

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian terdiri dari dua bagian yaitu bahan untuk pembuatan nugget ikan tuna dan bahan untuk analisis kimia. Bahan utama yang digunakan dalam pembuatan nugget yaitu daging ikan tuna sirip kuning (*Tunnus albacares*) yang diambil dari Pasar Gadang, Malang dengan berat 1,5-2 kg dan kubis ungu (*Brassica oleracea*) yang diambil dari petani di Batu, Malang.

Bahan yang digunakan dalam pembuatan nugget ikan tuna adalah daging ikan tuna, bumbu-bumbu (bawang merah, bawang putih, garam, jahe, merica), tepung kubis ungu, tepung terigu, tepung tapioka, tepung panir, telur, STPP, susu skim, minyak goreng, dan air. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia antara lain yaitu tablet kjeldahl, aquades, kapas, PE (*petroleum eter*), asam asetat glasial, kloroform, KI jenuh, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, *methyl orange*, amilum, H_2SO_4 pekat, NaOH, HCL 0,02 N, kertas saring halus, kertas label, tali, tissue, media PCA, Nafis.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat yang digunakan untuk proses pengeringan dan penepungan kubis ungu, proses pembuatan nugget ikan tuna, serta analisis kimia.

Alat yang digunakan dalam proses pengeringan dan penepungan kubis ungu adalah nampan, baskom, pisau, *oven*, blender, timbangan digital, saringan 60 *mesh*, *oven*, talenan, loyang dan sendok. Alat yang digunakan dalam proses pembuatan nugget ikan tuna antara lain nampan, baskom, sendok, alat penggorengan (wajan, serok dan sutil), kompor, pisau, talenan, *chooper*, panci, loyang, termometer dan blender. Alat yang digunakan untuk analisis kimia terdiri

dari botol timbang beserta tutup, *oven*, desikator, timbangan analitik, kurs porselen, *muffle*, *soxhlet*, labu *soxhlet*, tabung destruksi, destruksi, destilator merk Buchi KjelMaster K-375, labu kjeldahl, rak labu kjeldahl, *beaker glass* 250 ml, lemari asam, mikroburet dan statif, gelas ukur 100 ml, *erlenmeyer* 100 ml, mortar dan alu, bola hisap, pipet volume, pipet tetes, tabung reaksi, *crushable tank*, *washing bottle*, spatula, timbangan digital, kompor, dan thermometer, autoklaf, inkubator, cawan petri, mikropipet, kompor listrik, pH meter, dan a_w meter, *incase*.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini 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. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan tepung kubis ungu (*Brassica oleracea*) terhadap kualitas nugget ikan tuna (*Thunnus albacares*).

3.2.2 Variabel Penelitian

Variabel adalah faktor yang mengandung lebih dari satu nilai dalam metode statistik. Variabel dibagi menjadi dua macam yaitu variabel bebas (*independent variabel*) dan variabel terikat (*dependent variabel*). Variabel bebas adalah faktor yang menyebabkan suatu pengaruh dan dipilih untuk manipulasi oleh peneliti agar menimbulkan efek terhadap variabel lain sehingga dapat diamati dan diukur. Sedangkan variabel terikat adalah faktor yang diakibatkan oleh pengaruh tadi (Koentjoroningrat, 1983).

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas adalah konsentrasi tepung kubis ungu (0%(b/b), 0,7%(b/b), 1,4% (b/b), 2,1%(b/b), dan 2,8%(b/b)) sedangkan yang menjadi variabel terikat adalah uji proksimat, uji organoleptik, TPC (*Total Plate Count*), pH, aW, uji TBA dan uji bilangan peroksida.

3.2.3 Rancangan Percobaan

Dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) sederhana dengan menggunakan lima perlakuan dan tiga kali ulangan. Model rancangan percobaan disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. 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
D	D01	D02	D03	D31	D32	D33
E	E01	E02	E03	E31	E32	E33

Keterangan:

- A = Tepung kubis ungu dengan konsentrasi 0% (b/b)
- B = Tepung kubis ungu dengan konsentrasi 0,7% (b/b)
- C = Tepung kubis ungu dengan konsentrasi 1,4% (b/b)
- D = Tepung kubis ungu dengan konsentrasi 2,1% (b/b)
- E = Tepung kubis ungu dengan konsentrasi 2,8% (b/b)
- 0 = Penyimpanan 0 hari
- 3 = Penyimpanan 3 hari

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 : Hasil pengamatan (parameter)
- a : Pengaruh konsentrasi cairan selada terfermentasi

- b : Pengaruh lama waktu penyimpanan
x : Ulangan (1, 2, 3)

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan analisis keragaman *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan uji F pada taraf 5% dan 1%. Jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka akan dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan terbaik Untuk penentuan perlakuan terbaik menggunakan metode De Garmo, prinsipnya yaitu dengan menentukan nilai indeks efektivitas dimana dengan menentukan nilai terbaik dan terjelek dari suatu nilai hasil parameter yang digunakan. Nilai perlakuan yang telah didapat dikurangi dengan nilai terjelek yang kemudian nilai terjelek yang dikemudian nilai ini akan dibagi oleh hasil pengurangan dari nilai terbaik dikurangi dengan nilai terjelek.

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dibagi menjadi 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

a) Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan bertujuan untuk menentukan *range* konsentrasi tepung kubis ungu yang akan ditambahkan dalam nugget ikan tuna pada penelitian utama. Konsentrasi tepung kubis ungu berpengaruh terhadap kualitas nugget ikan tuna, hal ini dikarenakan adanya kandungan antioksidan yaitu berupa senyawa antosianin sehingga dapat menghambat proses oksidasi dan kandungan glikosinolat yang merupakan senyawa antibakteri pada kubis. Konsentrasi tepung kubis ungu (*Brassica oleracea*) yang digunakan pada penelitian pendahuluan terdiri dari 5 konsentrasi diantaranya konsentrasi 0%(b/b), 1%(b/b), 2%(b/b), 3%(b/b) dan 4%(b/b). Hasil penelitian pendahuluan akan dijadikan acuan *range* konsentrasi kubis ungu dalam penelitian utama.

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa pada konsentrasi penambahan tepung kubis ungu (*Brassica oleracea*) 2% menghasilkan nugget ikan tuna (*Thunnus albacares*) dengan kualitas terbaik. Sehingga konsentrasi 2% dijadikan acuan range pada penelitian utama. Penelitian utama dilakukan dengan kenaikan dan penurunan range konsentrasi tepung kubis ungu sebesar 0,7%.

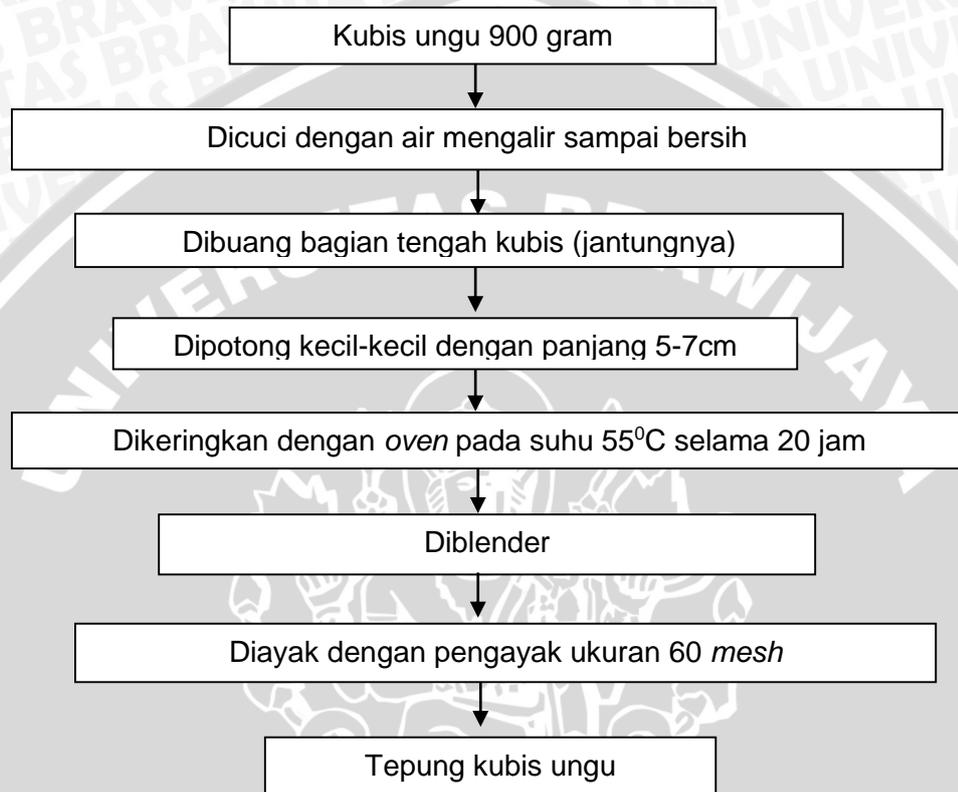
b) Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan dengan menggunakan selisih *range* yaitu 0,7%(b/b), hal ini dilakukan agar mengetahui konsentrasi mana yang lebih tepat dalam mendapatkan nugget ikan tuna yang terbaik. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Kelompok (RAK) sederhana dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Masing-masing perlakuan terdiri dari penambahan konsentrasi tepung kubis ungu yang berbeda yaitu konsentrasi tepung kubis ungu 0%(b/b), 0,7%(b/b), 1,4%(b/b), 2,1%(b/b) dan 2,8%(b/b).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Tepung Kubis Ungu

Pembuatan tepung kubis ungu dimodifikasi dari Rohanah *et al.* (2005) adalah sebagai berikut :



Gambar 7. Pembuatan Tepung Kubis Ungu

3.4.2 Pembuatan Nugget Ikan Tuna

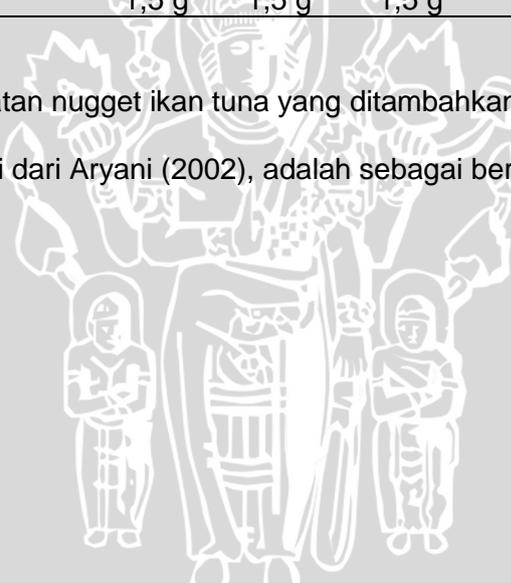
Pembuatan nugget ikan tuna hampir sama dengan pembuatan nugget pada umumnya namun pada penelitian ini pembuatan nugget ikan ditambahkan tepung kubis ungu dengan berbagai konsentrasi yaitu 0%(b/b), 0,7%(b/b), 1,4%(b/b), 2,1%(b/b) dan 2,8%(b/b). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh atau tidaknya terhadap tingkat ketengikan dan kualitas nugget ikan tuna serta mendapatkan konsentrasi yang dapat menghasilkan nugget ikan tuna terbaik. Nugget ikan tuna disimpan dalam suhu ruang ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) selama 3 hari dan diamati

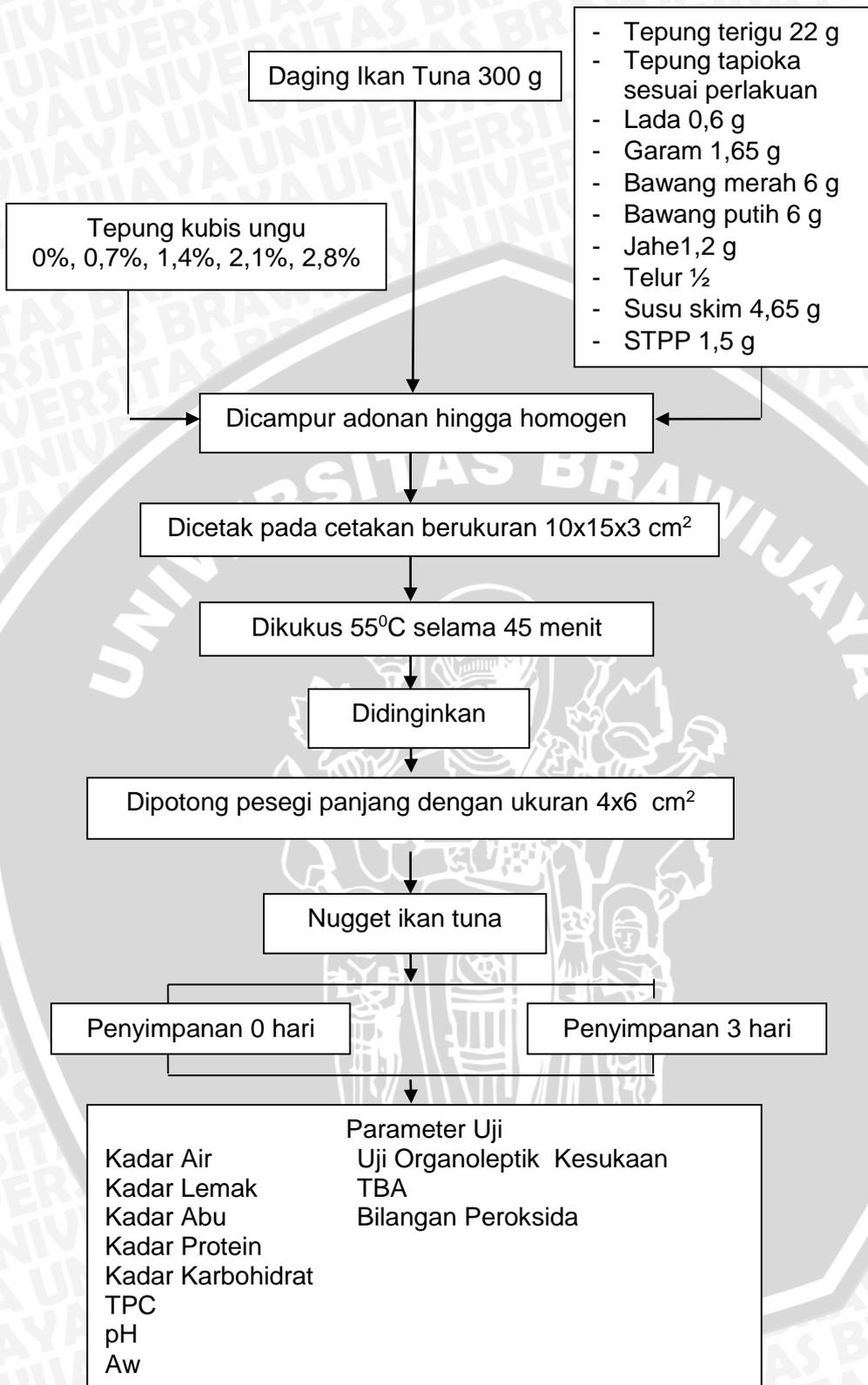
kemudian dilakukan uji pada hari ke-0 dan hari ke-3. Formulasi dalam pembuatan nugget ikan dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Formulasi Nugget Ikan Tuna serta Penambahan Tepung Kubis Ungu

Bahan	Perlakuan				
	A	B	C	D	E
Tepung Kubis Ungu	0%	0,7%(3 g)	1,4%(6 g)	2,1%(9 g)	2,8%(12 g)
Ikan Tuna	300 g				
Tepung Terigu	22 g				
Tepung Tapioka	9 g	11 g	14 g	17 g	20 g
Lada	0,6 g				
Garam	1,65 g				
Bawang Merah	6 g	6 g	6 g	6 g	6 g
Bawang Putih	6 g	6 g	6 g	6 g	6 g
Jahe	1,2 g				
Telur	½ butir				
Susu Skim	4,65 g				
STPP	1,5 g				

Proses pembuatan nugget ikan tuna yang ditambahkan dengan tepung kubis ungu dimodifikasi dari Aryani (2002), adalah sebagai berikut:





Gambar 8. Diagram Alir Proses Pembuatan Nugget Ikan Tuna

3.5 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan pada penelitian utama nugget ikan tuna diantaranya uji proksimat (kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak dan kadar karbohidrat), uji organoleptik, TPC (*Total Plate Count*), a_w , pH, uji TBA, bilangan peroksida.

3.5.1 Analisa Proksimat

3.5.1.1 Analisa Kadar Protein (Apriyantono *et al.*, 1989)

Penentuan kadar protein dilakukan berdasarkan metode Kjeldahl. Prinsip analisis protein dengan metode Kjeldahl meliputi proses destruksi, destilasi dan titrasi.

1) Destruksi

Pada tahap destruksi, sampel ditimbang sebanyak 0,5 - 1 gram kemudian satu buah tablet kjeldahl dimasukkan ke dalam tabung tersebut. Selanjutnya ditambahkan larutan H_2SO_4 pekat (98%) sebanyak 2 ml. Tabung berisi larutan tersebut diletakkan pada alat pemanas dengan suhu $430\text{ }^\circ\text{C}$. Destruksi dilakukan hingga larutan menjadi bening. Hasil destruksi didinginkan dan diencerkan dengan 15 ml akuades.

2) Destilasi

Tahap destilasi dimulai dengan persiapan alat kjeldahl sistem. Persiapan dilakukan dengan menyalakan kran air dan melakukan pengecekan terhadap alkali dan air dalam tangki. Tabung dan erlenmeyer yang berisi akuades diletakkan pada tempatnya dan dihubungkan dengan selang. Selanjutnya pintu pengaman tabung ditutup rapat. Kemudian tombol alkali ditekan sampai lampu berhenti menyala kemudian tombol *steam* ditekan. Sampel yang telah didestruksi ditambahkan 8-10 ml NaOH pekat. Destilasi dilakukan sampai volume larutan dalam erlenmeyer mencapai 200 ml yang berisi larutan H_3BO_3 25 ml dan indikator *bromchresol green* dan *methyl red*.

3) Titrasi

Titration is performed on the sample that has been distilled by dripping HCL 0,1 N from buret and statif. Titration is performed until the color of the sample solution changes to grey. Volume HCL used is recorded. Calculation of concentration is as follows: Protein analysis procedure can be seen in appendix 1.

$$\text{Kadar N (\%)} = \frac{(\text{ml HCL} - \text{ml blanko}) \times \text{N HCL} \times 14,007 \times \text{fp} \times 100\%}{\text{mg sampel}}$$

$$\text{Kadar protein (\%)} = \% \text{ nitrogen} \times \text{faktor konversi (6,25)}$$

3.5.1.2 Analisa Kadar Lemak (Sudarmadji *et al.*, 2007)

Analysis of fat content is intended to determine fat or oil content quantitatively which is present in food materials. Determination of fat content used is with the method *Soxhlet*. Principle of fat analysis with the method *Soxhlet* is fat is extracted with the solvent *petroleum ether* after the solvent is evaporated, the fat can be weighed and calculated its percentage. Procedure of fat analysis can be seen in Appendix 2.

3.5.1.3 Analisa Kadar Abu (Sudarmadji *et al.*, 2007)

Determination of total ash content which is often used is with the method of dry ashing. Determination of ash content in this way is by oxidizing all organic substances in the material at high temperature, namely around 500 - 600 °C and then weighing the residue left after the combustion process. Procedure of ash analysis can be seen in Appendix 3.

3.5.1.4 Analisa Kadar Air (Sudarmadji *et al.*, 2007)

Penentuan kadar air dengan menggunakan metode pengeringan dalam oven. Prinsipnya menguapkan air dalam bahan dengan jalan pemanasan kemudian menimbang bahan sampai didapat berat konstan yang berarti semua air bebas sudah diuapkan. Prosedur analisa kadar air dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.5.2 Uji Organoleptik (Wellyalina *et al.*, 2013)

Uji organoleptik dilakukan pada produk yang dihasilkan. Sampel disajikan dalam bentuk yang seragam. Uji organoleptik ini meliputi uji kesukaan terhadap bentuk, tekstur, aroma, warna, rasa, dan kesukaan dilakukan oleh 20 orang panelis. Uji ini dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis terhadap produk yang dihasilkan. Uji yang digunakan adalah uji skala hedonik yang digunakan mempunyai rentang dari sangat tidak suka (skala numerik = 1) sampai dengan amat sangat suka (skala numerik = 7). Lembar uji organoleptik dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.5.3 Analisa TBA (Sudarmadji *et al.*, 2007)

Penentuan angka TBA dilakukan dengan cara sampel ditimbang sebanyak 3 g, dimasukkan ke dalam *waring blander* dan ditambahkan 50 ml akuades, selanjutnya dipindah ke dalam labu destilasi 1000 ml sambil dicuci dengan 48,5 ml akuades dan ditambahkan 1,5 ml 4 N HCl, kemudian ditambahkan batu didih dan bahan pencegah buih (antifoam) sedikit dan dipasang labu destilat pada alat destilasi. Destilasi dijalankan dengan pemanasan setinggi mungkin sehingga diperoleh destilat sebanyak 50 ml selama pemanasan 10 menit. Destilat yang diperoleh diaduk, disaring dan sebanyak 50 ml dipindahkan ke dalam *erlenmeyer* yang tertutup dan ditambahkan reagen TBA sebanyak 5 ml (larutan 0,02 M *thiobarbituric-acid* dalam 90% asam asetat glasial). Larutan dicampur dalam

erlenmeyer tertutup dan dimasukkan ke dalam air mendidih selama 35 menit. Tabung reaksi didinginkan dengan air mengalir kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 528 nm dengan larutan blanko sebagai titik nol. Angka TBA dihitung dan dinyatakan dalam mg malonaldehid/kg sampel.

Perhitungan angka TBA sesuai rumus :

$$\text{Angka TBA} = \frac{3 \times A_{528} \times 7,8}{\text{Berat sampel (g)}}$$

3.5.4 Uji Bilangan Peroksida (Aminah, 2010)

Uji bilangan peroksida ditentukan dengan menggunakan prosedur sebagai berikut: sampel sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* tertutup dan ditambahkan 30 ml pelarut campuran asam asetat glasial: kloroform (3:2 v/v). Setelah minyak larut sempurna kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan KI jenuh dan dibiarkan 1 menit sambil dikocok. Kemudian ditambahkan 30 ml aquades. Iodium yang dibebaskan oleh peroksida dititrisi dengan larutan standar natrium tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.1015 N dengan indikator amilum sampai warna biru hilang. Bilangan peroksida dinyatakan dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Bilangan peroksida} = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{\text{berat sampel (g)}}$$

Keterangan :

S = titrasi sampel;
B = titrasi blanko,
N = Normalitas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

3.5.5 Analisis pH

Prosedur analisis pH menurut Swastawati *et al.* (2013), adalah sampel dihaluskan, ditimbang sebanyak 1 gram dalam gelas piala. Kemudian

ditambahkan 10 mL aquadest dan dilakukan pengadukan. Selanjutnya, sampel dalam wadah diukur pH nya dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dengan larutan *buffer* pH 4 dan *buffer* pH 7. Nilai pH diperoleh berdasarkan pembacaan pada pH meter sampai angka digital menunjukkan angka yang konstan.

3.5.6 Analisis Aktivitas Air (a_w)

Pengukuran aktivitas air menggunakan alat a_w meter. a_w meter sebelum digunakan terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan larutan barium klorida ($BaCl_2$). Larutan dibiarkan selama 3 menit setelah itu jarum a_w meter ditera sampai menunjukkan angka 0,9 karena $BaCl_2$ mempunyai kelembaban garam jenuh sebesar 90%. Pengukuran aktivitas air dilakukan dengan cara memasukkan sampel ke dalam a_w meter sampai menutupi permukaan kemudian ditutup dan dibiarkan selama 3 menit, setelah itu pembacaan dapat segera dilakukan (Syarif dan Halid, 1993).

3.5.7 Analisis TPC (*Total Plat Count*)

Total Plate Count merupakan metoda pendugaan jumlah mikroorganisme secara keseluruhan dalam suatu bahan. Mutu mikrobiologi penting diperhatikan karena jumlah mikroba yang terdapat pada sampel dapat mempengaruhi umur simpan dan keamanan produk pangan (Aida *et al.*, 2014).

Prosedur analisis *Total Plate Count* menurut Fardiaz (1984), adalah pengenceran dilakukan dengan cara mengambil 1 ml larutan contoh menggunakan pipet steril dimasukkan ke dalam 9 ml larutan garam fisiologis dan diaduk sampai homogen sehingga terbentuk seri pengenceran 10^{-1} . Pengenceran dilakukan disesuaikan dengan keperluan, biasanya sampai 10^{-5} . Pemipetan dilakukan pada tiap tabung pengenceran sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam

cawan petri steril secara duplo menggunakan pipet steril. Media agar dimasukkan ke dalam cawan petri dan digoyangkan supaya merata (metode cawan tuang), didiamkan sampai media agar dingin dan padat. Cawan petri yang berisi agar kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dengan posisi terbalik pada suhu 35°C dan diinkubasi selama 24 jam. Dihitung jumlah koloni bakteri yang ada dalam cawan petri. Jumlah koloni yang dapat dihitung adalah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri antara 30-300.

