

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat

Alat yang digunakan terdiri dari alat untuk pembuatan bakso, analisa kimia dan analisa mikrobiologi. Alat pembuatan bakso terdiri dari *food processor*, talenan, pisau, baskom, timbangan analitik, kompor gas, panci dan lemari es.

Alat yang digunakan analisis kimia botol timbang dan tutupnya, timbangan digital, oven, desikator, destruktur, buret dan statif, pipet tetes, gelas piala, sample tube, gold fish, mortar dan alu, spektrometer, labu ukur, alat titrasi, corong, pH meter, wahing bottle, kurs porselin, penjepit dan muffle.

Alat yang digunakan untuk analisis mikrobiologis adalah cawan petri, pipet serologis, pipet volume, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, bola hisap, autoklaf, inkubator, erlenmeyer, kompor gas, panci, bunsen dan sprayer.

##### 3.1.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan tuna (*Thunus obesus*) yang diperoleh dari Pasar Gadang Malang, Selada yang diperoleh dari Pasar Besar Malang dan bakteri *L. plantarum* dengan kepadatan  $10^8$  cfu/mL yang diperoleh dari Laboraturium Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Bahan tambahan yang digunakan untuk pembuatan bakso ikan meliputi tepung tapioka, garam, merica, es batu, bawang putih untuk pembuatan bakso ikan tuna yang diperoleh dari Pasar Besar Malang.

Bahan yang digunakan untuk pembuatan stok kultur dan kultur siap pakai adalah MRS Agar (*de Man Rogosa and Sharpe*) dan MRS Borth. Bahan

tambahan 0,1% pepton, akuades, alkohol 70%, Na Fisiologis, kapas, plastik, tali pengikat dan NA.

Bahan untuk analisis kimia adalah H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, tablet khjeldal, HCL 0,02 N, NaOH, indikator Tashiro, akuades, air, kertas saring, dan n-hexan. Bahan analisis mikrobiologis adalah media MRSA, MRSB, media PCA, NA, NaCl, spirtus, alkohol dan kapas.

### **3.2 Metode Penelitian**

#### **3.2.1 Metode**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh cairan selada terfermentasi dengan *L. plantarum* terhadap kualitas bakso ikan tuna mata besar (*Thunnus obesus*). Metode yang digunakan adalah metode eksperimen. Menurut (Simatupang, 2000), tujuan dari metode penelitian ini adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab-akibat serta berapa besar hubungan sebab-akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan-perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol sebagai perbandingan.

#### **3.2.2 Variabel Penelitian**

Variabel adalah objek penelitian, atau apa yang menjadi titik perhatian suatu penelitian (Arikunto, 2006). Sesuatu dinamai variabel dikarenakan secara kuantitatif atau secara kualitatif ia dapat bervariasi. Apabila sesuatu tidak dapat bervariasi maka ia bukan variabel melainkan konstanta (Azwar, 2007). Variabel dibedakan menjadi variabel bebas dan variabel terikat. Menurut Surachmad (1994), variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas.

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas adalah konsentrasi selada terfermentasi 0%, 5%, dan 10% sedangkan yang menjadi variabel terikat adalah uji proksimat, uji organoleptik, uji TPC, uji pH dan uji SEM dan uji Kekenyalan.

### 3.2.3 Rancangan Percobaan

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) sederhana dengan tiga kali perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuannya yaitu A = tanpa cairan selada konsentrasi 0 % (0 mL), B = cairan selada konsentrasi 5% (25 mL), C = cairan selada konsentrasi 10% (50 mL) dan dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu kelompok hari ke 0 dan hari ke 3. Model rancangan percobaan disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5. Rancangan Penelitian (RAK)**

Perlakuan	Lama Penyimpanan					
	Hari ke 0			Hari ke 3		
A	A01	A02	A03	A31	A32	A33
B	B01	B02	B03	B31	B32	B33
C	C01	C02	C03	C31	C32	C33

Keterangan

A = Cairan selada dengan konsentrasi 0%

B = Cairan selada dengan konsentrasi 5% (w/v)

C = Cairan selada dengan konsentrasi 10% (w/v)

0 = Penyimpanan 0 hari

3 = Penyimpanan 3 hari

Pada penelitian ini data yang diperoleh akan dilakukan analisa dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*). Sedangkan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang terjadi antar faktor perlakuan akan dilanjutkan dengan uji BNT dengan taraf 5%.

### 3.2.4 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan analisis data statistik dengan metode Analysis of Variance (ANOVA), dengan model analisa sebagai berikut:

$$Y = a + bx$$

Dimana:

- $Y_{ij}$  : Hasil pengamatan (parameter)
- $a$  : Pengaruh konsentrasi cairan selada terfermentasi
- $b$  : Pengaruh lama waktu penyimpanan
- $x$  : Ulangan (1, 2, 3)

Analisi data pada penelitian ini dilakukan dengan analisis keragaman (ANOVA) dengan uji F pada taraf 5% dan 1%. Apabila terdapat hasil yang berbeda nyata maka akan dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan terbaik. Uji BNT akan sangat efektif digunakan untuk mendeteksi beda rata-rata yang sebenarnya jika diterapkan setelah uji F nyata pada taraf 5%.

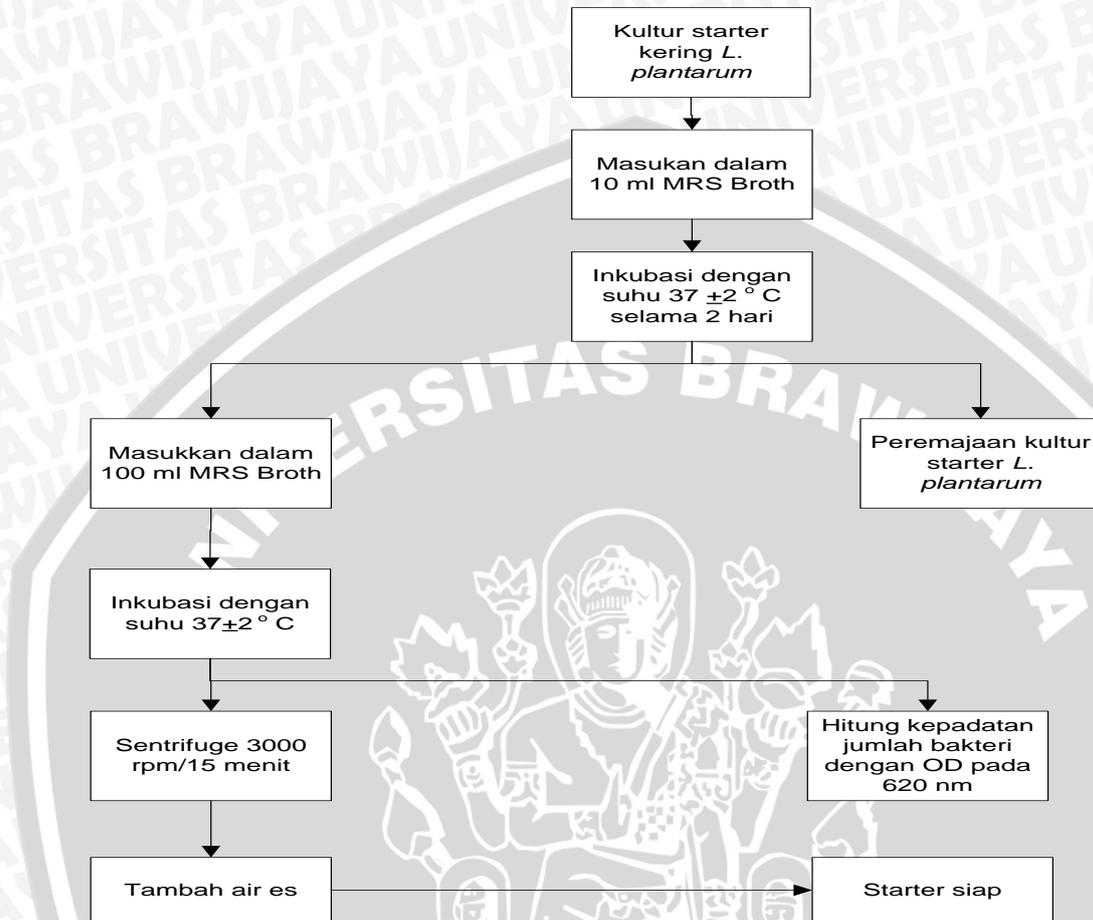
### 3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Biokimia, Laboratorium Mikrobiologi Dasar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Sentral dan Ilmu Hayati Universitas Brawijaya dan Laboratorium Kimia Instrumen Politeknik Negeri Malang mulai Mei sampai Agustus 2014.

#### 3.3.1 Kultur Bakteri

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh proses fermentasi selada dengan penambahan bakteri asam laktat. Dipersiapkan biakan *L. plantarum* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya Malang kemudian dilakukan pembuatan starter *L. plantarum* seperti pada Gambar 3 dibawah ini.



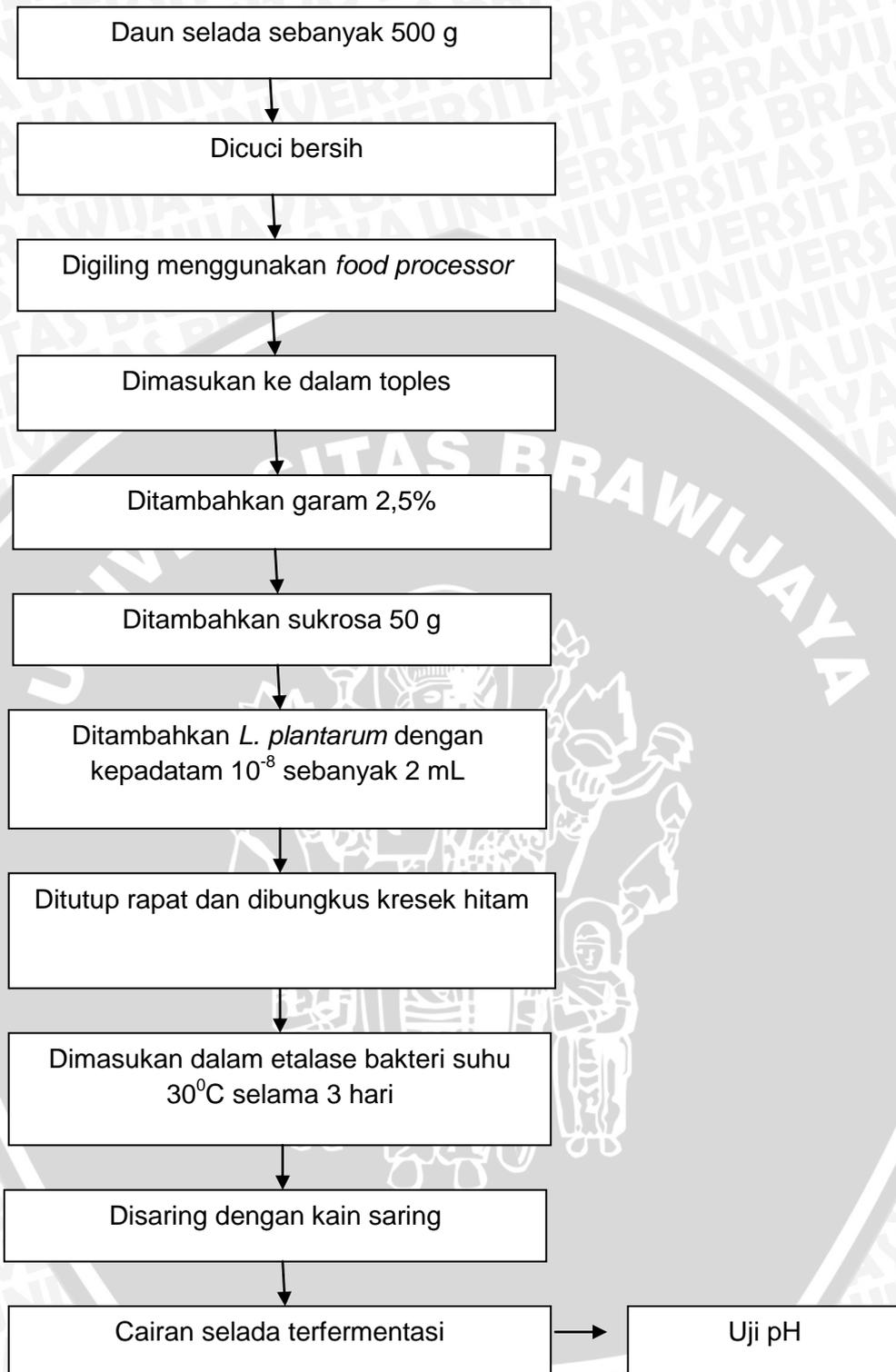
**Gambar 3. Prosedur Kultur Bakteri *L. plantarum***

Menurut Rachmawati *et al.*, (2005), untuk menentukan kepadatan *L. plantarum* yaitu dengan menggunakan standar Mcfarland. Larutan Mcfarland 0,5 adalah larutan standar yang terdiri dari barium klorida dan asam sulfat sehingga menghasilkan larutan yang keruh. Volume dan ukuran sel sama untuk semua perlakuan, maka pengaruh konsentrasi berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji dapat diamati. Kultur cair bakteri disamakan absorbannya dengan absorban Mcfarland 0,5 (antara 0,08 sampai 0,1) sehingga dihasilkan bakteri dengan jumlah  $1 \times 10^8$  CFU/mL. Kultur bakteri yang digunakan memiliki optical density 0,4 pada 620 nm atau kultur yang telah distandarisasi

dengan larutan standar Mcfarland 0,5 (Baris *et al.*, 2006). Kultur bakteri asam laktat (BAL) yang digunakan sebanyak 2-3 ose dari kultur stok tegak diinokulasikan ke dalam 10 mL MRSB dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu 37°C sampai jumlah sel 10<sup>8</sup> CFU/ mL.

### 3.3.2 Selada Fermentasi

Setelah diperoleh kepadatan bakteri *L. plantarum* yang diinginkan, kemudian dipersiapkan bahan-bahan untuk pembuatan selada terfermentasi. Langkah pertama adalah potongan daun selada 2 kg di haluskan menggunakan cooper dan di masukan kedalam 4 toples yang tiap toplesnya diisi 500 gram selada yang telah dihaluskan. kemudian di tambahkan sukrosa sebanyak 50 gram pada masing-masing toplesnya. Lalu ditambahkan garam 2,5% yaitu sebanyak 12,5 gram serta *L. plantarum* kepadatan 10<sup>8</sup> cfu/ mL sebanyak 2mL/ 500 gram pada tiap toplesnya. Kemudian ditutup toples dengan plastik hitam didiamkan selama 3 hari pada suhu 30°C. Kemudian cairan fermentasi selada dianalisis dengan pengujian pH . Proses pembuatan selada terfermentasi dapat dilihat pada Gambar 4 dan Lampiran 1.



**Gambar 4. Proses Pembuatan Cairan Selada Terfermentasi**  
Sumber : Hoo et al., (2009)

### 3.3.3 Bakso Ikan

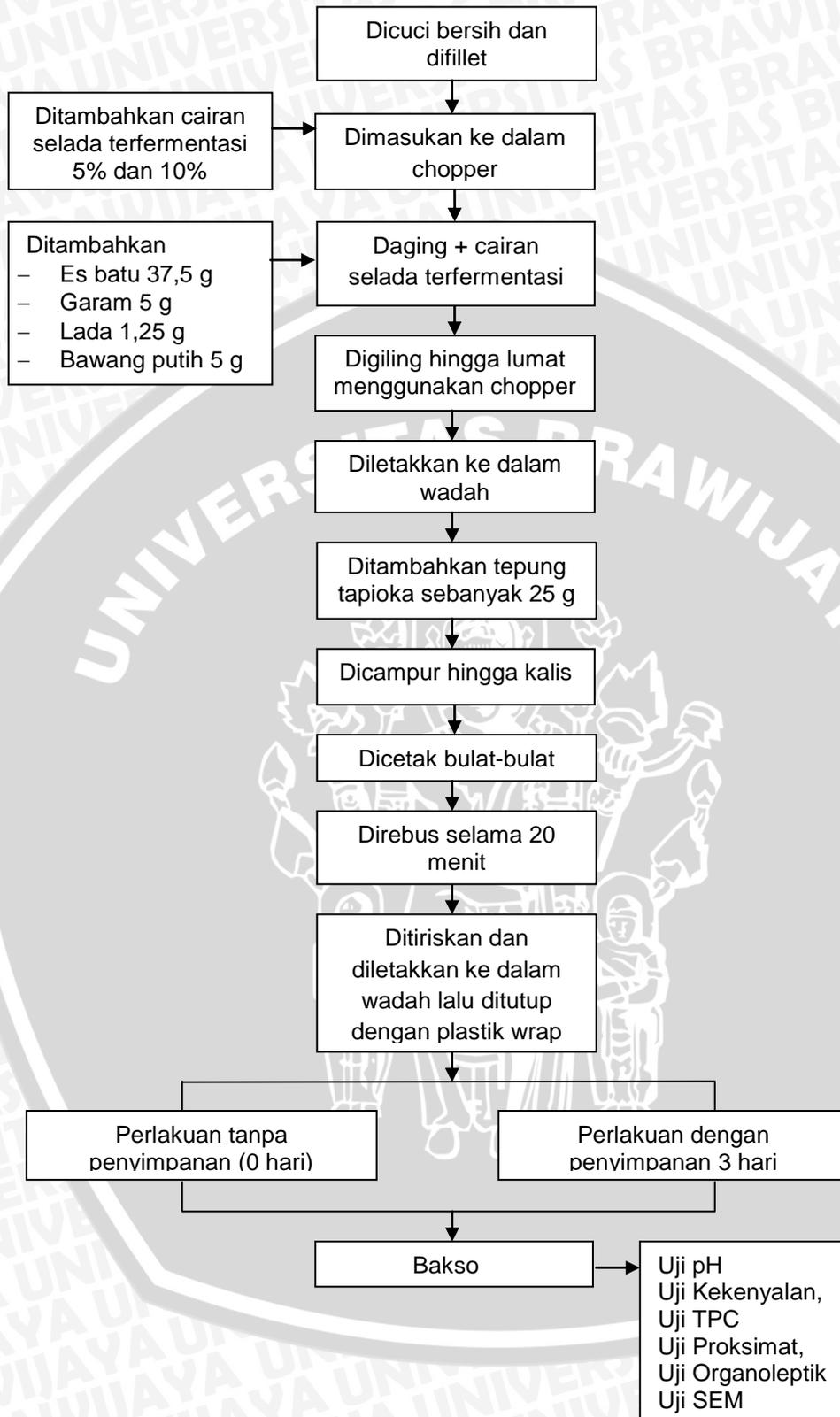
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh selada terfermentasi dengan *L. plantarum* dalam berbagai konsentrasi yaitu 0%, 5% dan 10%. Sebagai bahan pengawet terbaik untuk bakso ikan. Proses pembuatannya hampir sama dengan bakso ikan pada umumnya hanya pada prosesnya ditambahkan cairan selada terfermentasi.

Kemudian dipersiapkan adonan untuk pembuatan bakso ikan. Langkah pertama dalam pembuatan bakso ikan yaitu dihaluskan daging ikan menggunakan *food processor* selama 5 menit. Lalu dicampurkan daging ikan tuna dengan cairan selada terfermentasi. Kemudian dihomogenkan dengan air es dan ditambahkan bumbu- bumbu. Diaduk hingga rata dan ditambahkan tepung tapioka. Kemudian dilakukan pencetakan bola- bola bakso dan direbus dalam air mendidih selama 20 menit. air selada terfermentasi selama 0 hari dan 3 hari. Disimpan pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan pengujian yaitu uji organoleptik, uji proksimat, uji kekenyalan, uji TPC dan uji pH pada hari ke 0 dan hari ke 3. Selanjutnya setelah mendapatkan hasil terbaik dan terburuk pada hari pertama dan ketiga dilakukan uji SEM. Proses pembuatan bakso ikan tuna pada Gambar 5 dan Lampiran 2. Formula bakso ikan tuna mata besar dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6. Formula Bakso Ikan Tuna Mata Besar**

Komposisi	Banyaknya (g)	Presentase (%)
Daging Ikan Tuna	250	70
Garam	5	2
Lada	1,25	0,5
Es Batu	37,5	15
Bawang Putih	5	2
Tepung Tapioka	25	10
<b>Total</b>	<b>323,75</b>	<b>100</b>
Cairan Selada Terfermentasi	25	5
Cairan Selada Terfermentasi	50	10

Sumber : Purukan *et al.*, (2013)



**Gambar 4. Alur Proses Pembuatan Bakso Ikan Tuna**  
 Sumber : Purukan et al., (2013)

### 3.4 Parameter Uji

#### 3.4.1 Proksimat

Menurut Legowo dan Nurwantoro (2004), komponen bahan pangan adalah merupakan senyawa kimia yang memiliki karakteristik tertentu. Komponen utama bahan pangan terdiri dari air, protein, karbohidrat, vitamin, mineral dan beberapa senyawa minor lain. Akan tetapi, komponen bahan pangan tersebut sering dikelompokkan kedalam tiga golongan yaitu : air, makronutrien dan mikronutrien. Tujuan analisis bahan pangan antara lain yaitu :

1. Menguraikan komponen-komponen bahan pangan (baik jenis maupun jumlahnya), sehingga dapat disusun komposisi bahan tersebut.
2. Menentukan suatu komponen bahan untuk menentukan kualitas bahan tersebut.
3. Menentukan komponen bahan untuk menyusun menu.
4. Menentukan ada/tidaknya bahan ikutan/tambahan dalam makanan.
5. Mendeteksinya adanya bahan metabolik senyawa beracun dalam makanan
6. Mengikuti terjadinya perubahan selama penanganan/pengolahan.

##### 3.4.1.1 Air

Analisis kadar air dengan metode langsung dilakukan dengan cara mengeluarkan air dari bahan pangan dengan bantuan pengeringan oven, desikasi, destilasi, ekstraksi dan teknik fisika- kimia lainnya. Jumlah air dapat diketahui dengan cara penimbangan, pengukuran volume atau cara langsung lainnya. Metode ini mempunyai ketelitian yang tinggi, tetapi pada umumnya memerlukan perlakuan yang relatif lama dan pengerjaannya kebanyakan bersifat manual (Andarwulan, 2011). Ditambahkan juga oleh Sudarmadji *et al.*, (1997), penentuan kadar air dengan metode *Thermogravimetri* adalah sebagai berikut:

- Timbang sampel yang berupa bahan yang telah dihaluskan sebanyak 2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya.
- Kemudian keringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama semalam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang beratnya.
- Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan, dengan perhitungan:

$$\text{Wet bases (\%Wb)} = \frac{(\text{berat botol timbang} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Dry bases (\%Db)} = \frac{(\text{berat botol timbang} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel} - \text{berat botol timbang}} \times 100\%$$

#### 3.4.1.2 Protein

Protein adalah sumber asam- asam amino yang mengandung unsur- unsur C, H, O dan N yang tidak dimiliki lemak dan karbohidrat (Winarno, 2002). Metode yang digunakan pada analisa protein adalah adalah mikro Kjeldhal. Proses ini dilakukan dalam 3 tahap yaitu destruksi, destilasi dan titrasi . Penetapan serupa dilakukan terhadap blanko. Menurut Sudarmadji *et al* (1997), penentuan kadar protein dengan menggunakan metode makro *Kjeldahl* adalah sebagai berikut:

- Timbang 1 gram bahan dan masukkan dalam labu kjeldahl yang kemudian ditambahkan 15 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan setengah tablet kjeldahl kemudian didestruksi sampai warna cairan jernih. Selanjutnya didinginkan dan ditambah 50 mL aquades, 2 tetes indikator PP 1% serta 50 mL NaOH 40% sampai berwarna merah kecoklatan. Sampel didestilasi sehingga dihasilkan destilat.

- Destilat ini ditampung dalam Erlenmeyer yang telah berisi 20 mL asam borax 4% dan 2 tetes indikator PP 1%. Lakukan destilasi sampai destilat yang tertampung sebanyak 150 mL.
- Titrasi destilat yang diperoleh dengan standar HCL 0,1 N sampai timbul warna merah muda. Perhitungan kadar protein adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar protein} = \frac{(N \times V) \text{HCl} \times 14,008 \times 6,25}{\text{berat sampel} \times 1000} \times 100\%$$

#### 3.4.1.3 Abu

Prinsip penentuan kadar abu didalam bahan pangan adalah menimbang berat sisa mineral hasil pemakanan bahan organik pada suhu sekitar 550°C. Penentuan kadar abu dapat dilakukan secara langsung dengan cara membakar bahan pada suhu tinggi (500- 600°C) selama beberapa (2- 8) jam dan kemudian menimbang sisa pembakaran yang tertinggal sebagai abu. Penentuan kadar abu juga dapat dilakukan secara tidak langsung, yaitu dengan cara melarutkan sampel kedalam cairan yang ditambahkan oksidator. Setelah itu baru dilakukan pembakaran sampel. Cara pengabuan ini disebut pengabuan cara basah dan keuntungannya adalah suhu pembakaran tidak terlalu tinggi. Jumlah sampel pada analisis kadar abu adalah 2- 5 g untuk bahan yang banyak mengandung mineral seperti ikan, daging, susu, biji- bijian ( Legowo dan Nurwantoro, 2004).

Menurut Sudarmadji *et al* (1997), penentuan kadar abu dengan metode pemanasan adalah sebagai berikut:

- Timbang 2 gram sampel dalam *kurs porselin* yang telah kering dan telah diketahui beratnya
- Kemudian pijarkan dalam *muffle* sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan dengan suhu (550- 660)°C.

- Masukkan *kurs* yang berisi abu kedalam desikator dan ditimbang kadar abu setelah dingin. Perhitungan kadar abu sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{\text{berat akhir-berat porselen}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

#### 3.4.1.4 Lemak

Ekstraksi lemak dengan alat Goldfish sangat praktis dan mudah pemakaiannya, keuntungan cara ekstraksi goldfish ini adalah pelarut yang sudah dipakai dapat diperoleh kembali (Legowo dan Nurwantoro, 2004). Metode yang digunakan adalah dengan metode *Goldfish*, dimana prinsip kerjanya menurut Sudarmadji *et al.*, (1997) adalah mengekstraksi lemak dari sampel dengan pelarut seperti petroleum ether dan dilakukan dengan alat ekstraksi *Goldfish*. Penentuan kadar lemak adalah sebagai berikut:

- Sampel kering sebanyak 5 gram dibungkus dengan kertas saring yang telah diketahui beratnya dan dimasukkan dalam *thimble* lalu dipasang pada gelas penyangga yang berada tepat di bawah kondensor alat destilasi *Goldfish*.
- Selanjutnya PE sebagai pelarut dimasukkan dalam gelas piala dan dipasang pada kondensor, kemudian air pendingin pada kondensor dialirkan. Ekstraksi ini dilakukan 3-4 jam.
- Setelah ekstraksi selesai, sampel dalam *Thimble* diambil dan dilakukan pengeringan dalam oven pada suhu 100°C sampai berat konstan. Berat residu (hasil ekstraksi) dalam botol timbang dinyatakan sebagai berat lemak:

$$\% \text{ Kadar lemak} = \frac{(\text{berat sampel awal} + \text{berat kertas saring}) - \text{berat akhir}}{\text{berat akhir}} \times 100\%$$

#### 3.4.1.5 Karbohidrat

Dalam analisis kadar karbohidrat seringkali ditujukan untuk menentukan jumlah golongan karbohidrat tertentu, misalnya kadar laktosa, kadar gula

pereduksi, kadar dekstrin dan kadar pati. Kadar karbohidrat suatu bahan pangan sering ditentukan dengan cara menghitung selisih dari angka 100 dengan jumlah komponen bahan yang lain (kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu). Cara penentuan kadar karbohidrat semacam ini disebut sebagai metode "carbohydrate by difference" (Legowo dan Nurwantoro, 2004).

### 3.4.2 TPC

Kualitas bakso ikan terfermentasi diuji dengan menggunakan metode Total Plate Count (TPC). Pengamatan Total Plate Count menggunakan metode hitung cawan (Fardiaz, 1992). Analisis ini dilakukan pada bakso yang telah diberi konsentrasi BAL *L. plantarum* berbeda masing-masing 0%, 5% dan 10%. Diambil menggunakan pipet sebanyak 1 mL cairan dari 1 gram bakso ikan yang sebelumnya telah dihaluskan dan dimasukkan kedalam 9 mL larutan pengenceran Nafis 0,9% dan dijadikan sebagai pengenceran pertama, 1 mL cairan tadi dimasukan pada tabung reaksi kedua selanjutnya dihomogenkan, maka diperoleh pengenceran  $10^{-2}$  selanjutnya dengan cara yang sama dibuat pengenceran yang akan digunakan sampai  $10^{-5}$ .

Setelah dibuat pengenceran dari diambil dari tabung pengencer  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam cawan petri steril, dituangkan media NA cairan steril yang telah dipersiapkan sebelumnya. Segera setelah penuangan cawan petri digerak- gerakan melingkar agar sel-sel mikroba merata. Setelah medium memadat, cawan petri dimasukkan kedalam inkubator dengan posisi terbalik pada suhu 25- 35 °C selama 24 jam. Kemudian dihitung jumlah koloni yang terbentuk. Perhitungan jumlah koloni setelah diinkubasi menggunakan colony counter.

### 3.4.3 Organoleptik

Penilaian terhadap kualitas bakso salah satunya adalah secara organoleptik atau sensori dengan menggunakan uji hedonik terhadap rasa, warna, aroma, tekstur dan kenampakan. Pengujian organoleptik adalah pengujian yang didasarkan pada proses pengindraan. Pengindraan diartikan sebagai suatu proses fisio-psikologis, yaitu kesadaran atau pengenalan alat indra akan sifat-sifat benda karena adanya rangsangan yang diterima alat indra yang berasal dari benda tersebut. Pengindraan dapat juga berarti reaksi mental (sensation) jika alat indra mendapat rangsangan (stimulus). Reaksi atau kesan yang ditimbulkan karena adanya rangsangan dapat berupa sikap untuk mendekati atau menjauhi, menyukai atau tidak menyukai akan benda penyebab rangsangan. Kesadaran, kesan dan sikap terhadap rangsangan adalah reaksi psikologis atau reaksi subyektif. Pengukuran terhadap nilai / tingkat kesan, kesadaran dan sikap disebut pengukuran subyektif atau penilaian subyektif. Disebut penilaian subyektif karena hasil penilaian atau pengukuran sangat ditentukan oleh pelaku atau yang melakukan pengukuran (Gusman, 2013). Kemudian di berikan skor dari 1 (sangat tidak suka) sampai 7 (amat sangat suka).

### 3.4.4 Kekenyalan (N)

Uji tekstur atau yang dikenal dengan uji kekerasan pada pangan menggunakan alat *tensile strength* yang dinyalakan dan ditunggu selama 5 menit. Sampel yang akan diukur atau diuji diletakan tepat di bawah jarum alat. Beban dilepaskan kemudian skala penunjuk dibaca setelah alat berhenti. Nilai yang tercantum pada monitor merupakan nilai kekerasan yang dinyatakan dalam satuan Newton (N) (Yuwono dan Pramuditya, 2014). Dan cara pengujiannya sebagai berikut :

1. Timbang berat beban
2. Bahan yang akan diukur diletakkan tepat dibawah jarum penunjuk penetrometer
3. Tentukan waktu pengujian, yaitu waktu yang diperlukan untuk penekanan terhadap bahan
4. Lepaskan beban lalu baca skala penunjuk setelah alat berhenti (pengujian perlu diulang pada berbagai sisi sampel)
5. Buat rata-rata hasil pembacaan

Tekstur dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Penetrasi} = \frac{\left(\text{rata-rata pengukuran} \times \frac{1}{10}\right) \text{ mm}}{\text{berat beban(g)} \times \text{waktu pengujian(dtk)}}$$

#### 3.4.5 De Garmo

Untuk menentukan kombinasi perakuan terbaik digunakan metode indeks efektivitas. Menurut De garmo *et al.* (1984), metode De Garmo prosedur percobaannya sebagai berikut :

1. Mengelompokkan parameter, parameter-parameter fisik dan kimia dikelompokkan terpisah dengan parameter organoleptik.
2. Memberi bobot 0-1 pada setiap parameter pada masing-masing kelompok. Bobot yang diberikan sesuai dengan tingkat tiap parameter dalam mempengaruhi tingkat penerimaan konsumen yang diwakili oleh panelis.

$$\text{Pembobotan} = \frac{\text{nilai total parameter}}{\text{nilai total parameter}}$$

### 3. Menghitung Nilai Efektifitas

$$NE = \frac{Np-Ntj}{Ntb \times Ntj}$$

Keterangan :

NE = Nilai Efektifitas

NP = Nilai Perlakuan

Ntj = Nilai Terjelek

Ntb = Nilai Terbaik

Untuk parameter dengan rerata semakin besar semakin naik, maka nilai terendah sebagai nilai terjelek dan nilai tertinggi sebagai nilai terbaik. Sebaliknya untuk parameter dengan rerata nilai kecil semakin baik. Maka nilai tertinggi sebagai nilai terjelek dan nilai terendah sebagai nilai terbaik.

### 4. Menghitung nilai produk (NP)

Nilai produk diperoleh dari  $NP = NE \times \text{Bobot Nilai}$

5. Menjumlahkan nilai produk dari semua parameter pada masing-masing kelompok
6. Perlakuan terbaik dipilih dari perlakuan yang mempunyai nilai produk yang tertinggi untuk parameter organoleptik

#### 3.4.6 Scanning Electron Microscope (SEM)

Sampel dianalisa menggunakan SEM Hitachi Tabletop Microscope TM 3000 dengan perbesaran 1500 kali. Sampel yang dianalisis harus kering dan tidak berminyak dengan diameter kurang lebih sama dengan 1 cm dan tinggi kurang lebih 0,5 cm. SEM sangat cocok digunakan dalam situasi yang membutuhkan pengamatan permukaan kasar dengan pembesaran berkisar antara 20 kali sampai 500.000 kali. Sebelum melalui lensa elektromagnetik

terakhir *scanning raster* mendeflesikan berkas elektron untuk men-*scan* permukaan sampel. Hasil scan ini tersinkronisasi dengan tabung sinar katoda dan gambar sampel akan tampak pada area yang di-*scan*. Tingkat kontras yang tampak pada tabung sinar katoda timbul karena hasil refleksi yang berbeda-beda dari sampel (Anggraeni, 2008).

### 3.4.7 Uji pH

pH dinyatakan oleh tingkat keasaman atau basa yang berkaitan dengan aktivitas ion Hidrogen. Jika konsentrasi  $[H^+]$  lebih besar daripada  $[OH^-]$ , maka material tersebut bersifat asam, yaitu nilai pH kurang dari 7. Jika konsentrasi  $[OH^-]$  lebih besar daripada  $[H^+]$ , maka material tersebut bersifat basa, yaitu dengan nilai pH lebih dari 7. Pengukuran pH secara kasar dapat menggunakan kertas indikator pH dengan mengamati perubahan warna pada level pH yang bervariasi. Indikator ini mempunyai keterbatasan pada tingkat akurasi pengukuran dan dapat terjadi kesalahan pembacaan warna yang disebabkan larutan sampel yang berwarna ataupun keruh. Pengukuran pH yang lebih akurat biasa dilakukan dengan menggunakan pH meter. Sistem pengukuran pH mempunyai tiga bagian yaitu elektroda pengukuran pH, elektroda referensi, dan alat pengukur impedansi tinggi (Bayu dan Ratna, 2014).