IV. METODE PENELITIAN

4.1. Waktu Penelitian

Penelitian berlangsung dari tanggal 23 Agustus sampai dengan 8 Desember 2004 dan jadwal pelaksanaannya dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Jadwal Pelaksanaan Penelitian.

No.	Jenis Kegiatan	Bulan ke -			
		1	2	3	4
1.	Persiapan Bahan dan Alat	——			
2.	Pelaksanaan penelitian: - Pembuatan Ikan Asin - Penyimpanan dan Pengamatan	— ——	——	——	
3.	Tabulasi Data dan Analisis Data dan Pembuatan Draft			—	
4.	Seminar Tingkat Jurusan				—
5.	Perbanyakan Laporan				—

4.2. Bahan dan Alat

Bahan sebagai sampel penelitian akan digunakan ikan kembung (*Rastrelliger neglectus*) berukuran ± 150 gram / ekor sebanyak 30 kg ikan segar yang diperoleh dari tempat pelelangan ikan (TPI) di Dumai. Garam dapur (NaCl) kasar merek anak pintar (kadar iodium) 30–80 ppm sebanyak 5 kg. Bahan kimia yang dibutuhkan adalah : medium *potatoes dextrose agar* (PDA), *trypticase soy agar* (TSA), buffer fosfat, NaCl, Aquades, spiritus, eter, HCl.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : pisau, baskom, alat pengering surya, kompor listrik, alat gelas, inkubator, autoklaf dan colony counter.

4.3. Metode Penelitian

Penelitian menggunakan metode eksperimen di Laboratorium Kimia Pangan dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pada penelitian ini akan dilihat peningkatan mutu dan masa simpan ikan kembung (*Rastrelliger neglectus*) asin dengan menggunakan alat pengering (rumah kaca) dan kemasan vakum yang disimpan pada suhu kamar dan suhu dingin $\pm 5\ ^0C$.

Alat pengering (Murniyati dan Sunarman, 2000) :

A_0 = Ikan kembung asin dijemur di atas para-para ukuran 2 x 1,25 x 0,75 m^3 dibuat dengan kemiringan $\pm 15^0$ kearah datangnya angin.

A_1 = Alat pengering rumah kaca sederhana, bentuk persegi ukuran 2 x 1,25 x 0,75 m^3. Dinding, atap dan alas dari plastik transparan, didalamnya dibuat rak-rak.

A_2 = Alat pengering rumah kaca ukuran 2 x 1,25 x 0,75 m^3 dengan pelat yang dicat hitam. Dinding dan atap dilapisi plastik transparan. Jarak antara rak-rak 30 cm dari lantai ke rak-rak pertama 40 cm, dan dari lantai ketanah 50 cm.

4.3.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (rak) dua faktor. Faktor pertama alat pengering (A) yang terdiri dari 3 taraf yaitu A_0 = sinar matahari langsung, A_1 = rumah kaca sederhana, A_2 = rumah kaca pakai pelat tadah satu. Faktor kedua kemasan plastik polyethylene (B) : B_0 = tanpa vakum dan B_1 = vakum. Kelompok (ulangan) yaitu pengamatan yang terdiri dari dua kasus :

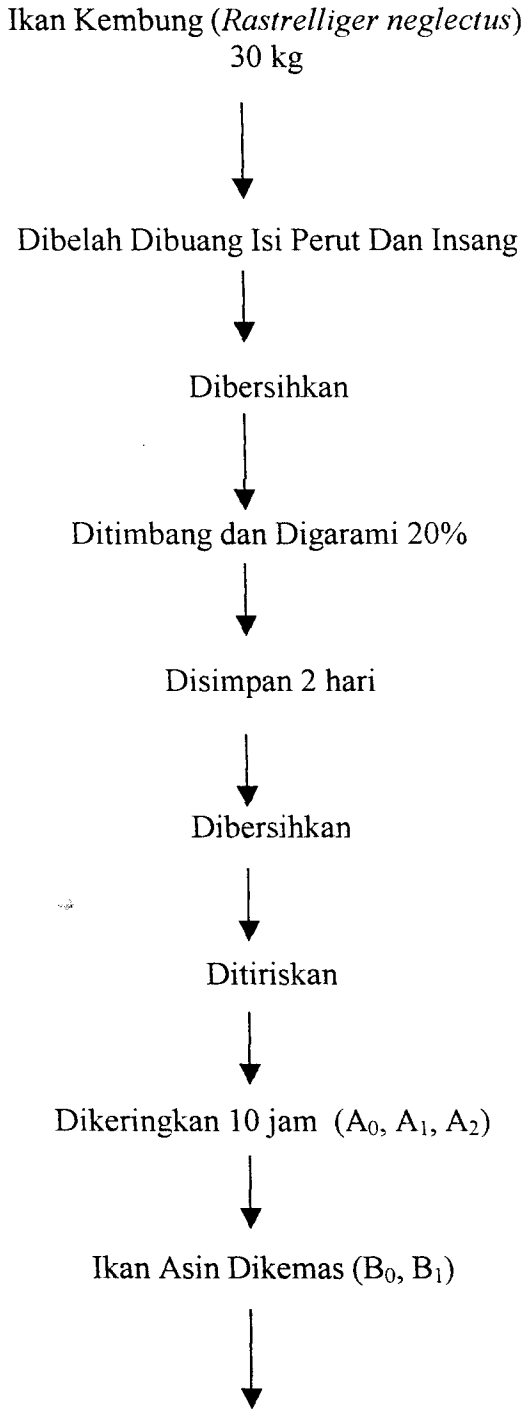
kasus I (suhu kamar) $K_0 = 0$ hari, $K_1 = 10$ hari. Jadi terdapat 6 unit perlakuan dengan 12 unit percobaan. Kasus II (suhu dingin ± 5 ^{0}C) ; $D_0 = 0$ hari, $D_1 = 15$ hari. Pada suhu dingin juga terdiri atas 6 unit perlakuan dengan 12 unit percobaan. Satuan percobaan adalah 4 ekor ikan kembung asin yang dimasukkan ke dalam plastik polyetylen vakum dan tanpa vakum.

4. 3.2. Prosedur Penelitian

Pembuatan ikan asin dengan penggaraman kering (Djarijah, 1995)

a. Ikan dipotong siripnya dibelah dagingnya dari ekor kepunggung sampai ke kepala dibuang isi perut dan insang, kemudian dibersihkan. Sebanyak ± 30 kg
b. Ikan ditiriskan.
c. Jumlah garam kristal yang dibutuhkan sebanyak 20% dari berat ikan.
d. Bagian dasar wadah (baskom plastik) dilapisi garam setebal 3 cm, kemudian ikan disusun teratur dan berlapis-lapis.
e. Diatas lapisan ikan ditaburi garam tebal 2 cm.
f. Diatas lapisan garam disusun lagi lapisan ikan.
g. Demikian seterusnya sampai wadah penuh ikan dan garam yang tersusun berlapis- lapis.
h. Pada lapisan atas ditebari garam setebal 5 cm.
i. Terakhir adalah penutup wadah, penutup dirapatkan dan diatasnya diberi pemberat.
j. Dibiarkan selama 2 hari.
k. Ikan dibongkar ditaruh dalam wadah yang bersih dan dicuci kemudian ditiriskan sampai air tidak menetes lagi.

Adapun prosedur penelitian ini adalah sebagai berikut :



Disimpan

- Suhu Kamar : 0 hari, 10 hari
- Suhu Dingin ± 5^0C : 0 hari, 15 hari

Pengamatan

4.3.3. Pengamatan

4.3.3.1. Uji organoleptik (Kartika *et al*, 1988)

Penilaian terhadap mutu sensoris ikan kembung asin dilakukan oleh 25 orang panelis terlatih (mahasiswa tingkat akhir) untuk menilai karakteristik rupa, tesktur, rasa dan bau, sampel ikan asin. Nilai tertinggi 9 dengan karakteristik amat sangat gurih, bersih, cemerlang kekuningan, kompak dan lentur, dan berbau khas ikan asin. Nilai terendah 1 dengan karakteristik amat sangat kusam, kotor, berjamur, rasa asin getir, bau tengik, atau busuk, dan tekstur rapuh/keras. Khusus untuk uji rasa ikan asin dikukus sebelum disajikan kepada panelis. *Score sheet* penilaian mutu sensoris ikan kembung asin dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.3.3.2. Analisis kadar air (Sudarmadji *et al*, 1984)

a. Cawan petri dibersihkan dan dikeringkan di dalam oven selama 10 jam pada suhu 105 – 110 ^{0}C. Didinginkan di dalam eksikator 30 menit di timbang (A).
b. Sebanyak 2 gram sampel ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam cawan (B), dikeringkan pada suhu 105 – 110 ^{0}C selama 24 jam.
c. Setelah didinginkan di dalam eksikator kemudian ditimbang beberapa kali sampai berat tetap (C).

$$\text{Kadar Air} = \frac{(B - C)}{(B - A)} \times 100\%$$

4.3.3.3. Analisis Kadar Protein Metode Mikro Kjeldahl (Sudarmadji *et al.*, 1997)

a. Sampel yang telah halus di timbang sebanyak 2 gr (A) dimasukkan ke dalam labu kjetdahl 25 cc asam sulfat dan 1 gr katalis (Cu komplek) ditambahkan ke dalam labu kjetdahl.

b. Campuran ini di destruksi dalam lemari asam sampai berwarna hijau atau bening, kemudian didinginkan selama 30 menit.

c. Larutan diencerkan ke dalam labu ukur 100 ml dengan aquades. Larutan sampel dipipet sebanyak 25 ml ke dalam labu kjetdahl, tambahkan 5 – 7 tetes indikator pp dan NaOH 50% sampai alkalis (terbentuk larutan berwarna merah).

d. Elemeyer di isi dengan asam borax 2% sebanyak 25 ml dan ditambahkan indikator campuran (metilen merah-biru) sehingga larutan berwarna ungu, ditampung dan di ikat dengan asam borax sampai terbentuk larutan hijau, destilasi berlangsung ± 15 menit.

e. Hasil destilasi pada elemeyer di titrasi dengan HCl 0,1 N yang lebih diketahui konsentrasinya sampai larutan berwarna biru.

$$\%\,N = \frac{\text{MlH Cl (Sampel – Blanko) x NHC l x 14,007 x 100}}{\text{Berat sampel (gr) x 1000}}$$

$$\text{Kadar protein} = \%\,N \times \text{Faktor Konversi}$$

4.3.3.4. Analisis Kadar Lemak (Sudarmadji *et al*, 1997)

a. Labu penyaring dikeringkan dalam oven selama 1 jam pada suhu 105 – 110 ^{0}C dan ditimbang beratnya (A).

b. Timbang sample 2 gram (X gram), masukkan kedalam selongsong penyaring dan tutup dengan kapas, lalu masukkan kedalam soxchlet pada kondensor. Kemudian pasang pula ekstraksi pada kondensor tersebut.

c. Tambahkan kira-kira 50 ml petroleum eter, lalu pasang pada waterbath dengan penyangga (suhu 70 ^{0}C).

d. Setelah penyaringan selesai (4 jam), penyaring dikeringkan dari petroleum eter.

e. Labu penyaring dikeringkan dalam oven selama 1 jam pada suhu 105 – 110 ^{0}C, didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang (B gram).

f. Kadar lemak dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Lemak} = \frac{B - A \times 100\%}{X}$$

4.3.3.5. Analisis Total Bakteri Halofilik Kuat (Fardiaz, 1992)

a. Sebanyak 40 g TSA (*Trypticase Soy Agar*) dilarutkan dalam 1 liter aquades dan aduk sampai homogen.

b. Media dipanaskan sampai mendidih kemudian disterillisasi dalam autoclave pada suhu 121 ^{0}C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.

c. Pengisian tabung-tabung reaksi dengan buffer phosphat sebanyak 5 tabung.

d. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} sampai 10^{-5}.

e. Dari masing-masing pengenceran diambil 1 ml dan masukkan ke dalam petridish.

f. Kemudian media kultur dituangkan sebanyak 15 ml kedalam petridish dan digoyang agar sampel merata. Biarkan sampai membeku.

g. Setelah membeku media kultur disimpan dalam inkubator dengan posisi petridish dibalik pada 35 ^{0}C – 37 ^{0}C selama 4 hari.

h. Penghitungan dilakukan dengan alat coloni counter.

$$\text{Jumlah Total Koloni} = \text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{pengenceran}}$$

4.3.3.6. Perhitungan Total Jamur dan Identifikasi Jenis Jamur (Fardiaz, 1989)

a. Sebanyak 39 gram PDA (*Potato Dextrose Agar*) dilarutkan dalam 1 liter aquades dan diaduk sampai homogen.

b. Media dipanaskan sampai mendidih kemudian disterillisasikan dalam autoclave pada suhu 121 ^{0}C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.

c. Pengisian tabung reaksi dengan 9 ml buffer phosphat sebanyak 5 tabung.

d. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} sampai 10^{-5}.

e. Timbang 10 gr sampel dan tambahkan buffer phosphat hingga 100 ml kemudian aduk hingga homogen (pengenceran 10^{-1}).

f. Ambil larutan pengenceran 10^{-1} sebanyak 1 ml dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi buffer phosphat kemudian tabung reaksi digoyang hingga campuran homogen (pengenceran 10^{-2})

g. Masing-masing pengenceran diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam petridish.

h. Media kultur dituangkan sebanyak 15 ml kedalam petridish dan diputar-putar agar sampel merata.

i. Setelah membeku media kultur disimpan dalam inkubator dengan posisi petridish dibalik pada 35 ^{0}C – 37 ^{0}C selama 3 x 24 jam.

j. Penghitungan dilakukan dengan alat coloni counter.

$$\text{Jumlah Total Koloni} = \text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{pengenceran}}$$

k. Penyimpanan dilanjutkan sampai 5 hari untuk identifikasi jamur.

4.3.4. Analisis Data (Sudjana, 1991)

Data yang diperoleh ditabulasi dalam bentuk tabel. nilai organoleptik, kadar air, kadar protein, kadar lemak, asam lemak dan peroksida dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Total bakteri halofilik dan jamur ditransformasikan kedalam bentuk Log x. Analisis data dilakukan secara deskriptif dan statistik. Analisis secara statistik dengan analisis variansi (anava), jika F Hit > F Tabel pada tingkat kepercayaan 99% berarti H_0 ditolak, maka dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT), untuk menentukan perlakuan yang terbaik.