# BAB III

# METODE PENELITIAN

**3.1 Rancangan penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental.Rancangan penelitian ini meliputi pengumpulan sampel, pengolahan sampel, isolasi gelatin dari tulang ikan gulamah, identifikasi dan karakteristik gelatin tulang ikan gulamah, pembuatan permen *jelly*, evaluasi mutu fisik permen *jelly* serta uji stabilitas dan hedonitas.

**3.1.1 Variabel Penelitian**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah tulang ikan gulamah, isolasi tulang ikan gulamah, gelatin tulang ikan gulamah, formulasi sediaan permen *jelly* sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah karakteristik gelatin dan evaluasi mutu sediaan permen *jelly*.

**3.1.2 Parameter Penelitian**

Parameter penelitian dari karakteristik gelatin meliputi rendemen, kadar air, kadar abu, pH, gugus fungsi dan uji kualitatif protein.

Parameter penelitian dari evaluasi mutu sediaan permen *jelly* meliputi organoleptis, pH, keseragaman bobot, stabilitas, uji hedonik.

**3.2 Jadwal dan Lokasi Penelitian**

**3.2.1 Jadwal Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2024-Agustus 2024.

**3.2.2 Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan diLaboratorium Farmasi Terpadu UMN Al-Washliyah Medan.

**3.3 Bahan dan Peralatan**

**3.3.1 Bahan**

Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan gelatin dari limbah tulang ikan adalah ikan gulamah yang dibeli dari penampungan hasil tangkapan nelayan Panipahan, Riau. Bahan lain yang digunakan yaitu CCOOH p.a 5%, aquadest, NaOH 10%, Cu, ninhidrin 0,1%, dan pereaksi millon. Sedangkan bahan yang digunakan dalam pembuatan permen *jelly* yaitu gelatin tulang ikan gulamah, sirup glukosa, sukrosa, air.

**3.3.2 Peralatan**

Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan gelatin yaitu Spektrofotometer FTIR IRSpirit Shimadzu, Waterbath, hot plate, dan alat-alat gelas lainnya. Sedangkan alat yang digunakan untuk pembuatan permen jelly yaitupanci, loyang/cetakan.

Alat-alat yang digunakan untuk analisa gelatin yaitu oven, tanur, desikator, waterbath.

**3.4 Persiapan Sampel**

**3.4.1 Determinasi Sampel**

Determinasi hewan yang memiliki tujuan untuk memastikan kebenaran hewan penelitian yang digunakan. Determinasi hewan dilakukan oleh Laboratorium SistematikaHewan FMIPA USU.

**3.4.2 Pengambilan Sampel**

Ikan Gulamah (*Johnius trachycephalus*) dibeli langsung dari hasil penampungan ikan tangkapan nelayan di Panipahan, Riau.

**3.5 Pengolahan Sampel**

**3.5.1 Cara Mendapatkan Gelatin Tulang Ikan**

1. ***Degreasing***

Membersihkan tulang ikan dengan merendam ke dalam air mendidih selama 30 menit sambil sesekali diaduk, tulang yang telah direbus kemudian dicuci bersih dan dikeringkan dibawah sinar matahari, kemudian di potong kecil-kecil (untuk mempercepat proses ekstraksi) dan ditimbang sebanyak 500 g(Al-Faroji, 2023).

1. **Demineralisasi**

Tulang ikan yang telah bersih direndam dengan larutan CCOOH 5% sebanyak 150 mL dalam aquadest sampai 3000 mL dalam wadah plastik tahan asam selama 48 jam sampai terbentuk ossein (tulang yang lunak), selanjutnya disaring ossein dari larutan CCOOH 5%. Ossein dicuci dengan menggunakan air mengalir sampai pH nya netral 6-7 (Al-Faroji, 2023).

1. **Ekstraksi**

Ossein yang ber-pH netral tersebut dimasukkan kedalam beaker glass dan ditambahkan aquadest dengan perbandingan ossein dan aquadest 1:3 (b/v). Setelah itu diekstraksi dalam waterbath pada suhu 60-75℃ selama 12 jam, kemudian disaring (Al-Faroji, 2023).

1. **Pengeringan**

Menuangkan cairan gelatin kedalam beaker glass untuk dipekatkan dalam oven pada suhu 50℃ selama 24 jam, kemudian cairan pekat gelatin yang dihasilkan dituang kedalam wadah plastik dan dimasukkan dalam oven suhu 50-55℃ selama 24 jam sampai kering. Isolat gelatin yang telah terbentuk dihaluskan dan selanjutnya dianalisis (Al-Faroji, 2023).

**3.6 Identifikasi Gelatin**

**3.6.1 Uji Kualitatif Protein Gelatin**

Uji kualitatif dilakukan menggunakan beberapa metode, diantaranya uji biuret, uji ninhidrin dan uji millon.Uji kualitatif protein gelatin dilakukan karena gelatin merupakan senyawa kaya protein yang berasal dari hidrolisis kolagen. Tujuan utamanya adalah untuk memastikan apakah sampel tersebut mengandung protein atau tidak, tanpa mengukur jumlahnya (Hanum, 2017).

1. Uji Biuret

Memasukkan 1-2 mL sampel ke dalam tabung reaksi.Kemudian menambahkan 1 mL NaOH 10%. Selanjutnya tambahkan 1 mL larutan 0,1% dan dikocok. Reaksi positif terbentuk warna kemerah-merahan sampai ungu.

1. Uji Ninhidrin

Memasukkan 1-2 mL sampel ke dalam tabung reaksi.Kemudian menambahkan 5 tetes larutan ninhidrin 0,1%, kemudian panaskan sampai mendidih selama 5 menit dan mengamati perubahan yang terjadi dengan reaksi positif mengandung asam amino bebas, gugus hidroksil apabila menghasilkan warna ungu dan untuk prolin, hidroksiprolin menghasilkan warna kuning.

1. Uji Millon

Memasukkan 1-2 mL sampel kedalam tabung reaksi. Kemudian menambahkan 1 ml pereaksi millon, kemudian dipanaskan selama 5 menit dan mengamati perubahan yang terjadi. Jika larutan yang mengandung hidroksifenil bereaksi dengan peraksi Millon maka akan dihasilkan endapan putih. Jika suhu campuran ini dinaikkan maka warna larutan akan berubah menjadi warna merah.

**3.6.2 Analisis Gugus Fungsi**

Analisis dilakukan menggunakan Spektrofotometer FTIR (Fourier transform infrared) IRSpirit Shimadzu dengan panjang gelombang 400-4000 nm digunakan untuk menganalisis partikel yang lebih besar dari 1 mm.

**3.7 Karakteristik Gelatin Tulang Ikan Gulamah (J*ohnius trachycephalus*)**

**3.7.1 Rendemen**

Rendemen diperoleh dari perbandingan berat gelatin yang dihasilkan dengan berat bahan segar (tulang yang telah dicuci bersih). Besarnya rendemen diperoleh menggunakan rumus:

Rendemen ×100%

(Junianto, 2006)

**3.7.2 Organoleptis**

Dilarutkan 5 gram gelatin dalam air suling steril hingga larutan menjadi 100 mL. Larutan memperlihatkan rasa normal dan setelah dibiarkan 48 jam dalam cawan petri tidak menghasilkan bau yang tidak enak.

**3.7.3 pH**

Sampel sebanyak 0,5 gram ditimbang dan dilarutkan ke dalam 50mL air pada suhu 80°C, kemudian diukur derajat keasamannya pada suhu kamar dengan pH meter (Junianto,2006)

**3.7.4 Kadar Air**

Pengeringan dilakukan dengan menggunakan *drying* oven pada suhu 105°C hingga berat sampel konstan. Cawan yang telah dioven selama 15 menit didinginkan ke dalam desikator selama 20 menit hingga mencapai suhu ruang dan ditimbang. Selanjutnya timbang sampel sebanyak 2 g dalam cawan. Cawan yang diisi sampel dikeringkan kedalam oven dengan suhu 105°C selama 16 jam. Sampel dipindahkan dengan menggunakan alat penjepit ke dalam desikator selama 20 menit Kemudian ditimbang Keringkan kembali ke dalam oven hingga diperoleh berat yang konstan (Apriyantono *et al*., 1989). Perhitungan analisis kadar air menggunakan rumus:

Kadar Air (%)×100%

Keterangan:

A = berat sampel (g)

C = berat cawan dan sampel awal (g)

B = berat setelah oven (g)

**3.7.5 Kadar Abu**

Sampel yang diuapkan airnya dimasukkan ke dalam tanur bersuhu 600°C, sebelumnya berat cawan kering dan berat contoh telah diketahui. Proses penguapan dilakukan selama 6 jam sampai semua bahan berubah warna menjadi abu-abu, kemudian sampel didinginkan lalu ditimbang (Junianto, 2006). Kadar abu dihitung dengan rumus:

Kadar Abu (%) ×100%

Keterangan:

W1 = berat cawan kosong (g)

W2 = berat cawan + sampel akhir (g)

W = bobot sampel gelatin (g)

**3.8 Pembuatan Dasar Permen *Jelly***

Pada pembuatan permen keras (Hutabarat *et al.*, 2022) membutuhkan sukrosa : glukosa sebanyak 50:50. Pembuatan permen *jelly* ini adalah modifikasi dari permen keras dengan menambahkan gelatin dan sirup glukosa lebih banyak sehingga menghasilkan permen dengan tekstur lebih lunak.

Berdasarkan hasil orientasi yang telah dilakukan maka diperoleh formula sebagai berikut:

**Tabel 3.1** Formulasi dasar Permen *Jelly* (dalam 100 gram)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Bahan** | **F1** | **F2** | **Fungsi** |
| Gelatin (g) | 5 | 10 | Bahan Pengikat, pembentuk gel |
| Sukrosa (g) | 20 | 20 | Pemanis |
| Sirup Glukosa (g) | 54 | 54 | Pemanis |
| Air (mL) | 21 | 16 | Pelarut |

# 3.8.1 Pembuatan Permen *Jelly*

Pada pembuatan permen *jelly* dari gelatin tulang ikan gulamah dengan konsentrasi gelatin berbeda yang akan digunakan pada penelitian. Sirup glukosa, sukrosa dimasukkan ke dalam panci sambil diaduk dan pemasakan diteruskan sampai mencapai suhu 90 – 100 ˚C. Gelatin dilarutkan dalam air panas (50 – 60˚C) dan dimasukkan dalam adonan sambil diaduk, setelah itu adonan dituang dalam cetakan dan dibiarkan selama satu jam dalam suhu ruang. Setelah cukup dingin, adonan dimasukkan dalam lemari pendinginsuhu 5˚C selama 24 jam. Setelah dikeluarkan dari lemari pendingin dibiarkan pada suhu ruang selama satu jam untuk menetralkan suhu. Permen dikeluarkan dari cetakan dan ditaburi taburan tepung sukrosa dengan tepung tapioka yang sudah disangrai selama 20 menit dengan perbandingan (1 : 1), lalu dikemas (Koswara, 2009).

**3.9 Evaluasi Permen *Jelly***

**3.9.1 Uji Organoleptis**

Permen *jelly* diamati secara visual dari setiap formula meliputi rasa, warna, aroma, dan kekenyalan (Rashati et al., 2019).

**3.9.2 Uji pH**

Pengujian pH dilakukan dengan mengambil 2 permen *jelly* kemudian dilelehkan. Hasil lelehan kemudian diukur pH nya menggunakan kertas indikator pH (Rashati et al., 2019).

**3.9.3 Uji Keseragaman Bobot**

Permen *jelly* dari setiap formula ditimbang 20 permen *jelly*, dihitung bobot rata- rata tiap permen *jelly*. Jika ditimbang satu per satu tidak boleh lebih dari dua buah permen jelly yang masing-masing bobotnya menyimpang lebih besar dari bobot rata-rata yang ditetapkan kolom A, dan tidak satu buah pun yang bobotnya menyimpang dari bobot rata-rata yang ditetapkan pada kolom B.Jika tidak mencukupi 20 buah permen jelly, dapat digunakan 10 buah; tidak satupun yang bobotnya menyimpang lebih besar dari bobot rata-rata yang ditetapkan kolomA dan tidak satupun yang bobotnya menyimpang lebih besar daribobot rata-rata yang ditetapkan kolom B. Harga koefisiensi variasi (CV) dihitung dengan rumus: CV=(SD/X)×100%

**Tabel 3.2** Persyaratan Penyimpangan Bobot Tablet (Sediaan Permen Jelly)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Bobot Rata-Rata** | **Penyimpangan Bobot Rata-Rata** | |
| **A** | **B** |
| 25 mg atau kurang | 15 % | 30 % |
| 26 mg-150 mg | 10 % | 20 % |
| 151 mg-300 mg | 7,5 % | 15 % |
| Lebih dari 300 mg | 5 % | 10 % |

(FI Edisi Ⅲ, 1979)

**3.9.4 Uji Stabilitas**

Uji stabilitas dilakukan dengan meletakkan Permen *Jelly* untuk setiap formula pada wadah dan disimpan selama 2 minggu pada suhu sejuk (8°C-15°C) dansuhu kamar (15°C-30°C) dengan kemasan yang terbuka dan tertutup (Hutabarat dkk, 2022).

**3.9.5 Uji Hedonik (Tingkat Kesukaan)**

Uji kesukaan padadasarnya merupakan pengujian yang panelisnya menggunakan respon berupa suka atau tidaknya terhadap bahan yang diuji. Pada penelitian ini dilakukan uji kesukaan terhadap 10 responden wanita rentang usia 20-25 tahun dengan dengan parameter yang diuji meliputi tekstur, aroma, rasa, serta tingkat kesukaan responden terhadap tiap-tiap formula. Skala nilai yang digunakan adalah skala nilai numerik dengan nilai 1 sampai 3. Nilai 1 menyatakan tidak suka, nilai 2 menyatakan suka, dan nilai 3 menyatakan sangat suka(Firdaus & Kresnanto, 2013).

**3.10 Analisa Hasil**

Hasil data penelitian yang diperoleh dari evaluasi sediaan permen jelly meliputi uji organoleptis, uji pH, uji keseragaman bobot, uji stabilitas dan uji hedonik dianalisis dan disajikan menggunakan metode deskriptif.