

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor, faktor pertama terdiri dari 3 perlakuan, sedangkan faktor kedua terdiri dari 4 perlakuan serta 3 ulangan sehingga penelitian akan terdiri dari:

Faktor I (T) : perbedaan lama penyimpanan (hari)

T1 : lama penyimpanan selama 0 hari

T2 : lama penyimpanan selama 8 hari

T3 : lama penyimpanan selama 16 hari

Faktor II (L) : perbedaan konsentrasi asap cair

L1 : konsentrasi 0 %

L2 : konsentrasi 3 %

L3 : konsentrasi 5 %

L4 : konsentrasi 7 %

Perlakuan dalam penelitian ini masing-masing dilakukan dalam 3 kali ulangan sehingga secara keseluruhan menghasilkan 36 kombinasi perlakuan, yaitu 3 x 12 kombinasi perlakuan.

Lama penyimpanan	Konsentrasiasapcair			
	L1	L2	L3	L4
T1	T1L1	T1L2	T1L3	T1L4
T2	T2L1	T2L2	T2L3	T2L4
T3	T3L1	T3L2	T3L3	T3L4

### 3.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini meliputi:

1. Variabel bebas : pemberian asap cair dengan konsentrasi 0 %; 3 %; 5 %; dan 7 % dengan lama penyimpanan berbeda yaitu 0 hari, 8 hari, 16 hari.
2. Variabel terikat : variabel yang diukur adalah jumlah total bakteri (TPC), kadar protein dan organoleptik yang meliputi warna, tekstur, aroma dan rasa pada ikan gurami.
3. Variabel kendali : ikan gurami dengan berat rata-rata 500 gram.

### 3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November-Desember 2013 di Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

### 3.4 Populasi dan Sampel

Hewan uji yang digunakan adalah ikan gurami dengan berat rata-rata 500 gram sebanyak 36 ekor.

### **3.5 Alat dan Bahan**

#### **3.5.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain inkubator, mikropipet, timbangan analitik, *hot plate*, pipet tetes, tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, aluminium foil, bunsen, plastik wrap, nampan, *colony counter*, stirrer, tabung apendorf, sentrifuse, vortex, oven, dan spektrofotometer.

#### **3.5.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah ikan gurami sebanyak 36 ekor, larutan garam 25% untuk perendaman pasca disiangi, larutan garam 0,85% untuk uji TPC, nutrient agar, aquades, asap cair tempurung kelapa, asam asetat, dan biuret.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Persiapan Bahan**

Menyiapkan ikan gurami dengan berat 500 gram untuk disiangi dengan jalan membuang insang dan isi perut. Kemudian mencucinya hingga bersih dengan air yang mengalir. Selanjutnya ditiriskan.

#### **3.6.2 Perendaman dalam Asap Cair**

Ikan yang sudah disiangi kemudian direndam dalam larutan garam jenuh 25% selama 30 menit (Wibowo, 1996) yang berfungsi membantu memudahkan pencucian dan menghilangkan

lendir, memberi cita rasa produk, membantu pengeringan dan menyebabkan tekstur daging ikan menjadi lebih kompak. Setelah perendaman tersebut, ikan dicuci bersih kembali untuk membersihkan kotoran yang ada dan mengurangi deposit garam pada permukaan tubuh ikan kemudian dikantiraskan. Proses selanjutnya adalah merendam ikan kedalam asap cair dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol, 3%, 5%, dan 7% selama 30 menit. Setelah ikan gurami di rendam dalam asap cair selama 30 menit, kemudian ikan di tiriskan dan disimpan di dalam suhu ruang. Pengamatan terhadap sifat organoleptik, kadar protein dan TPC dilakukan mulai hari ke 0 sebagai kontrol, hari ke-8, dan hari ke-16.

### 3.6.3 Uji Kualitas Mikrobiologi atau Total Plate Count (TPC) (Fardiaz, 1988)

Analisis jumlah total bakteri ini menggunakan analisis kuantitatif. Prinsip kerja dari uji mikrobiologis ini adalah perhitungan jumlah koloni bakteri yang ada dalam sampel (daging ikan gurami) dengan pengenceran sesuai keperluan dan dilakukan secara duplo. Pembuatan larutan contoh dilakukan dengan mencampurkan 10 gram sampel dan larutan pengencer NaCl 0,85% sebanyak 90 ml sampai homogen.

Pengenceran dilakukan dengan cara mengambil 1 ml larutan contoh menggunakan pipet steril dimasukkan ke dalam 9

ml larutan pengencer NaCl 0,85% dan diaduk sampai homogen sehingga terbentuk seri pengenceran  $10^{-1}$ . Pengenceran dilakukan disesuaikan dengan keperluan, biasanya sampai  $10^{-6}$ . Pemipetan dilakukan pada tiap tabung pengenceran sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri duplo menggunakan pipet steril. Media agar dimasukkan ke dalam cawan petri dan digoyang 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  $37^{\circ}\text{C}$  dan diinkubasi selama 2 X 24 jam. Dihitung jumlah koloni bakteri yg ada dalam cawan petri. Jumlah koloni yang dapat dihitung adalah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri antara 30-300.

Cara perhitungan jumlah koloni adalah sebagai berikut:

$$\Sigma \text{Mikroba} = \text{rata-rata } \Sigma \text{ koloni} \times 1/\text{fp} \quad (\text{FP} = \text{Faktor Pengenceran})$$

#### **3.6.4 Uji Protein Menggunakan Metode Biuret (Suhadi, 1997)**

Sampel ikan diambil secukupnya dan di haluskan, selanjutnya ditambah aquades sebanyak 10ml, ditambah asam asetat 1ml, diaduk dengan stirrer di atas hot plate selama 10 menit. 1 ml sampel di pipet ke dalam tabung appendorf sebanyak 8 tabung. Selanjutnya sampel disentrifuse dengan kecepatan 20000rpm pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Sampel di ambil supernatannya dan dipindahkan semua supernatan ke dalam tabung

appendorf baru. Semua supernatan baru diambil sebanyak 400 $\mu$ l dan ditambah dengan 800 $\mu$ l biuret. Sampel yang sudah diberi biuret divortex sampai homogen. Sampel diinkubasi dalam oven suhu 37°C selama 30 menit. Dibaca pada spektrofotometer pada gelombang 540nm.

### **3.6.5 Pengujian Organoleptik Ikan (Tekstur, Aroma, Warna)**

Ujiorganoleptik ini bertujuan untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap ikan. Uji organoleptik ini dilakukan dengan panelis sebanyak 15 orang, dengan 5 taraf tingkat, yaitu taraf 1 (sangat tidak suka), taraf 2 (tidak suka), taraf 3 (biasa), taraf 4 (suka), taraf 5 (suka).

### **3.6.6 Analisis Data**

Data pengamatan berupa data kuantitatif dan kualitatif. Selanjutnya untuk mengetahui antar perlakuan, dilakukan analisis (ANOVA) two way menggunakan SPSS 16,0. Jika terdapat perbedaan nyata maka dilanjutkan uji DMRT pada taraf 5% untuk mengetahui konsentrasi asap cair yang terbaik..