

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 (tiga) perlakuan dan 2 (dua) pengulangan untuk mengkaji mutu fisik dan mutu kimia nugget ikan lele dengan substitusi tepung jagung, tepung tempe, dan tepung ubi jalar kuning.

1. Perlakuan

- a. Perlakuan : 300 gr daging ikan Lele + 20 gr tepung jagung + 100 gr tepung tempe + 60 gr tepung ubi jalar kuning,
- b. Perlakuan : 300 gr daging ikan Lele + 50 gr tepung jagung + 100 gr tepung tempe + 30 gr tepung ubi jalar kuning,
- c. Perlakuan : 300 gr daging ikan Lele + 60 gr tepung jagung + 100 gr tepung tempe + 20 gr tepung ubi jalar kuning.

2. Jumlah unit percobaan

Banyaknya unit percobaan (n) dalam penelitian ini ditentukan menggunakan rumus (untuk uji hedonik): Σ Unit percobaan:

$$n = r \times t$$

keterangan:

$$n = \Sigma \text{ unit percobaan}$$

$$r = \text{pengulangan (replikasi)}$$

$$t = \text{perlakuan (treatment)}$$

maka: $n = r \times t$

$$= 2 \times 3$$

$$= 6 \text{ kali percobaan}$$

3. Penentuan Bilangan Acak

Penentuan perlakuan pada unit percobaan dilakukan secara acak sempurna, sehingga setiap unit percobaan memiliki kesempatan yang sama untuk menerima setiap jenis perlakuan. Pengacakan dilakukan menggunakan aplikasi Microsoft Excel dengan mengetik '=RAND()' pada sel A1. Untuk mendapatkan enam bilangan acak, isi sel tersebut kemudian disalin dan ditempel ke lima sel berikutnya

sehingga total menjadi enam sel. Bilangan acak diberikan rangking dari terendah hingga tertinggi

Tabel 1. *Penentuan bilangan acak*

No	Bilangan Acak	Rangking	Unit percobaan
1	0,035	1	A1
2	0,371	3	A2
3	0,999	6	B1
4	0,163	2	B2
5	0,805	4	C1
6	0,938	5	C2

Urutan bilangan acak di atas dianggap sebagai nomor urut percobaan, kemudian dikelompokkan menurut jenis perlakuan, dan selanjutnya disusun dalam lay out percobaan berikut:

Tabel 2. *Lay Out percobaan*

1 A1 (0,035)	2 B2 (0,163)
3 A2 (0,371)	4 C1 (0,805)
5 C2 (0,938)	6 B1 (0,999)

Keterangan :

1. A1,A2 = Perlakuan A, Ulangan ke-1, ke-2, yaitu 300 gr daging ikan Lele + 20 gr tepung jagung + 100 gr tepung tempe + 60 gr tepung ubi jalar kuning,
2. B1,B2 = Perlakuan B, Ulangan ke-1, ke-2, yaitu 300 gr daging ikan Lele + 50 gr tepung jagung + 100 gr tepung tempe + 30 gr tepung ubi jalar kuning,
3. C1,C2 = Perlakuan C, Ulangan ke-1, ke-2, yaitu 300 gr daging ikan Lele + 60 gr tepung jagung + 100 gr tepung tempe + 20 gr tepung ubi jalar kuning.

B. Lokasi Penelitian dan Waktu

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan, Jurusan Gizi, Poltekkes Kemenkes Medan. Penelitian ini terbagi menjadi dua bagian, yaitu Uji Pendahuluan dan Penelitian Utama. Uji Pendahuluan dilaksanakan pada hari Selasa, 15 April 2025 di laboratorium Teknologi Pangan Poltekkes Medan Jurusan Gizi Lubuk Pakam dan Uji Penelitian Utama akan dilaksanakan di Laboratorium PT.Saraswati Indo Genetecht di Kota Bogor untuk menentukan nilai gizi meliputi : uji proksimat (kadar air, kadar abu, protein, lemak dan karbohidrat), uji mikronutrien (vitamin A, kalsium, zink, zat besi).

C. Prosedur Penelitian

A. Alat dan Bahan

a. Alat pembuatan nugget ikan lele dengan substitusi tepung jagung, tepung tempe dan tepung ubi jalar kuning.

Tabel 3. *Alat Pembuatan Nugget Ikan Lele Dengan Substitusi Tepung Jagung, Tepung Tempe Dan Tepung Ubi Jalar Kuning*

No	Nama alat	Jumlah	Satuan
1	Timbangan digital	1	Buah
2	Waskom	5	Buah
3	Blender	1	Buah
4	Loyang	5	Buah
5	Alat pengukus	1	Buah
6	Sendok makan	3	Buah
7	Telenan	1	Buah
8	Kompore gas	1	Buah
9	Sendok goreng	1	Buah
10	Kuali	1	Buah
11	Pisau	1	Buah
12	Gelas	1	Buah

b. Bahan untuk membuat nugget ikan lele yang menggunakan substitusi tepung jagung, tepung tempe, dan tepung ubi jalar kuning

Tabel 4. Bahan pembuatan nugget ikan lele dengan substitusi tepung jagung, tepung tempe dan tepung ubi jalar kuning

No	Jenis Bahan	Satuan	Kebutuhan Dalam gram menurut perlakuan		
			A	B	C
1	Ikan lele	Gr	300	300	300
2	Tepung Jagung		20	50	60
3	Tepung Tempe	Gr	100	100	100
4	Tepung Ubi Jalar kuning	Gr	60	30	20
5	Telur	Butir	3	3	3
6	Bawang putih	Gr	20	20	20
7	Bawang merah	Gr	20	20	20
8	Garam	Gr	3	3	3
9	Lada	Gr	1	1	1
10	Tepung panir	Gr	200	200	200

c. Alat dan bahan analisis kimia nugget ikan lele dengan substitusi tepung jagung, tepung tempe dan tepung ubi jalar kuning.

Tabel 5. Alat dan bahan analisis kimia Nugget Ikan Lele Dengan Substitusi Tepung Jagung, Tepung Tempe Dan Tepung Ubi Jalar Kuning

No	Nama alat	Nama Bahan
1	Timbangan analitik	Asam sulfat pekat (H_2SO_4)
2	Gelas beaker	Natrium hidroksida (NaOH)
3	Gelas ukur	H_2BO_3
4	Oven	Larutan indikator (campuran metil merah dan metilen blue)
5	Porselin	Asam Chlorida (HCL)
6	Gegep	Dietil Eter
7	Erlenmeyer	
8	Pipet ukur	
9	Buret	
10	Kertas saring	
11	Disikator	
12	Labu lemak	
13	Labu kjedahl	
14	Alas destilasi	
15	Tang krus	
16	Lampu spirtus	

17	Kawat kasa
18	Soklet
19	Tanur

Rendemen merupakan perbandingan jumlah bersih dengan jumlah kotor. Pada penelitian ini, rendemen diperoleh dari membandingkan berat bersih akhir yang akan digunakan dengan berat awal bahan. Hasil perbandingan kemudian di ubah ke dalam bentuk persen.

Rendemen Jagung

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\% \Rightarrow \frac{\text{berat jagung yang sudah dikeringkan}}{\text{berat jagung yang belum dikeringkan}} \times 100\%$$

$$\Rightarrow \frac{1120 \text{ gr}}{4160 \text{ gr}} \times 100\% = 26,92\%$$

Rendemen Tempe

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\% \Rightarrow \frac{\text{berat tempe yang sudah dikeringkan}}{\text{berat tempe yang belum dikeringkan}} \times 100\%$$

$$\Rightarrow \frac{2678 \text{ gr}}{6500 \text{ gr}} \times 100\% = 41,20\%$$

Rendemen Ubi Jalar Kuning

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\% \Rightarrow \frac{\text{berat ubi kuning yang sudah dikeringkan}}{\text{berat ubi kuning yang belum dikeringkan}} \times 100\%$$

$$\Rightarrow \frac{963 \text{ gr}}{2839 \text{ gr}} \times 100\% = 33,92\%$$

Rendemen Filet Ikan Lele

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\% \Rightarrow \frac{\text{berat ikan lele yang sudah difilet}}{\text{berat ikan lele yang masih utuh}} \times 100\%$$

$$\Rightarrow \frac{7257 \text{ gr}}{1500 \text{ gr}} \times 100\% = 48,38\%$$

B. Proses Pembuatan Nugget

1. Persiapan Bahan

a. Pengolahan Tepung Jagung

- Ambil jagung segar yang masih berkulit.
- Kupas kulit luar dan buang rambut jagung hingga tersisa tongkol.
- Pipil biji jagung menggunakan pisau tajam.

- Cuci biji jagung dengan air bersih sebanyak 3 kali untuk menghilangkan kotoran dan debu.
- Tiriskan menggunakan saringan.
- Blanching biji jagung dengan air panas (hasil rebusan) selama 5 menit.
- Tiriskan dan dinginkan pada suhu ruang.
- Susun biji jagung di atas nampan cabinet dryer secara merata.
- Keringkan pada suhu 70°C selama 10 jam hingga benar-benar kering.
- Giling biji jagung kering hingga halus menggunakan blender.
- Ayak menggunakan saringan 60 mesh untuk mendapatkan ukuran partikel seragam.
- Simpan dalam wadah tertutup rapat untuk menjaga kualitas dan mencegah kelembaban.

b. Tepung Tempe

- Gunakan tempe merek Karya Kakek dalam kemasan plastik.
- Keluarkan tempe, letakkan di atas talenan bersih.
- Iris tipis tempe setebal ± 1 mm menggunakan pisau stainless.
- Kukus irisan tempe selama 7 menit pada suhu 80°C. Tujuan: mengurangi bau langu dan antinutrisi (trypsin inhibitor).
- Dinginkan irisan tempe setelah dikukus selama 15 menit.
- Susun irisan tempe secara merata tanpa saling menumpuk di atas nampan cabinet dryer.
- Keringkan pada suhu 70°C selama 8 jam.
- Dinginkan tempe kering pada suhu ruang selama 15 menit.
- Haluskan tempe kering hingga menjadi bubuk halus menggunakan blender.
- Ayak menggunakan saringan 60 mesh untuk mendapatkan tepung halus dan seragam.
- Simpan tepung tempe dalam wadah kedap udara agar mutu tetap terjaga.

c. Tepung Ubi Jalar Kuning

- Pilih ubi jalar kuning yang segar, tidak busuk, tidak bertunas, tidak cacat, dan berukuran sedang.
- Kupas kulit ubi menggunakan pisau stainless steel bersih dan tajam.

- Cuci ubi di bawah air mengalir sebanyak dua kali hingga benar-benar bersih.
- Potong ubi menjadi irisan tipis ± 2 mm.
- Rendam dalam air bersih selama 1 jam untuk mengurangi antinutrisi dan mencegah pencoklatan enzimatis.
- Tiriskan irisan ubi jalar, kemudian susun secara merata di atas loyang tanpa saling menumpuk.
- Keringkan menggunakan cabinet dryer pada suhu 70°C selama 7 jam hingga kering merata.
- Setelah kering, diamkan irisan pada suhu ruang selama ± 15 menit untuk mencegah kelembapan saat penggilingan.
- Giling irisan ubi kering secara bertahap dengan blender.
- Ayak menggunakan ayakan 60 mesh untuk memperoleh tekstur tepung yang halus dan seragam.
- Simpan tepung ubi jalar dalam wadah bersih, kering, dan kedap udara agar terhindar dari kelembapan dan kontaminasi.

d. Ikan Lele

- Ikan lele segar dengan ukuran ± 8 ekor per kilogram dipilih dari pasar.
- Ikan dibersihkan dari isi perut, kotoran, sirip, kumis, dan bagian yang tidak diperlukan.
- Ikan direndam dalam air yang telah ditambahkan 6 tetes cuka selama ± 2 menit untuk mengurangi bau amis.
- Setelah perendaman, ikan dicuci menggunakan air bersih sebanyak tiga kali hingga lendir dan darah hilang sepenuhnya.
- Kukusan dipanaskan hingga mencapai suhu sekitar 80°C , dan daun salam dicuci bersih untuk digunakan sebagai alas kukusan.
- Ikan disusun di atas saringan kukusan yang telah dialasi daun salam secara rapi dan merata.
- Pengukusan dilakukan selama 30 menit dengan api sedang hingga ikan matang dan aroma daun salam meresap.
- Setelah dikukus, ikan diangkat dan didinginkan sejenak.

- Daging ikan kemudian dipisahkan dari kepala, kulit, tulang, dan sirip, lalu disiapkan sebagai bahan dasar pembuatan nugget.

Tabel 6. Hasil penepungan tepung tempe, tepung jagung, tepung ubi jalar kuning dan ikan lele

No	Bahan	Berat Kotor (g)	Berat Bersih (g)	Berat Kering (g)	Berat Tepung (g)	Rendemen
1	Jagung	5.000	4.160	1.120	1.095	26,92%
2	Tempe	6.500	6.500	2.678	2.574	41,20%
3	Ubi Jalar Kuning	3.500	2.839	963	914	33,92%
4	Ikan Lele	15.000	7.257	—	—	48,38%

2. Prosedur pembuatan nugget ikan lele dengan substitusi tepung jagung, tepung tempe dan tepung ubi jalar kuning

- Bahan-bahan ditimbang secara akurat sesuai kebutuhan, meliputi ikan lele fillet, tepung jagung, tepung tempe, tepung ubi jalar kuning, bawang putih, bawang merah, telur, garam, lada, dan air es.
- Semua bahan dimasukkan ke dalam wadah chopper secara bersamaan. Adonan digiling menggunakan chopper selama 2 menit hingga halus dan tercampur merata.
- Sebelum adonan dimasukkan, loyang diolesi tipis dengan minyak menggunakan kuas silikon agar adonan tidak lengket saat dikukus.
- Adonan yang sudah halus dituangkan ke dalam loyang secara merata dan diratakan permukaannya.
- Kukusan dipanaskan terlebih dahulu hingga suhu mencapai 90°C. Loyang berisi adonan kemudian dimasukkan ke dalam kukusan dan dikukus selama 30 menit hingga matang dan padat.
- Setelah matang, adonan nugget dikeluarkan dari loyang, didinginkan sejenak, lalu dipotong-potong berukuran 4 cm x 3 cm x 1 cm.
- Hasil potongan nugget dari satu adonan adalah 50 potong yang perpotongnya seberat 15 gr
- Potongan nugget dilumuri atau dicelupkan ke dalam kocokan telur secara merata pada seluruh permukaannya.

- Nugget yang telah dilumuri telur digulingkan ke dalam tepung panir hingga seluruh permukaannya tertutup sempurna.
- Nugget digoreng dalam minyak dengan suhu $\pm 150^{\circ}\text{C}$ menggunakan api kecil hingga berwarna kuning keemasan (golden brown) dan matang secara merata.

D. Uji Organoleptik

Panelis yang digunakan adalah 50 mahasiswa/i jurusan gizi Poltekkes Medan di Lubuk Pakam, pemilihan panelis dilakukan secara sengaja yaitu semester V kelas VC sarjana terapan gizi dan dietetika yang telah memenuhi kriteria sudah lulus mata kuliah ITP (Ilmu Teknologi Pangan).

Penilaian ditanyakan dalam uji hedonik dengan skala Likert (1-5) dengan kriteria sebagai berikut:

- | | | |
|----|------------------|-----|
| a. | Amat sangat suka | : 5 |
| b. | Sangat suka | : 4 |
| c. | Suka | : 3 |
| d. | Kurang suka | : 2 |
| e. | Tidak suka | : 1 |

1. Prosedur Uji Organoleptik dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL)

a. Persiapan

1. Penyiapan Sampel

Produk yang akan diuji adalah nugget ikan lele dengan berbagai substitusi tepung jagung, tepung tempe, dan tepung ubi jalar kuning. Sampel nugget disiapkan dengan tiga (3) formulasi, yaitu:

- 300 gr daging ikan Lele + 20 gr tepung jagung + 100 gr tepung tempe + 60 gr tepung ubi jalar kuning,
- 300 gr daging ikan Lele + 50 gr tepung jagung + 100 gr tepung tempe + 30 gr tepung ubi jalar kuning,
- 300 gr daging ikan Lele + 60 gr tepung jagung + 100 gr tepung tempe + 20 gr tepung ubi jalar kuning.

Setiap sampel diberi kode acak untuk menghindari bias. Sampel disiapkan dalam jumlah yang cukup untuk semua panelis.

2. Pembuatan Formulir Evaluasi

Formulir menggunakan skala hedonik 1-5 untuk atribut warna, aroma, tekstur, dan rasa (Lampiran 2).

b. Pelaksanaan Uji Organoleptik

1. Prosedur Penilaian oleh Panelis

- Pada hari pelaksanaan uji organoleptik, seluruh panelis terlebih dahulu dikumpulkan di depan Laboratorium Teknologi Pangan untuk mendapatkan pengarahan singkat. Dalam pengarahan ini dijelaskan alur pelaksanaan uji, cara penilaian sampel, serta tata tertib yang perlu dipatuhi selama proses berlangsung.
- Sebelum pengujian dimulai, kondisi kesehatan panelis dikonfirmasi untuk memastikan bahwa tidak ada yang sedang sakit atau merokok. Panelis juga diminta untuk mengikuti seluruh rangkaian uji secara sukarela dan bertanggung jawab.
- Setelah pengarahan selesai, panelis diminta untuk mengenakan jas laboratorium yang bersih. Bagi panelis pria dan panelis non-Muslim, juga diberikan *nurse cap* sebagai bagian dari prosedur kebersihan selama berada di ruang uji.
- Di dalam ruang uji, sampel nugget disiapkan terlebih dahulu dengan cara diletakkan empat potong per piring. Setiap piring diberi label sesuai layout penempatan yang telah dirancang sebelumnya. Hal ini bertujuan untuk menghindari pengaruh bias urutan atau *order effect* dalam penilaian.
- Panelis kemudian dipanggil masuk secara bergiliran, lima orang dalam setiap sesi. Masing-masing panelis diarahkan untuk duduk di bilik uji yang telah disiapkan.
- Setelah duduk di bilik, panelis diberikan formulir penilaian dengan atribut warna, tekstur, rasa, dan aroma dari sampel yang disajikan.
- Sebelum mencicipi setiap sampel, panelis diminta untuk membilas mulut dengan air putih terlebih dahulu, agar indera pengecap menjadi netral dan tidak terpengaruh oleh rasa dari sampel sebelumnya.

- Selama proses berlangsung, setiap panelis melakukan penilaian secara mandiri. Interaksi atau komunikasi dengan panelis lain tidak diperkenankan agar hasil yang diperoleh tetap objektif.
- Setelah seluruh sampel dinilai, panelis dipersilakan keluar dari ruang uji.
- Sampel lama dari sesi sebelumnya dikumpulkan dan diganti dengan sampel baru yang akan diuji oleh sesi berikutnya.
- Panelis pada sesi selanjutnya kemudian dipanggil masuk, dan seluruh rangkaian uji diulang hingga seluruh panelis selesai melakukan penilaian.

2. Pengumpulan dan Pengolahan Data

Nilai dari semua panelis akan direkapitulasi. Selanjutnya, hasil uji akan dianalisis menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) untuk melihat perbedaan yang signifikan antara perlakuan. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan, uji lanjut Duncan akan dilanjutkan untuk mengetahui jenis perlakuan mana yang paling berbeda. Data akan diolah menggunakan komputer dengan program SPSS versi 22.00. Hasil uji Duncan yang paling disukai akan dilanjutkan ke uji mutu kimia.

E. Uji Mutu Kimia

Pengujian mutu kimia nugget ikan lele yang diformulasikan dengan substitusi tepung jagung, tepung tempe, dan tepung ubi jalar kuning dilakukan untuk mengetahui kandungan gizi produk yang dihasilkan. Parameter yang dianalisis meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat, kalsium, zat besi, dan zinc. Pengujian dilakukan di Laboratorium SIG sesuai dengan metode analisis yang telah ditetapkan oleh pihak laboratorium.

1. Pengemasan dan Pengiriman Sampel ke Laboratorium SIG

Sampel nugget ikan lele yang telah diproduksi sesuai formulasi perlakuan terlebih dahulu didinginkan hingga mencapai suhu ruang, kemudian dikemas menggunakan wadah plastik food grade berbahan polypropylene (PP) yang bersih, kering, dan memiliki penutup rapat untuk mencegah kontaminasi selama penyimpanan dan pengiriman. Setiap wadah diberi label yang memuat kode perlakuan, tanggal produksi, dan identitas sampel untuk memudahkan proses identifikasi selama analisis laboratorium.

Setelah dikemas, sampel disimpan dalam freezer pada suhu $\pm -18^{\circ}\text{C}$ selama kurang lebih 12–24 jam (satu malam) hingga seluruh bagian sampel membeku sempurna. Penyimpanan pada suhu beku dilakukan untuk mempertahankan mutu fisik dan kimia sampel serta menghambat aktivitas mikroorganisme sebelum proses pengujian laboratorium. Selain sampel, empat buah ice pack juga dibekukan secara terpisah pada suhu yang sama selama satu malam untuk digunakan sebagai media pendingin selama pengiriman.

Sebelum pengiriman dilakukan, peneliti terlebih dahulu menghubungi Laboratorium SIG melalui surat elektronik (e-mail) untuk menyampaikan rencana pengujian sampel. Setelah memperoleh konfirmasi dari pihak laboratorium, peneliti mengirimkan informasi mengenai parameter pengujian yang dibutuhkan. Selanjutnya laboratorium memberikan penawaran biaya pengujian, kemudian peneliti melakukan pembayaran uang muka (down payment) sebesar 50% dari total biaya pengujian sesuai ketentuan yang berlaku.

Sampel yang telah beku kemudian dimasukkan ke dalam box styrofoam berukuran sesuai kebutuhan sebagai wadah pengiriman. Sampel diletakkan pada bagian tengah box, sedangkan ice pack disusun mengelilingi sampel pada bagian atas, bawah, kanan, dan kiri untuk menjaga suhu tetap rendah selama proses transportasi. Susunan tersebut bertujuan untuk mempertahankan kondisi sampel agar tetap berada pada suhu dingin mendekati kondisi beku selama perjalanan menuju laboratorium.

Dokumen pendukung berupa formulir pengujian laboratorium, bukti pembayaran uang muka (DP) sebesar 50%, serta fotokopi kartu identitas peneliti disiapkan dan dimasukkan ke dalam plastik kedap air yang disegel guna mencegah kerusakan akibat kelembapan. Dokumen tersebut kemudian ditempatkan di bagian atas kemasan sebelum box styrofoam ditutup.

Setelah seluruh komponen tersusun dengan baik, box styrofoam ditutup rapat dan direkatkan menggunakan lakban pada seluruh sisi sambungan untuk mencegah kebocoran udara dan menjaga keamanan kemasan selama pengiriman. Selanjutnya, sampel dikirim menggunakan jasa pengiriman Lion Parcel Express dengan layanan pengiriman cepat (express service). Lama pengiriman dari lokasi

penelitian menuju Laboratorium SIG diperkirakan berlangsung selama 1–2 hari kerja, tergantung pada jadwal dan kondisi distribusi jasa pengiriman.

Setibanya di Laboratorium SIG, sampel diterima oleh petugas laboratorium untuk dilakukan verifikasi identitas sampel, pemeriksaan kondisi kemasan, serta pencatatan administrasi penerimaan sampel. Setelah proses verifikasi selesai, sampel disimpan sesuai prosedur penyimpanan laboratorium sebelum dilakukan analisis mutu fisik dan mutu kimia sesuai parameter pengujian yang telah ditetapkan.

2. Kadar Air (Metode Oven)

Kadar air diukur dengan cara mengeringkan sampel. Prosedurnya meliputi:

- Pengeringan cawan selama 30 menit pada suhu 100-105°C, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang.
- Sampel sebanyak 2 gram ditimbang ke dalam cawan yang sudah kering.
- Sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 6 jam, didinginkan dalam desikator selama 30 menit, kemudian ditimbang.
- Proses pengeringan dan penimbangan diulang sampai beratnya tetap konstan.

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Berat sampel awal} - \text{Berat sampel akhir}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

3. Kadar Abu (Metode Gravimetri)

Penentuan kadar abu dilakukan dengan metode gravimetri, yaitu:

- Cawan porselin dipanaskan di tanur pada suhu 550°C selama 25 menit, didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang.
- Sampel sebanyak 3 gram ditimbang bersama cawan.
- Sampel diarakkan sampai tidak ada asap.
- Sampel dibakar dalam tanur pada suhu 550°C selama 2-3 jam.
- Setelah itu, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali.

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{\text{Berat Abu (g)}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100 \%$$

4. Kadar Protein (Metode Kjeldahl)

Protein dihitung dengan metode Mikro Kjeldahl, dengan langkah-langkah:

- Sampel halus sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke labu Kjeldahl 30 ml. Ditambahkan 10 ml H₂SO₄ pekat dan 2 gram selenium, lalu direfluks selama 1-1,5 jam hingga larutan bening hijau.
- Cairan dipindah ke labu ukur 100 ml dan ditambahkan air suling sampai batas volume.
- Sebanyak 10 ml larutan diambil ke alat distilasi, diberi 20 ml NaOH 30%, dan didestilasi. Destilat ditampung dalam Erlenmeyer dengan 25 ml larutan H₃BO₃ 3% dan 5 tetes indikator.
- Destilat diencerkan menjadi sekitar 50 ml dan dititrasi dengan 0,1 N HCl sampai berubah warna merah muda.
- Kadar protein dihitung berdasarkan volume titrasi, berat sampel, dan faktor konversi.

Rumus yang digunakan untuk perhitungan kadar protein adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Protein \%} = \frac{(B - T) \times N \times 14008 \times 6,25}{W \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

T : Volume titrasi pada sampel (ml)

B : Volume titrasi pada larutan blanko (ml)

W : Berat sampel (gram)

N : Normalitas Asam Titran

6,2 : Faktor konversi dari Nitrogen ke Protein

5. Kadar Lemak (Metode Ekstraksi Soxhlet)

Sebanyak 2 g sampel dibungkus dengan kertas saring, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama kurang lebih 1 jam. Setelah itu, sampel yang telah kering direfluks dengan alat soxhlet selama 4-5 jam hingga pelarut (heksana) yang turun ke labu lemak berwarna jernih. Kemudian pelarut yang ada di dalam labu lemak didestilasi dan ditampung destilat yang didapat. Destilat dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang (SNI 01-2891-1992). Kadar lemak ditentukan dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar Lemak \%} = \frac{\text{berat labu lemak} - \text{berat labu kosong}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

6. Kadar Karbohidrat (Metode By Difference)

Penentuan kadar karbohidrat dilakukan dengan menggunakan perhitungan By Difference. Perhitungan ini bukan berdasarkan analisis tetapi berdasarkan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Kadar karbohidrat} = 100\% - (\text{abu} + \text{protein} + \text{air lemak})$$

7. Kadar Vitamin A (Metode Spektrofotometri.)

Sebanyak 5 gram sampel ditimbang menggunakan neraca analitis lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker. Selanjutnya, ditambahkan 40 ml aseton, 60 ml heksana, dan 0,1 gram MgCO_3 ke dalamnya. Campuran tersebut diaduk selama 15 menit. Setelah itu, campuran disaring dengan menggunakan corong Buchner. Padatan yang tertinggal dicuci menggunakan 25 ml aseton, kemudian 25 ml heksana. Filtrat yang diperoleh kemudian dipindahkan ke corong pisah, ditambah 100 ml air, dikocok, dan didiamkan sampai terjadi pemisahan. Larutan bagian bawah dikeluarkan dari corong pisah, dan proses ini diulang hingga empat kali. Filtrat yang terkumpul dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 100 ml, kemudian ditambahkan 9 ml aseton dan diencerkan dengan heksana sampai volume mencapai 100 ml. Kadar lemak ditentukan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Kadar Vitamin A} = \frac{\text{Massa Vitamin C}}{\text{Massa Sampel}} \times 100\%$$

8. Kadar Kalsium (Metode Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS))

Penentuan kadar kalsium dilakukan dengan mengukur sampel yang telah didestruksi secara basah menggunakan Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) pada panjang gelombang 420 nm. Pengujian kandungan kalsium mengikuti metode yang telah dimodifikasi. Analisis kadar kalsium pada sampel dilakukan dengan menimbang 0,1 gram sampel halus, kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl berkapasitas 100 ml. Sampel didestruksi dengan menambahkan 15 ml asam klorida (HCl). Larutan didestruksi hingga menjadi bening dan kemudian didinginkan. Volume hasil filtrasi ditakar sampai 100 ml dan siap diukur menggunakan AAS. Berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh dari AAS pada larutan standar, didapatkan hubungan antara konsentrasi dan absorbansi melalui persamaan garis lurus $y = a + bx$ (dengan y sebagai absorbansi dan x sebagai konsentrasi). Kadar kalsium dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$(Ca) = \frac{(Absorban\ cth - Absorban\ blgko) \times mL\ aliquot \times F\ pengencer}{Berat\ contoh\ (gram)}$$

9. Kadar Zink (Metode spektrofotometri sinar tampak)

Penentuan kadar seng dilakukan dengan mengukur sampel yang telah mengalami destruksi basah menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang sekitar 520 nm. Pengujian kandungan seng dilakukan berdasarkan metode yang telah dimodifikasi. Analisis kadar seng pada sampel dilakukan dengan menimbang sejumlah ikan tongkol, kemudian sampel tersebut direaksikan dengan larutan pereaksi ditizon 0,1% dalam kondisi basa hingga terbentuk kompleks seng-ditizon berwarna merah. Selanjutnya, larutan hasil reaksi diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Konsentrasi seng dalam larutan sampel dihitung berdasarkan kurva kalibrasi standar seng, kemudian kadar seng dalam sampel ditentukan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Zn} = \frac{\text{Konsentrasi Zn } (\mu\text{g/ml}) \times \text{Volume larutan (ml)} \times 1000 \times \text{Faktor pengenceran}}{\text{Berat Sampel (mg)}}$$

10. Kadar Zat Besi (Metode Inductively Coupled Plasma (ICP))

Penentuan kadar zat besi (Fe) pada sampel dilakukan dengan metode Inductively Coupled Plasma (ICP). Proses diawali dengan menimbang 0,5 gram sampel tepung menggunakan neraca analitik, kemudian sampel tersebut dimasukkan ke dalam tabung nesler berukuran 50 ml merek IWAKI. Setelah itu, ditambahkan 10 ml asam nitrat (HNO₃) pekat menggunakan pipet berukuran di dalam lemari asam. Campuran yang dihasilkan dipanaskan dalam penangas air pada suhu 32°C selama 6 jam, lalu didinginkan. Volume kemudian dicukupkan hingga 50 ml dengan air suling dan dihomogenkan melalui proses pembolak-balikan. Larutan disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman 40 ke dalam botol plastik, kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama 1x24 jam. Larutan blanko disiapkan menggunakan HNO₃ (asam nitrat), sedangkan larutan standar dibuat dengan HNO₃ (asam nitrat) pada konsentrasi 100 ppb, 200 ppb, 300 ppb, 400 ppb, 500 ppb, dan 600 ppb. Absorbansi setiap larutan standar Fe, larutan sampel tepung, dan blanko diukur menggunakan alat Inductively Coupled Plasma (ICP) pada panjang gelombang 213,87 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan sumbu Y sebagai nilai absorbansi dan sumbu X sebagai konsentrasi (dalam µg/ml). Selanjutnya, hasil

pengukuran sampel akan diplot pada kurva kalibrasi, dan kandungan Fe dalam sampel dihitung menggunakan rumus tersebut :

$$\text{Kadar Zat Besi} = \frac{F - b \times 50 \text{ ml}}{w}$$

F. Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil organoleptik yang dikumpulkan akan diolah secara komputerisasi dengan program SPSS versi 22.00 melalui uji ANOVA pada α 5%. Apabila $P \geq \alpha$ 5 %, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan mutu fisik yang signifikan di antara ketiga jenis perlakuan.

Analisis akan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengidentifikasi perlakuan mana yang paling disukai. Selanjutnya, hasil akhir dari analisis perlakuan yang paling disukai akan dilanjutkan dengan analisis kimia. Analisis data uji kimia akan dilakukan dengan analisis statistik deskriptif, yaitu melihat persentase kandungan zat gizi yang kemudian dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) nugget ikan (SNI 7758:2013).