah muda menghilang. Pengerjaan yang sama dilakukan terhadap blanko (Ketaren, 2008: 49).

4.6.5. Bobot Jenis

Disiapkan piknometer bersih, kering dan telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer air yang dipanaskan pada suhu 25°C. Diatur hingga suhu minyak lebih kurang 20°C, kemudian dimasukkan ke dalam piknometer.

Piknometer yang telah diisi kemudian suhunya diatur hingga 25°C, kelebihan minyak kemudian dibuang dan timbang. Bobot piknometer kosong dari bobot piknometer yang telah diisi. Bobot jenis minyak adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot minyak dengan bobot air, dalam piknometer pada suhu 25°C (Arifien, 2013: 31).

$$\text{Rumus : Bobot Jenis} = \frac{W_3 - W_1}{W_2 - W_1}$$

Keterangan :

W_1 : Bobot piknometer kosong

W_2 : Bobot piknometer + air suling

W_3 : Bobot piknometer + simplisia

4.7. Netralisasi

500 g minyak dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 mL, kemudian ditambahkan larutan NaOH 14,37%. Campuran dipanaskan pada suhu 60°C di atas *hotplate* selama 1 jam sambil diaduk. Sabun yang terbentuk kemudian dipisahkan dengan cara sentrifuga dengan kecepatan 6000 rpm, lalu supernatannya diambil. Minyak yang diperoleh kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat berwarna gelap, kemudian ke dalam minyak tersebut ditambahkan tokoferol (Maulana, 2013: 39).

4.8. Transesterifikasi Asam Lemak

1 gram asam lemak dimasukkan ke dalam beaker gelas, kemudian ditambahkan 20 mL metanol absolut. Setelah itu diaduk hingga campuran bersatu

di dalam labu. Kemudian ditambahkan secara hati-hati 2 mL NaOH. Selanjutnya dipanaskan di atas penangas air pada suhu 70°C.

4.9. Pemantauan FAME Hasil Transesterifikasi

Disiapkan plat KLT GF₂₅₄, kemudian setiap sampel hasil pengambilan saat transesterifikasi ditotolkan kurang lebih 10 µL dengan jarak tertentu. Plat KLT yang telah ditotolkan kemudian dielus di dalam chamber, dengan menggunakan eluen n heksana : etil asetat : asam asetat (90 : 10 : 1).

4.10. Analisis Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa

FAME disiapkan untuk analisis dengan instrumen kromatografi gas. FAME terlebih dahulu diencerkan dengan 40 kali. Kemudian larutan difilter dengan menggunakan filter holder. Filtrat siap untuk diinjeksikan.

Instrumen kromatografi gas disiapkan dengan pengaturan sistem sesuai dengan kondisi ideal analisis yaitu menggunakan fase gerak gas Helium, fase diam Difenil Dimetil Polisiloksan, kolom Rtx-5 panjang 30 m x 0,25 mm x 0,10 µm, detektor FID, dengan pengaturan suhu injektor 280°C, suhu detektor 290°C, dan sistem pemanasan oven awal 60°C, dinaikkan dengan kecepatan 8°C /menit hingga 290°C (ditahan 2 menit). Jadi total waktu analisis Kromatografi Gas untuk setiap sampel adalah 30,75 menit.