

## IV. METODE PENELITIAN

### 4.1. Waktu Penelitian

Penelitian berlangsung selama 6 bulan dimulai pada bulan Mei s/d Oktober 2004 dan jadwal pelaksanaannya seperti Tabel 1. berikut ini :

Tabel 1. Rincian Pelaksanaan Kegiatan Penelitian.

No	Jenis Kegiatan	Bulan					
		1	2	3	4	5	6
1.	Persiapan Bahan dan Alat	—					
2.	Pelaksanaan Penelitian : - Pembuatan Ikan Asin - Penyimpanan / Analisis	—	—	—			
3.	Tabulasi dan Analisis Data			—	—		
4.	Pembuatan Draft Penelitian					—	
5.	Seminar di Jurusan						—
6.	Pembuatan Laporan dan Perbanyakan						—

### 4.2. Bahan dan Alat

Sampel yang digunakan adalah ikan patin (*Pangasius sutchi*) berukuran 500 – 600 gram. Ikan patin berasal dari budidaya keramba yang terdapat di sungai Rokan Riau dalam kondisi hidup. Bahan lain adalah garam dapur (NaCl) untuk membuat ikan asin, bahan-bahan untuk analisis kadar protein, kadar lemak, asam lemak bebas, angka peroksida, total bakteri halofilik, total jamur dan identifikasi jamur.

Alat yang digunakan adalah para-para, rumah kaca sederhana (tanpa pelat), rumah kaca dengan pelat tadah satu. Alat-alat untuk analisis di laboratorium seperti : inkubator, autoklaf, timbangan, colony counter, termometer, waterbath, alat ekstraksi soxlet, deskator, alat-alat gelas (erlen meyer, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri, dan lain-lain), baskom, pisau, dan lain-lain.

#### 4.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen di Laboratorium Kimia Pangan dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Penelitian ini untuk melihat peningkatan mutu dan masa simpan ikan patin asin dengan menggunakan alat pengering surya dan penambahan tokoferol.

Alat pengering (Murniyati dan Sunarman, 2000) yaitu :

- A<sub>0</sub> = Ikan asin dijemur diatas para-para ukuran 1,25 x 0,75 x 1,25 m, dibuat dengan kemiringan  $\pm 15^{\circ}$  kearah datangnya angin.
- A<sub>1</sub> = Alat pengering rumah kaca sederhana, bentuk persegi ukuran 1,25 x 0,75 x 1,50 m. Dinding, atap dan alas dari plastik transparan, di dalamnya dibuat rak-rak.
- A<sub>2</sub> = Alat pengering rumah kaca ukuran 1,25 x 0,75 x 1,50 m 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 lantai ke tanah 31 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 konsentrasi tokoferol yaitu :  $B_0 = 0\%$ ,  $B_1 = 0,025\%$ ,  $B_2 = 0,050\%$ ,  $B_3 = 0,075\%$ ,  $B_4 = 0,1\%$ . Kelompok (ulangan) yaitu pengamatan selama 2 bulan  $K_0 = 0$  hari,  $K_1 = 15$  hari,  $K_2 = 30$  hari,  $K_3 = 45$  hari dan  $K_4 = 60$  hari. Jadi terdapat 15 unit perlakuan dengan 75 unit percobaan. Satuan percobaan adalah ikan patin berat  $\pm 1$  kg (2 ekor) yang diberi label masing-masingnya.

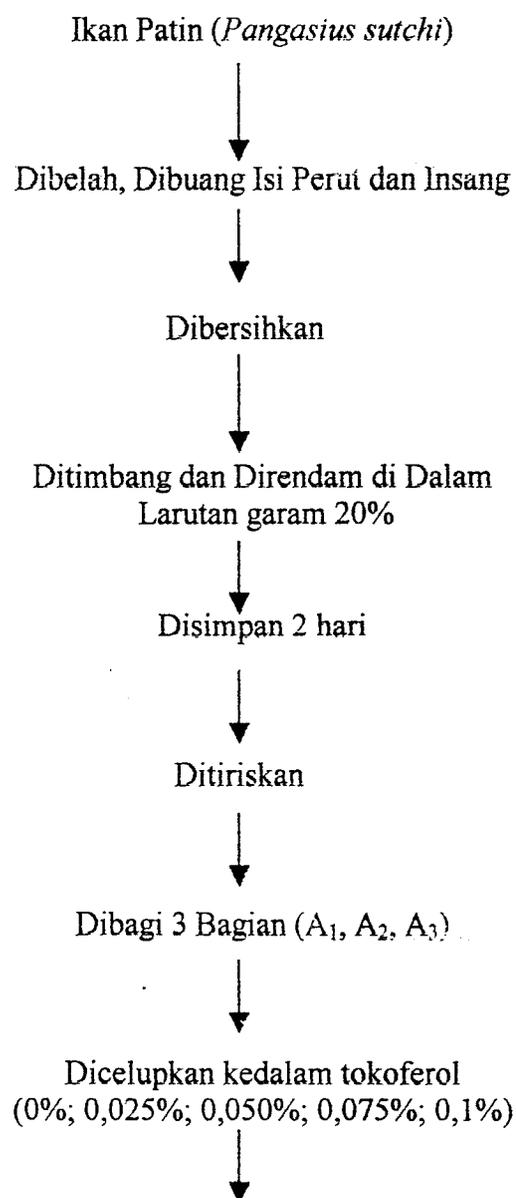
### 4.3.2. Prosedur Penelitian

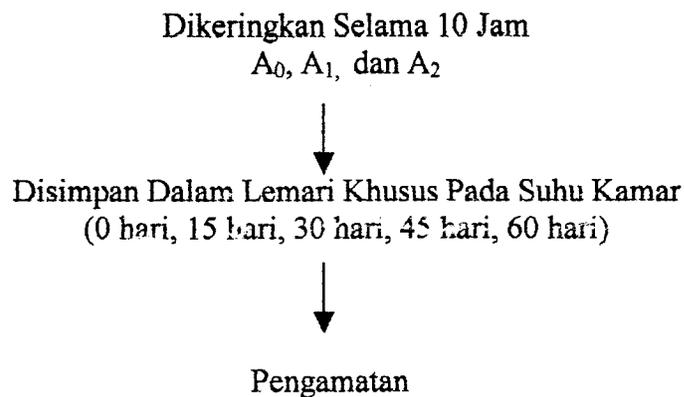
#### 4.3.2.1. Pembuatan ikan asin dengan penggaraman basah (*Brine salting*) (Afrianto dan Liviawaty, 1994)

1. Ikan dipotong siripnya, dibelah dagingnya dari ekor ke punggung sampai ke kepala, dibuang isi perut dan insang, kemudian dibersihkan.
2. Ikan ditiriskan dan ditimbang.
3. Dibuat larutan garam dengan konsentrasi 20%.
4. Ikan patin disusun di dalam baskom plastik.
5. Ditambahkan larutan garam sehingga seluruh ikan terendam (75 liter larutan).
6. Baskom ditutup dan diberi pemberat.
7. Dibiarkan selama 2 hari.
8. Ikan dibongkar, ditaruh dalam wadah yang bersih kemudian ditiriskan sampai air tidak menetes lagi.

#### 4.3.2.2. Pencelupan ikan asin kedalam larutan tokoferol (Murniyati dan Sunarman, 2000)

Ikan dibagi 3 bagian secara acak ( $A_0, A_1, A_2$ ), masing-masing bagian dibagi lagi atas 5 bagian dan dicelupkan selama 30 detik kedalam larutan tokoferol sesuai perlakuan. Selanjutnya dikeringkan dengan sinar matahari, disimpan di dalam lemari sampel yang bersih dan mempunyai ventilasi. Adapun prosedur penelitian ini adalah sebagai berikut :





### 4.3.3. Pengamatan

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

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

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

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

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

2. Campuran ini di destruksi dalam lemari asam sampai berwarna hijau atau bening, kemudian didinginkan selama 30 menit.
3. Larutan diencerkan ke dalam labu ukur 100 ml dengan aquades. Larutan sampel dipipet sebanyak 25 ml ke dalam labu kjeldahl, tambahkan 5 – 7 tetes indikator pp dan NaOH 50% sampai alkalis (terbentuk larutan berwarna merah).
4. 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  $\pm$  15 menit.
5. Hasil destilasi pada elemeyer di titrasi dengan HCl 0,1 N yang lebih diketahui konsentrasinya sampai larutan berwarna biru.

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

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

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

1. Labu penyaring dikeringkan dalam oven selama 1 jam pada suhu 105 – 110 °C dan ditimbang beratnya (A).
2. Timbang sample 2 gram (X gram), masukkan kedalam selongsong penyaring dan tutup dengan kapas, lalu masukkan kedalam soxhlet pada kondensor. Kemudian pasang pula ekstraksi pada kondensor tersebut.

3. Tambahkan kira-kira 50 ml petroleum eter, lalu pasang pada waterbath dengan penyangga (suhu 70 °C).
4. Setelah penyaringan selesai (4 jam), penyaring dikeringkan dari petroleum eter.
5. Labu penyaring dikeringkan dalam oven selama 1 jam pada suhu 105 – 110 °C, didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang (B gram).
6. Kadar lemak dapat dihitung dengan rumus :

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

#### 4.3.3.4. Penentuan Angka Peroksida (Sudarmadji *et al*, 1997)

1. Sampel ditimbang sebanyak 5 gram, dimasukkan kedalam erlemeyer tertutup.
2. Ditambahkan 10 ml larutan asam asetat khloroform. Larutan digoyang sampai bahan terlarut semua. Kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan KI jenuh.
3. Didiamkan selama 1 menit dan kadang kala digoyang, kemudian ditambahkan 30 ml aquades.
4. Titrasi dilakukan dengan 0,1 N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sampai warna kuning hampir hilang.
5. Tambahkan 0,5 ml larutan pati 1%. Titrasi dilanjutkan sampai warna biru menghilang.
6. Angka peroksida dinyatakan dengan mili-equivalen dari peroksida dalam setiap 1000 gr contoh.

$$\text{Angka peroksida} = \frac{\text{MI Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times \text{N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{Berat contoh (g)}}$$

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

1. Sebanyak 40 g TSA (*Trypticase Soy Agar*) dilarutkan dalam 1 liter aquades dan aduk sampai homogen.
2. Media dipanaskan sampai mendidih kemudian disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121 °C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.
3. Pengisian tabung-tabung reaksi dengan buffer phosphat sebanyak 5 tabung.
4. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  sampai  $10^{-5}$ .
5. Dari masing-masing pengenceran diambil 1 ml dan masukkan ke dalam petridish.
6. Kemudian media kultur dituangkan sebanyak 15 ml kedalam petridish dan digoyang agar sampel merata. Biarkan sampai membeku.
7. Setelah membeku media kultur disimpan dalam inkubator dengan posisi petridish dibalik pada 35 °C – 37 °C selama 12 hari.
8. 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)

1. Sebanyak 39 gram PDA (*Potato Dextrose Agar*) dilarutkan dalam 1 liter aquades dan diaduk sampai homogen.
2. Media dipanaskan sampai mendidih kemudian disterilisasikan dalam autoclave pada suhu 121 °C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.
3. Pengisian tabung reaksi dengan 9 ml buffer phosphat sebanyak 5 tabung.
4. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  sampai  $10^{-5}$  dengan cara :

- a. Timbang 10 gr sampel dan tambahkan buffer fosfat hingga 100 ml kemudian aduk hingga homogen (pengenceran  $10^{-1}$ ).
- b. Ambil larutan pengenceran  $10^{-1}$  sebanyak 1 ml dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi buffer fosfat kemudian tabung reaksi digoyang hingga campuran homogen (pengenceran  $10^{-2}$ )
- c. Masing-masing pengenceran diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam petridish.
- d. Media kultur dituangkan sebanyak 15 ml kedalam petridish dan diputar-putar agar sampel merata.
- e. Setelah membeku media kultur disimpan dalam inkubator dengan posisi petridish dibalik pada  $35^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$  selama 3 x 24 jam.
- f. Penghitungan dilakukan dengan alat coloni counter.

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

- g. Penyimpanan dilanjutkan sampai 5 hari untuk identifikasi jamur.

#### 4.3.3.7. Uji Organoleptik (Kartika *et al*, 1988)

Penilaian terhadap mutu sensoris ikan patin asin dilakukan oleh 25 orang panelis terlatih (mahasiswa tingkat akhir) untuk menilai karakteristik rupa, tekstur, 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 patin asin dapat dilihat pada lampiran 1.

#### **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 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.