

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Juni 2016. Proses pembuatan abon ikan layang (*Decapterus sp.*) dan analisis dilakukan di beberapa laboratorium yaitu Laboratorium Nutrisi dan Biokimia Ikani, Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah ikan layang (*Decapterus sp.*). Bahan tambahan yang digunakan dalam pembuatan abon ikan adalah minyak goreng, santan, bumbu-bumbu (bawang merah, bawang putih, ketumbar, lengkuas, kemiri, jahe, daun salam, gula putih, gula merah, garam, sereh, dan asam jawa). Bahan yang digunakan untuk uji analisis proksimat adalah sampel abon ikan layang (*Decapterus sp.*), silika gel, petroleum eter, alkohol, aquades, tablet kjeldhal, H_2SO_4 36N, NaOH 40%, H_2SO_4 0,3N, kertas saring dan kapas. Bahan kimia yang digunakan untuk uji tiobarbiturat (TBA) adalah HCL 4M, pereaksi TBA, dan aquades. Bahan yang digunakan untuk uji kapasitas antioksidan adalah DPPH 0,1 mM, reagen Folin-Ciocalteu, metanol 100%, asam galat, dan vitamin C.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah kompor, wajan penggorengan, panci, spatula, pisau, timbangan digital, baskom, talenan, parutan, blender, dan alat pengepres. Peralatan yang digunakan untuk analisis proksimat adalah timbangan analitik, timbangan digital, alu dan mortar, desikator, *crushable tang*, loyang, *soxlet*, labu destilasi, tabung destruksi, erlenmeyer 250 ml, beaker glass 500 ml, gelas ukur 100 ml, pipet volume, pipet tetes, bola hisap, buret dan statif, spatula, botol timbang, cawan porselen, termometer, hot plate,

dan muffle. Peralatan yang digunakan untuk uji organoleptik adalah kotak plastik tempat tester abon bagi panelis. Peralatan yang digunakan untuk kapasitas antioksidan adalah tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis, erlenmeyer, kertas saring (whatman No.1), botol vial, dan rotari evaporator, timbangan analitik, labu ukur 5ml dan 100 ml, gelas ukur 10 ml dan 100 ml, corong, botol vial, beaker glass 100 ml, spatula, mikro volume 5 ml, bola hisap

3.3 Metode penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah metode yang digunakan dalam percobaan terhadap suatu hal, kemudian mengamatinya dan menuliskan hasil percobaannya. Menurut Setyanto (2013), metode eksperimen adalah suatu penelitian yang terdiri dari hubungan sebab akibat dari satu atau lebih variabel independen dengan satu atau lebih variabel kontrol. Peneliti melakukan perubahan secara sistematis terhadap satu atau lebih variabel bebas sesuai dengan tujuan penelitian. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana pengaruh penambahan konsentrasi bumbu yang berbeda terhadap sifat fisika-kimia dan aktivitas antioksidan dari abon ikan layang.

3.3.1 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 5 kali perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan percobaan yaitu penambahan konsentrasi bumbu yang berbeda yaitu 0%, 8%, 16%, 25% dan 33%.

Metode pengujian data yang digunakan adalah analisis keragaman (ANOVA) dimana jika terdapat pengaruh yang nyata atau sangat nyata maka akan dilanjutkan uji lanjut BNT dengan aplikasi software SPSS 16. Model rancangan percobaan penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 3.

Sedangkan model sistematis untuk rancangan acak lengkap yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = nilai tengah umum

T_i = pengaruh perlakuan ke-i terhadap respon (0%, 8%, 16%, 25%, 33%)

ϵ_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Tabel 3. Model Rancangan percobaan penelitian

Konsentrasi Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
T1	T1.1	T1.2	T1.3
T2	T2.1	T2.2	T2.3
T3	T3.1	T3.2	T3.3
T4	T4.1	T4.2	T4.3
T5	T5.1	T5.2	T5.3

Keterangan perlakuan:

T1 = konsentrasi bumbu 0%

T2 = konsentrasi bumbu 8%

T3 = konsentrasi bumbu 16%

T4 = konsentrasi bumbu 25%

T5 = konsentrasi bumbu 33%

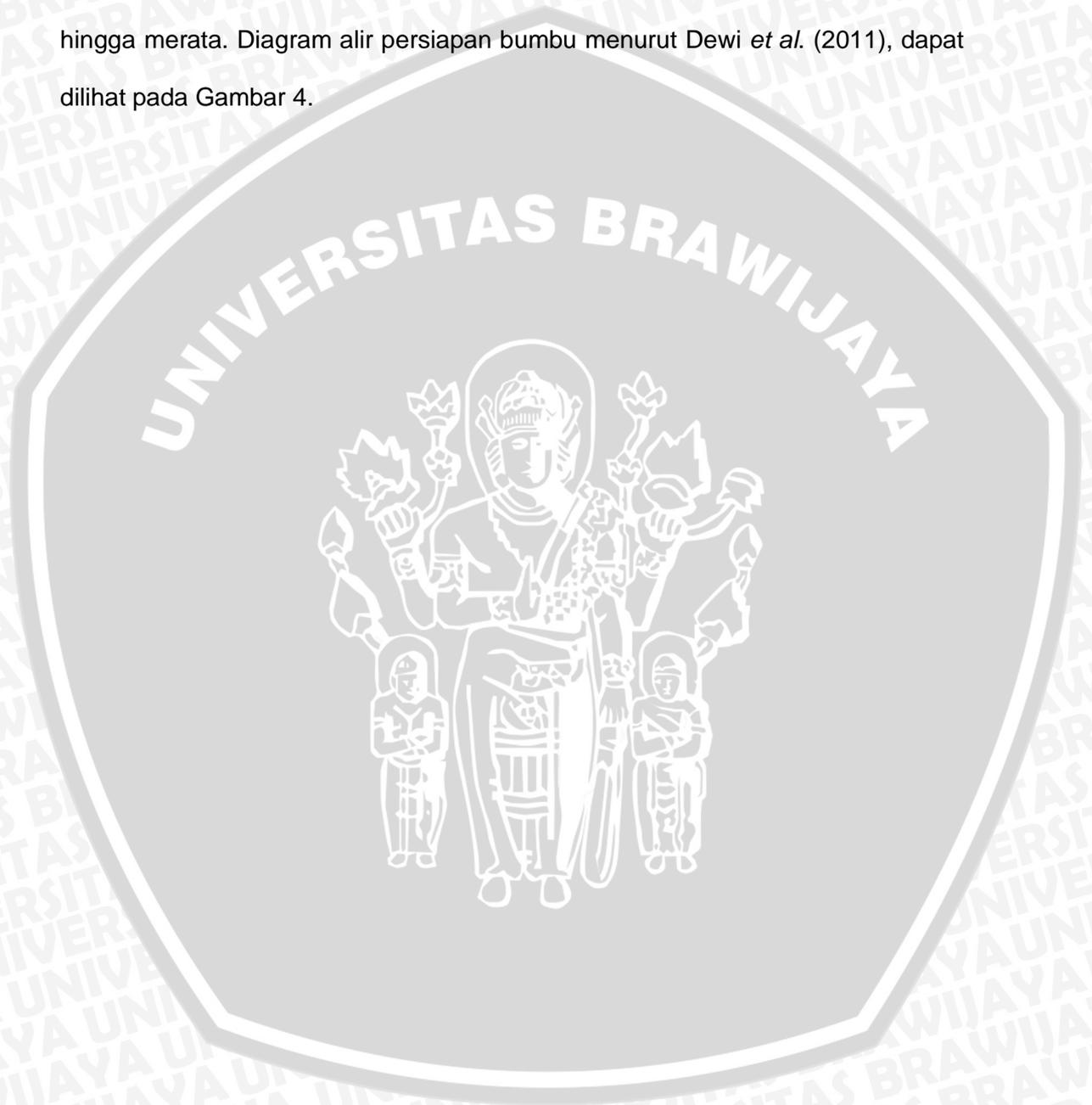
3.3.2 Prosedur Penelitian

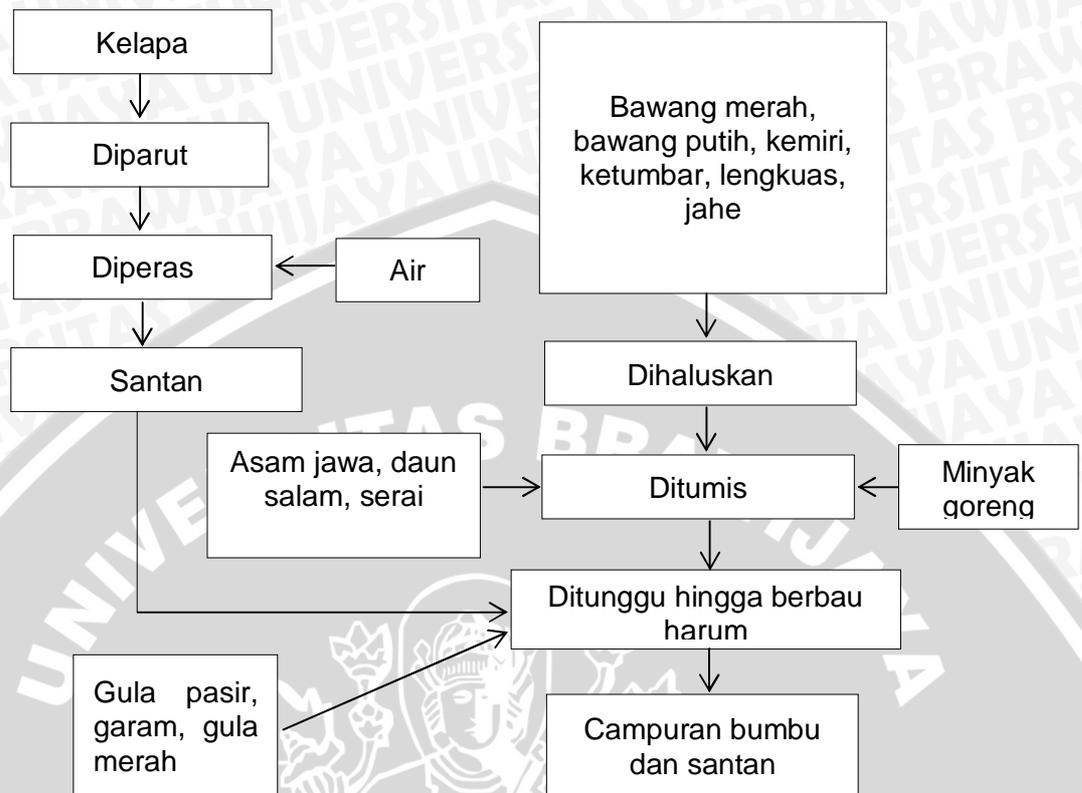
Penelitian tahap pertama dibagi menjadi dua tahap yaitu persiapan bumbu dan pembuatan abon ikan layang (*Decapterus sp.*).

1. Persiapan bumbu

Bumbu-bumbu yang terdiri dari bawang merah, bawang putih, kemiri, dan ketumbar dihaluskan dengan menggunakan blender. Jahe dan lengkuas digebrek. Kelapa dibelah dan diparut menggunakan parutan. Kemudian

ditambahkan dengan air dan diperas hingga didapatkan santan. Bumbu yang sudah halus ditumis dengan menggunakan minyak goreng dan ditambah asam jawa, daun salam, dan sereh hingga berbau harum. Setelah itu tambahkan santan kental dan kemudian dimasukkan gula pasir dan garam serta diaduk hingga merata. Diagram alir persiapan bumbu menurut Dewi *et al.* (2011), dapat dilihat pada Gambar 4.





Gambar 4. Diagram alir persiapan bumbu (Modifikasi Dewi et al., 2011)

2. Pembuatan abon ikan

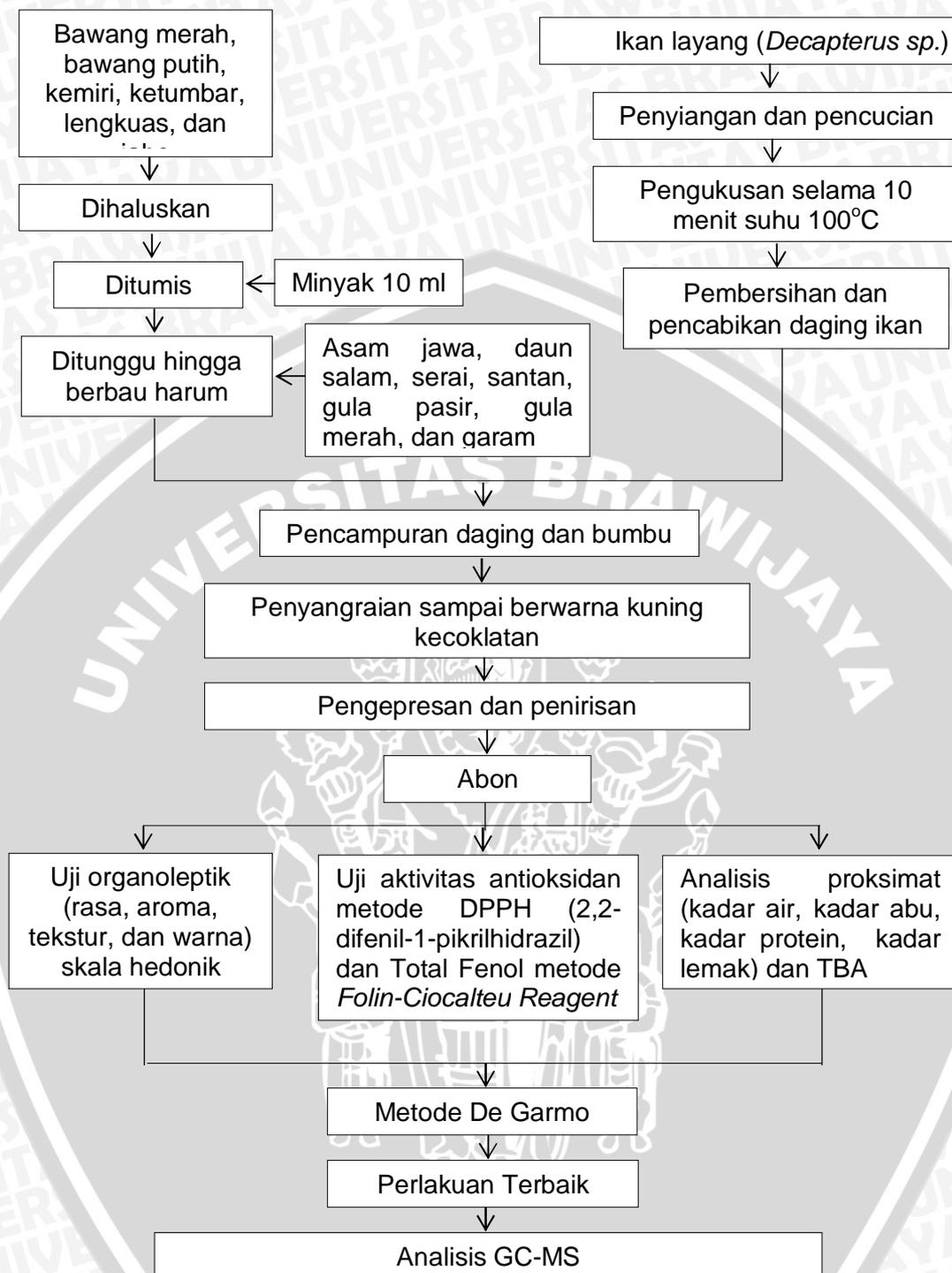
Ikan layang disiangi dan dicuci menggunakan air mengalir. Selanjutnya dilakukan pengukusan selama ± 10 menit. Kemudian didinginkan dan dilakukan pemisahan kulit dan tulang secara manual serta daging dicabik agar serat menjadi halus. Bumbu yang sudah dihaluskan ditumis dengan minyak dan diaduk-aduk. Lalu ditambahkan lengkuas, daun salam, serai dan tambahkan juga santan, gula pasir, gula merah dan garam sampai mengeluarkan aroma harum. Cabikan daging ikan dimasukkan ke dalam bumbu sambil diaduk agar bumbu merata dan cabikan daging ikan hampir kering. Proses pemasakannya dilakukan dengan teknik penyangrai dilakukan sampai abon berwarna kuning kecoklatan. Kemudian dilakukan pengepresan untuk mengeluarkan minyak dan ditiriskan. Formulasi pembuatan abon ikan layang (*Decapterus sp.*) dengan konsentrasi

bumbu yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4. Sedangkan Diagram alir pembuatan abon ikan dapat dilihat pada Gambar 5.

Tabel 4. Formulasi bumbu pada abon ikan layang

Formulasi	Perlakuan				
	0%	8%	16%	25%	33%
Ikan layang	300 g	300 g	300 g	300 g	300 g
Bawang merah	-	0,625 g	1,25 g	1,875 g	2,5 g
Bawang putih	-	2,075 g	4,15 g	6,225 g	8,3 g
Kemiri	-	1,025 g	2,05 g	3,075 g	4,1 g
Ketumbar	-	0,575 g	1,15 g	1,725 g	2,3 g
Lengkuas	-	0,8325 g	1,665 g	2,4975 g	3,33 g
Jahe	-	0,625 g	1,25 g	1,875 g	2,5 g
Garam	-	2,55 g	5,10 g	7,65 g	10,2 g
Gula pasir	-	9,76 g	19,53 g	29,287 g	39,05 g
Gula merah	-	5 g	10 g	15 g	20 g
Santan	-	150 ml	150 ml	150 ml	150 ml
Asam jawa	-	0,2 g	0,4 g	0,6 g	0,8 g
Daun salam	-	0,0625 g	0,125 g	0,1875 g	0,25 g
Serai	-	0,42 g	0,835 g	1,25 g	1,67 g
Cabe	-	1,25 g	2,5 g	3,75 g	5 g





Gambar 5. Diagram alir pembuatan abon ikan Layang (Modifikasi Ulianty, 2002)

3.3.3 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah rendemen, kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein, uji TBA (*Tiobarbiturat acid*), uji organoleptik (rasa, aroma, tekstur, dan warna), analisis GC-MS, aktivitas

antioksidan metode DPPH dan total fenol metode Folin Ciocalteau. Analisis GC-MS dilakukan terhadap perlakuan terbaik dari abon ikan cakalang berdasarkan metode indeks Efektivitas (Metode De Garmo) dengan mempertimbangkan sifat fisika-kimia dan uji organoleptik.

3.3.3.1 Rendemen (Sudarmadji *et al.*, 1984)

Menurut Sudarmadji *et al.*, (1984), Rendemen dapat dihitung dengan membandingkan berat akhir abon ikan yang dihasilkan dengan berat awal yang digunakan. Tujuan dari perhitungan rendemen adalah untuk mengetahui persentase berat akhir abon ikan yang dihasilkan dengan penambahan konsentrasi bumbu yang berbeda. Perhitungan rendemen menggunakan rumus sebagai berikut

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat akhir yang dihasilkan}}{\text{Berat awal yang digunakan}}$$

3.3.3.2 Kadar Air (Sudarmadji *et al.*, 1984)

Menurut Sudarmadji *et al.*, (1984), Metode yang digunakan dalam penentuan kadar air adalah cara pemanasan. Botol timbang dikeringkan dalam oven ada suhu 105°C selama ±1 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel dihaluskan dan ditimbang sebanyak 2 g dan dimasukkan dalam botol timbang. Kemudian sampel dikeringkan didalam oven dengan suhu 105°C selama 3-5 jam tergantung bahannya. Selanjutnya dimasukkan di dalam desikator dan ditimbang. Pemanasan dilakukan kembali sampai sampel mencapai berat konstan. Perhitungan kadar air menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{(A+B) - C}{B}$$

Keterangan:

A = berat botol timbang

B = berat sampel

C = berat botol timbang dan sampel sesudah dioven

3.3.3.3 Kadar Abu (Sudarmadji *et al.*, 1984)

Menurut Sudarmadji *et al.*, (1984), Pengukuran kadar abu total dilakukan dengan metode *drying ash*. Sampel sebanyak 2-10 gram ditimbang pada kurs porselin yang kering dan sudah diketahui bobotnya. Lalu diarangkan di atas nyala pembakaran dan diabukan dalam *muffle* pada suhu 550°C hingga pengabuan sempurna. Setelah itu didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Perhitungan kadar abu menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar Abu} = x \frac{\text{berat akhir} - \text{berat kurs porselen}}{\text{berat sampel}}$$

3.3.3.4 Kadar Lemak (Sudarmadji *et al.*, 1984)

Menurut Sudarmadji *et al.*, (1984), Pengukuran kadar lemak dengan menggunakan Soxhlet. Bahan dihaluskan dan ditimbang sebanyak 5 gram. Kemudian dimasukkan ke dalam selongsong kertas yang dialasi dengan kapas. Selongsong disumbat kertas berisi contoh sampel dengan kapas. Kemudian dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang telah diberi labu lemak yang berisi batu didih yang telah dikeringkan dan telah diketahui bobotnya. Selanjutnya lemak diekstrak dengan protelem eter selama 6 jam. Lalu sampel yang telah diekstrak kemudian dikeringkan dalam oven pengering pada suhu 105°C. Langkah terakhir ekstrak dinginkan dalam eksikator lalu timbang. Perhitungan kadar lemak menggunakan rumus sebagai berikut:

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

3.3.3.5 Kadar Protein (Sudarmadji *et al.*, 1984)

Menurut Sudarmadji *et al.*, (1984), Pengukuran kadar protein total dilakukan dengan cara makro kjeldhal yang dimodifikasi. Dihaluskan bahan dan ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan dalam labu destilasi. Kemudian ditambahkan 7,5 gram $K_2S_2O_4$ dan 0,35 gram HgO dan akhirnya ditambahkan 15 mililiter H_2SO_4 pekat. Dipanaskan semua bahan pada labu kjeldahl dalam ruang asam sampai berhenti berasap. Teruskan pemanasan sampai api besar dan mendidih dan cairan menjadi jernih. Teruskan pemanasan tambahan lebih kurang 1 jam. Ditunggu bahan sampai dingin.

Kemudian ditambahkan 100 ml aquades dalam labu destilasi yang didinginkan dalam air es dan beberapa lempeng Zn, juga ditambahkan 15 mililiter larutan K_2S 4% (dalam air). Selanjutnya ditambahkan secara perlahan-lahan larutan NaOH 50% sebanyak 50 mliter yang sudah didinginkan dalam lemari es. Dipanaskan labu kjeldahl perlahan-lahan sampai dua lapisan cairan tercampur, kemudian dipanaskan dengan cepat samapi mendidih.

Distilat kemudian tampung dalam Erlemeyer yang telah diisi 50 mliter larutan standar HCl (0,1N) dan 5 tetes indikator metal merah. Dilakukan distilasi sampai distilat mencapai 75 mililiter. Dititrasi destilat dengan NaOH 0,1 N sampai warna kuning. Dilakukan pembuatan larutan blanko dengan cara yang sama tetapi sampelnya diganti dengan aquades. Perhitungan nilai dari %N dan % protein dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% N = \frac{(\text{ml NaOH} - \text{ml NaOH blanko}) \times N \text{ NaOH} \times 14,007 \times FP}{\text{berat sampel} \times 10}$$

$$\% \text{ Protein} = \%N \times \text{Faktor konversi (6,25)}$$

3.3.3.6 Uji Organoleptik (Moedjiharto, 2000)

Menurut Moedjiharto (2000), pengujian organoleptik dilakukan dengan cara pengujian sensori atau indrawi yaitu merupakan cara pengujian yang dilakukan secara objektif dengan menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk pengukuran daya penerimaan terhadap makanan. Sasaran alat indera ini terdiri dari 4 atribut mutu yaitu warna, aroma, rasa dan tekstur.

Uji organoleptik dilakukan dengan menggunakan uji hedonik. Uji hedonik dilakukan dengan mengamati bau, rasa, aroma, dan tekstur abon ikan. Masing-masing produk diberi kode T1, T2, T3, T4 dan T5 dengan persentase konsentrasi bumbu 0%, 8%, 16%, 25% dan 33%. Kepada panelis disajikan abon ikan untuk dicicipi, air putih dan form penilaian. Panelis diberikan penjelasan singkat mengenai produk yang akan dicicipi. Setiap melakukan pencicipan panelis dianjurkan untuk minum, agar panelis dapat menilai secara objektif terhadap suatu produk. Panelis yang dibutuhkan adalah panelis tidak terlatih. Jumlah panelis yang dibutuhkan 15 panelis. Untuk analisis uji hedonik kriteria penilaian abon ikan berdasarkan tingkat kesukaan mulai dari rasa, aroma, warna, dan tekstur. Form organoleptik uji hedonik dapat dilihat pada lampiran 2.

3.3.3.7 Uji Tiobarbiturat Acid (TBA)(Sudarmadji *et al.*, 1984)

Menurut Sudarmadji *et al.*, (1984), Bahan ditimbang sebanyak 10 gram dengan teliti lalu dimasukkan ke dalam penghalus dan ditambahkan 50 mililiter aquades serta dihancurkan 2 menit. Sampel dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu destilasi sambil dicuci dengan 47,5 mililiter aquades. Sebanyak 2,5 mililiter HCl 4 M ditambahkan sampai pH 1,5 lalu dimasukkan batu didih dan pencegah buih dan destilasi hingga dapat 50 mililiter destilat selama 10 menit pemanasan. Destilat diaduk kemudian 5 mililiter dstilat dipipet ke dalam tabung tertutup lalu ditambah 5 ml pereaksi TBA. Tabung reaksi ditutup dan dipanaskan

35 menit dalam air mendidih. Blanko disiapkan dengan mencampurkan 5 mililiter aquades dan 5 mililititer pereaksi. Tabung reaksi didinginkan 10 menit dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 528 nm dengan sampel sel berdiameter 1 cm. Pelarut TBA dibuat dengan cara mencampur 0,2883 gram TBA dalam 100 militer asam asetat glasial 90%. Pelarutan ini dipercepat dengan pemanasan memakai penangas air. Bilangan TBA dinyatakan dalam mg malonaldehid per kg per sampel:

$$\text{Bilangan TBA (mg malonaldehid/kg)} = \frac{3 \times 7,8 \times A}{W}$$

3.3.3.8 Uji Kandungan Antioksidan Metode DPPH (Halid, 2013)

Menurut Halid (2013), Sampel kering ditimbang ± 200 g, kemudian ditambahkan 4000 ml metanol 100% dan dimaserasi di suhu ruang pada 150 RPM selama ± 1 jam. Sampel hasil maserasi disaring dengan kertas saring Whatman No.1, dan disentrifuge 3000 ppm. Filtrat terlebih dahulu ekstrak dilarutkan dalam metanol sebanyak 0,15 ml. Selanjutnya membuat larutan DPPH 0,1 mM dalam metanol 100% sebanyak 0,9 ml. Ekstrak yang dilarutkan dalam metanol sebanyak 0,15 ml tersebut kemudian dicampur dengan DPPH dan diaduk sebentar. Larutan diinkubasi pada suhu ruang dalam keadaan gelap selama 30 menit. Kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm, dan sebagai kontrol digunakan blanko yang tidak berisi sampel. Kapasitas antioksidan dinyatakan dalam % penangkapan radikal bebas dengan perhitungan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100 \%$$

3.3.3.9 Uji Total Fenol Metode *Folin-Ciocalteu Reagent* (Halid, 2013)

Menurut Halid (2013), Sampel kering ditimbang 10 g, selanjutnya diekstraksi dengan metanol 100% dengan perbandingan 1:5 antara sampel dan

metanol 100%. Sampel dimaserasi pada suhu ruang sambil diaduk dengan kecepatan 150 RPM selama 1 jam. Sampel dengan kertas saring Whatman No.1, dan filtrat dipanaskan dengan *rotary evaporator* untuk menghilangkan metanol. Filtrat yang diperoleh tersebut dimasukkan dalam botol dan disimpan pada suhu -20°C, jika tidak digunakan secara langsung. Ekstrak diencerkan agar diperoleh volume 2 ml. Selanjutnya ekstrak direaksikan dengan 0,125 ml *Folin Ciocalteau Reagent* dalam tabung reaksi selama 6 menit, kemudian ditambahkan 1,25 ml natrium karbonat 7%. Sampel dipanaskan dalam penangas air pada suhu 40°C selama 30 menit. Absorbansi sampel dengan spektrofotometer diukur pada panjang gelombang 760 nm. Dibuat kurva standar yang melukiskan absorbansi y (sumbu y) dan kadar asam galat (sumbu x), untuk penentuan kandungan senyawa fenolik yang dinyatakan dengan satuan mg "*gallic acid equivalent*" (GAE)/g sampel.

3.3.3.10 Metode De Garmo (Indeks Efektivitas) (Susrini, 2003)

Menurut Susrini (2003), Setelah dilakukan pengujian abon ikan dilakukan penentuan perlakuan terbaik dengan metode pengambilan keputusan yaitu metode Indeks Efektivitas De Garmo. Pengambilan keputusan dilakukan dengan mempertimbangkan kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, rasa, aroma, warna, dan tekstur dengan menggunakan kuisioner berupa lembar pemilihan urutan pentingnya atribut tersebut. Form kuisioner pemilihan urutan atribut abon ikan dapat dilihat pada Lampiran 3.

Selanjutnya hasil ranking yang diperoleh tersebut ditabulasi, dijumlahkan rata-rata untuk mengetahui urutan masing-masing variabel. Dari urutan tersebut kemudian dihitung bobot variabelnya. Variabel dengan rata-rata tertinggi diberi bobot 1, sedangkan bobot variabel lain diperoleh dari hasil bagi antara rata-rata masing-masing variabel dengan rata-rata variabel urutan ke-1. Bobot normal

dihitung dengan membagi bobot masing-masing variabel dengan jumlah bobot normal masing-masing. Nilai efektifitas (N_e) dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$N_e = \frac{\text{Nilai perlakuan} - \text{nilai terjelek}}{\text{Nilai Terbaik} - \text{nilai terjelek}}$$

Kemudian dihitung nilai hasil (N_h) dari semua variabel dengan mengalikan N_e dengan bobot normal masing-masing variabel. Selanjutnya, N_h dijumlahkan semua dan perlakuan dengan jumlah N_h tertinggi adalah perlakuan yang terpilih.

3.3.3.11 Uji GC-MS (Wibawa *et al.*, 2006)

Menurut Wibawa *et al.*, (2006), Ekstrak abon ikan layang yang akan diukur menggunakan GC-MS yang dilengkapi dengan kolom jenis RTX- 5 MS panjang 30 meter dan dioperasikan pada suhu kolom 100-280° C, detektor FID dan digunakan gas helium sebagai fasa geraknya. Pada dasarnya asam lemak dan gliserida penyusun ekstrak abon ikan diubah terlebih dahulu menjadi bentuk metil esternya menggunakan metanol dan Boron trifluorida (BF_3) sebagai katalis. Bentuk metil ester asam lemak ini kemudian diinjeksikan kedalam GC-MS.