

## **BAB IV**

### **PROSEDUR PENELITIAN**

#### **4.1. Pengambilan dan Determinasi Bahan**

Ikan bandeng (*Chanos chanos* Forsskal) yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari Pasar Ujungberung Bandung Jawa Barat. Determinasi dilakukan di Museum Zoologi Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Bahan yang digunakan adalah seluruh bagian dari ikan bandeng.

#### **4.2. Pengolahan Bahan**

Pengolahan terhadap bahan segar meliputi sortasi basah, pencucian dan perajangan. Perajangan dilakukan dengan cara memotong bagian tubuh ikan menjadi tiga bagian yaitu kepala, badan dan ekor ikan. Selanjutnya dipotong bentuk dadu kecil kecil. Bahan ikan yang berupa ikan kering diolah dengan cara dirajang dan disortir. Penyortiran ini dilakukan untuk memisahkan pengotor dari bahan.

#### **4.3. Pemeriksaan Makroskopik**

Pemeriksaan makroskopik dilakukan sebelum pengolahan bahan yang meliputi pengukuran panjang total tubuh ikan, serta pengamatan bentuk dan warna ikan. Pengukuran panjang total tubuh ikan dilakukan dengan menggunakan penggaris.

#### 4.4. Analisis Parameter Standar Simplisia

##### 4.4.1. Penetapan Kadar Abu Total

Sekitar dua sampai tiga gram bahan uji ditimbang, dihaluskan dan dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara. Filtrat dimasukkan ke dalam krus. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, maka ditambahkan air panas, diaduk dan disaring melalui kertas saring bebas abu. Kertas saring dipijarkan beserta sisa penyaringan dalam krus yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan dan dipijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, menggunakan rumus berikut (Depkes RI, 2000 : 169).

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

##### 4.4.2. Penetapan Kadar Abu Larut Air

Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu total, dididihkan dengan 25 ml air selama 5 menit. Bagian yang tidak larut dikumpulkan, kemudian disaring menggunakan kertas saring bebas abu dan dicuci dengan air panas. Dipijarkan selama 15 menit dalam krus pada suhu tidak lebih dari 450°C hingga bobot tetap, kemudian ditimbang. Kadar abu larut dalam air dihitung terhadap nahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 2000 : 17).

$$\text{Kadar abu larut air} = \frac{\text{berat abu total (g)} - \text{berat abu tidak larut air}}{\text{berat bahan awal (g)}} \times 100\%$$

#### 4.4.3. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer selama 5 menit. Bagian yang tidak larut didalam asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas lalu dipijarkan di dalam krus hingga bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap berat bahan uji, dengan rumus berikut (Depkes RI, 2000 : 169).

$$\text{Kadar abu tidak larut asam} = \frac{\text{berat abu tidak larut asam (g)}}{\text{berat bahan awal (g)}} \times 100\%$$

#### 4.4.4. Penetapan Kadar Air

Pengukuran kadar air dilakukan dengan metode azeotroph. Bahan uji didestilasi dengan pelarut yang tidak bercampur dengan air, seperti toluen. Tabung penerima dan pendingin dibersihkan dengan asam pencuci, dibilas dengan air kemudian dikeringkan dalam lemari pengering. Sejumlah bahan yang diperkirakan mengandung 1 sampai 4 mL air ditimbang, dimasukan ke dalam labu kering. ±200 mL toluen jenuh air dimasukan ke dalam labu. Toluene jenuh air dimasukan ke dalam tabung penerima melalui pendingin sampai leher alat penampung. Perlahan-lahan labu dipanaskan selama 15 menit.

Setelah toluen mendidih penyulingan diatur dengan kecepatan ± 2 tetes tiap detik hingga sebagian besar air tersuling. Selanjutnya kecepatan penyulingan dinaikan hingga 4 tetes per detik. Setelah semua air tersuling bagian dalam pendingin dicuci dengan toluen jenuh, penyulingan dilanjutkan selama 5 menit, lalu tabung penerima didinginkan hingga suhu ruang. Jika ada tetes air yang melekat, tabung pendingin dan tabung penerima digosok dengan karet dan

dibasahi dengan toluen jenuh hingga tetesan air turun. Kadar air dihitung dengan rumus (Depkes RI, 2000 : 170-171).

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

#### 4.4.5. Penetapan Susut Pengerinan

1 - 2 gram simplisia ditimbang dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan dan ditara. Bahan diratakan dalam botol ditimbang dengan menggoyangkan botol, hingga terbentuk lapisan setebal  $\pm 5$  sampai 10 mm, dimasukkan ke dalam ruang pengering, dibuka tutupnya dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Setiap pengeringan botol dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin dan dalam eksikator hingga suhu ruang. Susut pengeringan dihitung dengan rumus (Depkes RI, 2000 : 170).

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

#### 4.5. Ekstraksi

Proses ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu cara panas dengan metode Soxhlet. Sejumlah simplisia ditimbang, 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. Selanjutnya aliran air yang masuk ke kondensor dibuka, lalu pemanasnya dinyalakan. Setelah itu proses

ekstraksi dilakukan hingga tetesan ekstraktan 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**

1 gram sampel minyak ikan ditimbang, ditambahkan dengan 50 ml etanol 95% (untuk melarutkan lemak), dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk perlahan. Hasil dari larutan ini dititrasi dengan menggunakan KOH 0,1 N yang ditambahkan indikator phenolphthalein hingga terbentuk warna merah muda (Rasyid, 2003 : 4).

##### **4.6.3. Penetapan Angka Peroksida**

5 gram sampel minyak ikan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml, kemudian ditambahkan 30 ml pelarut yang terdiri dari 60% asam asetat glasial dan 40% kloroform dikocok sampai semua minyak larut. 0,5 ml KI jenuh ditambahkan (sebagai katalisator) lalu didiamkan selama  $\pm 2$  menit pada ruang gelap yang sesekali dikocok kembali. Larutan tersebut ditambahkan 30 ml aquades. Kelebihan iod dititrasi dengan sodium tiosulfat 0,01 N, dan dilakukan pengerjaan blanko (Rasyid, 2003 : 4).

#### 4.6.4. Bobot Jenis

Disiapkan piknometer bersih, kering dan telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer air yang dipanaskan pada suhu 25°C. Suhu minyak diatur ± 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 dikurangi 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 seperti tertulis dibawah ini (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. Transesterifikasi Asam Lemak

Asam lemak ±1 gram dimasukan ke dalam beaker gelas yang kemudian ditambahkan dengan 20 ml metanol, perlahan diaduk hingga campuran merata. Lalu ditambahkan ke dalam campuran tersebut 2 ml NaOH, dipanaskan dengan menggunakan suhu ± 70°C.

#### 4.8. Pemantauan FAME Hasil Transesterifikasi

Hasil dari transesterifikasi sebanyak 10 µg ditotolkan ke dalam plat plat KLT GF<sub>254</sub> yang sebelumnya telah disiapkan. Jarak setiap penotolan pada plat

tersebut diatur. Plat KLT yang telah ditotolkan kemudian dielusi di dalam *chamber*, dengan menggunakan eluen n heksana : etil asetat : asam asetat (90 : 10 : 1).

#### 4.9. Analisis Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa

Hasil dari transesterifikasi yaitu FAME kemudian dianalisis dengan menggunakan instrumen kromatografi gas. Sebelumnya FAME diencerkan sebanyak 40 kalinya. Kemudian larutan hasil pengenceran disaring dengan menggunakan filter holder. Setelah itu larutan siap untuk diinjeksikan ke dalam instrumen.

Disiapkan terlebih dahulu instrumen kromatografi gas sesuai dengan petunjuk pemakaian instrumen dengan menggunakan fase gerak gas helium, fase diam Difenil Dimetil Polisisiloksan, kolom Rtx-5 panjang 30 m x 0,25 mm x 0,10  $\mu\text{m}$ , 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).