

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan, di unit pembekuan ikan Tuna di PT. Hatindo Makmur yang berlokasi di jalan Tuna III Pelabuhan Bena, Kabupaten Denpasar, Provinsi Bali. Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 1 - 31 Desember 2015.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Alat-alat Penelitian

Tabel 3.1
Alat Penelitian dan Fungsinya

NO	Alat	Fungsi
1.	Jas Kerja	: Sebagai penutup badan pada saat proses
2.	Masker	: Sebagai penutup mulut dan hidung
3.	Sarung Tangan	: Sebagai penutup permukaan tangan
4.	Sepatu Boot	: Sebagai penutup alas kaki sampai ke betis
5.	Thermometer Digital	: Sebagai alat pengukur suhu ikan
6.	Plastik	: Untuk membawa Sample ikan
7.	Alat Tulis	: Untuk mencatat data
8.	Kamera	: Untuk mengambil gambar saat proses

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Ikan Tuna Sirip Biru (*Thunnus thynnus*) ditangkap oleh kapal Bintang Mas Milenium dengan area penangkapan di samudera hindia.

Tabel 3.2
Bahan Penelitian dan Keterangan

NO	Bahan	Keterangan
1.	Tuna <i>Loin</i> Beku :	yaitu daging <i>loin</i> Tuna yang disimpan pada freezer dengan suhu -18°C selama 24 jam, sehingga kondisi <i>loin</i> saat dipotong menjadi <i>steak</i> dalam keadaan beku.
2.	Tuna <i>Loin</i> Segar :	yaitu daging <i>loin</i> Tuna yang disimpan pada chilling room dengan suhu $1 - 4^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam, sehingga kondisi <i>loin</i> saat dipotong menjadi <i>steak</i> dalam keadaan segar.

3.3 Metode penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah: metode eksperimen, yaitu data dikumpulkan melalui percobaan dan pengamatan langsung terhadap objek yang diamati (Sastrosupadi, 2000).

3.3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan tunggal berupa bahan baku *loin* yang berbeda, yaitu:

A = *Loin* Tuna Beku B = *Loin* Tuna Segar

Jumlah ulangan (replikasi) percobaan ini menggunakan rumus Fredererd yaitu

$$\begin{aligned} (n-1)(t-1) &= 15 \\ (n-1)(2-1) &= 15 \\ (n-1)1 &= 15 \\ n+1 &= 15 \\ n &= 14 \end{aligned}$$

Rumus ini digunakan karena pada percobaan ini menggunakan metode eksperimen, dimana semua unit sudah diusahakan pada kondisi yang sangat terkontrol / terkendali dengan baik, sehingga betul-betul hanya pengaruh efek bahan baku *loin* tuna berbeda yang diharapkan berpengaruh terhadap kualitas tuna *steak* beku.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Tahapan Persiapan

Persiapan yang dilakukan yaitu ada tiga tahapan yaitu:

a. Persiapan Bahan Baku

Bahan baku yang datang ke perusahaan dilakukan pengecekan oleh petugas pengecekan (*checker*). Pengecekan dilakukan untuk mengetahui mutu bahan baku yaitu dengan cara menusukkan alat *checker* (yang panjang berlubang dan ujungnya berbentuk runcing) pada pangkal ekor atau dibawah sirip punggung, kemudian di putar dan ditarik keatas, daging ikan yang ada pada lubang alat *checker* diambil kemudian di cek kesegarannya secara penglihatan (*visual*) yang bertujuan untuk mengetahui kesegaran bahan baku. Ciri-ciri daging yang diterima oleh pihak perusahaan dengan kenampakkan daging merah, tidak lembek dan tidak berbau busuk. Lalu ikan dimasukkan satu-persatu kedalam ruang penerimaan untuk dilakukan penyemprotan dengan air khlorin 20 ppm sehingga bahan baku yang hendak diproses benar-benar bersih.

b. Persiapan Pekerja

Persiapan yang dilakukan sebelum melaksanakan penelitian yaitu harus memakai pakaian kerja lengkap (baju proses, masker, penutup kepala dan sepatu *boot*) untuk *apron* dan sarung tangan digunakan didalam ruang proses, seluruh perlengkapan kerja harus sudah dalam keadaan bersih sebelum masuk ke ruang proses dan dilarang memakai perhiasan tangan (cincin, gelang, arloji, dan lain-lain).

c. Persiapan Proses

Agar penerapan GMP dan SSOP dapat berjalan dengan baik maka dalam pengolahan tuna *steak* beku manajemen atau prosedur proses harus dilaksanakan dengan baik Oleh karena itu dalam penyusunan GMP semua tahapan dalam proses produksi harus diuraikan secara rinci mengenai hal-hal sebagai berikut :

- a. Fungsi dari suatu tahapan yang ingin dicapai pada tahapan tersebut.
- b. Perlakuan/kondisi yang dipersyaratkan, yang pada umumnya terkait dengan waktu dan suhu, pemakaian *clorin* atau bahan untuk mencapai tahapan atau target yang telah ditetapkan.

Sedangkan dalam penerapan SSOP yang merupakan program sanitasi wajib suatu industri untuk meningkatkan kualitas produk yang dihasilkan dan menjamin sistem keamanan produksi pangan harus dengan menerapkan 8 kunci SSOP dengan baik, 8 kunci SSOP yang dimaksud yaitu:

1. Pasok Air dan Es
2. Peralatan dan Pakaian Kerja
3. Pencegahan Kontaminasi Silang
4. Toilet dan Tempat Cuci Tangan
5. Bahan Kimia, Pembersih dan Sanitiser
6. Syarat Label Penyimpanan
7. Kesehatan Karyawan
8. Pengendalian Pest

3.4.2 Tahapan Pengolahan

Tahapan pelaksanaan kegiatan dalam penelitian ini meliputi:

1. Penerimaan bahan baku fresh

Bahan baku yang diterima perusahaan adalah ikan tuna segar tanpa insang, sirip punggung, sirip anus dan tanpa isi perut. Suhu bahan baku yang diterima yaitu antara $0^{\circ}\text{C} - 1,8^{\circ}\text{C}$.

2. Pencucian

Ikan yang baru datang dibongkar dan dilakukan pencucian dengan menggunakan air PDAM bersuhu $< 18^{\circ}\text{C}$ dengan menggunakan tekanan tinggi.

3. Pendinginan dengan air es

Ikan didiamkan selama 2-3 menit didalam bak pencucian dengan suhu air $0-4^{\circ}\text{C}$ dan larutan sodium hypochloride (NaClO) 30 ppm untuk menghilangkan kontaminasi mikroba.

4. Potong kepala

Pemotongan kepala dilakukan dengan menggunakan pisau tajam *stainless steel*. Pemotongan dilakukan secara hati-hati dan mengikuti garis “*Operculum*” (tutup insang).

5. Pembentukan *Loin*

ikan tuna tanpa kepala dibagi menjadi 4 bagian (4 *loin*) daging diiris sepanjang garis dorsal hingga mencapai tulang belakang.

6. Pemisahan warna dan size

Pada tahapan ini dilakukan pemisahan warna dan size dengan tujuan untuk memisahkan agar tidak tercampur, size terdiri dari size 3 – 5 yaitu dengan berat antara 3 sampai dengan 5 Lbs, 5 – 8 dengan berat antara 5 sampai 8 Lbs, 8 – 12 dengan berat 8 sampai dengan 12 Lbs, dan 12 up yaitu 12 Lbs keatas. Setiap 1 Lbs yaitu sama dengan 0,454 kg. Sedangkan pemisahan warna dilakukan untuk memisahkan daging ikan yang berwarna hitam dan merah, karena akan diolah menjadi produk yang berbeda.

7. Perapihan, Pembuangan Kulit dan Daging Hitam

Perapihan ini bertujuan untuk memperbaiki kenampakan *loin* yaitu dengan membuang daging hitam, sisa kulit dan tulang yang masih tertinggal dengan menggunakan pisau tajam (*stainless steel*).

8. Pengemasan Sementara

pengemasan dengan plastik PE *polyetylen* dilakukan agar daging *loin* tidak rusak dan tidak mudah terkontaminasi pada saat dibekukan / di simpan di chilling room.

9. Pembekuan pada freezer untuk *loin* beku dan penyimpanan pada *chilling room* untuk *loin* segar

Untuk mendapatkan *loin* beku dilakukan pembekuan menggunakan *Air Blast Freezer* selama 24 jam dengan suhu pembekuan -18°C . sedangkan untuk mendapatkan *loin* segar dilakukan penyimpanan pada *chilling room* dengan suhu 1 sampai 4°C

10. Pembentukan / Pembentukan *Steak*

Setelah *loin* dibekukan dan disimpan pada *chilling room* selanjutnya dilakukan proses pembentukan *steak* dari *loin* beku dengan menggunakan mesin benzo dan *loin* segar dengan menggunakan pisau.

11. Perapihan II

Steak kemudian dilakukan proses perapihan II untuk merapikan bentuk *steak* dengan menggunakan pisau tajam *stainless steel*. Bagian yang dirapihkan yaitu bagian pinggir *steak* dibuat tidak siku-siku.

12. Penimbangan

Selanjutnya *steak* yang sudah dirapihkan ditimbang beratnya untuk menentukan *size steak* yaitu *size 6*, dengan berat antara 5 oz – 7 oz, *size 8* antara 7,1 oz – 9 oz, *size 10* antara 9,1 oz – 11 oz, dan *size 12* antara 11,1 oz – 13 oz, 1 oz sama dengan 28 gram.

13. Pengemasan

Setelah ditentukan sizenya maka *steak* dikemas dengan kemasan yang terbuat dari bahan *polyetylen* yang tidak mencemari produk dan dapat di vakum sesuai dengan *size steak*.

14. Pevakuman

Setelah dikemas sesuai dengan sizenya maka selanjutnya *steak* dilakukan proses *pevakuman* yang bertujuan untuk meminimalkan udara yang ada didalam produk sehingga dapat menghindari terjadinya oksidasi pada produk, lalu secara otomatis *mensealer* kemasan produk.

15. Pengepakan dan Pelabelan

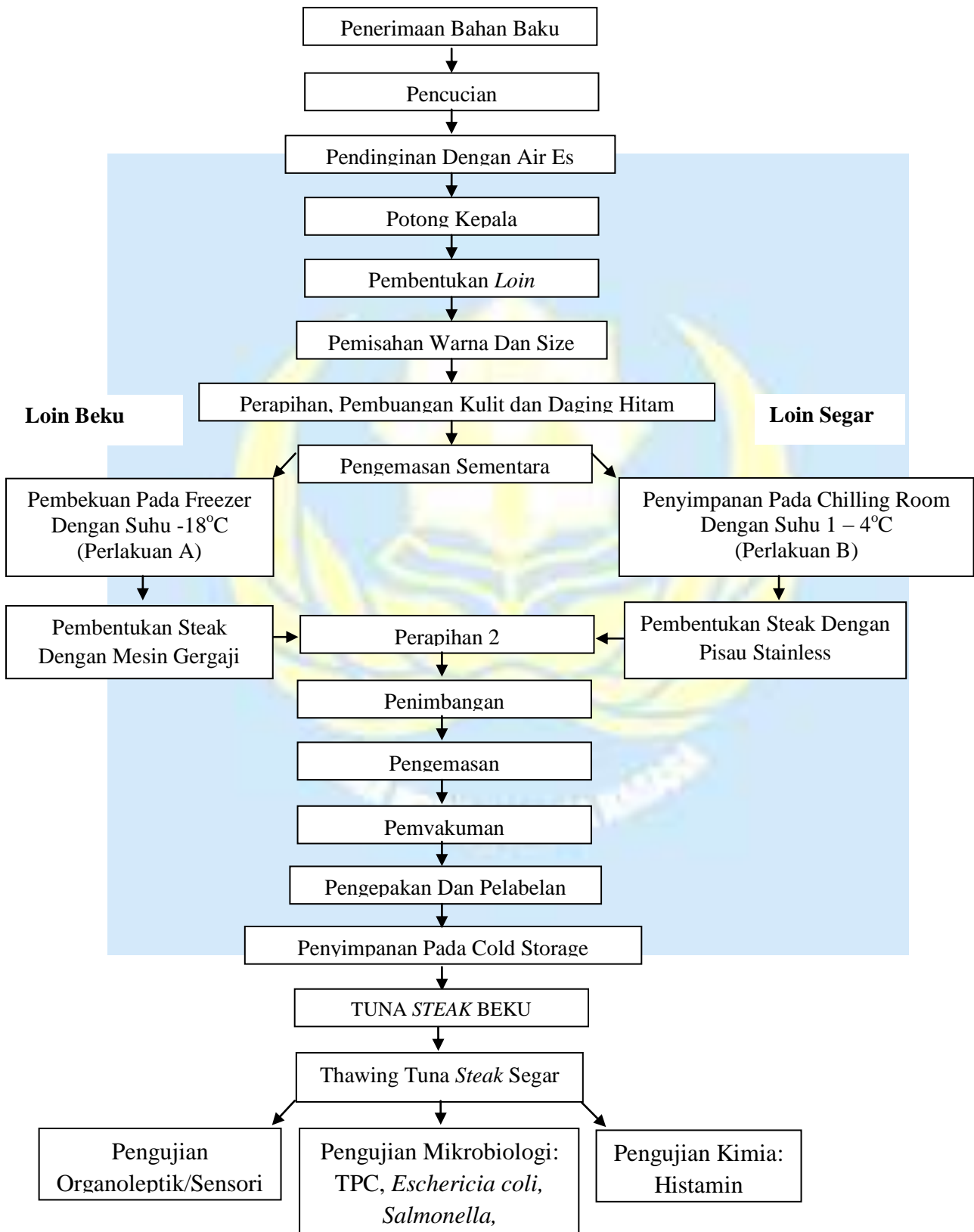
Steak dikemas dalam master karton yang dilapisi plastik *polyethylen*. Pada kemasan bagian luar terdapat informasi produk mengenai nama produsen, nama produk, logo produsen, tempat produksi, berat bersih, jenis produk, size *steak* dan kandungan gizi.

16. Penyimpanan dalam *Cold Storage*

kemasan *master carton* harus disimpan dalam ruang penyimpanan (*cold storage*) dengan suhu -27 sampai -30°C yang selalu dilakukan pengecekan suhu oleh QC atau teknisi setiap 3 jam sekali.

Prosedur penelitian pengolahan tuna *steak* adalah sebagai berikut :

Gambar 3.1 Prosedur Penelitian Pengolahan Tuna *Steak* Beku



3.4.3 Tahap Pengamatan Kualitas Mutu

Analisis pengamatan mutu pada Tuna *steak* beku meliputi analisis pengamatan mutu obyektif dan analisis pengamatan mutu subyektif. Analisis pengamatan mutu obyektif meliputi pengujian TPC / Jumlah bakteri keseluruhan, *Eschericia coli*, *Salmonella*, dan kimia yaitu pengujian histamin, sedangkan analisis pengamatan mutu subyektif meliputi uji organoleptik seperti tekstur, bau dan kenampakan daging.

3.4.3.1 Analisis Pengamatan Mutu Obyektif

1. Penyiapan Peralatan Pengujian

Peralatan pengujian yang digunakan :

- Pipet (steril di oven selama 2 jam dengan suhu 171 °C)
- Petri (steril di oven selama 2 jam dengan suhu 171 °C)
- *Bulp*
- Rak tabung reaksi
- Spidol
- Botol alkohol
- *Bunsen*
- Korek api

2. Penyiapan Media

a. *Stock Buffer*

- Timbang media Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4) 17 gr tambah aquades 250 ml dalam tabung erlemeyer yang diberi label
- Tambahkan aquades sesuai dengan berat KH_2PO_4 yang ditimbang

- Homogenkan diatas pemanas dengan sesekali mengaduk / menggoyang erlemeyer agar media larut dengan sempurna, lalu tutup tabung dengan almunium foil
- Masukkan autoclave selama 30 menit dengan suhu 121 °C
- Media siap digunakan untuk membuat Buffer, sebaiknya simpan dalam lemari pendingin

b. Larutan Buffer

- Ambil 10 ml stock buffer lalu tambahkan 990 ml aquades untuk pembuatan larutan buffer 1000ml dalam tabung erlemeyer , aduk secara merata lalu tutup tabung dengan almunium foil, begitu seterusnya
- Masukkan autoclave selama 30 menit dengan suhu 121 °C
- Larutan buffer siap digunakan untuk homogenkan semua sampel

c. Media (TPC) Jumlah Bakteri Keseluruhan

- Timbang Media Plate Count Agar (PCA)(2.25 gr tambah aquades 100 ml ; 3.4 gr tambah 150 ml ; 4.5 gr tambah 200 ml ; 5.6 gr tambah 250 ml) dalam tabung erlemeyer sesuai kebutuhan
- Tambahkan aquades pada tabung erlemeyer sesuai berat PCA yang ditimbang
- Homogenkan diatas pemanas dengan sesekali nengaduknya agar tercampur rata, lalu tutup tabung dengan almunium foil
- Masukkan autoclave selama 30 menit dengan suhu 121 °C

- Angkat simpan media dalam water bath agar tidak beku dan siap digunakan pangujian TPC
- d. Pembuatan larutan pengenceran
- Siapkan tabung reaksi susun di rak tabung yang ada
 - Isi tiap tabung reaksi dengan 9 ml larutan buffer
 - Tutup tabung dengan kapas
 - Ikat beberapa tabung jadi satu dengan ditutup bagian atas dengan kertas coklat
 - Masukkan autoclave selama 30 menit dengan suhu 121 °C
 - Keluarkan larutan dari autoclave dan biarkan dingin.
 - Larutan siap digunakan
- e. Pembuatan Aquades Steril
- Terlebih dahulu buat aquades steril dengan cara masukkan aquades dalam erlemeyer lalu tutup dengan aluminium foil
 - Masukkan autoclave selama 30 menit dengan suhu 121 °C
 - Keluarkan aquades steril dari autoclave dan biarkan dingin. Aquades steril siap digunakan
- f. Media E. Coli
- Timbang media Chromocult / Coliform agar 1.5 gr + aquades steril 60 ml ; 2.1 gr + aquades steril 80 ml ; 2.65 gr + aquades steril 100 ml ; 3.97 gr + aquades steril 150 ml ; begitu seterusnya secara steril, masukkan hasil timbangan media tersebut ke dalam erlemeyer tertutup

aluminium foil yang sudah disteril dalam oven selama 2 jam dengan suhu 171 °C dengan cara membuka penutup tabung dengan steril juga

- Tambahkan aquades steril sesuai dengan media yang ditimbang, lalu tutup kembali tabung erlemeyer tersebut
- Homogenkan di atas pemanas sambil digoyang – goyang agar media tercampur/ larut
- Setelah mendidih, angkat tadung lalu masukkan dalam water bath dengan suhu 45 °C, agar media tidak beku
- Media siap digunakan untuk pengujian E. Coli

g. Media Salmonella

- Media Pengaya
 - Timbang media Lactose Broth 13 gr untuk pembuatan larutan pengaya 1000 ml
 - Masukkan hasil timbangan media tersebut ke dalam erlemeyer lalu tambah aquades hingga 1000 ml
 - Homogenkan diatas pemanas dengan sesekali mengaduknya agar tercampur rata, lalu tutup tabung dengan aluminium foil
 - Masukkan autoclave selama 30 menit dengan suhu 121 °C
 - Media siap digunakan untuk pengujian pengayaan salmonella
- Media Isolasi dan Identifikasi
 - Timbang media SS Agar 5.2 gr untuk pembuatan agar identifikasi 100 ml secara steril

- Masukkan hasil timbangan media tersebut ke dalam erlemeyer steril lalu tambah aquades steril hingga 100 ml, lalu tutup kembali tabung erlemeyer tersebut
- Homogenkan di atas pemanas sambil digoyang – goyang agar media tercampur/ larut
- Setelah mendidih, angkat tadung lalu masukkan dalam water bath dengan suhu 45 °C, agar media tidak beku
- Media siap digunakan untuk pengujian identifikasi salmonella

3. Penyiapan Sampel

a. Sampel Bahan Baku, Semi Produk dan Produk Akhir

- Timbang sampel sesuai lot sebanyak 10 gr untuk pengujian TPC dan E. Coli dalam plastik steril dengan menggunakan gunting dan menyalakan bunsen didekat timbangan lalu tambahkan larutan buffer 90 ml, 25 gr dalam plastik steril dengan menggunakan gunting dan menyalakan bunsen didekat timbangan tanpa tambah larutan buffer
- Kocok / homogenkan sampel tersebut
- Simpan dahulu dalam lemari es, sampel siap digunakan

b. Sampel air

- Sampel air bisa langsung diuji untuk pengujian TPC dan E. Coli
- Sampel air ambil 25 ml masukkan dalam plastik steril untuk pengujian salmonella

c. Sampel Swab Peralatan

- Sampel swab peralatan bisa langsung diuji

d. Sampel Swab Udara

- Sampel swab udara sudah bisa langsung diuji

4. Pengujian

a. Pengujian TPC

- Siapkan 3 pcs petri dan beri label dengan spidol "A-2, A-3, A-4" A-2 artinya pengujian TPC sampel A pengenceran ke-dua, begitu seterusnya
- Siapkan larutan pengenceran 3 buah untuk 3 kali pengenceran dan beri label dengan spidol 2, 3, 4
- Sampel bahan baku / semi produk / produk akhir / air / swab peralatan yang sudah siap digunakan di keluarkan dari lemari pendingin
- Ambil 1 ml dari sampel yang sudah siap dengan pipet steril ke larutan pengenceran 2
- Ambil 2 ml dari larutan pengenceran 2
- Masukkan dalam petri steril yang sudah ada label sesuai dengan pengenceran yang digunakan dan ke larutan pengenceran 3, begitu seterusnya
- Tuang media PCA yang sudah siap digunakan kira – kira 15 – 20 ml ke dalam petri yang sudah berisi sampel
- Biarkan dingin, agar media beku
- Inkubasi dalam suhu 37 °C selama 2 X 24 jam
- Amati dan hitung semua koloni yang tumbuh

b. Pengujian *E. Coli*

- Siapkan 1 pcs petri dan beri label dengan spidol "A-EC" artinya pengujian *E. Coli*
- Sampel bahan baku / semi produk / produk akhir / air / swab peralatan yang sudah siap digunakan di keluarkan dari lemari pendingin
- Ambil 1 ml dari sampel dengan pipet steril
- Masukkan dalam petri steril yang sudah ada label yang sesuai
- Tuang media *Chromocult / Coliform* agar yang sudah siap digunakan kira – kira 15 – 20 ml ke dalam petri yang sudah berisi sampel
- Biarkan dingin, agar media beku
- Inkubasi dalam suhu 37 °C selama 1 X 24 jam
- Amati dan lihat jika ada koloni berwarna biru dongker berarti ada *E. Coli*

c. Pengujian *Salmonella*

- Pengujian pengayaan *salmonella*
 - Sampel bahan baku / semi produk / produk akhir / air / swab peralatan yang sudah siap digunakan di keluarkan dari lemari pendingin
 - Tambahkan dengan larutan lactose broth 225 ml secara steril
 - Inkubasi dalam suhu 37 °C selama 1 X 24 jam
- Pengujian isolasi dan identifikasi *salmonella*
 - Siapkan 1 pcs petri dan beri label dengan spidol "A-S" artinya pengujian *Salmonella*

- Sampel dari tahap pengayaan bisa dilanjutkan untuk pengujian isolasi dan identifikasi
- Ambil 1 ml dari sampel dengan pipet steril
- Masukkan dalam petri steril yang sudah ada label yang sesuai
- Tuang media SS Agar yang sudah siap digunakan kira – kira 15 – 20 ml ke dalam petri yang sudah berisi sampel
- Biarkan dingin, agar media beku
- Inkubasi dalam suhu 37 °C selama 1 X 24 jam
- Amati dan lihat jika ada koloni berwarna hitam dan mempunyai halo (cincin putih bening) berarti hasil *salmonella* positif

3.4.3.2 Analisis Pengamatan Mutu Subyektif

Berdasarkan Badan Standarisasi Nasional Indonesia SNI 01-2346-2006.

Pengujian organoleptik produk perikanan menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk menilai mutu produk perikanan. Pelaksanaan uji organoleptik dilakukan pada saat panelis tidak dalam kondisi lapar atau kenyang, yaitu sekitar pukul 09.00-11.00 WITA dan pukul 14.00-16.00 WITA atau sesuai dengan kebiasaan waktu setempat. Jumlah minimal panelis standar dalam satu kali pengujian adalah 6 orang, sedangkan untuk panelis non standar adalah 30 orang, dengan memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Penilaian contoh yang diuji dilakukan dengan cara memberikan nilai pada lembar penilaian sesuai dengan tingkatan mutu. Lembar penilaian organoleptik. Hasil uji deskripsi masing-masing panelis pada lembar penilaian dikompilasi dan dianalisis menjadi suatu kesimpulan yang menyatakan spesifikasi kenampakan, bau, dan

konsistensi/tekstur dapat dilihat pada Lampiran 1. Terdapat tiga pelaporan hasil uji: deskripsi (dalam bentuk uraian spesifikasi dari produk yang diuji), hedonik (dalam bentuk 1 angka di belakang koma dan dikonversi ke tingkat kesukaan), skor (dalam bentuk 1 angka di belakang koma).

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan metode *T-Test* pada aplikasi *SPSS Statistics 17.0* dimana data yang digunakan tidak bebas (berpasangan). yaitu satu individu (objek penelitian) dikenai 2 buah perlakuan yang berbeda. Walaupun menggunakan individu yang sama, peneliti tetap memperoleh 2 macam data sampel, yaitu data dari perlakuan pertama dan data dari perlakuan kedua (Kurniawan, 2008).

Perlakuan pertama yaitu proses pengolahan *steak* beku menggunakan bahan baku *loin* segar dan perlakuan kedua menggunakan bahan baku *loin* beku, kualitas tuna *steak* beku dapat diketahui dengan cara membandingkan kualitas objek penelitian perlakuan pertama dan kedua.