

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Metode eksperimen

Ekstraksi minyak ikan dilakukan berdasarkan metode enzimatis melalui variasi kadar enzim untuk ekstraksi dan variasi pH medium. Enzim yang digunakan adalah papain yang diperoleh dari getah buah pepaya muda.

Parameter yang dinilai untuk menentukan pengaruh kadar papain dan pH inkubasi terhadap perolehan minyak adalah:

- 3.1.1 Variabel bebas, yaitu kadar enzim papain untuk inkubasi, pH medium inkubasi, waktu inkubasi.
- 3.1.2 Variabel yang dikonstantakan, yaitu berat daging ikan, temperatur inkubasi, volume *n*-heksana, waktu sentrifugasi.

3.2 Metode analisis kimiawi

Tingkat kejenuhan ditentukan berdasarkan penentuan angka iod dan berat molekul minyak dengan angka penyabunan.

3.3 Analisis data

Perolehan minyak ikan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$Y = \frac{\text{Berat perolehan minyak}}{\text{Berat daging ikan}} \times 100 \%$$

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan meliputi pisau dari bambu (dibuat sendiri), oven, inkubator merk memmer, blender merk Phillips, sentrifuge (desain sendiri), timbangan elektrik merk metler, termometer raksa, dan alat-alat gelas.

3.4.2. Bahan

Bahan yang diperlukan meliputi getah buah pepaya muda, etanol 96%, *n*-heksana teknis, akuades, asam asetat glasial p.a, natrium asetat p.a, natrium fosfat monobasis p.a, natrium fosfat dibasis p.a, asam borat p.a, boraks p.a.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Penyadapan getah pepaya

Buah pepaya muda digores dengan pisau yang terbuat dari bambu, dengan kedalaman ± 1 cm, dan jarak antar goresan ± 2 cm. Getah buah pepaya ditampung dalam wadah plastik kemudian ditambah etanol 96 % dengan perbandingan 4 : 3. Larutan disimpan dalam lemari pendingin (suhu - 4 °C) selama 2 jam. Endapan yang terbentuk disaring dan dioven pada suhu 55 °C selama 8 jam. Endapan berupa serbuk papain berwarna putih kekuningan.

3.5.2 Preparasi Larutan

1. Pembuatan bufer asetat pH = 5

- Larutan A: 0,2 M asam asetat

Sebanyak 11,5 mL asam asetat dilarutkan dengan akuades sampai 1000 mL.

- Larutan B: 0,2 M natrium asetat
Sebanyak 16,4 g natrium asetat dilarutkan dengan akuades sampai 1000 mL
 - Sebanyak 14,8 mL larutan A ditambah 35,2 mL larutan B diencerkan sampai 100 mL
2. Pembuatan bufer fosfat pH = 7
- larutan A: 0,2 M larutan natrium fosfat monobasis
sebanyak 27,8 g natrium fosfat monobasis dilarutkan dalam akuades sampai 1000 mL.
 - Larutan B: 0,2 M larutan natrium fosfat dibasis
Sebanyak 52,65 g natrium fosfat dibasis dilarutkan dalam akuades sampai 1000 mL.
 - Sejumlah 39,0 mL larutan A ditambah 61 mL larutan B diencerkan sampai 200 mL ^[12].
3. Pembuatan bufer asam borat- boraks pH = 9
- Larutan A: 0,2 M larutan asam borat
Sebanyak 12,4 g asam borat dilarutkan dengan akuades sampai 1000 mL.
 - Larutan B: 0,05 M larutan boraks
Sebanyak 19,05 g boraks dilarutkan dengan akuades sampai 1000 mL
 - Sebanyak 50 mL larutan A ditambah 59,0 mL larutan B

3.5.3 Uji pendahuluan untuk menentukan waktu inkubasi

Daging yang telah dipisahkan dari tulangnya, dihancurkan dengan blender. Sebanyak 25 g daging ditambah papain 1 mg papain (kadar papain 0,04 mg/g). Campuran diinkubasi pada temperatur 35 °C, dengan waktu yang divariasikan yaitu 5, 15, 30, 60, menit. Setelah inkubasi daging ditambah pelarut *n*-heksana dan disentrifugasi selama 1 jam. Lapisan paling atas dipisahkan dan pelarutnya diuapkan pada temperatur kamar. Minyak yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya.

Uji pendahuluan diulang untuk pencampuran 25 g daging dengan 2,5 mg papain (kadar papain 0,1 mg/g). Waktu dengan perolehan minyak terbanyak digunakan untuk proses seterusnya.

3.5.4 Pengaruh kadar papain terhadap perolehan minyak

Daging ikan yang telah dihancurkan, diinkubasi dengan papain pada temperatur 35 °C. Kadar papain divariasikan 0; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; dan 0,8 mg/g. Lama waktu inkubasi diperoleh dari hasil uji pendahuluan (prosedur 3.5.3). Setelah inkubasi, ditambahkan pelarut *n*-heksana dan disentrifugasi selama 1 jam. Lapisan paling atas dipisahkan dan pelarutnya diuapkan pada temperatur kamar. Minyak yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya.

3.5.5 Pengaruh pH medium terhadap perolehan minyak

Daging ikan halus diinkubasi dengan papain, dengan kadar 0; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; dan 0,8 mg/g, dan masing- masing ditambah bufer yang divariasikan yaitu bufer asetat pH sebesar 5, bufer fosfat pH sebesar 7, bufer

borat-boraks pH sebesar 9. Lama waktu inkubasi diperoleh dari hasil uji pendahuluan (prosedur 3.5.3). Setelah inkubasi, ditambahkan pelarut *n*-heksana dan disentrifugasi selama 1 jam. Lapisan paling atas dipisahkan dan pelarutnya diuapkan pada temperatur kamar. Minyak yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya.

3.5.6. Uji kualitas minyak ikan

Minyak ikan hasil ekstraksi dengan dan tanpa papain diuji kualitasnya dengan penentuan angka iod dan angka penyabunan.

