

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian serta pengujian nilai kekerasan, aktivitas air (a_w), total asam dan total bakteri dilaksanakan pada bulan Februari – Maret 2017. Pengujian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro dan UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang.

3.1. Materi Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan adalah ekstrak daun kunyit, daging itik yang diperoleh dari Pasar Penggaron, aquades, methanol, media *Plate Count Agar* (PCA), larutan garam fisiologis dan NaOH 0,1 N.

Alat yang digunakan meliputi pengering, kertas saring, oven, desikator, erlenmeyer, *grinder*, *siever*, wadah botol plastik, saringan, *rotary evaporator*, wadah botol kaca, tabung reaksi, kompor, bunsen, cawan petri, mikropipet, tip mikropipet, inkubator, *stirrer*, vortex, *texture analyzer*, buret dan a_w meter.

1.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan berbagai konsentrasi ekstrak daun kunyit dalam (T0 ; 0% v/v, T1 ; 1% v/v, T2 ; 2% v/v dan T3 ; 3% v/v) masing – masing perlakuan dilakukan sebanyak 5 kali ulangan. Rancangan yang digunakan memiliki 20 unit percobaan, yang terdiri atas T0

sebanyak 5 ulangan yaitu T0U1, T0U2, T0U3, T0U4 dan T0U5, T1 sebanyak 5 ulangan yaitu T1U1, T1U2, T1U3, T1U4 dan T1U5, T2 sebanyak 5 ulangan yaitu T2U1, T2U2, T2U3, T2U4 dan T2U5 dan T3 sebanyak 5 ulangan yaitu T3U1, T3U2, T3U3, T3U4 dan T3U5.

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- H0 :Tidak terdapat perbedaan pengaruh marinasi ekstrak daun kunyit terhadap nilai kekerasan, nilai a_w , total asam dan total bakteri pada daging itik
- H1 :Minimal terdapat satu perbedaan pengaruh marinasi ekstrak daun kunyit terhadap nilai kekerasan, nilai a_w , total asam dan total bakteri pada daging itik.

1.3. Metode Penelitian

Metode penelitian terdiri dari tiga tahap yaitu tahap pembuatan ekstrak daun kunyit, persiapan sampel dan marinasi daging itik dengan ekstrak daun kunyit.

1.3.1. Prosedur Penelitian

a) Pembuatan Ekstrak Daun Kunyit

Pembuatan ekstrak daun kunyit melalui beberapa tahap yakni pemilihan daun, pengeringan daun, pembuatan simplisia, proses maserasi dan penguapan ekstrak. Daun kunyit segar yang sudah dipilih selanjutnya dikeringkan dengan cara dimasukkan ke dalam pengering pada suhu 55°C selama 20 jam. Tahap kedua yaitu

pembuatan simplisia daun kunyit dengan cara daun kunyit yang telah kering selanjutnya dihaluskan dengan *blender* dan *grinder*. Simplisia daun kunyit yang diperoleh selanjutnya disaring dengan *siever*. Tahap ketiga yaitu proses maserasi simplisia daun kunyit dengan pelarut methanol teknis 100% dengan perbandingan (1:5), pelarutan ini dilakukan dengan cara di gojog setiap 2 jam selama 24 jam. Tahap keempat yaitu pelarut diuapkan dengan *rotarty evaporator* pada suhu 40°C. Penguapan pelarut dilakukan hingga pelarut menguap sempurna hingga diperoleh ekstrak daun kunyit yang kental. Ekstrak daun kunyit yang diperoleh selanjutnya disimpan di dalam botol vial dan ditutup rapat serta di simpan pada *refrigerator*. Ekstrak daun kunyit kental selanjutnya dilakukan analisis dan diencerkan menjadi beberapa konsentrasi untuk dimarinasikan dengan daging itik. Pembuatan ekstrak daun kunyit dapat dilihat pada Ilustrasi 1.

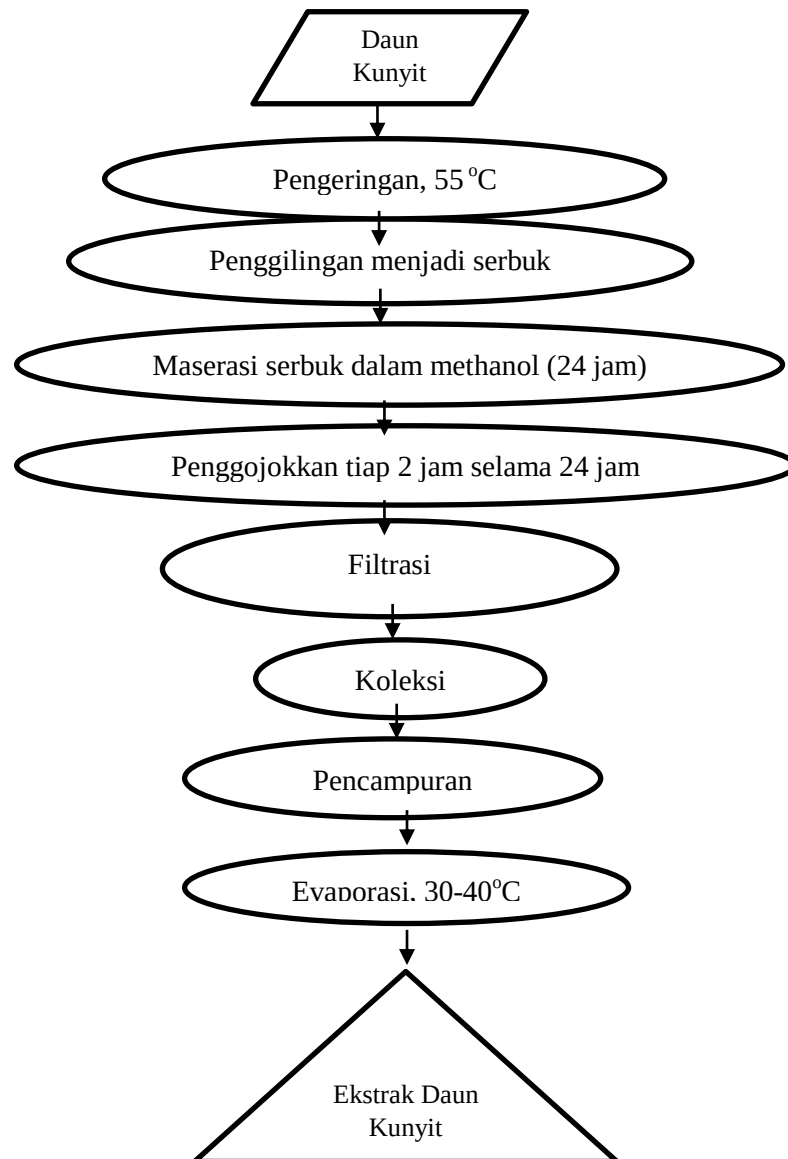
b) Persiapan Sampel Daging

Daging itik diperoleh dari Rumah Potong Hewan Penggaron, Semarang yang telah dicuci bersih dan dipisahkan dari tulang beserta kulitnya. Daging paha itik ditimbang sebanyak 20 gram untuk dimarinasi kedalam 20 ml *marinade*.

c) Proses Marinasi Daging Itik

Proses marinasi daging itik dilakukan dengan penentuan konsentrasi ekstrak daun kunyit. Awalnya ekstrak daun kental tersebut dilakukan pengenceran dengan penambahan 14 ml aquades sehingga menghasilkan *Workingsolution* dengan

konsentrasi ekstrak daun kunyit sebesar 21000mg/14 ml atau 1500mg/ml. Penentuan perhitungan konsentrasi ekstrak akan dijelaskan pada Lampiran 1.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Daun Kunyit

Marinasi daging itik dilakukan dengan menggunakan 20 gram daging fillet tanpa kulit dalam 20 ml larutan ekstrak untuk setiap unit percobaan sehingga membutuhkan total larutan ekstrak sebesar 200 ml. Konsentrasi T0 = 0% ; T1 = 1% ; T2 = 2% dan T3 = 3% (v/v) ekstrak daun kunyit didapatkan masing – masing dari 0 ml, 0,67 ml, 1,31 ml dan 1,96 ml ekstrak kental yang ditambahkan aquades hingga mencapai volume 200 ml. Larutan tersebut dihomogenkan dengan *stirrer* sehingga didapatkan larutan ekstrak daun kunyit dengan berbagai konsentrasi. Larutan diambil setiap 20 ml untuk satu unit percobaan pada masing-masing perlakuan. Marinasi dilakukan selama 4 jam pada suhu ruang didalam plastik *ziplock* agar daging itik dapat terendam sempurna.

3.3.2 Analisis Parameter Penelitian

Pengujian parameter pada penelitian ini meliputi nilai kekerasan, aktivitas air (a_w), total asam dan total bakteri pada daging itik yang telah dimarinasi dengan ekstrak daun kunyit.

a) Uji Kekerasan

Uji tekstur dilakukan untuk mengetahui tingkat *hardness*, *cohesiveness* dan *springiness* (Wijayanti *et al.*, 2015). Analisis kekerasan dilakukan dengan alat *texture analyzer*. Prosedur pelaksanaan pengujian kekenyalan adalah kabel data dari *Texture Analyzer* dipastikan telah tersambung pada CPU komputer, kemudian komputer dinyalakan. Jarum penunjuk sampel (*probe*) dipasang dan diatur posisinya sampai

mendekati sampel, kemudian program dari komputer dioperasikan untuk menjalankan probe. Sebelumnya dipastikan bahwa nilai yang ada pada monitor nol, kemudian pilih menu *start test* pada komputer sehingga probe akan bergerak sampai menusuk sampel. daging itik, pengujian selesai apabila probe kembali ke posisi semula. Hasil uji akan terlihat dalam bentuk nilai (angka) (Kusnadi *et al.*, 2012).

b) Uji Aktivitas Air (a_w)

Pengujian nilai a_w pada daging menggunakan alat a_w meter. Pengujian nilai a_w dilakukan berdasarkan metode Susanto (2009). Sebelum sampel dimasukkan ke dalam wadah, dilakukan kalibrasi terhadap a_w meter. Kalibrasi dilakukan dengan memasukkan garam ke dalam a_w meter. Jenis garam yang digunakan adalah BaCl_2 , $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, NaCl dan KCl . Setelah dikalibrasi pengukuran nilai a_w dilakukan dengan cara sampel yang akan diukur dimasukkan ke dalam wadah yang tersedia pada alat tersebut. Sampel yang sudah dimasukan ke dalam a_w meter selanjutnya didiamkan hingga a_w meter berbunyi dan nilai a_w meter dapat terlihat pada layar yang tertera.

c) Uji Total Asam

Uji Total Asam dilakukan dengan metode titrasi berdasarkan metode AOAC (2000) dengan cara melarutkan sampel dengan aquades yang sebelumnya telah dimaserasi terlebih dahulu. Setelah sampel terlarut sempurna selanjutnya sampel disaring menggunakan kertas saring. Sampel yang telah disaring kemudian diberikan larutan indikator fenolphthalein sebanyak 2 tetes, kemudian dilakukan dititrasi dengan

larutan NaOH 0,1N hingga terlihat warna merah muda yang konstan (Hadiwiyoto, 1994). Total asam tertitrasi dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ total asam} = \frac{(V \times N) \text{NaOH} \times \text{BM asam}}{\text{Berat Bahan (g)} \times 1000} \times 100\%$$

d) Uji Total Bakteri

Uji total bakteri adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui total koloni bakteri yang tumbuh dalam suatu bahan pangan berdasarkan metode Pelczar *et al.* (1986). Sebanyak 5 gram daging itik dihaluskan dan ditambahkan dengan larutan pengencer NaCl fisiologis steril (pengenceran 10^{-1}). Selanjutnya pada pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet secara septis dan dimasukkan kedalam 9 ml larutan pengencer steril NaCl fisiologis (pengenceran 10^{-2}) dan dilanjutkan sampai pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} . Selanjutnya pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} masing – masing diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet dan dituangkan didalam cawan petri yang sudah disterilkan terlebih dahulu kemudian dituangi dengan 12 – 15 ml medium *Plate Count Agar* (PCA) steril. Masing – masing cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam. Setelah diinkubasi selanjutnya dihitung jumlah koloni yang ada (30 – 300 koloni). Jumlah koloni sampel dapat dihitung dengan rumus

$$\text{Koloni per ml} = \text{jumlah koloni percawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

3.3.3 Analisis Statistik

Pengolahan data parametrik akan dilakukan dengan menggunakan *One Way Anova*. Data hasil uji kekerasan, nilai aktivitas air (a_w), total asam dan total bakteri dianalisis dengan Anova pada taraf keyakinan 95% (Gomez dan Gomez, 1995). Apabila hasil analisis data terdapat beda nyata maka dilanjutkan dengan Uji *Duncan* untuk mengetahui perbedaan antar *mean* perlakuan (Steel dan Torrie, 1995).