

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan terdiri dari dua bagian, yaitu bahan untuk pembuatan abon ikan asin dengan substitusi keluwih dan analisis sampel. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan asin dari jenis ikan kakap (*Lutjanus sp*) yang diperoleh dari pasar tradisional Probolinggo dan keluwih yang diperoleh dari pasar Merjosari kabupaten Malang. Bahan-bahan tambahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain santan, minyak goreng, bumbu-bumbu seperti bawang putih, bawang merah, ketumbar, kemiri, gula, lengkuas, daun salam, serai, jahe, kunyit dan asam jawa. Untuk analisis proksimat bahan-bahan kimia yang dibutuhkan antara lain TCA 10%, pereaksi biuret, etil eter, petroleum eter, *antifoam*, NaOH, H₂SO₄, K₂SO₄, Alkohol dan silika gel.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua bagian yaitu alat untuk proses pembuatan abon ikan asin dengan substitusi keluwih dan alat untuk analisis sampel. Alat yang digunakan untuk pembuatan abon ikan asin dengan substitusi keluwih antara lain penggorengan, kompor gas, pisau, baskom, panci, blender, cobek, talenan serta alat pres atau *spinner*. Alat yang digunakan dalam analisis proksimat antara lain timbangan analitik, timbangan digital, mortar dan alu, pemanas listrik, kuvet, *beaker glass*, pipet volume, pipet tetes, tabung reaksi, *eatrbath*, spektrofotometer, oven, desikator, *gold fish*, *sample tube*, gelas piala, gelas ukur, pendingin balik, erlenmeyer, muffle, pinset, loyang dan *crushable tank*.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yang terbagi dalam dua tahap yaitu penelitian tahap 1 dan penelitian tahap 2. Penelitian tahap 1 meliputi proses perendaman ikan asin dan menentukan proses perendaman yang optimal untuk menurunkan kandungan garam pada ikan asin. Sedangkan penelitian inti meliputi pembuatan abon ikan asin dengan penambahan konsentrasi keluwi yang berbeda, uji organoleptik, uji TBA dan uji proksimat. Seperti pendapat menurut Nazir (1989), eksperimen adalah observasi dibawah kondisi buatan (*artificial condition*), dimana kondisi tersebut dibuat dan diatur oleh peneliti yang tujuannya adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta berapa besar akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan-perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol pembandingan.

3.2.1 Penelitian Tahap 1

Penelitian tahap 1 dilakukan perendaman bertujuan untuk menurunkan kadar garam NaCl pada ikan asin dan menentukan perlakuan perendaman yang optimal dalam menurunkan kadar garam NaCl pada ikan asin.

3.2.1.1 Perlakuan dan Rancangan Percobaan Penelitian Tahap 1

Perlakuan atau variabel bebas pada penelitian tahap 1 ini adalah proses perendaman ikan asin kakap (*Lutjanus sp*) dengan menggunakan air yang telah dipanaskan hingga suhunya mencapai 100°C (A1) dan air dingin dengan suhu ruang ($\pm 25^\circ\text{C}$) (A2) dan lama waktu perendaman selama 30 menit (B1), 60 menit (B2), 90 menit (B3) dan 120 menit (B4). Sedangkan variabel terikat atau parameter yang diamati pada penelitian tahap 1 ini adalah analisis penurunan kadar garam NaCl ikan asin setelah proses perendaman. Digunakan waktu perendaman selama 30, 60, 90 dan 120 menit mengacu pada hasil penelitian

Rochaniyah (2002), yang menyatakan bahwa lama waktu perendaman yang dapat menurunkan kadar garam dari ikan asin sebesar 39% adalah selama 25 menit.

Berdasarkan perlakuan yang diterapkan, maka penelitian tahap 1 ini dirancang dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan tiga kali ulangan. Model rancangan percobaan dapat dilihat pada Tabel 3.

Dengan model statistik rancangan percobaan sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \sum_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} = Hasil pengamatan untuk faktor A perlakuan ke – I, Faktor B perlakuan ke – j, pada ulangan ke - k

μ = Nilai tengah umum

A_i = Pengaruh faktor A pada perlakuan ke - i

B_j = Pengaruh faktor B pada perlakuan ke - j

$(AB)_{ij}$ = Interaksi antara A dan B pada faktor A perlakuan ke – I, Faktor perlakuan ke - j

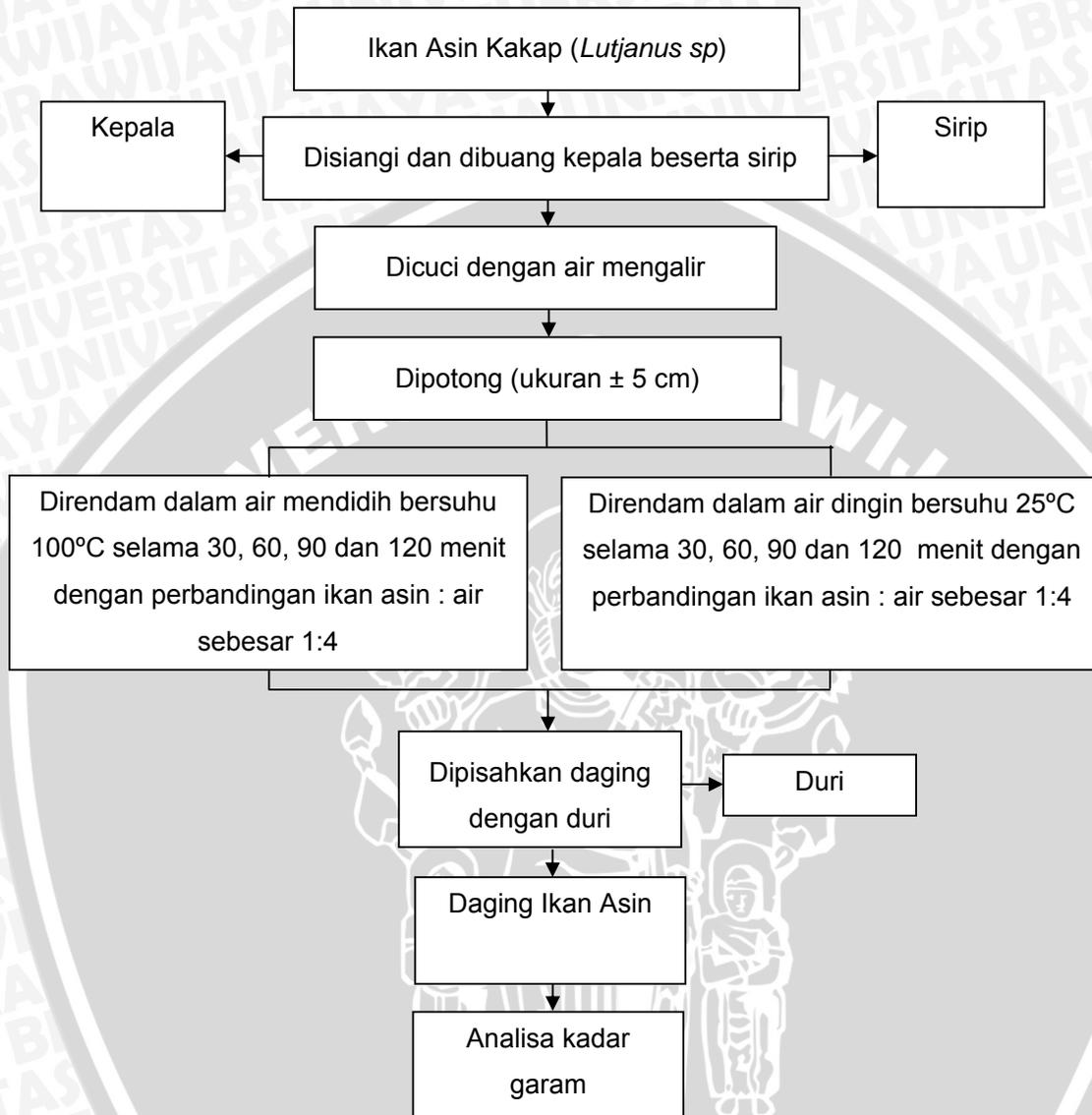
\sum_{ijk} = Kesalahan percobaan untuk faktor A taraf ke – I, faktor ke B taraf ke – j pada ulangan ke - k

Tabel 5. Model Rancangan Percobaan Penelitian Tahap 1

Perlakuan		Ulangan		
Suhu Air (°C)	Lama Perendaman (Menit)	1	2	3
Air Dingin (A1)	30 (B1)	(A1.B1).1	(A1.B1).2	(A1.B1).3
	60 (B2)	(A1.B2).1	(A1.B2).2	(A1.B2).3
	90 (B3)	(A1.B3).1	(A1.B3).2	(A1.B3).3
	120 (B4)	(A1.B4).1	(A1.B4).2	(A1.B4).3
Air Panas (A2)	30 (B1)	(A2.B1).1	(A2.B1).2	(A2.B1).3
	60 (B2)	(A2.B2).1	(A2.B2).2	(A2.B2).3
	90 (B3)	(A2.B3).1	(A2.B3).2	(A2.B3).3
	120 (B4)	(A2.B4).1	(A2.B4).2	(A2.B4).3

3.2.1.2 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian tahap 1 dilakukan dengan preparasi bahan baku dan proses perendaman ikan asin dengan lama waktu yang berbeda. Bahan baku yang digunakan adalah ikan asin kakap (*Lutjanus sp*) yang diperoleh dari pasar Probolinggo. Selanjutnya ikan asin disiangi, dibuang kepala dan sirip ikan. Kemudian ikan asin dicuci dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang menempel pada ikan asin. Setelah itu daging ikan asin dipotong (ukuran ± 5 cm) bertujuan untuk memudahkan proses perendaman. Setelah dipotong, daging ikan asin direndam dengan air. Proses perendaman ikan asin dilakukan berdasarkan metode Rochaniyah (2002), yang telah dimodifikasi. Daging ikan asin yang telah dipotong direndam dengan menggunakan dua perlakuan perendaman yaitu air yang telah dipanaskan hingga suhunya mencapai 100°C dan air dingin dengan suhu ruang $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Hal ini bertujuan untuk membandingkan suhu air yang paling efektif untuk menurunkan kadar garam NaCl ikan asin. Masing-masing perlakuan direndam dengan waktu yang berbeda yaitu selama 30 menit, 60 menit, 90 menit dan 120 menit dengan perbandingan antara ikan asin dengan air sebesar 1:4. Setelah itu dipisahkan daging dengan duri, sehingga didapatkan daging ikan asin. Prosedur pengurangan kadar garam dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Alir Pengurangan Kadar Garam (Modifikasi Rochaniyah, 2002)

3.2.1.3 Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati pada penelitian tahap 1 ini adalah penurunan kandungan garam NaCl pada ikan asin setelah direndam. Kandungan garam NaCl di analisis dengan metode Kohman dengan prinsip mencuci bahan menggunakan aquades panas sehingga kadar garam larut dan dititrasi menggunakan AgNO_3 (Sudarmadji *et al.*, 1997).

3.2.2 Penelitian Tahap 2

Penelitian tahap 2 dilakukan berdasarkan hasil perlakuan terbaik dari penelitian tahap 1. Tujuan penelitian tahap 2 yaitu untuk menentukan konsentrasi penambahan keluwih optimal yang dapat menghasilkan abon ikan asin dengan kualitas terbaik.

3.2.2.1 Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Perlakuan atau variabel bebas pada penelitian utama adalah substitusi konsentrasi keluwih yang berbeda pada proses pembuatan abon ikan asin kakap yaitu sebesar 0% (C1), 10% (C2), 20% (C3), 30% (C4), 40% (C5) dan 50% (C6). Variabel terikat pada penelitian utama meliputi organoleptik, kadar TBA, kadar protein, karbohidrat, lemak, mineral dan kadar air pada abon ikan asin dengan penambahan konsentrasi keluwih yang berbeda.

Rancangan percobaan yang dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) sesuai dengan persamaan:

$$(n-1)(r-1) \geq 15$$

$$(6-1)(r-1) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$r \geq 4$$

Dimana n = perlakuan

r = ulangan

Berdasarkan perhitungan dari persamaan diatas maka rancangan percobaan yang dilakukan sebanyak enam perlakuan dan empat kali ulangan. Model rancangan percobaan dilihat pada Tabel 5. Sedangkan model matematik yang digunakan pada penelitian adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijkl} = \mu + C_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ijkl} = Peubah respon

μ = Pengaruh rata-rata peubah respon

C_i = Pengaruh substitusi keluwih ke-i terhadap peubah respon

ε_{ij} = Galat percobaan

l = Banyaknya taraf tingkat substitusi keluwih (0%, 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%)

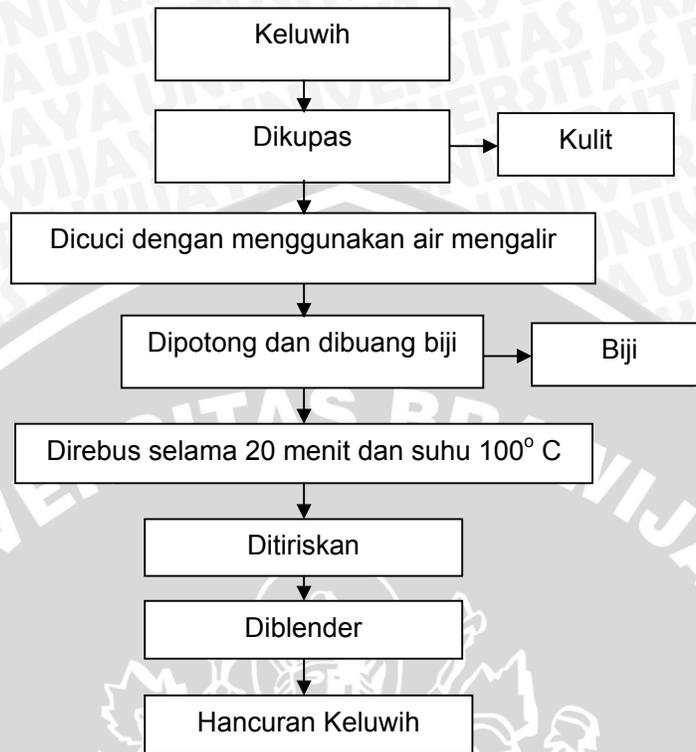
j = Ulangan

Tabel 6. Desain Rancangan Penelitian

Konsentrasi Perlakuan	Ulangan			
	1	2	3	4
0% (C1)	(C1).1	(C1).2	(C1).3	(C1).4
10% (C2)	(C2).1	(C2).2	(C2).3	(C2).4
20% (C3)	(C3).1	(C3).2	(C3).3	(C3).4
30% (C4)	(C4).1	(C4).2	(C4).3	(C4).4
40% (C5)	(C5).1	(C5).2	(C5).3	(C5).4
50% (C6)	(C6).1	(C6).2	(C6).3	(C6).4

3.2.2.2 Prosedur Penelitian

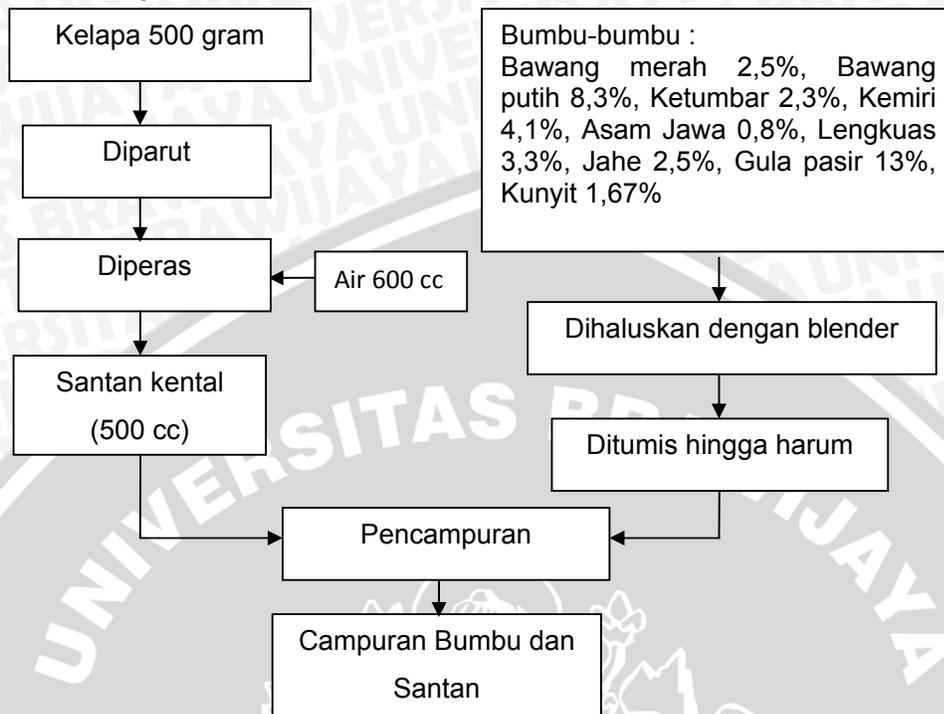
Prosedur penelitian tahap 2 dibagi menjadi 3 bagian. Yaitu prosedur penanganan serat, prosedur pembuatan bumbu dan terakhir prosedur pembuatan abon.

a. **Persiapan Keluwih**

Gambar 2. Diagram Alir Penanganan Keluwih (Modifikasi Elliyasami dan Hamzah, 1997)

Keluwih yang digunakan adalah setengah tua sesuai dengan penelitian Elliyasami dan Hamzah (1997), bahwa keluwih yang setengah tua memiliki tanin yang rendah dimana pada proses pemisahan (disuwir) setelah perebusan tidak terjadi pencoklatan (*browning*) seperti pada buah yang muda sekali dan buah yang tua mempunyai tingkat kesulitan saat diblender karena daging buah melembek dan licin. Keluwih yang setengah tua akan memiliki tekstur yang tidak terlalu keras seperti keluwih muda, namun tidak selembek keluwih yang sudah tua. Kemudian keluwih dikupas kulitnya, dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan getah pada permukaan keluwih. Selanjutnya keluwih dipotong-potong dan dibuang bijinya untuk mempermudah proses pemasakan. Keluwih direbus dengan air mendidih selama kurang lebih 20 menit dengan suhu 100°C. Kemudian ditiriskan dan diblender untuk memperoleh tekstur serat yang mirip dengan abon.

b. Persiapan Bumbu dan Santan



Gambar 3. Diagram Alir Persiapan Bumbu dan Santan (Modifikasi Dewi et al., 2011)

Kelapa tua dibersihkan kulitnya dan diparut dengan menggunakan parutan. Kemudian ditambahkan air dan diperas hingga didapatkan santan kental. Bumbu-bumbu yang terdiri dari bawang merah, bawang putih, ketumbar, kemiri, garam, asam, jahe, serai dan laos dihaluskan dengan blender dan ditumis dengan minyak panas hingga berbau harum. Selanjutnya bumbu halus, gula dicampur menjadi satu dengan santan.

c. Pembuatan Abon

Lama perendaman dan suhu air perendaman terbaik pada penelitian tahap 1 digunakan sebagai acuan penelitian yang kedua. Daging ikan asin kakap yang diperoleh dari hasil perlakuan terbaik pada penelitian tahap pertama diparut untuk menghasilkan tekstur daging berserat seperti abon.

Keluwih yang sudah diblender, ditambahkan ke dalam parutan ikan dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% dari

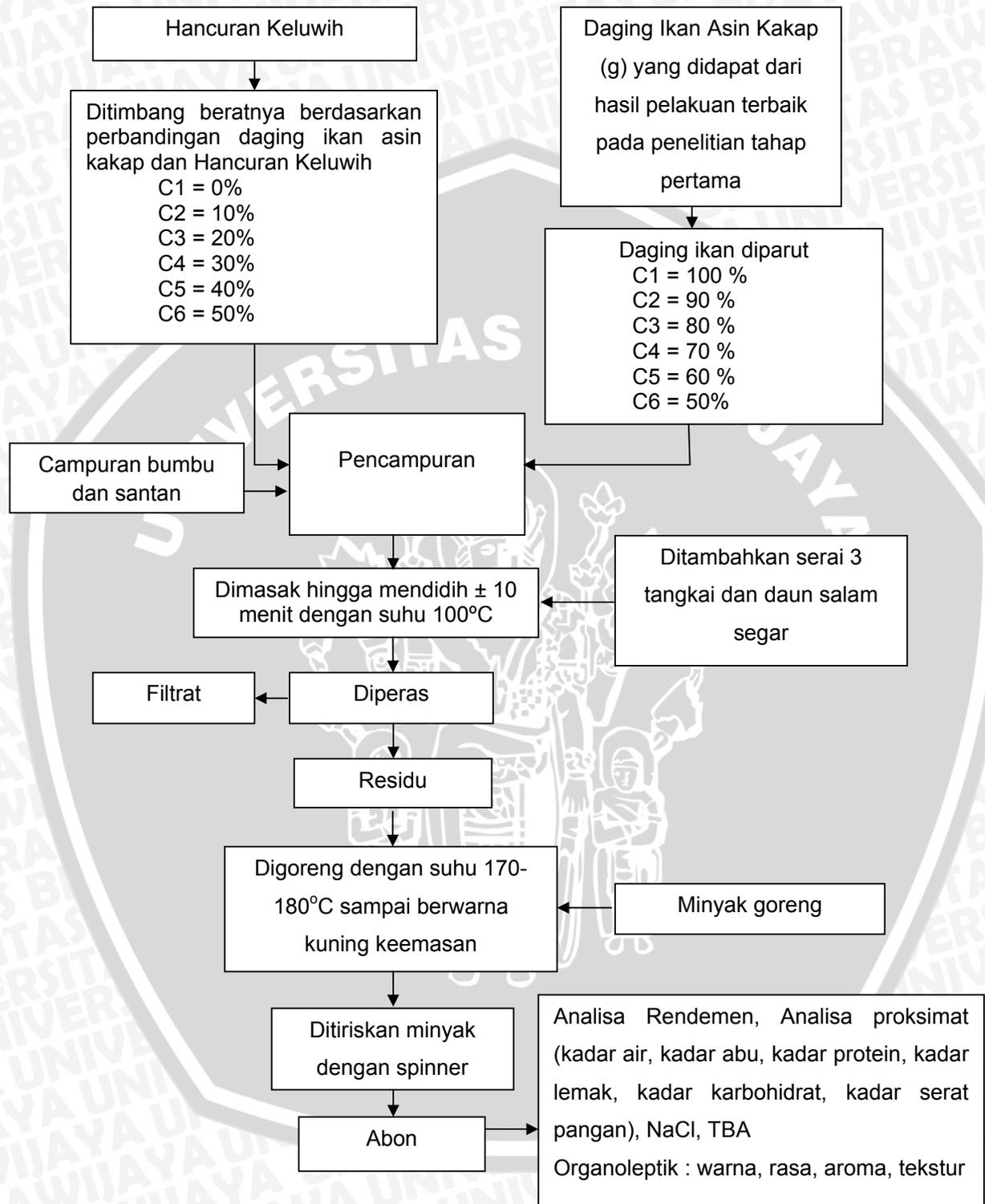
berat suwiran daging ikan (b/b). Kemudian parutan ikan beserta hancuran keluwi dimasukkan ke dalam campuran bumbu halus dan santan yang telah masak. Campuran tersebut dimasak dengan cara digoreng selama kurang lebih 10 menit hingga santan terserap dalam bahan, kemudian diperas. Lalu daging digoreng dengan minyak panas suhu berkisar 170-180°C sampai berwarna kuning keemasan. Tujuan dari proses penggorengan adalah untuk melakukan pemanasan pada bahan pangan, pemasakan dan pengeringan pada bahan pangan yang digoreng. Selama proses penggorengan, pori-pori bahan akan terbuka sehingga air yang terdapat dalam bahan makanan menguap sehingga minyak akan masuk ke dalam bahan pangan melalui pori-pori bahan makanan yang terbuka sehingga menyebabkan makanan menjadi kering. Penggorengan pada suhu tinggi akan menyebabkan terjadinya penguapan sebagian air dalam bahan pangan. Pengeringan tersebut akan membentuk tekstur renyah (Muchtadi dan Ayustaningwarno, 2010). Selanjutnya abon ditiriskan dengan *spinner* untuk menghilangkan minyak dalam bahan sehingga didapatkan produk yang kering dan tahan lama. Prosedur pembuatan abon ikan asin dilihat pada Gambar 5. Sedangkan formulasi bumbu pembuatan abon ikan menggunakan modifikasi dari metode Dewi *et al.* (2011), dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 7. Formulasi Bumbu Abon

Komposisi	Perlakuan					
	C1 (0 %)	C2 (10 %)	C3 (20 %)	C4 (30 %)	C5 (40 %)	C6 (50 %)
Ikan Asin	500 g	450 g	400 g	350 g	300 g	250 g
Keluwih	0 g	50 g	100 g	150 g	200 g	250 g
Bawang Merah	12,5 g	12,5 g	12,5 g	12,5 g	12,5 g	12,5 g
Bawang Putih	41,5 g	41,5 g	41,5 g	41,5 g	41,5 g	41,5 g
Kemiri	20,5 g	20,5 g	20,5 g	20,5 g	20,5 g	20,5 g
Ketumbar	11,5 g	11,5 g	11,5 g	11,5 g	11,5 g	11,5 g
Gula Pasir	65 g	65 g	65 g	65 g	65 g	65 g
Lengkuas	16,65 g	16,65 g	16,65 g	16,65 g	16,65 g	16,65 g
Jahe	12,5 g	12,5 g	12,5 g	12,5 g	12,5 g	12,5 g
Asam Jawa	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g
Kunyit	8,35 g	8,35 g	8,35 g	8,35 g	8,35 g	8,35 g
Daun Salam	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g
Serai	8,35 g	8,35 g	8,35 g	8,35 g	8,35 g	8,35 g
Santan	500 cc	500 cc	500 cc	500 cc	500 cc	500 cc

Edible portion ikan asin kakap yaitu dari berat ikan asin sebesar 824,68 gr dihasilkan bagian yang dapat dikonsumsi sebesar 682,58 gram.





Gambar 4. Flowchart Pembuatan Abon (Modifikasi Hardoko et al., 2012)

3.2.2.3 Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati pada penelitian utama ini antara lain rendemen, kandungan TBA, Organoleptik dengan menggunakan uji hedonik dan uji skoring dan uji proksimat yang meliputi kadar protein, karbohidrat, lemak, mineral dan air.

3.2.3 Prosedur Analisis Parameter

Parameter uji yang dilakukan meliputi uji kimia, fisik dan uji organoleptik. Uji kimia meliputi analisa kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, karbohidrat. Uji organoleptik meliputi uji aroma, rasa, warna dan tekstur.

3.2.3.1 Rendemen

Rendemen merupakan persentase total abon ikan yang dihasilkan dibandingkan dengan jumlah bahan baku yang digunakan. Tujuan perhitungan rendemen yaitu untuk mengetahui persentase abon ikan asin yang dihasilkan (Sudarmadji *et al.*, 1997). Perhitungan rendemen dapat menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat akhir abon ikan yang dihasilkan (g)}}{\text{Berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

3.2.3.2 Analisis Kadar Air

Penentuan kadar air dengan menggunakan metode pengeringan dalam oven atau metode termogravimetri. Prinsipnya menguapkan air dalam bahan dengan jalan pemanasan kemudian menimbang bahan sampai berat konstan yang berarti semua air bebas sudah diuapkan. Prosedur penentuan kadar air adalah:

- a. Timbang sampel yang telah dihaluskan sebanyak 1-2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya.
- b. Kemudian keringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 3 jam.
- c. Dinginkan dalam desikator dan ditimbang.

d. Rumus perhitungan kadar air adalah sebagai berikut:

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

Keterangan :

A : Berat Botol Timbang

B : Berat Sampel Awal

C : Berat Sampel dan Botol Timbang Setelah Di panaskan

(Sudarmadji *et al.*, 1997)

3.2.3.3 Analisis Kadar Abu

Prinsip penentuan kadar abu dengan metode langsung (cara kering) adalah dengan mengoksidasi semua zat organik pada suhu tinggi, yaitu sekitar 500-600°C dan kemudian melakukan penimbangan zat yang tertinggal setelah proses pembakaran tersebut. Prosedur analisa kadar abu sebagai berikut :

1. Kurs porselin bersih dibersihkan didalam oven bersuhu 105°C selama semalam.
2. Kurs porselin dimasukkan desikator selama 15-30 menit kemudian ditimbang.
3. Sampel kering halus ditimbang sebanyak 2 g.
4. Sampel kering halus dimasukkan dalam kurs porselin dan diabukan dalam muffle bersuhu 650°C sampai seluruh bahan terabukan (abu berwarna keputih-putihan).
5. Dimasukkan kurs porselin dan abu kedalam desikator dan ditimbang berat abu setelah dingin.
6. Rumus perhitungan kadar abu dalam bahan pangan sebagai berikut :

$$(\%) \text{ Kadar abu} = \frac{\text{berat akhir-berat kurs porselin}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

(Sudarmadji *et al.*, 1997).

3.2.3.4 Analisis Kadar protein

Prinsip analisis kadar protein menggunakan metode Kjeldahl dengan menentukan jumlah nitrogen (N) total yang terkandung dalam suatu bahan yang melalui tiga tahapan yaitu destruksi, destilasi dan titrasi. Adapun prosedur dari analisa kadar protein yaitu :

1. Dihaluskan dan ditimbang sampel sebanyak 1 g.
2. Sampel dimasukkan labu Kjeldahl dan tambahkan larutan H_2SO_4 pekat didalam ruang asam.
3. Ditambahkan tablet Kjeldahl sebagai kataliasator.
4. Campuran bahan didestruksi sampai berwarna dingin dan didinginkan. Hasil destruksi dimasukkan kedalam labu destilasi.
5. Ditambahkan 100 mL aquades, 3 tetes indikator PP dan 75 mL larutan NaOH pekat untuk selanjutnya didestilasi.
6. Destilat ditampung sebanyak 100 mL dalam erlenmeyer yang berisi 25 mL larutan H_3BO_3 dan 3 tetes indikator MO (*Metyl Orange*).
7. Dititrasi larutan yang diperoleh dengan 0,02 N HCl sampai berwarna merah muda.
8. Rumus perhitungan kadar protein dalam bahan pangan sebagai berikut :

$$(\%) \text{ Kadar Protein} = \frac{(\text{mL titrasi HCl} - \text{mL blanko}) \text{ N HCL} \times 14 \times 6,25}{\text{berat sampel (g)} \times 1000} \times 100\%$$

(Sudarmadji *et al.*, 1997)

3.2.3.5 Analisis kadar Lemak

Lemak ditentukan menggunakan metode ekstraksi Goldfish dengan cara mengekstraksi lemak dengan suatu pelarut lemak heksan. Dengan mensirkulasikan hexan kedalam contoh, lemak yang larut dalam heksan tersebut

terkumpul dalam wadah tertentu. Pemisahan hexan berlangsung dalam alat destilasi. Prosedur penentuan kadar lemak adalah sebagai berikut:

- a. Timbang bahan sebanyak 5 g lalu pindahkan ke dalam kertas saring yang dibentuk sedemikian rupa hingga membungkus bahan.
- b. Masukkan bahan pada sampel tube, yaitu gelas penyangga yang bagian bawahnya terbuka, tepat di bawah kondensor alat destilasi goldfish.
- c. Masukkan pelarut misalnya *petroleum eter* sebanyak 75 mL dalam gelas piala. Pasanglah gelas piala pada kondensor
- d. Alirkan tenaga pendingin pada kondensor dan naikan pemanas listrik sampai menyentuh bagian bawah gelas piala. Nyalakan pemanas listriknya.
- e. Lakukan ekstraksi selama 3 sampai 4 jam.
- f. Matikan pemanas dan tunggu hingga dingin.
- g. Masukkan sampel ke dalam oven dengan suhu 105°C sampai beratnya konstan
- h. Dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit
- i. Rumus perhitungan kadar lemak sebagai berikut:

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

(Sudarmadji *et al.*, 1997)

3.2.3.6 Analisa Karbohidrat

Metode pengujian kadar karbohidrat menggunakan metode *by different*. Kadar karbohidrat (*by different*) adalah kadar karbohidrat yang dihitung berdasarkan perhitungan akhir pengurangan dari kadar air, kadar abu, kadar lemak dan kadar protein (Sudarmadji *et al.*, 1997). Rumus perhitungan kadar karbohidrat adalah sebagai berikut

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

3.2.3.7 Kadar Serat Pangan

Prinsip analisis kadar serat pangan adalah bahan dihidrolisis disertai penyaringan sehingga zat yang tersisa adalah serat pangan sebagai residu yang tidak terhidrolisis

- a. Ditimbang 1 g sampel dan dimasukkan dalam *beaker glass* 400 mL kemudian ditambahkan 50 mL 0,1 M buffer natrium fosfat pH 6, diaduk dan ditambahkan 0,1 mL enzim *termamyl*.
- b. Ditutup *beaker glass* dengan aluminium foil dan diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 100°C selama 15 menit dan digoyang setiap 5 menit.
- c. Didinginkan sampel pada suhu kamar dan diatur pH menjadi 7,5 dengan penambahan 10 mL larutan 0,275 N NaOH.
- d. Tambahkan 5 g protease dan ditambahkan 0,1 mL larutan enzim. Ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi selama 30 menit.
- e. Didinginkan dan ditambahkan 10 mL 0,325 larutan HCl dan diatur pH hingga 4,0-4,6.
- f. Kemudian ditambahkan 0,3 mL *amyloglukosidase* dan ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi pada 60°C selama 30 menit.
- g. Ditambahkan 280 mL 95% etanol dan dipanaskan 60°C serta dipresipitasi pada suhu kamar selama 60 menit.
- h. Disaring dengan krus yang telah diberi celite 0,1 mg yang diratakan dengan etanol 78%.
- i. Selanjutnya dicuci residu dalam krus dengan 20 mL etanol 78% (3x), 10 mL etanol 95% (2x) dan 10 mL aseton (1x).

- j. Kemudian dikeringkan residu dalam oven vakum 70% semalam atau dioven 105°C sampai berat konstan dan dihitung dengan rumus :

$$\% DF = \frac{a - b}{w} \times 100$$

Keterangan :

- DF : Serat pangan
a : Berat sampel konstan
b : Berat abu
w : Berat awal sampel

(AOAC, 1995)

3.2.3.8 Analisis Harga TBA

Prinsip pengujian adalah mengukur kadar senyawa peroksida yang terbentuk selama proses oksidasi. Berdasarkan reaksi TBA (1-thio-barbituric-acid) dengan malonaldehyde yang dipakai sebagai petunjuk tingkat ketengikan.

Prosedur sebagai berikut:

- Timbang bahan yang telah diketahui kadar airnya sebanyak kira-kira 3 g dengan teliti, masukkan kedalam waring blender, tambahkan 50 mL aquades dan hancurkan selama 2 menit.
- Pindahkan secara kuantitatif kedalam labu destilasi 1000 mL sambil dicuci dengan 48,5 mL aquades. Tambahkan 1,5 mL 4N HCl sampai pH menjadi 1,5
- Tambahkan batu didih dan bahan pencegah buih dan pasang pada labu distilasi pada alat distilasi. Distilasi dijalankan dengan pemanas setinggi mungkin sehingga diperoleh distilat sebanyak 50 mL selama pemanasan 10 menit.
- Aduk distilat yang diperoleh, saring dan pindahkan 5 mL kedalam erlenmeyer 50 mL yang bertutup lalu ditambahkan 5 mL reagen TBA lalu dicampur.
- Masukkan erlenmeyer tertutup dalam air mendidih selama 35 menit

- f. Buat larutan blanko
- g. Lalu didinginkan dengan air pendingin. Bacalah *optical density* dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 7,0 nm dengan larutan blanko sebagai titik nol.
- h. Optical density (A= Absorbancy) dipakai sebagai skala pembanding tingkat ketengikan. Dihitung dengan rumus:

$$\text{Bilangan TBA} = \frac{3 \times 7,8 \times A}{W}$$

(Sudarmadji *et al.*, 1997)

3.2.3.9 Analisis NaCl

Analisa kadar NaCl menggunakan metode Kohman sebagai berikut:

- a. Timbang bahan yang telah dihaluskan sebanyak 5 g
- b. Bahan diekstrak dalam *separatory funnel* dengan 10-20 mL aquades panas dan ditunggu beberapa lama sehingga semua garam NaCl larut, dan terpisah dengan lemak. Ekstraksi diulangi beberapa kali hingga 8-10 kali. Bila contoh zat padat maka perlu disaring dan dicuci beberapa kali.
- c. Cairan ekstrak ditampung dalam wadah dan dicampur
- d. Cairan yang diperoleh kemudian ditambah 3 mL kalium khromat 5% dan titrasi dengan AgNO₃ 0,1 N sampai warna menjadi merah bata
- e. Rumus perhitungan kadar garam NaCl adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Garam} = \frac{\text{mL AgNO}_3 \times \text{N AgNO}_3 \times 58,46}{\text{g sampel} \times 1000} \times 100\%$$

(Sudarmadji *et al.*, 1997)

3.2.3.10 Uji Organoleptik

Pengamatan organoleptik dilakukan dengan menggunakan uji hedonik dan uji skoring. Uji hedonik dilakukan dengan mengamati rasa, bau, warna dan tekstur dari produk abon ikan asin, dengan kriteria penilaian (1= sangat tidak suka), (2= tidak suka), (3= netral), (4= agak suka), (5= suka), (6= sangat suka) dengan 15 panelis agak terlatih (mahasiswa). Form penilaian organoleptik uji hedonik dilihat pada Lampiran 1.

Pada uji skoring, panelis diminta untuk mengevaluasi bau, rasa, warna dan tekstur semua sampel dengan memberikan tanda pada hasil pengujian yang dipilih sedangkan pada uji hedonik panelis memberikan penilaian angka sesuai dengan skala hedonik yang disediakan berdasarkan tingkat kesukaan. Form penilaian organoleptik uji skoring dilihat pada Lampiran 2.

Setelah dilakukan penilaian organoleptik dilakukan penentuan perlakuan terbaik dengan menggunakan metode pengambilan keputusan yang dipergunakan adalah Metode Indeks Efektivitas De Garmo. Pengambilan Keputusan dilakukan untuk menentukan perlakuan mana yang terbaik dengan mempertimbangkan ke delapan variabel baik dari kimia dan organoleptik yang meliputi kadar serat, kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu, kadar karbohidrat, rasa, bau, warna dan tekstur. Form penilaian terbaik dilihat pada Lampiran 3. Prosedur yang dilakukan antara lain :

1. Pengelompokkan parameter baik fisik dan kimia yang dikelompokkan terpisah dengan parameter organoleptik.
2. Memberi nilai 1-6 pada tiap parameter pada masing – masing kelompok. Bobot yang diberikan sesuai dengan tingkat tiap parameter dalam mempengaruhi tingkat penerimaan konsumen yang diwakili oleh panelis. Dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Pembobotan} = \frac{\text{Nilai total setiap parameter}}{\text{Nilai total parameter}}$$

3. Dilakukan perhitungan efektivitas dengan rumus:

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

Keterangan :

NE = Nilai efektifitas

NP = Nilai Perlakuan

Ntj = Nilai terburuk

Ntb = Nilai terbaik

Parameter dengan rata-rata semakin besar semakin naik, maka nilai terendah sebagai nilai terburuk dan nilai tertinggi sebagai nilai terbaik. Sebaliknya untuk parameter dengan rata-rata nilai semakin kecil, semakin baik. Maka nilai tertinggi sebagai nilai terburuk dan nilai terendah sebagai nilai terbaik.

4. Perhitungan nilai produk (NP)

Nilai produk diperoleh dari perkalian NE dengan bobot nilai.

$$NP = NE \times \text{Bobot Nilai}$$

5. Menjumlahkan nilai produk dari semua parameter pada setiap kelompok.

Perlakuan yang memiliki nilai produk tertinggi merupakan perlakuan terbaik pada kelompok parameter. Perlakuan terbaik dipilih dari perlakuan yang mempunyai nilai produk yang tertinggi untuk parameter organoleptik

(Soekarto, 1985)