

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Pati dan Gula serta Laboratorium Instrumen Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni–Oktober 2015.

#### 3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat pirolisator, botol kaca, timbangan analitik, erlenmeyer, gelas beaker, gelas ukur, alat destilasi, pipet tetes, tabung reaksi, cawan petri, cawan porselen, micro pipet, pipet tip, incubator, *colony counter*, labu kjedahl, *hot plate*, kolom beserta statif, dan tiang penyangga.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sabut kelapa, asap cair pekat hasil pirolisis sabut kelapa, zeolit aktif, akuades, garam fisiologis, nutrient agar,  $K_2SO_4$ , HgO,  $H_2SO_4$ , NaOH,  $H_3BO_3$ , HCl dan ikan tongkol.

### **3.3. Metode Penelitian**

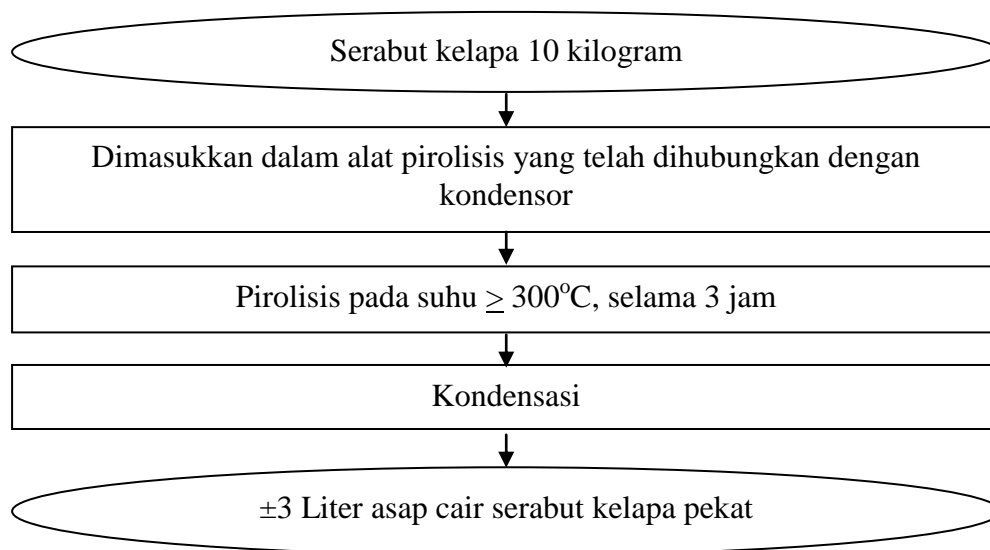
Penelitian ini menggunakan perlakuan faktorial dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan 2 faktor dan 3 ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi asap cair grade 2 sabut kelapa dan akuades (K) terdiri dari 3 taraf yaitu K1 (15%:85%); K2 (30%:70%); dan K3 (45%:55%). Faktor kedua adalah lama perendaman (L) yaitu L1 (15 menit), L2 (30 menit), dan L3 (45 menit). Pengamatan dilakukan pada hari ke 0, hari ke 3 dan hari ke 6.

Data yang didapat dari hasil pengamatan dianalisis kesamaan ragam dengan uji Bartlett untuk mengetahui kehomogenan data antar ulangan. Setelah data tersebut homogen kemudian dianalisis sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan. Data dianalisis lebih lanjut menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) (Steel dan Torrie, 1991).

### **3.4. Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.4.1. Proses Pirolisis Asap Cair Serabut Kelapa**

Proses pirolisis asap cair sabut kelapa diawali dengan menyiapkan bahan baku asap cair sebanyak 10 kilogram. Sabut kelapa yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam alat pirolisis yang telah dihubungkan dengan kondensor. Selanjutnya alat pirolisis dijalankan dengan mengatur suhu menjadi  $\geq 300^{\circ}\text{C}$  dan dilaksanakan pemasakan selama 3 jam. Asap yang terbentuk dari hasil pirolisis dikondensasi dan ditampung dalam botol kaca dengan kondisi cair. Diagram alir pirolisis asap cair sabut kelapa disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir proses pirolisis asap cair sabut kelapa  
 Sumber: Haji (2013) di modifikasi

#### 3.4.2. Pemisahan Kandungan TAR pada Asap Cair

Asap cair yang didapatkan dari hasil pirolisis dan kondensasi harus dilakukan pemisahan kandungan TAR yang tercampur di dalamnya. Kandungan TAR dipisahkan dengan dua tahapan. Tahap pertama yaitu dengan cara mengendapkan asap cair di dalam labu pemisah selama 15 menit (hingga TAR mengapung). Setelah TAR mengapung letakkan wadah penampung di bawah kran labu pemisah dibagian bawah, buka kran perlahan untuk mengeluarkan asap cair yang telah terpisah. Segera tutup kran setelah TAR mendekati batas asap cair yang akan dikeluarkan agar TAR tidak ikut tertampung bersama asap cair yang telah terpisah. Selanjutnya kandungan TAR ditampung di botol yang berbeda.

Asap cair yang telah tertampung di botol pada tahap pertama dilanjutkan proses pemisahan TAR tahap kedua yang dilakukan dengan menyaring asap cair menggunakan kertas saring dan corong kecil. Asap cair hasil pemisahan tahap

pertama dituang dan disaring menggunakan kertas saring diatas corong kecil. Kandungan TAR yang masih tersisa pada asap cair akan menempel dipermukaan kertas saring. Asap cair hasil pemisahan tahap kedua ini adalah asap cair pekat yang telah terpisah dari kandungan TAR.

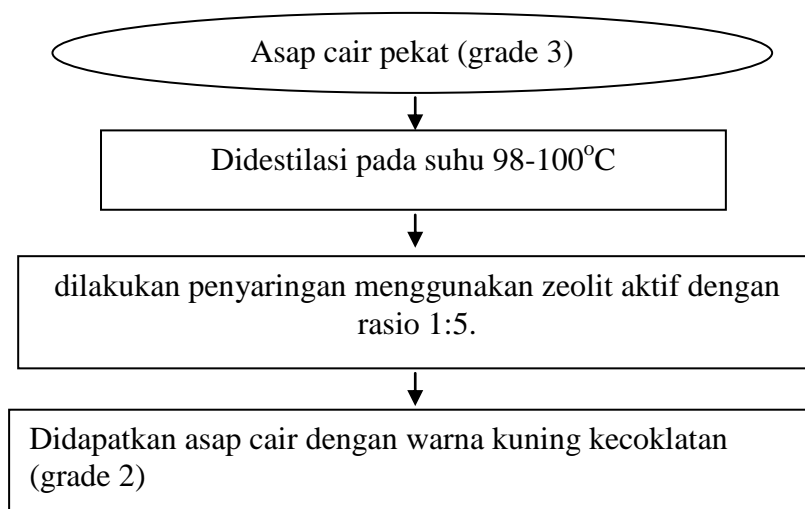
#### **3.4.4. Pemurnian Asap Cair**

Asap cair yang telah melalui tahap sebelumnya tergolong dalam asap cair grade 3. Untuk asap cair yang akan diaplikasikan ke bahan pangan segar harus melalui tahap pemurnian yang lebih kompleks untuk mendapatkan asap cair grade 2. Menurut Yulstiani (2008), asap cair grade 2 didapatkan melalui tahapan destilasi kemudian dilakukan penyaringan zeolit dan dihasilkan asap cair dengan warna kuning kecoklatan.

Pemurnian asap cair dalam penelitian ini dilakukan dengan cara destilasi pada suhu 98-100°C setelah itu akan dilakukan penyaringan menggunakan zeolit aktif dengan rasio 1:5. Hasil penelitian Fatimah (2009) menunjukkan bahwa hasil redistilasi fraksinasi asap cair hanya diperoleh pada satu kisaran suhu yaitu suhu titik didih air yakni 98-100°C. Hasil destilasi fraksinasi asap cair adalah cairan yang masih berbau asap tetapi tidak menyengat, lebih jernih dibandingkan asap asli dan hampir tidak berwarna. Penyaringan menggunakan arang aktif yang digunakan mempunyai rasio 1:5 dengan asap cair, artinya untuk menyerap 100 gram asap cair, digunakan arang aktif sebanyak 20 gram. Penggunaan rasio tersebut didasarkan alasan bahwa pada rasio tersebut, asap yang dihasilkan tidak berwarna dan sangat jernih. Hal tersebut mengindikasikan bahwa tidak ada lagi

tar yang tersisa pada asap, dan diharapkan benzopiren juga tidak terkandung lagi.

Diagram alir pemurnian asap cair disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Diagram alir proses pemurnian asap cair sabut kelapa  
Sumber: Fatimah (2009) di modifikasi

### 3.5. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terhadap ikan tongkol meliputi kadar air (AOAC, 2007), TPC (*total plate count*) (Fardiaz,1992), serta uji organoleptik (Kartika, 1988) berupa warna, tekstur, rasa dan aroma. Berdasarkan analisis yang telah dilakukan, data dengan perlakuan terbaik selanjutnya diuji kadar protein (AOAC, 2007).

#### 3.5.1. Kadar Air (AOAC, 2007)

Uji kadar air dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri. Cawan porselen di keringkan dalam oven selama 30 menit dan didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Sampel sebanyak 2 g dimasukkan kedalam cawan porselen dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105-110°C selama 3-4 jam kemudian

didinginkan dalam desikator selama 15 menit lalu ditimbang dan didapatkan hasil. Cawan berisi sampel kemudian dikeringkan kembali selama 1 jam setelah itu didinginkan dalam desikator selama 15 menit kemudian ditimbang. Pengeringan dilakukan sampai berat konstan yaitu pengurangan bobot tidak lebih dari 0,002 g dari penimbangan pertama. Perhitungan kadar air menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{CS - W2}{W1} \times 100\%$$

Keterangan: CS = Berat cawan + sampel awal (g)

W2 = berat sampel setelah di oven (g)

W1 = Berat sampel awal (g)

### **3.5.2. Total Plate Count (TPC) (Fardiaz, 1992)**

Prinsip kerja dari analisis TPC adalah perhitungan jumlah koloni bakteri yang ada di dalam sampel dengan pengenceran sesuai keperluan yang dilakukan secara aseptik untuk mencegah kontaminasi yang tidak diinginkan. Jumlah koloni bakteri yang dapat dihitung adalah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri antara 30-300 koloni. Sebelum digunakan alat-alat dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Sampel yang telah halus ditimbang sebanyak 5 gram, kemudian dilarutkan ke dalam larutan pengencer steril (larutan garam fisiologis) dengan volume mencapai 50 ml sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-1}$ . Larutan tersebut dipipet 1 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml larutan pengencer steril untuk memperoleh pengenceran  $10^{-2}$  dan seterusnya sampai didapat pengenceran  $10^{-8}$  atau disesuaikan dengan pendugaan tingkat kebusukan ikan tongkol asap

pada saat pengamatan. Setiap tabung reaksi pengenceran tersebut diambil dengan menggunakan pipet sebanyak 1 ml selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan. Tuang 12-15 ml nutrisi agar ke dalam setiap cawan petri kemudian digerakkan secara melingkar di atas meja supaya media NA merata. Setelah NA membeku, cawan petri diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 30°C. Setelah masa inkubasi, koloni yang tumbuh pada cawan petri dihitung dengan jumlah koloni yang dapat diterima 30-300 koloni per cawan dengan menggunakan alat *Colony Counter*.

### **3.5.3. Uji Sensori (Kartika, 1988)**

Uji sensoris pada ikan tongkol meliputi pengamatan aroma, tekstur, dan warna yang diamati selama masa penyimpanan. Metode yang digunakan dalam pengujian aroma, tekstur, dan warna ikan tongkol menggunakan metode hedonik dengan panelis yang digunakan berjumlah 20 orang. Skala penilaian pengujian organoleptik ikan tongkol dengan penambahan asap cair sabut kelapa disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Skala penilaian sensori ikan tongkol dengan penambahan asap cair sabut kelapa

Parameter	Kriteria	Skor
Aroma	Sangat suka	5
	Suka	4
	Netral	3
	Tidak suka	2
	Sangat tidak suka	1
Tekstur	Sangat suka	5
	Suka	4
	Netral	3
	Tidak suka	2
	Sangat tidak suka	1
Warna	Sangat suka	5
	Suka	4
	Netral	3
	Tidak suka	2
	Sangat tidak suka	1

Sumber: Kartika, 1988

#### 3.5.4. Kadar Protein (AOAC, 2007)

Sampel ditimbang (0,10 gram) lalu dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 30 ml. Setelah itu, ditambahkan 1,9 g  $K_2SO_4$ , 40 mg HgO dan 2,5 ml  $H_2SO_4$  serta beberapa tablet kjeldahl. Kemudian sampel dididihkan sampai cairan jernih (sekitar 1-1,5 jam), lalu larutan jernih ini dipindahkan ke dalam alat destilasi. Labu kjeldahl dibilas dengan air sebanyak 5-6 kali dengan akuades (20 ml) kemudian air bilasan tersebut dimasukkan di bawah kondensor dengan ujung kondensor terendam di dalamnya. Lalu ke dalam tabung reaksi ditambahkan larutan NaOH 40% sebanyak 20 ml. Setelah itu cairan dalam ujung kondensor ditampung dengan erlenmeyer 125 ml yang berisi larutan  $H_3BO_3$  dan 3 tetes indikator (campuran metil merah 0,20% dalam alkohol dan metilen biru 0,20% dalam alkohol dengan perbandingan 2:1) yang ada di bawah kondensor. Destilasi dilakukan sampai diperoleh kira-kira 200 ml destilat yang bercampur dengan



H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> dan indikator dalam erlenmeyer. Kemudian destilat dititrasi dengan menggunakan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah. Penetapan blanko dilakukan dengan prosedur yang sama, akan tetapi sampel diganti dengan akuades. Kadar protein dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Nitrogen} = \frac{V. \text{ HCl} \times N. \text{ HCl} \times \text{BM N} \times 14,007 \times fp}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

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