

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk pembuatan sosis diantaranya adalah ikan tongkol (*Euthynnus affinis*), lemak sapi, garam dapur (NaCl), bawang putih, lada, jahe, gula, Monosodium Glutamat (MSG), susu skim, Sodium Tripolyphosphat (STPP), tepung tapioka, casing alami usus ayam sebagai selongsong sosis. Bahan-bahan untuk uji kimia (vaselin, HCL, 0,01N K₂CO₃, H₂BO₃, aquadest, indicator tashiro, NaOH 0,1N, MRS Agar, EMB, alcohol, NaCl, larutan buffer pH4, larutan buffer pH7, silica gel). Kultur starter murni *Lactobacillus plantarum* diperoleh dari PAU Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Bahan yang digunakan untuk proses pengasapan sosis fermentasi adalah tempurung kelapa dari Pasar Puspa Agro Sidoarjo.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk pembuatan sosis diantaranya adalah pisau, penggiling daging (*meat grinder*), plastik untuk memasukkan adonan, baskom, timbangan digital, talenan, sendok, thermometer, tali, gunting, tungku pengasapan dan lemari es.

Alat yang digunakan untuk menganalisa alat-alat yang digunakan untuk uji kimia adalah oven, timbangan analitik, pipet tetes, corong, erlenmeyer, botol timbang, muffle, eksikator, labu kjedahl, thimble, kondesor goldfish, gelas ware, coloni counter, pipet serologis, pipet volume, dan sentrifus. Alat yang digunakan untuk organoleptik adalah kertas quisioner dan ballpoint. Alat yang digunakan untuk uji fisik (tekstur), mikrometer sekrup, penggaris, dan probe.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan observasi langsung. Metode eksperimen adalah prosedur penelitian yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain. Metode ini dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya didalam variabel terikat (Zulnaidi, 2007). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui masa simpan dan kualitas sosis ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan penambahan kultur *Lactobacillus plantarum*.

3.2.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah suatu atribut atau sifat atau nilai dari orang, obyek atau kegiatan yang mempunyai variabel tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan ditarik kesimpulanya (Sugiono, 2012). Pada penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat.

Variabel bebas yaitu variable yang mempengaruhi atau variabel penyebab (Pramita, 2010). Variabel bebas pada penelitian ini adalah sosis asap tanpa penambahan kultur starter *Lactobacillus plantarum* sebagai kontrol (A_1) dan sosis asap dengan penambahan kultur starter *Lactobacillus plantarum* sebagai (A_2). Sedangkan variabel terikat merupakan variabel yang di pengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Sugiono, 2012). Variabel terikat pada penelitian ini adalah proksimat, TPC, tekstur, dan organoleptik.

3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Pada penelitian pendahuluan dilakukan pembuatan sosis ikan

tongkol untuk mengetahui lama pengasapan terbaik dari sosis. Sedangkan penelitian utama dilakukan dengan penambahan kultur bakteri *Lactobacillus plantarum* yang berbeda dengan lama pengasapan terbaik dari tahapan pendahuluan dan pengaruh penyimpanan sosis ikan tongkol fermentasi.

3.4 Perlakuan

Perlakuan merupakan sekumpulan kondisi eksperimen yang akan digunakan terhadap unit eksperimen dalam ruang lingkup desain yang dipilih (Sudjana, 1995).

Rancangan penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana. RAL digunakan bila satuan percobaannya homogen, artinya keragaman antar satuan percobaan tersebut kecil dan mengelompokkannya ke dalam kelompok tidak memberi manfaat. Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini terdiri atas 2 taraf perlakuan yaitu:

A1 = Tanpa penambahan *Lactobacillus plantarum* (0 ml) dengan pengasapan

A2 = Penambahan *Lactobacillus plantarum* (2 ml) konsentrasi 10^8 dengan pengasapan

Masing-masing taraf perlakuan diamati tiap 5 hari selama pematangan 15 hari dengan 3 kali ulangan.

3.5 Analisa Data

Data hasil penelitian dianalisa secara statistik dengan analisa ragam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan uji lanjut yaitu analisis Uji T. Berikut tabel analisa data dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rancangan Percobaan

Perlakuan	Ulangan	Lama Pematangan (hari)				Total
		0	5	10	15	
A1	1					
	2					
	3					
Total						
Rerata						
A2	1					
	2					
	3					
Total						
Rerata						

Dalam penelitian ini data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan uji t tidak berpasangan. Menurut Hieni (1990) uji t digunakan untuk membandingkan dua perlakuan dan dinyatakan dalam model statistika sebagai berikut:

$$T_{uji} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\left[\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \right] \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

Keterangan: \bar{X}_1 = Rata-rata perlakuan ke 1

\bar{X}_2 = Rata-rata perlakuan ke 2

S1 = Standart deviasi perlakuan ke 1

S2 = Standart deviasi perlakuan ke 2

n1 = Jumlah ulangan pada perlakuan 1

n2 = Jumlah ulangan pada perlakuan 2

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pembuatan Sosis

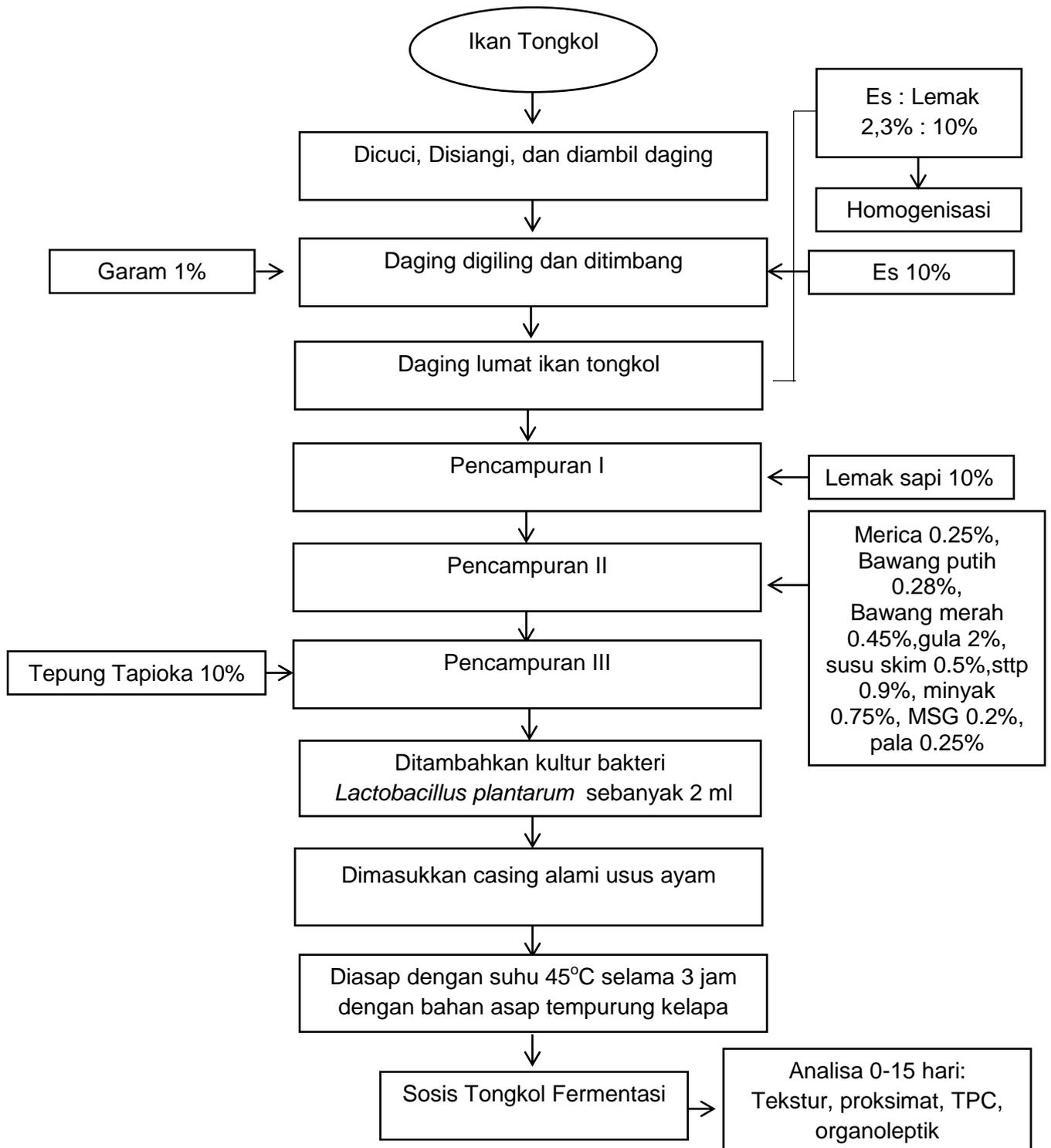
- Ikan tongkol disiangi dan diambil dagingnya.
- Dihaluskan dengan cara digiling, dan ditimbang.
- Daging ikan tongkol yang telah halus, dicampur dengan garam dan es.
- Dimasukkan lemak sapi sedikit demi sedikit, hingga homogeny.
- Ditambahkan bumbu yang sudah dihaluskan, dicampur sampai berbentuk adonan, selanjutnya ditambah tepung tapioca sebagai filler.
- Ditambahkan kultur stater bakteri *Lactobacillus plantarum* sebanyak 2 ml per 500 gram adonan.
- Dimasukkan ke dalam casing.
- Diasap suhu 45°C selama 4 jam dengan bahan tempurung kelapa.
- Disimpan selama 15 hari dan kita lakukan analisa fisik, kimia, organoleptik, TPC pada hari ke 0, 5, 10, 15.

Adapun dokumentasi pembuatan sosis tongkol dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.6.2 Proses Pembuatan Kultur Starter

- Kultur stater cair (dalam 10 ml MRS broth) yang telah diinkubasi dimasukkan ke dalam tabung spectrometer.
- Dianalisa tingkat kepadatan, jika absorbansi 1 maka tingkat kepadatan *Lactobacillus plantarum* adalah 10^8 , sesuai yang dibutuhkan.
- Kultur stater disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.
- MRS broth diganti dengan air es, karena bakteri *Lactobacillus plantarum* akan ditanam pada produk sosis.
- Kultur siap dipakai.

Adapun dokumentasi proses pengkulturan bakteri dapat dilihat pada Lampiran 2.



Gambar 2. Diagram Alir Pembuatan Sosis Fermentasi Ikan Tongkol

3.7 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan pada penelitian ini antara lain ialah Analisa fisika uji yang dilakukan adalah uji tekstur. Pada analisa kimia uji yang dilakukan ialah uji proksimat yaitu analisa kadar air, kadar lemak, kadar protein, kadar abu, dan kadar karbohidrat. Sedangkan pada analisa organoleptik digunakan uji hedonik.

3.8 Prosedur Analisa

Prosedur analisa produk sosis ikan tongkol terdiri dari :

3.8.1 Analisa Fisika (Yuwono dan Susanto, 1998)

Analisa Fisika pada penelitian ini menggunakan uji tekstur. Tekstur suatu bahan dapat ditentukan dengan menggunakan alat Jarum Penetrometer. Prinsipnya adalah menusuk pada sampel, lalu mengukur kedalaman penetrasi kedalam bahan. Semakin lunak bahan, semakin dalam dapat menembus bahan.

3.8.2 Analisa Kimia

Tujuan analisa kimia adalah untuk mengetahui kandungan gizi yang terdapat dalam sosis ikan tongkol. Analisa kimia terdiri dari Proksimat (kadar air, kadar protein, kadar abu, kadar lemak, dan karbohidrat).

3.8.2.1 Uji Kadar Air (Sudarmadji *et al.*, 2010)

Prinsip dari metode *thermogravimetry* analisis kadar air adalah menguapkan air bebas sampel dengan cara dipanaskan bahan pada suhu 105 °C selama 3 jam hingga berat sampel konstan. Persentase kadar air dalam bahan dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Berat kering(\% DB)} = \frac{(B - C)}{(C - A)} \times 100\%$$

Dimana :

- A : berat botol timbang kosong (gram)
- B : berat botol timbang + sampel (gram)
- C : berat botol timbang + sampel yang telah dikeringkan (gram)

3.8.2.2 Uji Kadar Abu (Sudarmadji *et al.*, 2010)

Prinsip dari metode pengabuan kering untuk analisis kadar abu ini adalah pembakaran bahan organik pada suhu tinggi selama beberapa jam sehingga hanya tersisa bahan anorganik dalam bentuk abu. Kadar abu dalam bahan dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Abu} = \frac{\text{berat kurs porselinakhir}-\text{berat porselin awal}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.8.2.3 Uji Kadar Protein (Sudarmadji *et al.*, 2010)

Prinsip dari analisis protein menggunakan metode kjedhal, yaitu untuk mengetahui kandungan protein pada suatu bahan. Tahap-tahap yang dilakukan dalam analisis protein terdiri tiga tahap, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Porsentase protein bahan dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Protein} = \frac{(\text{mL H}_2\text{SO}_4 \text{ sampel} - \text{mL H}_2\text{SO}_4 \text{ blanko})}{\text{g contoh}} \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 1,4008 \times 6,25$$

3.8.2.4 Uji Kadar Lemak (Sudarmadji *et al.*, 2010)

Prinsip dari metode *Goldfish* analisis kadar lemak adalah melarutkan lemak yang ada di dalam bahan selama beberapa jam dengan menggunakan bahan pelarut lemak. Porsentase lemak dalam bahan dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Lemak} = \frac{\text{berat gelas piala akhir}-\text{berat gelas piala awal}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.8.2.5 Analisa kadar karbohidrat (Winarno, 2004)

Analisa kadar karbohidrat dilakukan dengan menghitung sisa (*by difference*) yaitu dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Karbohidrat} = 100\% - [\text{Kadar}(\text{air}) + (\text{protein}) + (\text{lemak}) + (\text{abu})]$$

3.8.3 Analisa Organoleptik (Uji Hedonic)

Analisa organoleptik dengan menggunakan *Hedonic test* (Umar, 2013) untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis yang semi terlatih terhadap sosis ikan tongkol fermentasi menggunakan indra manusia. Nilai yang dinilai dalam uji organoleptik adalah nilai rasa, tekstur, warna, dan aroma. Dengan keterangan nilai sebagai berikut:

7: amat sangat suka

6: sangat suka

5: suka

4: agak suka

3: agak tidak suka

2: tidak suka

1: sangat tidak suka

Angket uji hedonik untuk panelis dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.8.4 Uji Total BAL

Prosedur analisa Total BAL menurut SNI (2006), yaitu menimbang sampel yang telah dipotong kecil-kecil sebanyak 1 gram, kemudian dimasukkan kedalam 9 ml pelarut sebagai pengenceran 10^{-1} dan dihomogenkan selama 2 menit. Diambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} dengan menggunakan mikropipet steril dan dimasukkan kedalam 9 ml pelarut untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Dilakukan hal yang sama untuk mendapatkan pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} dan 10^{-8} . Pada setiap pengenceran dilakukan pengocokan minimal 25 kali. Diambil 1 ml dari pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} dan 10^{-8} dan dimasukkan kedalam cawan petri steril secara duplo. Ditambahkan media selektif MRSA sebanyak 12-15 ml yang sudah didinginkan dalam *waterbath* hingga mencapai suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ kedalam masing-masing cawan yang sudah berisi sampel. Kemudian dilakukan

pemutaran kedepan, kebelakang dan ke kiri-ke kanan supaya selektif media MRSA tercampur merata. Setelah agar menjadi padat cawan diinkubasi pada incubator selama 48 jam pada suhu 35-37⁰C dengan posisi terbalik. Kemudian hitung koloni yang tumbuh.

Perhitungan koloni dilakukan pada cawan yang mengandung jumlah 25 koloni sampai 250 koloni dan bebas *spreader*. Perhitungan angka empeng total sebagai berikut:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

N = jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per ml atau koloni per g

$\sum C$ = jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 = jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n_2 = jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d = pengenceran pertama yang dihitung