

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian eksperimen (*experimental research*) adalah jenis penelitian yang bersifat pengamatan dalam kondisi terkendalikan dengan menentukan pengaruh pada unsur variabel lain (Nazir, 2013). Menggunakan rancangan penelitian rancangan acak lengkap (RAL), mengambil empat perlakuan dengan tiga ulangan pada sampel perlakuan F0 sebagai kontrol, F1 dengan konsentrasi kitosan dan ekstrak jahe 1%, F2 dengan konsentrasi kitosan dan ekstrak jahe 2%, dan F3 dengan konsentrasi kitosan dan ekstrak jahe 3%.

3.2 Partisipan

Partisipan penelitian untuk uji Organoleptik membutuhkan panelis 11 orang untuk mengisi lembar kerja atau skor sheet SNI 2009. 11 orang panelis terlatih dipilih dari Mahasiswa Jurusan Pendidikan Kelautan dan Perikanan yang sebelumnya telah mempelajari Mata Kuliah Organoleptik.

3.3 Objek Penelitian

Fillet ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

3.4 Instrumen Penelitian

Waktu penelitian bulan Februari – Maret 2023. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Sumberdaya Pendidikan Kelautan dan Perikanan Universitas Pendidikan Indonesia Kampus Serang.

1. Pemilihan ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan nila dibeli di Kecamatan Serang dalam keadaan hidup dan sehat, dengan ukuran sama, yang memiliki daging tebal agar mempermudah proses *fillet*, ukuran ikan nila yang dibeli berukuran besar. 1 kilogram terdapat dua ekor ikan nila segar.

2. Proses *fillet* ikan nila

Ikan nila di *fillet* dalam waktu bersamaan, sehingga memiliki kualitas masa umur yang sama.

3. Pelarutan kitosan dan ekstrak jahe merah

Proses pelarutan kitosan dan ekstrak jahe hingga menjadi larutan dilakukan di Laboratorium Sumberdaya Kelautan dan Perikanan Universitas Pendidikan Indonesia Kampus Serang Serang.

4. Pengaplikasian campuran kitosan-ekstrak jahe merah

Penggunaan campuran kitosan-ekstrak jahe merah yang meliputi perendaman *fillet* ikan nila, hingga pengemasan pada plastik *twin wall* dan plastik *wrap* dilakukan di Laboratorium Sumberdaya Kelautan dan Perikanan Perikanan Universitas Pendidikan Indonesia Kampus Serang.

5. Pengujian

Uji produk sampel *fillet* ikan nila yang berupa uji organoleptik dengan pengamatan berdasarkan lembar SNI 01-2345-2006, kemudian dilakukan analisis data Kruskal Wallis dengan uji lanjut Post Hoc menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) dan sampel *fillet* ikan nila dilakukan uji mikrobiologi dengan media agar PCA.

3.5 Prosedur Penelitian

1. Persiapan Alat dan Bahan

Alat digunakan untuk *fillet* ikan nila (*Oreochromis niloticus*) adalah Pisau, Talenan, Wadah. Alat yang digunakan dalam proses pembuatan larutan kitosan dan ekstrak jahe hingga perendaman dan penyimpanan di suhu ruang adalah Meja proses, Gelas ukur 100 mL, Timbangan analitik, Sarung tangan, Masker, *Hotplate*, Pengaduk, Wadah sampel, *Vortex* atau *stitter*, *Aluminium foil*, *Plastic wrap*, Plastik *twin wall*, Tisu. Alat yang digunakan pada proses uji mikrobiologi adalah Tabung reaksi, Rak tabung reaksi, Timbangan analitik, Tisu, Kapas, Sarung tangan, Masker, Wadah sampel, Jas laboratorium, Cawan petri, *Mikropipet*, Gelas ukur, Tabung Erlenmeyer, *Spatula* atau pengaduk, *Vortex*, *stirer*, *Hotplate*, *Bunsen*, *Autoclave*, *Jarum Ose*.

Bahan yang digunakan adalah *Fillet* Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang segar, Kitosan bubuk, Ekstrak jahe merah produk bubuk, Bahan media agar PCA (*Plate Count Agar*), Larutan pengencer Nacl 0,9 %, Alkohol 70 %, Asam asetat.

2. Membuat Fillet Ikan Nila

a) Memilih Ikan Nila



Gambar 3.1 Ikan Nila Segar
(Dokumentasi Penelitian 2023)

Mengonsumsi ikan harus memilih ikan yang segar agar aman bagi kesehatan dan tidak menyebabkan dampak negatif bagi tubuh. Dalam hal ini perlu mengetahui ciri-ciri ikan segar, diantaranya :

1) Mata

- Memiliki mata yang cerah, warna putih dan hitam tampak terlihat
- Memiliki mata yang bening tanpa ada cacat
- Mata ikan yang terlihat menonjol atau cenderung mengarah ke bagian luar

2) Insang

Ikan segar memiliki ciri insang terlihat nampak warna merah dan tertutup lendir bening. Apabila warna insang sudah berubah warna menjadi kecoklatan, maka kemungkinan ikan mulai membusuk.

- 3) Secara keseluruhan ikan segar memiliki warna terang dan memiliki lendir yang bening. Sebaliknya ikan yang sudah tidak segar memiliki warna yang pudar dan lendir yang kelabu.
- 4) Memiliki bau segar atau seperti bau laut, jika baunya sudah tercium asam dan busuk maka dipastikan ikan tersebut tidak segar.
- 5) Kondisi daging memiliki warna sesuai jenis ikan, tekstur yang padat dan kenyal, dan bila daging ditekan maka bekasnya segera hilang.
- 6) Ikan segar memiliki sisik yang menempel kuat pada kulit ikan, sebaliknya pada ikan yang tidak segar, sisik akan mudah mengelupas pada kulit ikan.
- 7) Dinding perut yang utuh dan elastis, berbeda dengan ikan yang tidak segar memiliki dinding perut yang mengembek, pecah, isi perut keluar dan lembek.
- 8) Jika didalam air, ikan segar yang sudah mati akan tenggelam dalam air, namun ikan yang tidak segar akan mengapung dalam air.

b) Preparasi ikan nila (*Oreochromis niloticus*)



Gambar 3.2 Preparasi Ikan Nila
(Dokumentasi Penelitian, 2023)

- Melakukan pegangan yang kuat dibagian kepala ikan dengan tangan kiri dan tangan kanan untuk memegang pisau

yang tajam, kemudian dilakukan pengirisan pada bagian perut hingga bagian anus ikan.

- Setelah ikan tidak ada pergerakan, usus atau jeroan ikan nila diambil perlahan, dan harus diperhatikan supaya kantong empedu tidak pecah.
- Ikan yang sudah bersih dari jeroan, kemudian dilakukan pembersihan sisik dan sirip ikan nila. Sisik dibersihkan dari arah buntut menuju kepala ikan nila. Setelah itu memotong sirip bagian atas dan bawah ekor ikan nila.
- Membersihkan bagian dalam kepala ikan nila, termasuk insang dan darah yang ada dalam kepala.
- Setelah semua tahap dilakukan, selanjutnya ikan nila dibersihkan dengan air mengalir.
- Dibawah ini gambar proses *filleting* ikan nila (Gambar 3.3)



Gambar 3.3 Proses Pembuatan *Fillet* Ikan Nila
(Dokumentasi Penelitian, 2023)

- Filleting ikan nila harus menggunakan pisau yang tajam agar memudahkan saat proses *filleting*. Syarat pisau harus tipis, tajam dan panjang.
- Menyayat daging ikan dimulai dari pangkal ekor hingga ke atas sebelum kepala dalam satu kali gerakan memotong. Hal ini dapat dipraktikkan untuk kedua sisi ikan nila. Hasil akhir hanya mengambil daging nya saja, bagian seperti tulang kepala dan lainnya bisa dijadikan produk olahan lain.

- Bagian kulit terluar ikan nila dikelupas dengan pisau secara perlahan. Hal ini bertujuan agar daging ikan tidak rusak akibat penarikan kulit ikan. Sehingga didapatkan hasil akhir hanya daging ikan saja.
- Daging *Fillet* ikan nila tidak dicuci dengan air, namun hanya cukup dengan dikeringkan dengan tissue kering dengan cara daging ditepuk menyerap pada tisu.
- *Fillet* ikan nila sudah siap. Kemudian sisihkan di wadah yang bersih dan diberi penutup, untuk menjaga kesterilan produk *fillet* ikan nila.
- Dibawah ini gambar hasil *fillet* ikan nila pada kegiatan penelitian (Gambar 3.4).



Gambar 3.4 *Fillet* Ikan Nila
(Dokumentasi Penelitian, 2023)

3. Pembuatan Konsentrasi Larutan Kitosan dengan Ekstrak Jahe

Pembuatan larutan kitosan dan ekstrak jahe, konsentrasi sebanyak 1 %, 2 %, 3 % sebagai berikut :

1)

$$\% = \frac{1 \text{ gr zat terlarut}}{1 \text{ gr zat terlarut} + 99 \text{ ml zat pelarut}} \times 100 \% = 1\%$$

Zat terlarut : kitosan 0,5 gram dan 0,5 gram ekstrak jahe

Zat pelarut : 95 ml akuades dan 4 ml asam asetat.

2)

$$\% = \frac{2 \text{ gr zat terlarut}}{2 \text{ gr zat terlarut} + 98 \text{ ml zat pelarut}} \times 100 \% = 2\%$$

Zat terlarut : kitosan 1 gram dan 1 gram ekstrak jahe

Zat pelarut : 94 ml akuades dan 4 ml asam asetat

3)

$$\% = \frac{3 \text{ gr zat terlarut}}{3 \text{ gr zat terlarut} + 97 \text{ ml zat pelarut}} \times 100 \% = 3 \%$$

Zat terlarut : kitosan 1,5 gram dan 1,5 gram ekstrak jahe

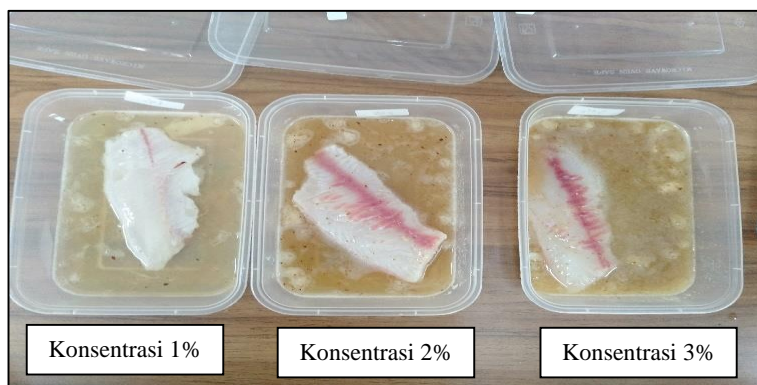
Zat pelarut : 93 ml akuades dan 4 ml asam asetat

Pengadukan pada suhu 40° C selama 10 menit menggunakan *hotplate dan magnetik stirrer*. Pelarut disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan padatan yang tidak terlarut. Diamkan hingga larutan benar-benar dingin, agar tidak mempengaruhi tekstur dan warna daging *fillet* ikan nila. Pada bagian ini dibutuhkan kesabaran. Setelah larutan kitosan dan ekstrak jahe dingin, fillet ikan nila dilakukan perendaman dengan komposisi kitosan dan ekstrak jahe 0 %, 1 %, 2 % dan 3 % dalam waktu satu jam. Kemudian tutup wadah, agar menjaga kontaminasi bakteri masuk ke dalam sampel.

4. Aplikasi Campuran Kitosan dan Ekstrak Jahe pada Fillet Ikan Nila

Ikan nila yang telah *difillet*, direndam dalam campuran kitosan dan ekstrak jahe dengan perlakuan yang berbeda, selama satu jam. Kemudian angkat dan disimpan kedalam plastik wrap dengan rapat dan rapi. Masing-masing sampel dimasukkan ke dalam wadah plastik *twin wall* yang berukuran setara dengan sampel, kemudian tutup rapat. Diamkan 24 jam, dan dilakukan pengamatan jam ke-4, 8, 20, dan 24.

Sampel ikan nila yang sudah didiamkan dalam suhu ruang selama 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan uji organoleptik setiap jam ke-4, 8, 20 dan jam ke-24, selain pengamatan uji organoleptik dilakukan uji mikrobiologi. Dibawah ini gambar proses perendaman fillet ikan nila dengan konsentrasi berbeda kitosan dan ekstrak jahe (Gambar 3.5)



Gambar 3.5 Perendaman Fillet Ikan Nila dengan Kitosan dan Ekstrak Jahe

(Dokumentasi Penelitian, 2023)

5. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan oleh 11 orang panelis. Pengujian organoleptik pada produk dilakukan dengan mengisi formulir yang telah diberikan sesuai lembar penilaian (*score sheet*) yang merujuk pada SNI 01-2346-2006. Poin yang dinilai oleh panelis mulai dari 1, 3, 5, 6, 7, dan 9. Sedangkan parameter yang di uji adalah parameter kenampakan, parameter bau dan parameter tekstur. Dibawah ini gambar proses pengujian Uji Organoleptik oleh 11 orang panelis (Gambar 3.6).



Gambar 3.6 Proses Penilaian Uji Organoleptik

(Dokumentasi Penelitian, 2023)

Data panelis terhadap sampel fillet ikan nila dalam bentuk lembar penilaian yang merujuk pada SNI 01-2346-2006, dilakukan analisis data dengan menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Science*), dengan menguji data non-parametrik Kruskal Wallis dengan uji lanjut Post Hoc.

6. Uji Mikrobiologi

Uji mikrobiologi dilakukan untuk mengetahui adanya pertumbuhan bakteri pada sampel fillet ikan nila, sehingga berdampak pada kualitas dan daya tahannya. Uji mikrobiologi terjadi bakteri yang ditumbuhkan pada suatu media pertumbuhan di lingkungan yang terkontrol (media agar) dan diinkubasi selama 3 x 24 jam pada suhu 35° C. Pada tahap ini sangat dibutuhkan keadaan yang terkontrol dan lingkungan serta pengerjaan yang steril, karena rentan akan kontaminasi bakteri.

Sampel fillet ikan yang diberi perlakuan berbeda oleh kitosan dan ekstrak jahe, kemudian didiamkan pada suhu ruangan selama 24 jam. Prosedur selanjutnya dilakukan uji mikrobiologi dengan menggunakan media agar PCA (*Plate Count Agar*) yang memiliki kandungan protein sebagai media tumbuhnya bakteri fillet ikan nila.



Gambar 3.7 Persiapan Alat dan Bahan Uji Mikrobiologi
(Dokumentasi Penelitian, 2023)

a) Sampel *Fillet* Ikan Nila

- Timbang sampel
Sampel *fillet* ikan ditumbuk dengan mortar, kemudian dihomogenkan dengan larutan pengencer NaCl 0,9 %.
- 25 gram sampel *fillet* ikan nila + 225 ml larutan pengencer NaCl 0,9 %.
- Dikocok selama 30 detik dengan kecepatan 230 RPM, hingga homogen.

- Sampel diberi label pada sampel perlakuan F0, perlakuan F1, perlakuan F2, dan perlakuan F3.
- b) Membuat media agar PCA (*Plate Count Agar*)
- Timbang media agar PCA, kemudian masukkan ke dalam Erlenmeyer 5,6 gram media PCA + 250 ml akuades.
 - Sitter atau aduk diatas *hotplate* sampai mendidih pada suhu 100° C, sampai larutan media agar PCA (*Plate Count Agar*) berwarna jernih bersih.
 - Erlenmeyer ditutup dengan rapat dengan kapas, hingga berbunyi klop. Kemudian bungkus dengan kertas bekas untuk disterilkan di dalam autoclave.
 - Sterilkan di autoclave, bersamaan dengan alat lainnya pada suhu 121°C tekanan 1,5 atm, dalam waktu kurang lebih 15 menit.
 - Setelah disterilkan, media agar PCA di angkat dan didiamkan hingga benar-benar dingin.
- c) Inkubasi dan penanaman bakteri
- Setiap tahapan dilakukan secara aseptis atau steril dan terkontrol.
 - Tuang media agar PCA yang sudah dingin atau hangat kuku sebanyak 15-20 ml atau dengan ketebalan 1 cm pada cawan petri. Ratakan dan biarkan hingga media agar memadat.
 - Sampel ikan dan larutan pengencer yang sudah homogen, diambil sebanyak 1 ml lalu masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml pengencer (10^{-2}), kemudian diambil 1 ml dari pengenceran (10^{-2}) dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan pengencer sebanyak 9 ml (10^{-3}). Penelitian ini diambil sampel pada pengenceran 10^{-3} .
 - Masukkan sampel *fillet* ikan nila dari proses pengenceran 10^{-3} dengan mengambil sampel pada tabung reaksi pengenceran 10^{-3} menggunakan jarum ose. Cara ini disebut metode gores.

- Jarum ose yang sudah mengambil sampel di tabung reaksi, kemudian dilakukan penggoresan pada media agar yang sudah padat di cawan petri.
- Setiap perlakuan, proses gores secara sinambung pada media agar di cawan petri (dilakukan dekat api Bunsen sehingga aseptis).
- Bungkus cawan yang berisi media agar dengan kertas.
- Inkubasi media selama 3 x 24 jam di suhu ruangan yang steril.
- Koloni yang tumbuh pada cawan petri dihitung dengan menggunakan *colony counter* atau dengan cara manual dengan menghitung secara detail dengan menggunakan senter untuk memperjelas tumbuhnya koloni bakteri dan alat spidol.

3.6 Teknik Analisis Data

1. Metode Perhitungan Uji Organoleptik

Analisis perhitungan uji organoleptik digunakan untuk mengetahui nilai uji organoleptik yang telah dilakukan oleh 11 orang panelis terlatih. Uji organoleptik ini menggunakan penilaian skala 1 - 9. Hasil uji organoleptik pada sampel *fillet* ikan nila mengamati beberapa parameter keadaan *fillet* ikan nila, diantaranya parameter kenampakan, parameter bau, dan parameter tekstur. Skor penilaian organoleptik pada *fillet* ikan nila terhadap aspek yang dinilai merujuk pada lembar penilaian sensori *fillet* ikan nila, SNI 01-2346-2006. Data dilakukan analisis menggunakan SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) uji Kruskal Wallis Non-Parametrik selanjutnya dilakukan uji lanjut yaitu uji Post Hoc dengan menggunakan SPSS.

- a) Data yang didapat dari uji organoleptik 11 orang panelis, seolah akan menguji hipotesis “Adakah pengaruh atau perbedaan pemberian larutan kitosan dan ekstrak jahe dengan konsentrasi berbeda 0% sebagai kontrol, larutan kitosan dan ekstrak jahe 1%, 2%, dan 3% pada sampel *fillet* ikan nila yang di uji terhadap parameter uji kenampakan”. Sebagai variabel bebas adalah

konsentrasi kitosan dan ekstrak jahe dengan 4 kategori konsentrasi: konsentrasi 0%, 1%, 2%, dan 3%.

- b) Untuk mengetahui apakah semua kelompok perlakuan atau konsentrasi memiliki variabilitas parameter kenampakan yang sama ada berbeda. Variabilitas yang dimaksud disini adalah bentuk dan sebaran data. Apabila nanti nilai parameter kenampakan dari uji independent sampel ini Nilai signifikansi > 0.05 menunjukkan tidak terdapat perbedaan rata-rata antar subjek penelitian. Dan apabila Nilai signifikansi < 0.05 menunjukkan adanya perbedaan rata-rata antar subjek penelitian. Sedangkan pada penelitian ini, menghasilkan nilai signifikansi < 0.05 menunjukkan adanya perbedaan rata-rata antar subjek penelitian, sehingga dilakukan uji non-parametrik K-Independent Sampels.
- c) Data yang dihasilkan menunjukkan hasil nilai signifikansi < 0.05 yang berarti data memiliki perbedaan nyata, sehingga dilakukan uji non-parametrik test *Kruskal Wallis*. Uji *Kruskal Wallis* merupakan salah satu uji statistik dalam bentuk non parametrik, uji *Kruskal Wallis* ini dapat digunakan untuk menguji apakah ada perbedaan yang signifikan antara kelompok variabel independen dengan variabel dependennya (Balani, 2022).
- Uji statistik nonparametrik sendiri merupakan uji statistik yang tidak memerlukan asumsi tentang distribusi data populasi. Statistik nonparametrik tidak memerlukan bentuk parameter populasi yang terdistribusi secara alami. Statistik nonparametrik dapat digunakan untuk menganalisis data skala nominal atau ordinal karena data nominal dan ordinal umumnya tidak menyebar secara alami atau normal.
- d) Uji lanjut Post Hoc, adalah jenis uji statistik yang dilakukan setelah dilakukan analisis varians (ANOVA) atau analisis kovarian (ANCOVA) yang menunjukkan perbedaan signifikan antara setidaknya dua kelompok data. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk menentukan pasangan kelompok yang memiliki perbedaan

signifikan. Studi post-hoc dilakukan dalam analisis eksperimental yang melibatkan beberapa kelompok perlakuan. Sama seperti penelitian disertasi ini dengan perlakuan uji multi sampel. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan, dilakukan uji lanjutan yaitu uji post hoc untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang berbeda secara signifikan. Analisis data lanjutan Post Hoc penelitian ini, dilakukan uji Post Hoc jenis LSD.

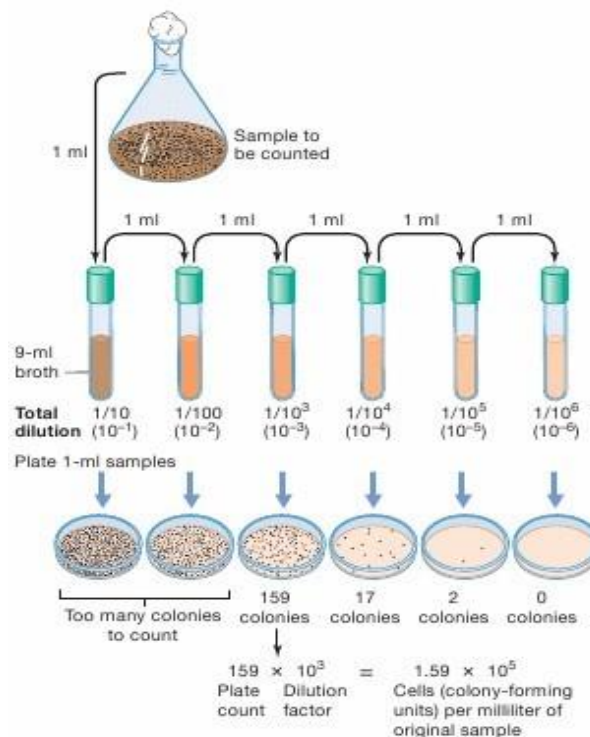
2. Uji Mikrobiologi

Metode penentuan jumlah total bakteri dengan uji mikrobiologi ditujukan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri pada sample fillet ikan nila. Kesegaran ikan merupakan kriteria paling penting untuk menentukan mutu dan daya awet dari ikan yang diinginkan. Uji mikrobiologi dilakukan dengan bakteri yang ditumbuhkan pada suatu media pertumbuhan (media agar) dan diinkubasi selama 72 jam pada suhu 35° C, pada lingkungan yang steril dan terkontrol. Batas maksimum jumlah bakteri untuk ikan segar yaitu 5×10^5 CFU/g (SNI 7388:2009).

Uji mikrobiologi dalam penelitian ini, dilakukan inokulasi bakteri menggunakan metode gores dengan jarum ose. Cara ini dilakukan untuk mengetahui kultur murni bakteri yang telah ditumbuhkan pada media agar. Setelah diinkubasi selama 3 x 24 jam, bakteri yang tumbuh pada media agar di cawan petri dihitung secara manual dengan menggunakan bantuan alat seperti spidol untuk menandakan adanya bakteri, dan senter digunakan untuk memperjelas bakteri yang tumbuh.

Prinsip dari metode pengujian mikrobiologi atau pada hitungan cawan adalah menumbuhkan sel mikroorganisme atau organisme yang sangat mikro sehingga tidak bisa dilihat oleh kasat mata langsung, yang masih tumbuh hidup pada media agar, sehingga mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan bantuan alat pembesar mikroskop. Metode ini merupakan metode yang paling sensitif untuk menentukan jumlah mikroorganisme.

Proses kerja pengujian mikrobiologi adanya teknik pengenceran merupakan hal yang harus dikuasai dan difahami. Sebelum mikroorganisme ditumbuhkan dalam media, terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampel menggunakan larutan fisiologis, dalam penelitian ini menggunakan pengencer larutan NaCl 0,9 %. Tujuan dari pengenceran sampel yaitu mengurangi jumlah kandungan mikroba dalam sampel sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara spesifik sehingga didapatkan perhitungan yang tepat. Pengenceran memudahkan dalam perhitungan koloni (Fardiaz, 1992).

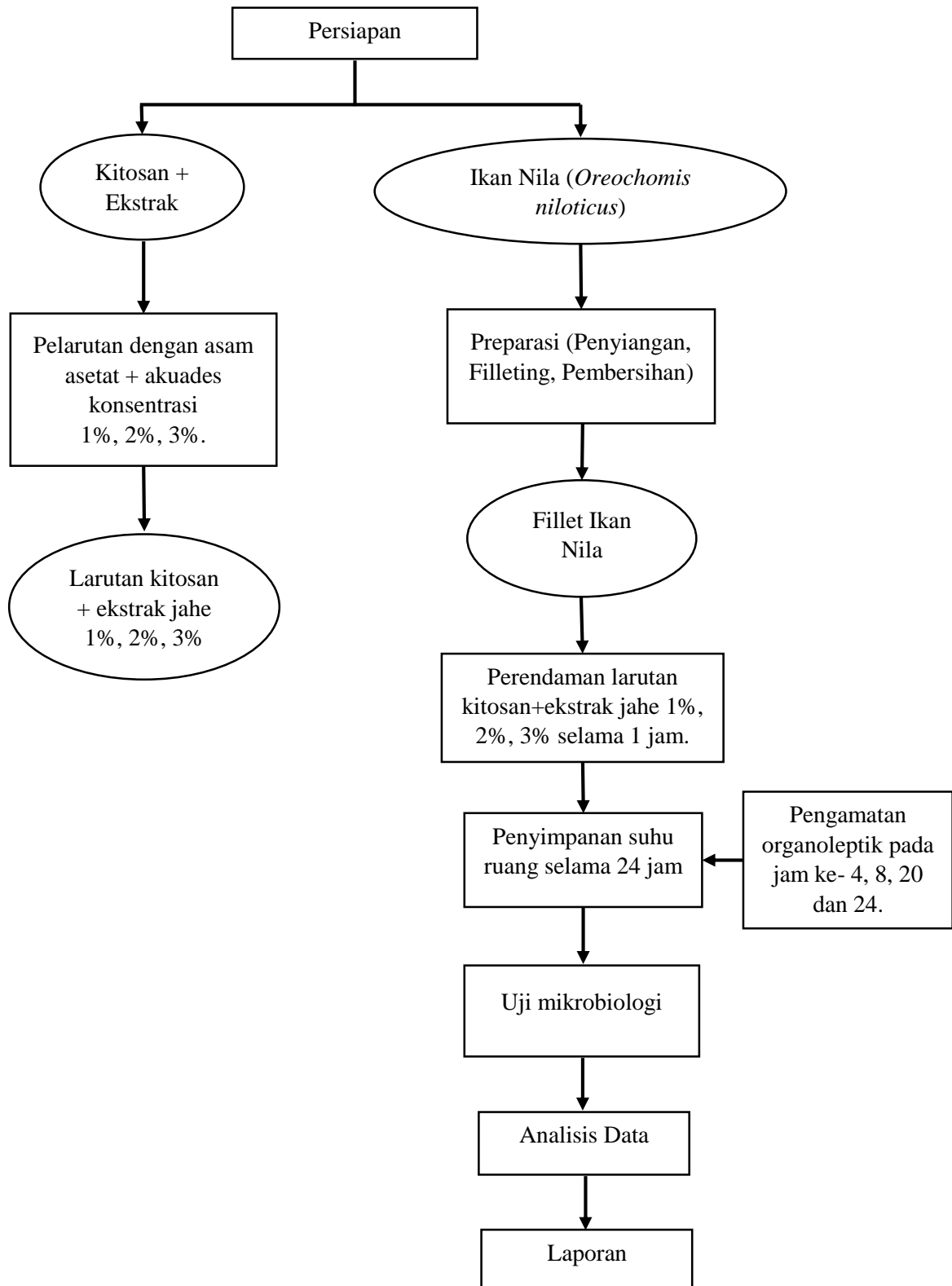


Gambar 3.8 Teknik Pengenceran Sampel dan Cara Hitung (Anonim, 2015)

Terdapat beberapa tahapan pengenceran yang perlu diperhatikan, dimulai dari membuat larutan sampel sebanyak 10 ml (campuran 1 ml sampel dengan 9 ml larutan fisiologis (larutan NaCl 0,9 %)). Dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 ml dan masukkan kedalam 9 ml larutan fisiologis (larutan NaCl 0,9 %) sehingga didapatkan pengenceran 10^2 . Dari pengenceran 10^2 diambil lagi 1 ml dan

dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan fisiologis (larutan NaCl 0,9 %) sehingga didapatkan pengenceran 10^3 dan dari pengenceran 10^3 diambil 1 ml kemudian dimasukkan pada tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan fisiologis (larutan NaCl 0,9 %), begitu seterusnya sampai mencapai pengenceran yang kita harapkan (Waluyo, 2005).

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3.9 Alur Penelitian