

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian dan Biomassa, Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Maret 2014.

B. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ikan Wader, garam kasar, gula aren, dan nasi. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah aquades, indikator pp, media MRSA, media PCA, garam fisiologis 0,85 %, alkohol 70%, NaOH 0,1 N, dan bahan-bahan kimia untuk analisis protein, lemak dan Total Volatile Nitrogen (TVN) yang diperoleh di Laboratorium Analisis Politeknik Negeri Lampung.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pH meter (*Lovibond*), timbangan (*Shimadzu AY220*), autoklaf, oven (*Memmert*), desikator, inkubator (*Memmert made in Germany*), *hot plate (Thermo scientific)*, *colony counter (Stuart scientific)*, mortar, labu Erlenmeyer, cawan petri, bunsen, mikropipet dan

tip, tabung reaksi, baskom, pisau, toples kecil dan toples besar, serta alat-alat analisis kadar protein, lemak, TVN, dan organoleptik.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial yang terdiri dari empat ulangan. Perlakuan yang diberikan pada tiap ulangan yaitu konsentrasi gula aren (G) yang terdiri dari 6 taraf 10% (G1), 15% (G2), 20% (G3), 25% (G4), 30% (G5), dan 35% (G6) per berat bahan (b/b). Data diolah dengan sidik ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan uji signifikansi untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan. Kesamaan ragam diuji dengan uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Data kemudian dianalisis lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% (Hanafiah, 2001).

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan

Kegiatan yang dilakukan pada tahap persiapan yaitu mempersiapkan bahan-bahan dan peralatan yang akan digunakan untuk penelitian. Persiapan bahan dilakukan dengan membersihkan Ikan Wader yang dicuci bersih dan ditiriskan hingga benar-benar kering. Gula aren yang akan digunakan dikecilkan ukurannya dengan cara diiris-iris. Kemudian nasi dingin (padi varietas IR 64) sebanyak 10 g yang ditambahkan dalam pembuatan joruk disiapkan dan

peralatan yang akan digunakan untuk penelitian juga disiapkan. Setelah persiapan bahan dan alat, selanjutnya dilakukan pembuatan joruk .

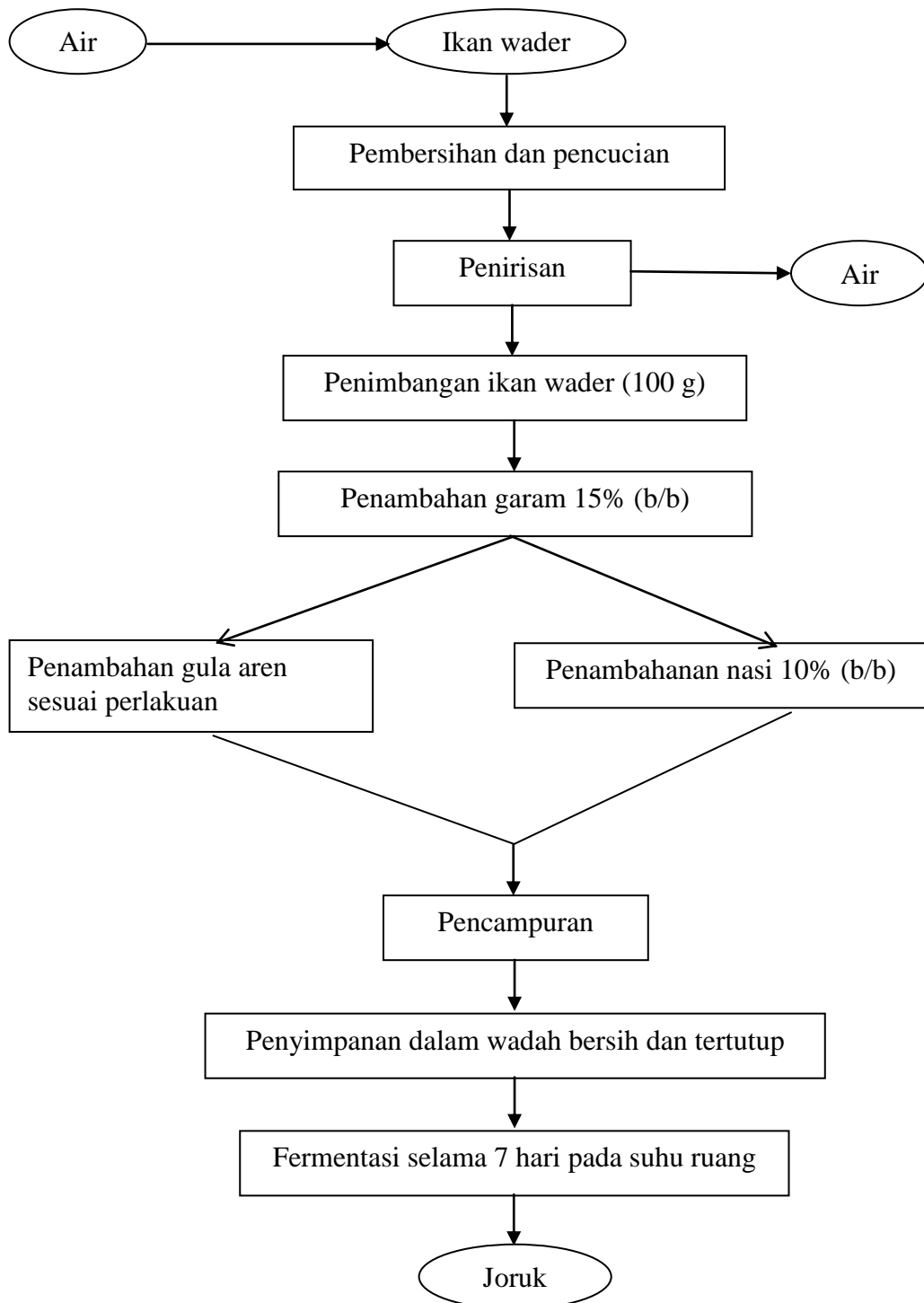
2. Pembuatan Joruk

Pembuatan joruk dilakukan sebanyak 4 ulangan dengan jumlah sampel secara keseluruhan yaitu 24 sampel. Pembuatan joruk dilakukan berdasarkan data hasil wawancara dengan beberapa pembuat joruk di Kabupaten OKU Timur, Sumatera Selatan. Mula-mula Ikan Wader dibersihkan dari sisik dan lendir kemudian ditiriskan untuk menghilangkan air yang mungkin masih tersisa. Setelah itu, Ikan Wader yang telah bersih ditimbang sebanyak 100 g dan dimasukkan ke dalam toples kecil berukuran 150 ml. Kemudian garam ditambahkan sebanyak 15% dari berat ikan (b/b) dan diaduk sampai rata. Selanjutnya ditambahkan gula sesuai perlakuan yaitu 10% (G1), 15% (G2), 20% (G3), 25% (G4), 30% (G5), dan 35% (G6) per berat ikan (b/b), lalu ditambahkan nasi sebanyak 10% dari berat ikan (b/b) dan diaduk sampai rata. Perlu diperhatikan bahwa pengadukan tidak menyebabkan nasi hancur karena nasi diinginkan terlihat hingga akhir fermentasi.

Toples yang telah berisi ikan, garam, nasi, dan gula aren kemudian ditutup rapat. Selanjutnya dimasukkan ke dalam toples yang berukuran lebih besar, diberi lilin yang menyala dan ditutup rapat. Hal tersebut untuk menciptakan kondisi yang anaerob yaitu ditandai dengan lilin yang padam. Selanjutnya difermentasi selama 7 hari, kemudian dilakukan pengamatan. Untuk ulangan selanjutnya dilakukan dengan cara yang sama seperti pada pembuatan joruk

ulangan pertama. Diagram proses pembuatan joruk dapat dilihat pada Gambar

2.



Gambar 2. Diagram alir pembuatan joruk yang telah dimodifikasi.

Sumber: Data Primer, 2013.

E. Pengamatan

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah derajat keasaman (pH), total asam, total bakteri asam laktat (BAL), total mikroba, total volatile nitrogen (TVN), dan kadar air joruk. Selanjutnya perlakuan terbaik dilakukan uji proksimat (kadar protein, kadar lemak dan kadar abu) dan uji organoleptik yang meliputi kenampakan, warna, aroma, dan rasa.

1. Derajat keasaman (pH)

Penentuan pH menggunakan pH meter berdasarkan metode dari Apriyantono dkk. (1989). Sampel ditimbang sebanyak 5 g lalu dimasukkan ke dalam 10 ml aquades, kemudian dihomogenkan. Sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi selama 15–30 menit hingga stabil. Elektroda dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas tisu. Setelah itu elektroda dicelupkan ke dalam media ekstrak ikan. Elektroda dibiarkan tercelup beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil. Sebelum pengukuran sampel, pH-meter distandarisasi dengan buffer fosfat pH 7 dan pH 4. Tahap-tahap yang harus dilakukan dalam standarisasi pH-meter sama dengan cara pengukuran sampel.

2. Total asam laktat

Penentuan total asam laktat dilakukan menggunakan metode titrasi dari Apriyantono dkk. (1989). Sampel sebanyak 10 g dihancurkan dengan blender, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml. Aquades ditambahkan ke dalam labu Erlenmeyer hingga tepat tanda tera, kemudian dihomogen dan

disaring. Filtrat sebanyak 25 ml ditambahkan 2–3 tetes indikator fenolftalein, kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga terbentuk warna merah muda. Perhitungan total asam sebagai persen asam laktat menggunakan rumus :

$$\% \text{ Asam Laktat} = \frac{V \times N \times FP \times 90}{B} \times 100\%$$

Keterangan : V = Volume larutan NaOH (ml)

N = Normalitas larutan NaOH (0,1N)

B = Berat contoh (g)

FP = Faktor pengenceran 0,04

(0,04 = 10 gr dalam 250 ml = 1gr dalam 25 ml)

90 = Berat molekul asam laktat

3. Total bakteri asam laktat (BAL)

Pengujian total BAL dilakukan berdasarkan metode hitungan cawan dari Fardiaz (1989). Sebanyak 1 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan pengencer berupa garam fisiologis 0,85% steril sebanyak 9 ml sehingga diperoleh suspensi sampel dengan pengenceran 10^{-1} sampai dengan pengenceran 10^{-10} . Sebanyak 1 ml sampel masing-masing pengenceran 10^{-8} , 10^{-9} , dan 10^{-10} dipipet dan dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri steril, kemudian dituang media MRS agar steril sebanyak \pm 15 ml (dilakukan secara duplo untuk tiap pengenceran) dan digoyang secara merata

atau seperti angka 8 di atas meja. Setelah media agar memadat, cawan dibungkus dengan kertas lalu diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 36°C–37°C selama 48 jam. Jumlah total bakteri asam laktat dihitung (skala 30–300 koloni) dan dinyatakan dalam cfu/g.

$$\text{Total Bakteri Asam Laktat} = \text{jumlah koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

4. Total mikroba

Pengujian total mikroba dilakukan berdasarkan metode hitungan cawan dari Fardiaz (1989). Sebanyak 1 g sampel diencerkan dengan 9 ml larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) yang telah disterilisasi. Pengenceran ini dihitung sebagai pengenceran 10^{-1} . Pengenceran selanjutnya dilakukan dengan melarutkan 1 ml larutan hasil pengenceran 10^{-1} dengan 9 ml larutan garam fisiologis dan dihitung sebagai pengenceran 10^{-2} dan seterusnya sampai dengan pengenceran 10^{-12} . Sebanyak 1 ml sampel dari masing-masing pengenceran 10^{-10} , 10^{-11} , dan 10^{-12} dipipet dan dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri steril, kemudian dituang PCA steril sebanyak ± 15 ml (dilakukan secara duplo untuk tiap pengenceran) dan digoyangkan secara merata atau seperti angka 8 di atas meja. Setelah media agar memadat, cawan dibungkus dengan kertas lalu diinkubasi posisi terbalik pada suhu 36°C–37°C selama 48 jam. Jumlah total mikroba dihitung dan dinyatakan dalam cfu/g.

$$\text{Total Mikroba} = \text{jumlah koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

5. Total volatil nitrogen (TVN)

Analisis Total Volatil Nitrogen dilakukan dengan metode titrasi dari Apriyantono dkk. (1989). Sampel ditimbang 100 g dan ditambahkan TCA (*Trichloro Acetic Acid*) 5% sebanyak 300 ml dan dihancurkan dengan blender sampai homogen lalu disaring. Kemudian ekstrak TCA 5 ml ditambahkan NaOH 2 N sebanyak 5 ml lalu didestilasi. Destilat ditangkap dengan 15 ml HCl 0,01 M. Kemudian indikator pp sebanyak 2 tetes ditambahkan lalu dititrasi dengan NaOH 0,01 M standar hingga larutan berwarna oranye yang bertahan selama 15 detik (Titrasi I). Perhitungan menggunakan rumus :

$$\text{TVN (mg/100g)} = \frac{14 (300 + W) (15 - V_1) \times 0,01}{5} \times \frac{100}{M}$$

Keterangan : 14 = bobot atom nitrogen

V_1 = volume NaOH 0,01 N pada titrasi I

W = jumlah air yang ada dalam bahan (g)

M = berat sampel (g)

6. Kadar air

Pengujian kadar air dilakukan dengan pengeringan menggunakan oven (Sudarmadji dkk., 1997). Cawan porselen dikeringkan dalam oven selama 30

menit dan didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Sebanyak 3 g sampel dimasukkan ke dalam cawan porselen dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 3–5 jam. Kemudian sampel dalam cawan porselen didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang hingga didapat berat konstan dengan selisih penimbangan kurang dari 0,2 mg. Kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{a - b}{c} \times 100\%$$

Keterangan : a= berat cawan dan sampel sebelum dikeringkan (g)

b= berat cawan dan sampel setelah dikeringkan (g)

c= berat sampel (g)

7. Kadar protein

Pengujian kadar protein dilakukan dengan menggunakan cara Makro-Kjeldahl dari Sudarmadji dkk. (1997). Sampel yang telah ditimbang sebanyak 1 g, selanjutnya dihaluskan dan dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl. Kemudian ditambahkan 7,5 g $K_2S_2O_4$, 0,35 g HgO , dan ditambahkan 15 ml H_2SO_4 pekat. Kemudian semua bahan dalam labu Kjeldahl dipanaskan dalam lemari asam sampai berhenti berasap. Pemanasan diteruskan dengan api besar sampai mendidih dan cairan menjadi jernih. Pemanasan diteruskan hingga lebih kurang 1 jam lalu didinginkan. Selanjutnya ditambahkan 100 ml aquades dalam labu Kjeldahl yang didinginkan dalam air es dan beberapa lempeng Zn, juga ditambahkan 15 ml larutan K_2S 4% (dalam air) dan akhirnya ditambahkan

larutan NaOH 50% sebanyak 50 ml yang telah didinginkan dalam lemari es perlahan-lahan.

Setelah itu, labu Kjeldahl dipasang pada alat destilasi dan dipanaskan perlahan-lahan hingga dua lapisan cairan tercampur kemudian dipanaskan sampai mendidih. Destilat ditampung dalam Erlenmeyer yang telah diisi dengan 50 ml larutan standar HCl (0,1 N) dan 5 tetes indikator metil merah. Destilasi dilakukan hingga destilat yang tertampung sebanyak 75 ml. Destilat selanjutnya dititrasi dengan standar NaOH (0,1 N) hingga berwarna kuning. Larutan blanko dibuat dengan mengganti bahan dengan aquades dan dilakukan destruksi, destilasi, dan titrasi seperti bahan pada sampel. Perhitungan %N yaitu sebagai berikut:

$$\% N = \frac{(\text{ml NaOH blanko} - \text{ml NaOH contoh})}{\text{g contoh} \times 10} \times N \text{ NaOH} \times 14,008$$

% Protein = % N x faktor konversi

Keterangan: NaOH = Normalitas NaOH

14,008 = Berat atom nitrogen

8. Kadar lemak

Pengujian kadar lemak dilakukan dengan ekstraksi menggunakan soxhlet berdasarkan metode dari Sudarmadji dkk. (1997). Sebanyak 2 g bahan yang telah dihaluskan dicampur dengan 8 g pasir yang telah dipijarkan dan

dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi soxhlet dalam thimble. Air pendingin dialirkan melalui kondensor dan tabung ekstraksi dipasang pada alat destilasi soxhlet dengan pelarut petroleum eter secukupnya selama 4 jam. Setelah residu dalam tabung ekstraksi diaduk, ekstraksi dilanjutkan selama 2 jam dengan pelarut yang sama. Petroleum eter yang telah mengandung ekstrak lemak dan minyak dipindahkan ke dalam botol timbang yang bersih dan diketahui beratnya kemudian diuapkan dengan penangas air sampai agak pekat. Pengeringan diteruskan dalam oven (100°C) sampai berat konstan. Berat residu dalam botol timbang dinyatakan sebagai berat lemak dan minyak.

9. Kadar abu

Pengujian kadar abu dilakukan berdasarkan metode gravimetri dari Sudarmadji dkk. (1997). Analisis kadar abu ditentukan dengan menimbang sisa mineral hasil pembakaran organik pada suhu 550°C . Pengukuran kadar abu dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 3–5 g dan dimasukkan ke dalam cawan pengabuan yang telah mencapai berat konstan. Cawan dan sampel dimasukkan ke dalam tanur untuk diabukan pada suhu 550°C selama 5 jam. Cawan dikeluarkan dari dalam tanur setelah suhu tanur di bawah 100°C dan dimasukkan ke dalam desikator lalu ditimbang sampai didapatkan berat konstan. Kadar abu ditentukan dengan rumus :

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{\text{Berat abu (g)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100\%$$

10. Pengujian sifat sensori

Penilaian sifat sensori joruk dilakukan dengan pengamatan terhadap kenampakan, aroma, dan rasa secara inderawi. Metode pengujian yang digunakan yaitu menggunakan metode pengujian deskriptif (Nurainy dan Nawansih, 2006). Panelis yang digunakan adalah panelis terlatih dengan jumlah panelis 8 orang (Nurainy dan Nawansih, 2006). Panel yang dipilih adalah panel yang pernah atau sering mengonsumsi ikan yang difermentasi (seperti bekasam dan rusip). Langkah pengujian sifat sensori dilakukan melalui dua tahap. Tahap pertama dilakukan diskusi panel untuk merumuskan serta menyamakan persepsi mengenai atribut sensori (meliputi: warna, aroma, rasa, dan kenampakan) joruk yang akan diuji. Selanjutnya pada tahap kedua panelis melakukan penilaian terhadap atribut sensori joruk. Panelis menentukan intensitas dari masing-masing parameter yang diuji dengan menggunakan garis skala 1–10 yang telah disediakan di lembar kuisioner (lampiran).

F. Pemilihan perlakuan terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik didasarkan pada hasil pengamatan terhadap parameter total BAL joruk yang dihasilkan. Perlakuan terbaik dipilih yang memiliki total BAL tinggi dan secara statistik berbeda nyata. Perlakuan terbaik tersebut selanjutnya diuji kandungan protein, lemak, abu, dan sifat sensorinya sebagai informasi tambahan.