

**KARAKTERISTIK KIMIAWI DAN MIKROBIOLOGIS
LELE ASAP *RETORT POUCH* DENGAN BERBAGAI
Bumbu TRADISIONAL INDONESIA
SELAMA PENYIMPANAN**



SKRIPSI

OLEH

AUDIRA WIRIFDAH ARMANITYA

15/383582/PN/14413

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA
YOGYAKARTA**

2020

SKRIPSI

KARAKTERISTIK KIMIAWI DAN MIKROBIOLOGIS

LELE ASAP *RETORT POUCH* DENGAN BERBAGAI

BUMBU TRADISIONAL INDONESIA

SELAMA PENYIMPANAN



OLEH

AUDIRA WIRIFDAH ARMANITYA

15/383582/PN/14413

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS GADJAH MADA

YOGYAKARTA

2020

SKRIPSI

KARAKTERISTIK KIMIAWI DAN MIKROBIOLOGIS LELE
ASAP *RETORT POUCH* DENGAN BERBAGAI
BUMBU TRADISIONAL INDONESIA
SELAMA PENYIMPANAN

Oleh:

AUDIRA WIRIFDAH ARMANITYA

15/383582/PN/14413

telah diuji pada tanggal

5 Januari 2020

skripsi ini diterima sebagai persyaratan
untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan

Pembimbing

Dr. Siti Ari Budhiyanti, S.T.P., M.P.

NIP. 19710310 199702 2 002

Penguji I

Dr. Amir Husni, S.Pi., M.P

NIP. 19700921 199803 1 002

Penguji II

Wahdan Fitriya, S.Pi., M.Sc

NIP. 19830626 201504 1 002

Tanda Tangan

Tanggal

Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

Ketua Departemen

Dr. Ir. Alim Isnansetyo, M.Si

NIP. 19670626 199412 1001

Tanggal:

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Audira Wirifdah Armanitya
NIM : 15/383582/PN/14413
Tahun terdaftar : 2015
Program studi : Teknologi Hasil Perikanan
Fakultas : Pertanian

Menyatakan bahwa dalam dokumen ilmiah Skripsi ini tidak terdapat bagian dari karya ilmiah lain yang telah diajukan untuk memperoleh gelar akademik disuatu lembaga Pendidikan Tinggi, dan juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang/lembaga lain kecuali secara tertulis di sitasi dalam dokumen ini dan disebutkan sumbernya secara lengkap dalam daftar pustaka.

Dengan demikian, saya menyatakan bahwa dokumen ilmiah ini bebas dari unsur-unsur plagiasi dan apabila dokumen ilmiah skripsi ini di kemudian hari terbukti merupakan plagiasi dari hasil karya penulis lain dan/atau dengan sengaja mengajukan karya atau pendapat yang merupakan hasil karya penulis lain, maka penulis bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku

Yogyakarta,.....

Audira Wirifdah Armanitya
15/383582/PN/14413

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah S.W.T yang melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan “Karakteristik kimiawi dan Mikrobiologis Lele Asap *Retort Pouch* dengan Berbagai Bumbu Tradisional Indonesia Selama Penyimpanan” dengan lancar dan baik.

Dalam Penyusunan skripsi ini terdapat bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Seluruh keluarga yang telah memberi doa dan semangat kepada penulis agar dapat menyelesaikan penulisan skripsi.
2. Ibu Dr. R.A. Siti Ari Budhiyanti, S.TP., M.P. selaku dosen pembimbing utama skripsi yang telah membimbing, mendukung, dan memberi petunjuk kepada penulis selama penyusunan skripsi.
3. Bapak Dr. Sc. Amir Husni, S.Pi., M.P. dan Bapak Wahdan Fitriya, S.Pi., M.Sc. selaku dosen penguji yang telah bersedia menguji dan memberikan kritik dan saran dalam penyusunan skripsi.
4. Mas Kirun, pak Siswo, serta tim pengalengan LIPI yang telah membantu teknis pelaksanaan penelitian.
5. Faza, Aji, Daniel, dan Reza yang telah menjadi rekan penelitian yang baik dan suportif dalam pelaksanaan penelitian.
6. Gisela, Dini, Alghan, Novrizal, Sekar, Eri, Irin, dan teman-teman THP 2015 dan THP 2016 yang telah membantu dan memberikan semangat selama pelaksanaan penelitian maupun penulisan.

Penulis memohon maaf apabila terdapat kekurangan dalam skripsi yang disusun. Diharapkan skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca terutama dalam topik mengenai *retort pouch* dalam industri olahan ikan Indonesia.

Yogyakarta, Desember 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN COVER	i
HALAMAN PENYESAHAN	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
INTISARI	x
ABSTRACT	xi
I. PENDAHULUAN	1
1. Latar Belakang	1
2. Tujuan	2
3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
1. Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	4
2. Pengasapan	5
3. Bumbu Tradisional Khas Indonesia	7
4. <i>Retort Pouch</i>	8
III. METODE PENELITIAN	12
1. Alat dan Bahan	12
2. Waktu dan Tempat	12
3. Tata Laksana Penelitian	12
3.1. Pembuatan Lele Asap dan Medium	13
3.1.1. Pembuatan Lele Asap	13
3.1.2. Pembuatan Medium	14
3.2. Pengemasan <i>Retort Pouch</i> dan Pengujian	16
3.2.1. Pengemasan Lele Asap	16
3.2.2. Parameter Uji	17
3.2.2.1. Uji pH (AOAC, 2005)	17
3.2.2.2. Uji <i>Total Volatile Base</i> (Apriyantono, 1989)	17
3.2.2.3. Uji Peroksida (Sibuea, 2005)	18
3.2.2.4. Uji <i>Total Plate Count</i>	19
IV. PEMBAHASAN	20
1. Karakteristik Bahan Baku dan Produk Lele Asap Bumbu Tradisional Khas Indonesia	20

1.1 pH	20
1.2 <i>Total Volatile Base</i> (TVB).....	22
1.3 Angka Peroksida.....	22
1.4 <i>Total Plate Count</i> (TPC)	24
2. Karakteristik Produk Lele Asap <i>Retort Pouch</i> Bumbu Khas Indonesia Selama Penyimpanan	25
2.1 Derajat Keasaman (pH)	25
2.2 <i>Total Volatile Base</i> (TVB).....	26
2.3 Angka Peroksida.....	29
2.4 <i>Total Plate Count</i> (TPC)	32
3. Pembahasan Umum	34
V. KESIMPULAN	36
1. Kesimpulan.....	36
2. Saran	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Komposisi kimia ikan lele dumbo	5
Tabel 3.1. Komposisi Resep Bumbu Khas Indonesia	14
Tabel 4.1. Pengaruh Bahan Baku, Bahan Baku Asap, dan Bahan Baku Asap dengan Bumbu Khas Indonesia terhadap pH, <i>Total Volatile Base</i> , Angka Peroksida dan <i>Total Plate Count</i> (TPC)	20
Tabel 4.2. Tabel pengamatan <i>Total Plate Count</i> (TPC) lele asap dengan bumbu khas Indonesia dengan kemasan <i>retort pouch</i>	33

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Struktur <i>Retort Pouch</i>	9
Gambar 3.1. Tahapan Proses Pengemasan <i>Retort Pouch</i>	13
Gambar 3.2. Tahapan Proses Pembuatan Medium Bumbu Balado.....	15
Gambar 3.3. Tahapan Proses Pembuatan Medium Bumbu Rendang.....	15
Gambar 3.4. Tahapan Proses Pembuatan Medium Bumbu Sambal Goreng	16
Gambar 4.1. Grafik pengamatan pH pada lele asap dengan bumbu khas Indonesia dengan kemasan <i>retort pouch</i>	25
Gambar 4.2. Grafik pengamatan nilai TVB pada lele asap dengan bumbu khas Indonesia dengan kemasan <i>retort pouch</i>	27
Gambar 4.3. Grafik pengamatan angka peroksida pada lele asap dengan bumbu khas Indonesia dengan kemasan <i>retort pouch</i>	30

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Tabel Absorbansi FeCl_3 dan Grafik Persamaan.....	43
Lampiran 2. Nilai Bahan Baku Segar dan Bahan Baku Asap terhadap pH, <i>Total Volatile Base</i> (TVB), Angka Peroksida, <i>Total Plate Count</i> (TPC)	44
Lampiran 3. Nilai Bahan Baku Asap dengan Bumbu Khas Indonesia terhadap pH, <i>Total Volatile Base</i> (TVB), Angka Peroksida, <i>Total Plate Count</i> (TPC)	44
Lampiran 4. Nilai pH pada Lele Asap dengan Bumbu Tradisional Khas Indonesia dalam <i>Retort Pouch</i> selama Penyimpanan 8 minggu	45
Lampiran 5. Nilai <i>Total Volatile Base</i> (TVB) pada Lele Asap dengan Bumbu Tradisional Khas Indonesia dalam <i>Retort Pouch</i> selama Penyimpanan 8 minggu	45
Lampiran 6. Nilai Angka Peroksida pada Lele Asap dengan Bumbu Tradisional Khas Indonesia dalam <i>Retort Pouch</i> selama Penyimpanan 8 minggu	45
Lampiran 7. Nilai <i>Total Plate Count</i> (TPC) pada Lele Asap dengan Bumbu Tradisional Khas Indonesia dalam <i>Retort Pouch</i> selama Penyimpanan 8 minggu	46
Lampiran 8. Analisa Statistika pH (Sebelum Sterilisasi)	47
Lampiran 9. Analisa Statistika TVB (Sebelum Sterilisasi)	48
Lampiran 10. Analisa Statistika Angka Peroksida (Sebelum Sterilisasi)	49
Lampiran 11. Analisa Statistika TPC (Sebelum Sterilisasi).....	50
Lampiran 12. Analisa Statistika ANOVA (Sesudah Sterilisasi)	51
Lampiran 13. Hasil Analisa Statistika Uji Berganda Duncan (DMRT) pH (Setelah Sterilisasi)	52
Lampiran 14. Hasil Analisa Statistika Uji Berganda Duncan (DMRT) TVB (Setelah Sterilisasi)	53
Lampiran 15. Hasil Analisa Statistika Uji Berganda Duncan (DMRT) Angka Peroksida (Setelah Sterilisasi)	54
Lampiran 16. Hasil Analisa Statistika Uji Berganda Duncan (DMRT) TPC (Setelah Sterilisasi)	54

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyimpanan terhadap karakteristik kimiawi dan mikrobiologis lele asap *retort pouch* dengan berbagai bumbu tradisional khas Indonesia. Penelitian ini terdiri atas tiga perlakuan yaitu bumbu balado, rendang, dan sambal goreng dengan pengamatan dalam penyimpanan delapan minggu. Penelitian ini diawali dengan penyiangan, ikan lele filet melalui proses penggaraman, perendaman dengan larutan asap cair, dan pengeringan menggunakan oven, selanjutnya lele asap ditimbang sebesar 120 g kemudian dimasukkan ke dalam *retort pouch*, lalu ditambah medium bumbu tradisional khas Indonesia (bumbu balado, rendang, dan sambal goreng). *Retort pouch* yang berisi lele asap dengan medium melalui proses *exhausting*, *vacuuming*, *sealing*, sterilisasi (121°C selama 20 menit), pendinginan, dan inkubasi selama dua minggu. Pengamatan karakteristik kimiawi dan mikrobial meliputi uji pH, *total volatile base*, angka peroksida, dan *total plate count* dilakukan pada minggu ke-0, 2, 4, 6, 8. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa proses pengemasan *retort pouch* dan penambahan bumbu tradisional khas Indonesia selama 8 minggu penyimpanan masih berada di bawah batas kelayakan konsumsi berturut-turut sambal balado, rendang, dan sambal goreng: pH (5,66; 5,66; 5,9), TVB (5,38; 4,3585; 4,65 mgN/100g); angka peroksida (0,80; 2,02; 2,87 meq/kg); dan TPC ($4,3 \times 10^2$; $5,4 \times 10^2$; $6,6 \times 10^2$ CFU/mL)

Kata kunci: lele asap, asap cair, *retort pouch*, penyimpanan, kualitas kimiawi dan kualitas mikrobiologis

ABSTRACT

This research aims to understand the storage effect on smoked catfish' chemical and microbiological characteristics with various traditional Indonesian sauces as the medium on retort pouch packaging for observation on eight weeks storage. This research has three treatments: the addition of balado, rendang, and sambal goreng sauce to the smoked catfish. Filleted catfish were salted, submerged on liquid smoke, and oven-dried. Smoked catfish were weighted for 120 g then inserted on retort pouch while added traditional Indonesian sauces. Retort pouch filled with smoked catfish and medium going through exhausting, vacuum-sealing, sterilisation (121°C for 20 minutes), cooling, and incubation for two weeks. Observation for chemical and microbiological characteristics include pH, total volatile base, peroxide value, and total plate count on week 0, 2, 4, 6, 8. Observation results have shown that retort pouch packaging and the addition of Indonesian traditional sauces for 8 weeks storage has fulfilled the standard of chemical and microbiological characteristics on their respected tests which are shown in the following order (sambal balado, rendang, and sambal goreng: pH (5,66; 5,66; 5,9), TVB (5,38; 4,3585; 4,65 mgN/100g); peroxide value (0,80; 2,02; 2,87 meq/kg); and TPC (4,3 x 10²; 5,4 x 10²; 6,6 x 10² CFU/mL).

Keywords: smoked-catfish, liquid smoke, retort pouch, chemical and microbiological characteristics

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Salah satu komoditas perairan unggulan di Indonesia adalah ikan lele. Ikan lele telah menjadi sumber protein yang cukup digemari oleh masyarakat luas, karena rasanya yang gurih, kandungan gizinya yang tinggi dan harganya yang terjangkau, sehingga permintaan terhadap ikan lele cenderung meningkat (Gunawan, 2010). Ikan lele juga merupakan salah satu komoditas budidaya unggulan Indonesia dengan produksi yang cukup tinggi. Produksi lele naik dari 841,75 ribu ton pada 2017 menjadi 1,81 juta ton (114,82%) pada 2018 (KKP, 2018). Kandungan lemak dan air pada lele yang cukup tinggi, menyebabkan ikan lele termasuk bahan mudah rusak (*perishable food*). Sifat ikan lele yang *perishable* ini perlu diolah sebagai upaya memperpanjang umur simpan. Salah satu bentuk olahan ikan lele yang mampu menambah cita rasa namun juga memperlambat kerusakan mutu ikan adalah lele asap.

Pengasapan ikan adalah suatu proses yang merupakan gabungan dari penggaraman, pengeringan, dan pengasapan. Salah satu metode pengasapan modern adalah menggunakan asap cair. Asap cair merupakan cairan kondensat uap asap hasil pirolisis kayu yang mempunyai kelebihan, antara lain kemudahan dalam pengaplikasiannya, hasil pengasapan yang lebih merata, serta lebih aman dari senyawa berbahaya (Simon *et al.*, 2005). Pengasapan tradisional dapat memberikan potensi resiko bahaya bagi kesehatan manusia terkait adanya kandungan *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) tinggi yang dihasilkan melalui pengasapan langsung pada proses pirolisis kayu (Putri & Diana, 2015). Senyawa turunan PAH yang paling banyak diketahui adalah *Benzo[a]pyrene* (BaP). Pengasapan dengan asap cair memiliki kandungan PAH yang jauh lebih sedikit dibandingkan dengan pengasapan tradisional dikarenakan adanya pemurnian pada asap cair yang dihasilkan sehingga senyawa PAH dapat berkurang secara signifikan (McDonald, 2015). Senyawa fenol, karbonil, dan asam-asam organik yang terdapat dalam asap cair berperan penting dalam pengawetan ikan. Kendala yang muncul pada produk lele asap yang dibuat dengan asap cair adalah masa simpan yang rendah (4 – 8 hari), serta mengalami kemunduran mutu seperti tumbuh jamur pada penyimpanan suhu ruang (Yuliasri *et al.*, 2015), sehingga diperlukan adanya upaya tambahan dalam memperpanjang daya simpan ikan lele asap, salah satunya modifikasi dalam pengemasan.

Industri pangan di Indonesia terus berkembang, terutama pada jenis produk makanan siap saji sehingga dibutuhkan teknologi pengemasan yang efisien dalam menjaga kualitas bahan untuk memperpanjang daya simpan produk lele asap. *Retort pouch* merupakan salah satu alternatif metode pengemasan selain pengalengan yang merupakan kemasan berlaminasi fleksibel yang tahan suhu tinggi selama proses sterilisasi (Jun *et. al.*, 2006). Kemasan *retort pouch* lebih unggul di beberapa aspek jika dibandingkan kemasan kaleng, seperti lebih praktis, lebih ekonomis, mengurangi waktu masak, lebih ramah lingkungan, kemasan lebih tahan lama, dan mempertahankan kualitas produk dengan lebih baik (Coles dan Kirwan, 2011). Ukuran kemasan yang lebih kecil serta ringan membuat *retort pouch* lebih praktis dalam penyimpanan serta lebih ekonomis dalam distribusi.

Penambahan bumbu tradisional Indonesia berupa balado, rendang, dan sambal goreng tidak hanya dipilih sebagai medium namun juga karena ketiga bumbu ini dinikmati secara luas oleh berbagai kalangan masyarakat Indonesia. Penelitian mengenai lele asap bumbu tradisional khas Indonesia dalam kemasan *retort pouch* sudah dilakukan terlebih dahulu oleh Prastowo (2019) mengenai nilai sterilisasi dan Faza (2020) mengenai kandungan gizi dan penerimaan konsumen, namun belum mencakup perubahan mutu lele asap secara kimia dan mikrobiologis. Kemampuan *retort pouch* dalam menjaga mutu produk perlu diuji melalui pengamatan perubahan karakteristik kimiawi (pH, nilai *total volatile base* (TVB), angka peroksida) dan mikrobiologis (*total plate count*) selama penyimpanan.

Mudah rusaknya komoditas produk perikanan memerlukan upaya tambahan dalam memperpanjang daya simpannya. Perlakuan pengasapan dengan inovasi penambahan bumbu tradisional dan pengemasan alternatif menggunakan *retort pouch* diharapkan mampu menjadi bentuk diversifikasi produk olahan ikan dalam industri makanan di Indonesia. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perubahan karakteristik kimiawi dan mikrobiologis produk agar dapat menjamin mutunya selama delapan minggu penyimpanan.

2. Tujuan

Mengetahui pengaruh penyimpanan terhadap karakteristik kimiawi dan mikrobiologis lele asap *retort pouch* dengan berbagai bumbu tradisional Indonesia

3. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi adanya pengaruh *retort pouch* ikan lele asap dengan berbagai macam medium bumbu tradisional Indonesia terhadap kandungan gizi dan penerimaan konsumen.

II. TINJAUAN PUSTAKA

1. Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Lele dumbo (*Clarias gariepinus*) merupakan salah satu spesies unggulan ikan air tawar yang memiliki kelebihan bila dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya, antara lain mudah dipelihara, serta dapat tumbuh dengan cepat dalam waktu relatif singkat (Chou *et al.*, 1994). Ikan lele menurut Saanin (1984) merupakan bagian dari kingdom Animalia, sub-kingdom Metazoa, filum Chordata, sub-filum Vertebrata, kelas Pisces, sub-klas Teleostei, ordo Ostariophysi, family Clariidae, dan genus *Clarias* dengan nama spesies *Clarias gariepinus*.

Lele dumbo memiliki kulit yang licin, berlendir, dan sama sekali tidak memiliki sisik. Warnanya hitam bintik-bintik yang tidak beraturan. Warna kulit tersebut akan berubah menjadi mozaik hitam putih jika lele sedang dalam kondisi stress, dan akan menjadi pucat jika terkena sinar matahari langsung (Arifin, 2009).

Ikan lele dumbo memiliki berbagai kelebihan di antaranya pertumbuhannya cepat, memiliki kemampuan beradaptasi pada lingkungan yang tinggi, serta memiliki kandungan gizi yang baik. Menurut Chukwu dan Shaba (2009), *Clarias gariepinus* memiliki kandungan protein sebesar 20%, lemak 14%, dan karbohidrat sebesar 5%. Di samping keunggulan yang dimilikinya, ikan lele dumbo juga memiliki beberapa kekurangan yaitu kandungan air yang tinggi serta pH tubuh ikan yang mendekati netral sehingga menyebabkan daging mudah rusak (Kusharto *et al.*, 2011). Komposisi kimia ikan lele dumbo dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi kimia ikan lele dumbo

Komponen	Jumlah (%)
Air	71.85
Protein	19.51
Lemak	14.28
Abu	3.06
Serat	0.98
Karbohidrat	5.48
Vitamin A	0.00036
Potasium	0.00012
Fosfor	0.00012

Sumber: Chukwu dan Shaba (2009)

2. Pengasapan

Pengasapan merupakan suatu cara pengawetan ikan yang menggunakan asap sebagai bahan pengawet, pemberi warna serta rasa yang khas (Moeljanto, 1992). Pengasapan merupakan suatu cara pengawetan ikan yang menggabungkan beberapa tahap pekerjaan, yaitu: penggaraman, pengeringan, pemanasan dan pengasapan. Penggaraman dapat menghasilkan daging yang kompak, membunuh bakteri, dan menguatkan cita rasa daging. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam daging ikan dan memudahkan daging ikan menyerap partikel-partikel asap pada saat pengasapan. Pemanasan bertujuan untuk mematangkan daging ikan, menghentikan enzim perusak, dan menguapkan sebagian air dalam badan ikan (Moeljanto, 1992).

Teknik pengasapan terbagi menjadi beberapa jenis yaitu teknik pengasapan tradisional dengan panas, pengasapan dingin, pengasapan elektrostatis, hingga pengasapan menggunakan asap cair. Mayoritas pengasapan di Indonesia masih menggunakan teknik pengasapan tradisional. Pada pengasapan tradisional, jarak antara ikan dan sumber asap biasanya dekat. Penggunaan suhu yang cukup tinggi menyebabkan ikan cepat matang. Panas yang tinggi dapat menghentikan kegiatan enzim yang tidak diinginkan, dan menguapkan sebagian air dalam badan ikan, sehingga daya simpan ikan dapat diperpanjang (Sulistijowati, 2011). Pengasapan tradisional menggunakan suhu 70-90°C selama 4-5 jam, dengan kadar air yang produk akhir berkisar 60-70%. Asap yang dihasilkan dari pembakaran pada pengasapan tradisional menghasilkan rasa khas yang melekat pada ikan (Nitibaskara, 1988). Kelemahan dari metode ini adalah kualitas produk yang dihasilkan sebagian besar masih belum memenuhi standar nasional (SNI) dan berpotensi menghasilkan bahan karsinogen, serta menimbulkan pencemaran lingkungan akibat dari asap yang digunakan untuk proses pengolahan (Swastawati *et al.*, 2017)

Pengasapan ikan dapat dilakukan dengan metode yang lebih aman untuk kesehatan dan juga ramah lingkungan, yaitu dengan menggunakan asap cair. Asap cair merupakan hasil kondensasi dari kayu yang mengandung fenol, asam organik, dan karbonil. Ketiga senyawa tersebut berperan dalam memperbaiki sifat produk ikan asap, antimikroba dan antioksidan. Proses pembuatan asap cair melalui beberapa tahapan yaitu pirolisis, kondensasi, dan redistilasi. Kayu atau serbuk kayu dipirolisis pada suhu tertentu hingga menghasilkan asap, kemudian asap yang dihasilkan dikondensasikan menjadi bentuk asap cair (Ayudiarti dan

Sari, 2010). Pirolisis adalah proses pemecahan polimer menjadi molekul melalui pembakaran yang suhunya dapat mencapai 450°C, asap hasil pembakaran kemudian dikondensasi.

Senyawa karbonil dalam asap cair berperan dalam pembentukan karakteristik khas ikan asap yang dihasilkan seperti warna kecoklatan dan penampakan mengkilap. Warna kecoklatan dihasilkan dari reaksi antara karbohidrat, khususnya gula pereduksi dengan gugus amina primer yang disebut Reaksi Maillard. Reaksi ini menghasilkan pigmen coklat yang terbentuk pada lapisan luar ikan yang disebut melanoidin (Arsa, 2016). Reaksi Maillard terdiri atas tiga tahap. Tahap awal adalah pembentukan glikosilamin. Tahap kedua adalah senyawa glikosilamin mengalami dehidrasi menjadi turunan furan, redukton, dan senyawa karbonil yang lainnya. Tahap akhir adalah perubahan dari furan dan karbonil menjadi senyawa citarasa dan warna (Hustiany, 2009).

Menurut Ayudiarti dan Sari (2010), keunggulan dari penggunaan teknik pengasapan dengan asap cair adalah penggunaan panas yang lebih merata, *flavor* asap yang lebih seragam dan kuat, dapat diaplikasikan pada berbagai produk makanan, serta mengurangi polusi pada lingkungan. Swastawati (2013) menyatakan bahwa pada penggunaan asap cair dalam pengasapan ikan hampir tidak terdapat kandungan senyawa *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH). PAH adalah senyawa bersifat toksik yang memiliki sifat karsinogenik tinggi karena dapat membentuk kompleks DNA secara permanen dan menyebabkan mutasi pada gen. Hattula *et al* (2001) menyatakan bahwa ikan *trout* asap yang melalui proses pengasapan dengan asap cair memiliki kandungan PAH yang jauh lebih sedikit dibandingkan dengan pengasapan tradisional. Hal ini dikarenakan adanya pemurnian pada asap cair yang dihasilkan sehingga senyawa PAH dapat berkurang secara signifikan (McDonald, 2015). Proses pemurnian asap cair dilakukan dengan destilasi pada suhu tinggi sehingga senyawa PAH seperti *Benzo[a]pyrene* yang memiliki titik didih tinggi serta tar akan tertinggal sebagai residu sementara senyawa lain yang terkandung pada asap cair seperti fenol dan karbonil yang memiliki titik didih rendah akan terpisah menjadi destilat (Guillen *et al.*, 2000).

Asap cair mengandung senyawa penting seperti fenol, karbonil, asam furan, alkohol, ester, lakton, dan hidrokarbon aromatik polisiklik (Setiaji *et al.*, 2006). Dua senyawa utama dalam asap cair yaitu fenol dan asam organik, diketahui mempunyai efek bakterisidal atau bakteriostatik yang dapat mengontrol pertumbuhan mikrobia (Riyanto & Dwiyoitno, 2006).

Kombinasi kedua senyawa ini mampu memperlambat proses penurunan mutu dari bakteri pembusuk.

Nilai pH pada ikan dipengaruhi oleh proses pengasapan yang menyebabkan penurunan pH, akibat dari penyerapan komponen asam yang terdapat dalam asap cair. Reaksi antara fenol, polifenol dan komponen karbonil dengan protein menyebabkan kehilangan kadar air sehingga menurunkan pH ikan asap (Hassan, 1988). Angka peroksida juga dipengaruhi oleh proses pengasapan. Pemanasan dengan suhu tinggi memicu timbulnya celah pada jaringan daging ikan sehingga memudahkan kontak antara lemak tak jenuh dengan prooksidan dalam sel yang mempercepat oksidasi lemak pada ikan (Tenyang *et al.*, 2018). Prooksidan adalah senyawa yang memicu *oxidative stress* pada sel dan jaringan sehingga menyebabkan kerusakan oksidatif (Ayala *et al.*, 2014). Keberadaan mikroorganisme dapat diamati melalui pengujian *total plate count*. Proses pengasapan mempengaruhi uji TPC dikarenakan asap mengandung senyawa fenol dan formaldehida yang masing-masing bersifat bakterisida atau membunuh bakteri (Sulistijowati, 2011).

3. Bumbu Tradisional Khas Indonesia

Bumbu merupakan campuran rempah-rempah yang digunakan untuk memberikan rasa dan aroma pada masakan. Rempah-rempah berfungsi untuk memperkuat dan memperkaya citarasa dari bahan pangan. Citarasa yang diberikan rempah-rempah dapat berupa bau harum dan sedap atau rasa tajam yang menyenangkan, yang dapat memberikan karakteristik pada bahan pangan tersebut. Beberapa jenis rempah-rempah diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang cukup kuat terutama untuk bumbu masakan (Rahayu, 2000). Keseimbangan penambahan bumbu dari rempah-rempah dan aroma yang khas dapat menghasilkan masakan yang lezat dan memberikan kepuasan bagi yang mengkonsumsinya.

Makanan tradisional Indonesia sangat beragam, mulai dari makanan ringan sampai lauk-pauk. Hampir setiap daerah di Indonesia memiliki makanan tradisional dengan rasa khas seperti sambal balado, rendang, dan sambal goreng. Sambal balado adalah teknik memasak dengan cara menumis cabe giling dengan berbagai rempah, biasanya bawang merah, bawang putih, jeruk nipis (Ramli, 2008). Sambal balado dapat digunakan pada berbagai jenis makanan seperti terong balado, dendeng balado, dan telur balado.

Bumbu selanjutnya adalah Rendang yang merupakan masakan tradisional khas Minangkabau dengan bahan daging dan santan kelapa berbumbu rempah dan cabai. Bumbu yang digunakan antara lain cabe merah, lengkuas, jahe, bawang merah, bawang putih, daun

kunyit, daun salam, daun jeruk, sereh, bubuk pala, bubuk cengkeh, dan kayu manis (Fajri *et al.*, 2013). Sambal goreng adalah masakan khas Indonesia yang menggunakan bahan-bahan berupa cabai, bawang merah, bawang putih, santan encer, garam, dan gula (Soewitomo, 2009). Terdapat dua jenis sambal goreng yaitu sambal goreng kering dan sambal goreng basah. Sambal goreng kering mengandung sedikit minyak sehingga memiliki tekstur kering dan renyah seperti kering tempe, kentang, atau kacang tanah sedangkan sambal goreng basah menggunakan bahan cair atau santan yang cukup banyak sehingga biasanya berkuah kental seperti sambal goreng hati dan sambal goreng kentang.

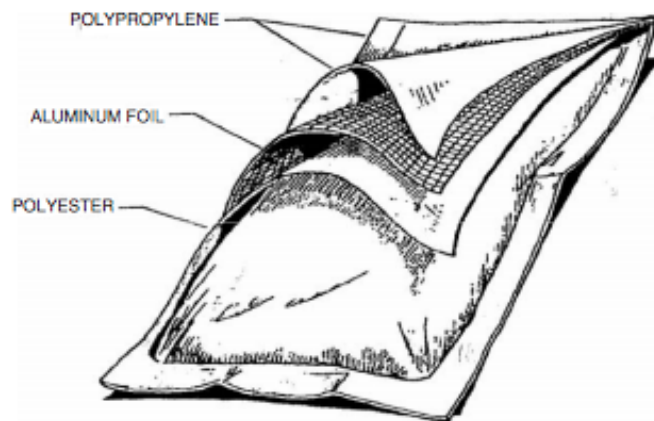
Bumbu tradisional khas Indonesia merupakan olahan yang sesuai ditambahkan sebagai medium dalam olahan lele asap. Medium cair digunakan untuk memudahkan perambatan panas dari *retort* ke daging ikan (Naseri *et al.*, 2011). Peran medium selain mempersingkat waktu sterilisasi dengan mempercepat perambatan panas juga dapat menambahkan cita rasa pada ikan dalam proses pengalengan. Penelitian mengenai penambahan bumbu tradisional pada lele asap dilakukan oleh Ahmad (2017) dalam pengalengan. Penambahan bumbu tradisional yang mengandung cabai dan rempah-rempah lain memberikan pengaruh baik terhadap karakteristik kimiawi dan mikrobiologis pada lele asap kaleng. Faza (2020) menguji kualitas gizi dan penerimaan konsumen terhadap lele asap bumbu tradisional khas Indonesia dengan pengemasan *retort pouch*. Penelitian tersebut memaparkan bahwa penerimaan konsumen berada pada rentang “agak suka” hingga “suka” untuk penambahan bumbu rendang, bumbu balado, dan bumbu sambal goreng pada lele asap.

4. Retort Pouch

Pouch adalah kemasan berbentuk kantong yang bersifat fleksibel, karena terdiri atas beberapa lapisan *polyethylene* dan bahan lain. Salah satu jenis *pouch* yang digunakan pada industri makanan adalah *retort pouch* yang merupakan kemasan fleksibel yang memiliki struktur lapisan terlamiasi yang dapat melalui proses termal serupa dengan kaleng (Al-Baali dan Farid, 2007). Kirwan dan Strawbridge (2003) menyatakan bahwa bahan penyusun *retort pouch* harus lembam, dapat disegel dengan panas, stabil, tahan terhadap panas pada suhu 115°C-125°C, memiliki permeabilitas oksigen dan uap air yang rendah, serta kuat dalam menghindari kerusakan baik dari bahan makanan di dalamnya atau pun penyimpanan.

Bahan penyusun *retort pouch* umumnya terdiri dari *polyester film* sebagai lapisan luar yang berfungsi untuk melindungi dan memperkuat kemasan; aluminum foil sebagai

lapisan tengah yang berfungsi untuk menghalangi laju kelembapan, cahaya, dan gas; serta *polypropylene film* sebagai lapisan dalam yang berfungsi untuk menjaga panas dalam kemasan serta bahan yang aman untuk makanan (Rahman, 1999). Struktur *retort pouch* dapat diamati pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Struktur *Retort Pouch* (Lampi, 1980)

Retort pouch merupakan salah satu pengembangan kemasan terbaik dalam industri pangan. Beberapa keunggulan yang dimiliki *retort pouch* menurut Coles dan Kirwan (2011) yaitu:

- a) Bentuk *pouch* yang cenderung lebih tipis dibanding kaleng mampu mempercepat proses perpindahan panas pada proses sterilisasi hingga 30-40%.
- b) Berkurangnya paparan panas menyebabkan meningkatnya cita rasa, kualitas warna, dan *flavour* serta mempertahankan nutrisi yang ada pada produk
- c) Membutuhkan ruang yang lebih sedikit dibanding kaleng hingga 85% dengan daya simpan yang sama dengan kaleng
- d) Tidak seperti kaleng, *retort pouch* tidak mengalami korosi

Penggunaan *retort pouch* sudah banyak diaplikasikan dalam industri pangan tidak terkecuali produk perikanan. Sebagai komoditas yang mudah rusak, produk perikanan membutuhkan pengemasan yang baik untuk memperpanjang daya simpannya. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memastikan kompatibilitas produk perikanan dengan teknik pengemasan ini. Vijaya *et al.*, (1998) melakukan evaluasi sensoris penggunaan *retort pouch* sebagai kemasan *fish curry* selama 24 bulan; Bindu *et al.*, (2008) menguji daya simpan *fish peera* dari aspek kekuatan kemasan *retort pouch*; serta Dhanapal *et al.*, (2010) menguji

karakteristik fisika, kimia, dan mikrobial *tilapia fish curry* dengan lemak tak jenuh menggunakan kemasan *retort pouch*. Penelitian mengenai lele asap bumbu tradisional khas Indonesia dalam kemasan *retort pouch* sudah dilakukan terlebih dahulu oleh Prastowo (2019) mengenai nilai sterilisasi terbaik yang didapatkan pada proses pengemasan dan Faza (2020) mengenai kandungan gizi dan penerimaan konsumen.

Proses pengemasan produk dalam *retort pouch* tidak berbeda jauh dengan pengalengan. Langkah pengemasan lele asap bumbu tradisional khas Indonesia dalam *retort pouch* pada penelitian terdahulu oleh Prastowo (2019) dimulai dari pengisian bahan, pengisian medium, penimbangan, *exhausting*, *vacuum sealing*, sterilisasi, dan karantina. Sterilisasi yaitu proses pembebasan suatu material bahan ataupun alat dari berbagai mikroorganisme hidup atau stadium istirahatnya merupakan Langkah penting dalam pengemasan *retort pouch*. Sel-sel vegetatif bakteri dan fungi dapat dimatikan pada suhu 60°C dan dalam waktu 5 – 10 menit. Namun spora fungi dapat mati pada suhu di atas 80°C dan spora bakteri baru mati di atas suhu 120°C selama 15 menit. Sterilisasi dan pasteurisasi dapat dicapai dengan cara pemanasan lembab, pemanasan kering, filtrasi, penyinaran, atau bahan kimia. Semakin tinggi tingkat kontaminasi mikroorganisme pada suatu alat ataupun bahan maka jumlah spora semakin banyak yang termos resisten sehingga diperlukan waktu pemanasan yang lebih lama (Schlegel, 1994). Waktu pemanasan yang lebih singkat adalah salah satu kelebihan *retort pouch* jika dibandingkan dengan pengalengan. Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Prastowo (2019) menunjukkan bahwa waktu sterilisasi terbaik pada pengemasan lele asap bumbu tradisional khas Indonesia dengan *retort pouch* adalah 20 menit pada suhu 121°C. Durasi sterilisasi ini lebih singkat dibandingkan dengan penelitian Sari (2017) yang meneliti pengemasan produk serupa dengan pengalengan yang membutuhkan 30 menit sterilisasi pada suhu 121°C. Perbandingan ini menunjukkan bahwa penggunaan *retort pouch* memiliki keunggulan dalam mengurangi durasi sterilisasi sehingga kualitas dan cita rasa lele asap bumbu tradisional khas Indonesia dapat lebih terjaga.

Perlakuan sterilisasi memerlukan suhu tinggi untuk mencapai kondisi steril yang diinginkan. Suhu tinggi ini tidak hanya mempengaruhi karakteristik fisika dan sensoris produk namun juga dari karakteristik kimiawi dan mikrobiologis produk tersebut. Karakteristik kimiawi tersebut mencakup nilai pH, nilai *total volatile base*, serta angka peroksida. Sementara karakteristik mikrobiologis suatu produk dapat dilihat dari jumlah bakterinya dengan *total plate count*. Perubahan karakteristik kimiawi dan mikrobiologis

produk perlu diamati sebagai salah satu instrumen dalam menentukan umur simpan produk yang dipengaruhi oleh faktor ekstrinsik dan intrinsik yang memicu kemunduran mutu produk (Asiah *et al.*, 2018).

Lama penyimpanan juga memiliki pengaruh terhadap kualitas ikan pada *retort pouch*, baik dari kandungan gizi maupun karakteristik kimiawi dan mikrobiologinya. Faza (2019) menguji kandungan gizi lele asap bumbu tradisional khas Indonesia dalam kemasan *retort pouch* selama 8 minggu. Penelitian tersebut menjelaskan bahwa kandungan gizi produk mengalami perubahan namun tidak menunjukkan kerusakan selama 8 minggu dan masih memenuhi standar yang ditetapkan oleh Kementerian Kesehatan RI dan Departemen Kesehatan Inggris. Ammu *et al* (2017) menguji karakteristik kimiawi kari makarel India dengan kemasan *retort pouch* yaitu nilai *total volatile base* dan angka peroksida. Pengamatan hingga hari ke-60 menunjukkan lama penyimpanan berpengaruh dalam perubahan nilai TVB dan angka peroksida namun masih dalam batas aman konsumsi menurut standar yang berlaku.

III. METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *retort* (Tommy SS-325), oven (Modena MK 2203, 800 watt, 220 V-50Hz), timbangan digital (Shuma), timbangan analitik (Denver Instrument Comp; M-120), mortar, spektrofotometer UV-Vis (Parkinlemer lamda 25, USA), alu, *stirrer hot plate* (Velp Scientifika), *vacuum sealer*, *vortex* (Barntead Thermolyne Type H-26-F Kokusan Corporation, Jepang), blender (Philips), kuvet, tabung *falcon*, *blue tip*, *microtube*, cawan Conway, pipet tetes, loyang, wadah plastik, inkubator (Isuzu Incubator; SSJ-115), gelas Erlenmeyer (Iwaki Pyrex, Jepang), gelas ukur, gelas beker (Iwaki Pyrex, Jepang), pH meter, kertas saring, petridisk, mikropipet (Socorex; Acura 821).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele dari BBI Rewulu, asap cair dari Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, bahan pembuatan bumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) dari pasar Kranggan, larutan garam, larutan TCA 7,5%, H_3BO_3 (Merck, Germany), HCl, K_2CO_3 jenuh (Merck, Germany), methanol (Sigma), $FeCl_2$ (Merck, Germany), $FeCl_3$ (Merck, Germany), NH_4SCN (Merck, Germany), dan medium PCA.

2. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2020 hingga bulan Oktober 2020 bertempat di Departemen Perikanan UGM (Laboratorium Pengolahan Ikan), Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta; Chem-Mix Pratama, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta; Laboratorium Pembinaan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Dinas Kelautan dan Perikanan DIY, Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta; dan Unit Pelayanan Teknis Balai Pengembangan Proses dan Teknologi Kimia (UPT BPPTK LIPI) Gunungkidul, Daerah Istimewa Yogyakarta

3. Tata Laksana Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL). Perlakuan yang digunakan meliputi perlakuan sebelum sterilisasi dan setelah sterilisasi dan masing – masing diulang sebanyak tiga kali kemudian dilakukan pengelompokan berdasarkan waktu pengamatannya. Penelitian dibagi menjadi dua yaitu 1) pembuatan lele asap dan medium, dan 2) pengemasan *retort pouch* dan pengamatan. Pengamatan dilaksanakan

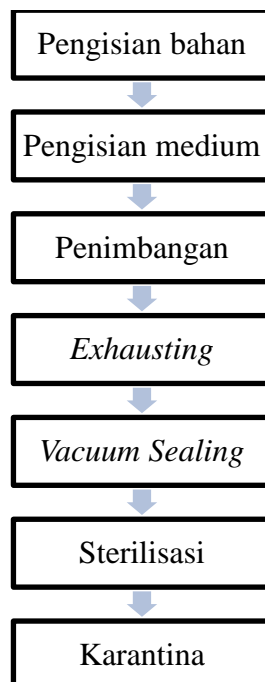
selama 8 minggu, setiap 2 minggu sekali dilakukan uji pH, uji TVB, uji peroksida, dan uji TPC.

Analisis data yang dihasilkan menggunakan analisis sidik ragam (*analysis of variance*/ANOVA) sesuai dengan hasil R Studio. Apabila data menunjukkan ada beda nyata, maka pengujian dilanjutkan menggunakan uji DMRT. Pengujian dilakukan menggunakan program SPSS.

3.1. Pembuatan Lele Asap dan Medium

3.1.1. Pembuatan Lele Asap

Ikan lele dumbo ukuran 1 kg disiangi dan difilet. Filet ikan kemudian dipotong dengan ukuran 2 x 3 cm² (Prakoso, 2016). Potongan ikan yang dihasilkan memiliki berat ± 4 g. Lele dalam potongan kecil akan mempermudah pengemasan serta distribusi panas yang merata pada daging. Proses pengasapan dengan asap cair terdiri dari penggaraman, perendaman dalam asap cair, dan pengeringan. Potongan ikan lele dengan ukuran 2 x 3 cm² kemudian direndam dalam larutan garam 5% selama 120 menit untuk menambah cita rasa lele serta membunuh bakteri, kemudian ditiriskan selama 120 menit. Filet lele selanjutnya direndam dalam larutan asap cair 10% selama 3 menit dan ditiriskan selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah itu dilakukan pengeringan dengan pengovenan selama 120 menit pada suhu 90°C (Fitriya *et al.*, 2006)



Gambar 3.1. Tahapan Proses Pengemasan Lele Asap Bumbu Tradisional Khas Indonesia dalam *Retort Pouch* (Prastowo, 2019)

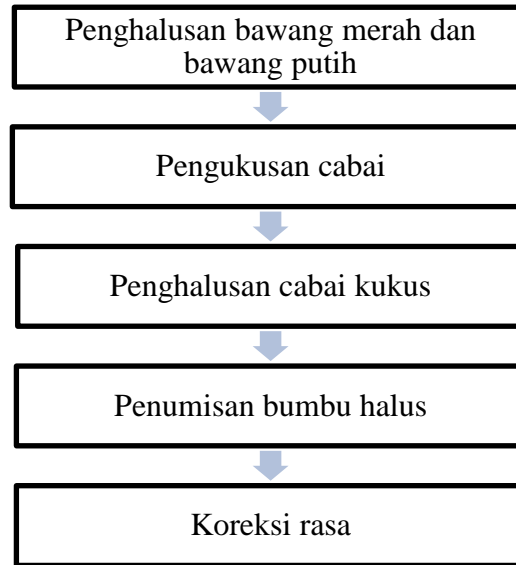
3.1.2. Pembuatan Medium

Medium yang digunakan adalah bumbu tradisional khas Indonesia yaitu bumbu balado, rendang, dan sambal goreng. Komposisi tiap jenis bumbu dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Komposisi Resep Bumbu Khas Indonesia

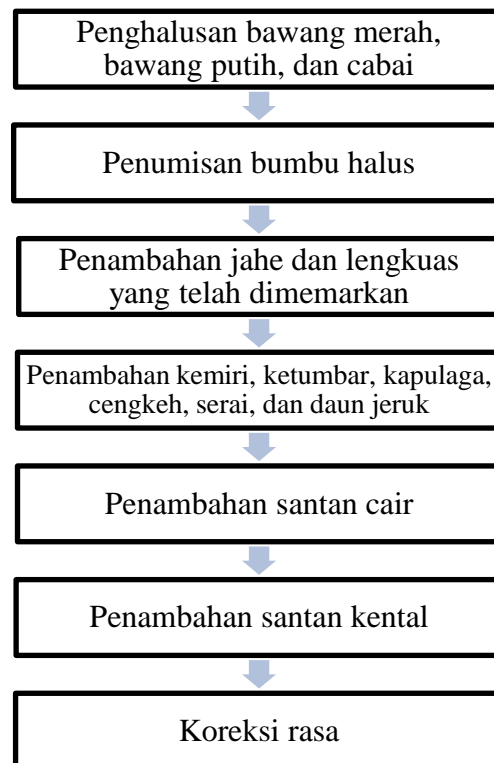
Nama Bahan	Bumbu Khas Indonesia					
	Balado (Khoirunnisa, 2014)		Rendang (Tamtomo dan Ariputra, 2015)		Sambal goreng (Soewitomo, 2009)	
	Jumlah	%	Jumlah	%	Jumlah	%
Cabai merah	200 g	82,64	175 g	14,81	70 g	20,28
Bawang	20 g	8,26	100 g	8,43	20 g	5,79
Bawang	18 g	7,44	32 g	2,71	10 g	2,89
Kemiri	-	-	25 g	2,11	-	-
Merica	-	-	5 g	0,42	-	-
Ketumbar	-	-	12,5 g	1,01	-	-
Santan encer	-	-	500 mL	42,31	350 mL	77,78
Santan kental	-	-	250 mL	21,15		
Garam	2 g	0,83	9 g	0,36	4 g	1,15
Gula	2 g	0,83	11 g	0,44	5 g	1,44
Kayu manis	-	-	5 g	0,20	-	-
Kapulaga	-	-	3 g	0,12	-	-
Cengkeh	-	-	2 g	0,08	-	-
Cabe rawit	-	-	2 g	0,08	-	-
Serai	-	-	2 batang	-	-	-
Daun jeruk	-	-	5 lembar	-	2 lembar	-
Lengkuas	-	-	2 cm	-	-	-
Jahe	-	-	2 cm	-	-	-
Daun salam	-	-	-	-	2 lembar	-

Pembuatan medium sambal balado dilakukan dengan penumisan bumbu halus diikuti dengan pengadukan hingga matang. Tahapan proses pembuatan bumbu balado. Tahapan proses pembuatan bumbu balado dapat diamati pada Gambar 3.2.



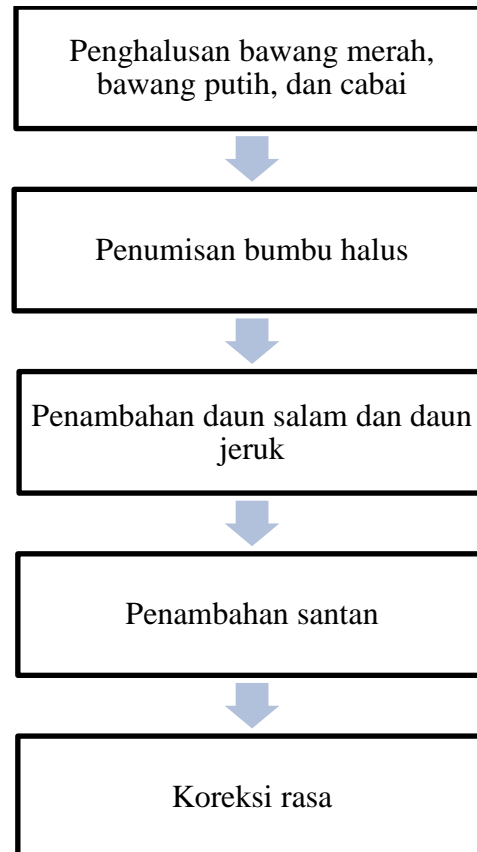
Gambar 3.2. Tahapan Proses Pembuatan Medium Bumbu Balado (Ahmad, 2017)

Pembuatan medium rendang dilakukan dengan penumisan bumbu halus diikuti dengan penambahan rempah-rempah lalu ditambahkan santan cair dan kental kemudian dilakukan pengadukan hingga matang. Tahapan proses pembuatan bumbu rendang. Tahapan proses pembuatan bumbu balado dapat diamati pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3. Tahapan Proses Pembuatan Medium Bumbu Rendang (Ahmad, 2017)

Pembuatan medium sambal goreng dilakukan dengan penumisan bumbu halus diikuti dengan penambahan rempah-rempah lalu ditambahkan santan dan dilakukan pengadukan hingga matang. Tahapan proses pembuatan bumbu sambal goreng. Tahapan proses pembuatan bumbu balado dapat diamati pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4. Tahapan Proses Pembuatan Medium Bumbu Sambal Goreng (Ahmad, 2017)

3.2. Pengemasan *Retort Pouch* dan Pengujian

3.2.1. Pengemasan Lele Asap

Pengisian *retort pouch* dilakukan dengan memasukkan potongan lele asap seberat 115 – 120 g agar produk memiliki berat yang seragam. Lele asap yang telah ditimbang, selanjutnya dimasukkan ke dalam *retort pouch*, dan ditambahkan medium yang berupa bumbu khas Indonesia (balado, rendang, sambal goreng) sebanyak 80 g. Penambahan medium berfungsi untuk membantu mengurangi waktu sterilisasi dengan cara meningkatkan proses perambatan panas dan menambahkan cita rasa. Selanjutnya dilakukan pengeluaran udara atau proses *exhausting* selama 45 menit pada suhu 90°C.

Retort pouch kemudian ditutup dengan proses *vacuum sealing* menggunakan *vacuum sealer*, dan dilanjutkan sterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit sesuai dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Prastowo (2019). *Retort pouch* berisi lele asap dengan medium bumbu tradisional khas Indonesia yang sudah disterilisasi kemudian didinginkan. Selanjutnya dilakukan proses inkubasi selama 2 minggu pada suhu ruang untuk mengetahui apakah sterilisasi berhasil dilakukan pada *retort pouch* serta memastikan tidak ada kerusakan pada kemasan. Setelah melalui masa inkubasi, *retort pouch* disimpan untuk diamati perubahannya. Perubahan dan mikrobiologis diamati setiap 2 minggu sekali selama 8 minggu pengamatan setelah melalui proses inkubasi selama 2 minggu dengan total penyimpanan 70 hari dilakukan mengacu pada penelitian Ammu *et al* (2017) yang menyatakan bahwa karakteristik kimiawi pada kari makarel India dalam kemasan *retort pouch* masih berada pada batas layak konsumsi selama 75 hari.

3.2.2. Parameter Uji

Pengamatan karakteristik kimiawi dan mikrobiologinya perlu dilakukan untuk mengetahui perubahan yang terjadi selama masa simpan. Karakteristik yang diamati adalah perubahan pH, nilai *total volatile base* (TVB), angka peroksida, dan *total plate count* (TPC).

3.2.2.1. Uji pH (AOAC, 2005)

Pada pengujian nilai pH, sampel daging lele asap berbumbu khas Indonesia ditimbang sebanyak 2 g. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 10 mL dan sampel dihaluskan menggunakan cawan dan mortar. Sampel yang telah dihaluskan selanjutnya diukur dengan menggunakan pH meter, yang sebelumnya telah dikalibrasi menggunakan larutan buffer pH 7 hingga menunjukkan nilai pH 7 (normal).

3.2.2.2. Uji Total Volatile Base (Apriyantono, 1989)

Sampel ditimbang sebanyak 5 g yang kemudian dihaluskan ke dalam Erlenmeyer 100 mL. Larutan sampel kemudian ditambahkan 25 mL TCA 5% gerus yang digunakan lumpang porselen. Langkah selanjutnya adalah dilakukan sentrifugasi pada larutan sampel, 5 mL ekstrak diambil kemudian dimasukkan ke dalam alat destilasi protein. Pada larutan ditambahkan 20 mL NaOH-Tio terdiri dari NaOH 40% dan Na₂S₂O₃ 5%. 5 g sampel yang

sudah dihaluskan ke dalam erlenmayer 100 mL. Kemudian destilasi dijalankan dengan penampung destilat menggunakan H_3BO_3 5% yang diberi indikator BCG-MR. Destilat ditampung hingga volume 60 mL, lalu dititrasi dengan menggunakan HCl 0,02 N. Volume titrasi kemudian dicatat dan dihitung. Rumus perhitungan nilai TVB adalah:

$$\text{Kadar TVB-N (mg/100g)} = \frac{\text{vol. titrasi} \times \text{N.HCl} \times \text{BA Nitrogen} \times 14.008 \times \text{FP}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100$$

3.2.2.3. Uji Peroksida (Sibuea, 2005)

Pengujian angka peroksida dilakukan dengan mengambil 0,05 g sampel yang telah dipaparkan cahaya selanjutnya dilarutkan dengan 10 mL methanol. Larutan kemudian ditambahkan 0,05 mL FeCl_2 dan 0,05 mL ammonium thiosanat 30% sehingga terbentuk warna merah. Larutan selanjutnya diinkubasi pada suhu 50°C selama 2 menit dan ditera dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm.

Larutan standar dibuat dengan melarutkan FeCl_3 sebanyak 2,5 g sampai volume mencapai 25 mL, kemudian larutan diencerkan dengan air hingga mencapai volume 250 mL. 0,5 mL larutan sediaan standar diecerkan dengan larutan metanol hingga mencapai 100 mL yang selanjutnya dipakai sebagai larutan standar. Larutan standar dipipet ke tabung reaksi sebanyak 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 sebagai seri pengenceran dan masing – masing diencerkan menjadi 10 mL dengan metanol. Pada setiap tabung reaksi ditambahkan 0,05 mL ammonium thiosianat dan 0,05 mL FeCl_2 , kemudian dihomogenkan degan *vortex*. Selanjutnya diinkubasi dalam *waterbath shaker* pada suhu 50°C selama 2 menit. Perubahan wara diukur nilai absorbasinya pada panjang gelombang 510 nm. Hubungan antara nilai absorpsi dengan konsentrasi Fe (μg) dinyatakan dalam persamaan garis lurus. Rumus perhitungan angka peroksida adalah:

$$\text{Angka Peroksida (meq/kg)} = \frac{A \times B}{C \times 55,48}$$

Keterangan:

- A : $\mu\text{g Fe per 10 mL}$ ($A = X = \frac{y-a}{b}$)
- B : volume larutan mula-mula (10 mL)
- C : berat sampel (0,05 g)
- 55,48 : berat molekul Fe
- y : Persamaan regresi linear penentuan kurva standar
- a dan b: Nilai yang diperoleh dari persamaan regresi linear kurva standar

3.2.2.4. Uji *Total Plate Count*

Pengujian total bakteri dilakukan dengan menggunakan metode TPC. Pada penentuan TPC sampel daging lele asap berbumbu khas Indonesia dilakukan secara duplo. Larutan contoh dibuat dengan menimbang sampel sebanyak 1 g lalu dimasukkan ke dalam botol berisi 9 mL berisi larutan garam 0,85% dan diblender hingga homogen. Larutan tersebut kemudian disebut pengenceran 10^{-1} . Pengambilan dilakukan dari masing – masing tabung pengenceran sebanyak 1 mL larutan contoh dan dipindahkan ke cawan petri steril secara duplo dengan menggunakan *micropipette* secara aseptis.

Medium PCA dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 mL dan digoyangkan sampai permukaan merata (metode tuang), kemudian didiamkan selama 15 menit hingga dingin dan mengeras. Cawan petri tersebut lalu dimasukkan ke inkubator dengan suhu 35°C dan diinkubasi selama 48 jam lalu diamati jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Seluruh pengerjaan dilakukan secara aseptis untuk mencegah kontaminasi yang tidak diinginkan. Jumlah koloni bakteri yang dihitung adalah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri 30 – 300 koloni

IV. PEMBAHASAN

1. Karakteristik Bahan Baku dan Produk Lele Asap Bumbu Tradisional Khas Indonesia

Penelitian ini menguji produk lele asap berbumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) yang dikemas menggunakan *retort pouch*. Pengamatan produk dilakukan pada perlakuan ikan lele dumbo sebagai bahan baku (BB), bahan baku dengan perlakuan pengasapan (D), dan bahan baku asap dengan perlakuan bumbu khas Indonesia yaitu balado (BX), rendang (RX), dan sambal goreng (GX). Pengamatan selama delapan minggu yang dilakukan dua minggu sekali dilakukan pada sampel lele asap *retort pouch* berbumbu khas Indonesia yaitu balado (B), rendang (R), dan sambal goreng (G). Pengamatan dilakukan dengan pengujian secara kimia dan mikrobiologi. Pengujian kimia meliputi pH, angka peroksida, dan *total volatile base* (TVB) sedangkan untuk pengujian mikrobiologis dilakukan dengan *total plate count* (TPC). Hasil pengujian bahan baku, bahan baku asap, dan bahan baku asap berbumbu khas Indonesia terhadap komponen uji disajikan dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Pengaruh Bahan Baku, Bahan Baku Asap dan Bahan Baku Asap dengan Perlakuan Bumbu Tradisional Khas Indonesia terhadap pH, *total volatile base* (TVB), Angka Peroksida, dan *total plate count* (TPC)

Perlakuan	pH	<i>Total Volatile Base</i> (mgN/100g)	Angka Peroksida (meq/kg)	<i>Total Plate Count</i> (CFU/mL)
BB	7.16 ± 0.11 ^a	3.67 ± 0.22 ^c	0.60 ± 0.05 ^c	4.96 x 10 ^{4 a}
D	6.43 ± 0.15 ^b	6.50 ± 0.28 ^a	0.83 ± 0.04 ^b	1.84 x 10 ^{3 b}
BX	6.63 ± 0,06 ^b	5.08 ± 0.26 ^b	0.95 ± 0.07 ^b	1.04 x 10 ^{2 b}
RX	6.66 ± 0,15 ^b	5.13 ± 0.37 ^b	1.19 ± 0.22 ^a	3.1 x 10 ^{2 b}
GX	6.66 ± 0,2 ^b	5.05 ± 0.33 ^b	1.04 ± 0.05 ^b	7.52 x 10 ^{2 b}

Keterangan: Nilai dengan notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada beda nyata ($p < 0,05$)
BB: Bahan baku segar; D: Bahan baku asap; BX: Bahan baku asap bumbu balado; RX: Bahan baku asap bumbu sambal goreng; GX: Bahan baku asap bumbu rendang. Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perubahan beda nyata.

1.1 pH

Nilai pH adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menentukan tingkat keasaman suatu produk. pH pada bahan baku, bahan baku dengan perlakuan pengasapan dan bahan baku asap dengan perlakuan bumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng)

dapat dilihat pada Tabel 4.1. Sampel bahan baku segar memiliki nilai pH 7,16, sedangkan bahan baku dengan perlakuan pengasapan nilainya menurun menjadi 6,43. Nilai pH mengalami penurunan namun tidak signifikan pada bahan baku asap dengan perlakuan bumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) berturut-turut sebesar 6,63; 6,66 dan 6,66.

Sampel bahan baku segar memiliki nilai pH 7,16. Umumnya setelah ikan mati, pH ikan mendekati netral, yaitu sekitar 6,8 hingga 7,2 (pre-rigor mortis), kemudian menurun ketika memasuki fase rigor mortis menjadi 6,2 hingga 6,6 (Yusra dan Efendi, 2010). Liviawaty dan Afrianto (2014) menyatakan bahwa pada fase pre-rigor dan rigor mortis ikan masih dapat dikategorikan sebagai produk segar. Berdasarkan pH bahan baku segar yang masih berada pada fase pre-rigor mortis, sampel dinyatakan masih segar.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan pengasapan dan pemberian bumbu (balado, rendang, dan sambal goreng) memberikan hasil beda nyata ($p < 0,05$) terhadap nilai pH bahan baku, di mana lele yang sudah mengalami proses pengasapan mengalami penurunan pH menjadi 6,43. Hal tersebut disebabkan oleh kombinasi antara perlakuan pengeringan dan pemberian asap cair. Menurut Dien *et al* (2019), pH rendah pada asap cair disebabkan kandungan asam organik seperti fenol, karbonil, difenol, formaldehid, dan asap asetat sebagai hasil dari kondensasi pada proses pengasapan. Bahan baku yang direndam pada asap cair mengakibatkan penurunan pH. Hasil yang sama juga ditunjukkan penelitian sebelumnya oleh Ahmad (2017) bahwa didapatkan nilai pH daging lele segar menurun dari 6,63 menjadi 6,30 untuk lele asap.

Nilai pH bahan baku dengan perlakuan pengasapan dibandingkan dengan bahan baku asap yang dengan perlakuan bumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) menghasilkan nilai tidak signifikan, begitupula apabila membandingkan ketiga bumbu (balado, rendang, dan sambal goreng). Secara umum nilai pH pada bahan baku akan mengalami peningkatan bila diolah dengan cara pengasapan serta diberikan bumbu (balado, rendang, dan sambal goreng). Pemberian bumbu (balado, rendang, dan sambal goreng) memberikan pengaruh penurunan pH terhadap bahan baku. Bumbu balado memiliki nilai pH terendah (6,63) diikuti rendang dan sambal goreng dengan nilai yang sama (6,66).

1.2 Total Volatile Base (TVB)

Nilai TVB pada bahan baku, bahan baku dengan perlakuan pengasapan dan bahan baku asap dengan perlakuan bumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) dapat dilihat pada Tabel 4.1. Sampel bahan baku segar memiliki nilai TVB 3,67 mgN/100g sedangkan bahan baku yang dengan perlakuan pengasapan mengalami kenaikan menjadi 6,50 mgN/100 g. Nilai TVB bahan baku asap dengan perlakuan bumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) berturut-turut sebesar 5,08; 5,13 dan 5,05 mgN/100g.

Nilai TVB yang terbentuk pada daging ikan terjadi akibat degradasi protein atau derivatnya menjadi asam amino karena adanya aktivitas enzim baik yang berasal dari filet ikan (enzim protease) maupun enzim yang dihasilkan dari bakteri (enzim dekarboksilase). Adanya aktivitas enzim-enzim tersebut menghasilkan sejumlah basa yang mudah menguap seperti amoniak, histamin, hidrogen sulfida, dan trimetilamin yang berbau menyengat (Karungi *et al.*, 2004). Peningkatan TVB setelah pengasapan dimungkinkan terjadi karena perlakuan pengeringan pada oven. Menurut Mohan *et al* (2006), proses pemanasan dapat menyebabkan terjadinya peningkatan angka TVB dan TMA-N baik pada produk kaleng maupun kemasan *retort pouch*. Penurunan signifikan terjadi pada bahan baku asap setelah perlakuan penambahan bumbu balado, rendang, dan sambal goreng.

Secara keseluruhan, nilai TVB baik pada bahan baku segar, bahan baku asap, maupun bahan baku asap dengan perlakuan bumbu tradisional (balado, rendang, dan sambal goreng) masih berada di bawah batas kelayakan konsumsi. Menurut Ferber (1965), tingkat kesegaran hasil perikanan berdasarkan nilai TVB dikelompokkan menjadi empat yaitu: ikan sangat segar dengan kadar TVB 10 mgN/100g atau lebih kecil; ikan segar dengan keadaan TVB 10-20 mgN/100 g; ikan yang berada pada garis batas kesegaran ikan yang masih dapat dikonsumsi dengan kadar TVB 20-30 mgN/100g; dan terakhir ikan busuk yang tidak dapat dikonsumsi dengan kadar TVB lebih besar dari 30 mgN/100g.

1.3 Angka Peroksida

Nilai angka peroksida pada bahan baku, bahan baku dengan perlakuan pengasapan dan bahan baku asap dengan perlakuan bumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) dapat dilihat pada Tabel 4.1. Sampel bahan baku segar memiliki nilai angka peroksida 0,60 meq/kg sedangkan bahan baku dengan perlakuan pengasapan mengalami kenaikan $0,83 \times 10^3$ meq/kg. Nilai peroksida bahan baku asap dengan perlakuan bumbu khas

Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) berturut-turut sebesar $1,04 \times 10^2$; $3,1 \times 10^2$ dan $7,52 \times 10^2$ meq/kg

Bertambah besarnya nilai angka peroksida disebabkan adanya oksidasi lemak pada daging ikan yang mengandung asam lemak tidak jenuh dan asam lemak tersebut mudah menguap serta berbau tidak enak (tengik). Reaksi oksidasi dimulai dengan pembentukan peroksida dan hidroperoksida. Selanjutnya asam-asam lemak akan terurai disertai dengan konversi hidroperoksida menjadi aldehid dan keton serta asam-asam lemak bebas (Ketaren, 2005). Proses oksidasi berlangsung dengan terabstraksinya ion hidrogen dari asam lemak bebas yang terkandung di dalam daging ikan lele. Ikatan tersebut akan digantikan dengan oksigen dan membentuk senyawa alkil radikal, yang kemudian bereaksi lebih lanjut menjadi senyawa peroksida radikal. Hal tersebut dapat ditunjukkan dengan munculnya bilangan peroksida (Khoirunnisa *et al.*, 2019). Hal ini disebabkan asap cair mengandung senyawa fenol yang berfungsi sebagai antioksidan dan dapat mengurangi proses oksidasi asam lemak tak jenuh pada produk dengan penghambatan pembentukan hidroperoksida pada tahap propagasi (Manurung *et al.*, 2018). Hasil yang serupa didapatkan oleh Adeyeye *et al.*, (2015) yaitu meningkatnya angka peroksida pada ikan lele segar yang semula 6.32 meq/kg menjadi 9.11 meq/kg saat melalui proses pengasapan.

Peningkatan angka peroksida terjadi pada perlakuan penambahan bumbu (balado, rendang, dan sambal goreng) yang dapat diamati pada lele asap bumbu rendang, disusul oleh sambal goreng, dan terakhir bumbu balado. Angka peroksida pada lele asap bumbu rendang berbeda nyata dengan lele asap dengan bumbu khas Indonesia lainnya. Hal ini dapat dihubungkan dengan lama pemasakan. Bumbu rendang membutuhkan waktu pemasakan yang paling lama di antara bumbu lainnya. Durasi waktu pemasakan yang lama disebabkan penambahan santan kental sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mencapai konsistensi bumbu rendang yang kental. Menurut penelitian Zhang *et al.* (2013), angka peroksida pada *flaxseed oil* meningkat selaras dengan lama pemanasan. Lama pemanasan berbanding lurus dengan peningkatan angka peroksida. Karena proses pemasakan yang membutuhkan waktu lama inilah, lele asap dengan bumbu rendang mendapatkan angka peroksida tertinggi.

Secara keseluruhan, angka peroksida baik pada bahan baku segar, bahan baku asap, maupun bahan baku asap dengan perlakuan bumbu tradisional (balado, rendang, dan sambal goreng) masih berada di bawah batas kelayakan konsumsi. Menurut Connell (1975), batas

angka peroksida maksimal pada makanan adalah 10-20 meq/kg untuk menghindari aroma tengik, sementara untuk produk perikanan batas angka peroksida maksimal berada pada angka 5 meq/kg (Sikorsi *et al.*, 1990).

1.4 Total Plate Count (TPC)

Nilai TPC pada bahan baku, bahan baku dengan perlakuan pengasapan dan bahan baku asap dengan perlakuan bumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) dapat dilihat pada Tabel 4.1. Sampel bahan baku segar memiliki nilai TPC $4,96 \times 10^4$ CFU/mL sedangkan bahan baku yang dengan perlakuan pengasapan mengalami penurunan menjadi $1,84 \times 10^3$ CFU/mL. Nilai TPC bahan baku asap dengan perlakuan bumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) berturut-turut sebesar $1,04 \times 10^2$ CFU/mL; $3,1 \times 10^2$ CFU/mL dan $7,52 \times 10^2$ CFU/mL. Terdapat beda nyata antara bahan baku dengan bahan baku asap. Perlakuan pengasapan meliputi perendaman dalam air garam, perendaman dalam asap cair, dan pengeringan. Perlakuan ini memungkinkan turunnya nilai TPC. Garam mempunyai sifat bakteriostatik yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan bakterisidal yaitu kemampuan untuk membunuh bakteri (Rochima, 2005). Perlakuan penggaraman dan pengasapan dapat mengurangi pertumbuhan bakteri dengan menciptakan *surface barrier* secara fisik pada ikan (Rørvik, 2000). Hasil yang serupa didapatkan oleh Mailoa *et al.*, (2019) yaitu menurunnya nilai TPC pada ikan tuna segar yang semula $1,6 \times 10^2$ menjadi $8,5 \times 10^1$ saat melalui proses pengasapan.

Penurunan nilai TPC terjadi antara bahan baku asap dengan bahan baku asap dengan penambahan bumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) yang tidak beda nyata. Nilai TPC terendah diamati pada lele asap bumbu balado yang memiliki kandungan bawang putih dan cabai tertinggi di antara bumbu khas Indonesia lain. Bawang putih memiliki pengaruh dalam menurunnya nilai TPC dengan senyawa aktif yang dimilikinya. Alisin merupakan senyawa aktif yang terkandung di dalam bawang putih. Kemampuan antimikrobanya antara lain menyebabkan gangguan metabolisme bakteri, virulensi bakteri, serta menghambat pertumbuhan bakteri (Cobas *et al.*, 2010). Sementara cabai mengandung senyawa antimikrobia capsaicin yang mampu menghambat sintesis membran sel bakteri yang mengakibatkan ketidakstabilan pada sitoplasma bakteri (Adaszek *et al.*, 2019)

Secara keseluruhan, nilai TPC baik pada bahan baku segar, bahan baku asap, maupun bahan baku asap dengan perlakuan bumbu tradisional (balado, rendang, dan sambal goreng)

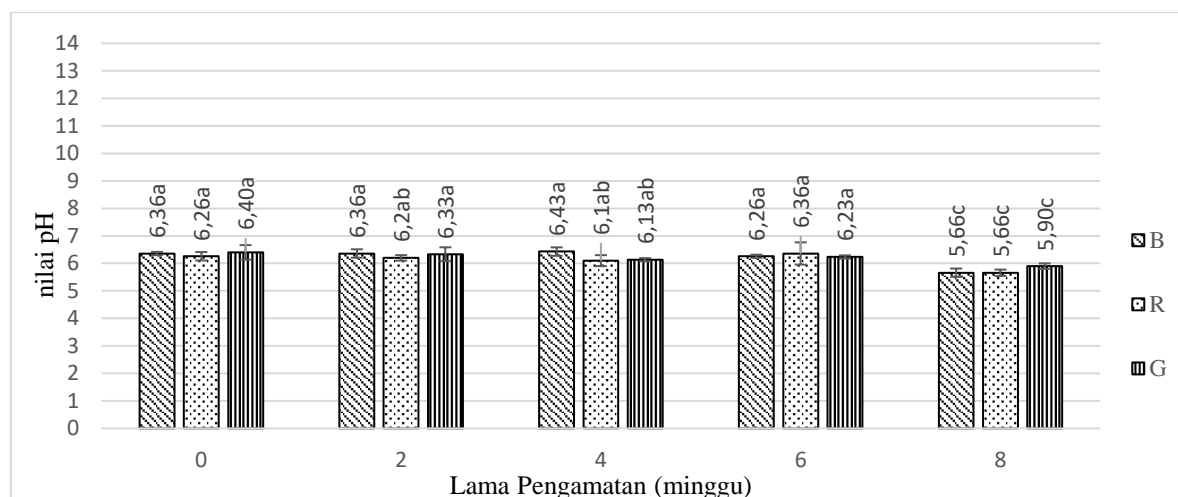
masih berada di bawah batas kelayakan konsumsi. Menurut BSN (2013), batas nilai TPC maksimal untuk bahan baku segar adalah 5×10^5 CFU/mL dan untuk ikan asap sebesar 1×10^5 CFU/mL.

2. Karakteristik Produk Lele Asap *Retort Pouch* Bumbu Khas Indonesia Selama Penyimpanan

2.1 Derajat Keasaman (pH)

Nilai pH adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menentukan tingkat keasaman suatu produk. Perubahan pH pada ikan menunjukkan adanya proses pembusukan. Pembusukan ikan terjadi karena adanya proses autolisis dan pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan adanya reaksi anaerob pada tubuh ikan yang memanfaatkan ATP dan glikogen, sehingga ATP terus berkurang dan menyebabkan pH tubuh menurun (Erikson dan Misimi, 2008).

Nilai pH sebelum sterilisasi (Tabel 4.1) dan sesudah sterilisasi (Gambar 4.1) cenderung mengalami penurunan untuk semua lele *retort pouch* berbumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng). Hasil ini serupa dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ahmad (2017) yang menunjukkan nilai pH setelah sterilisasi mengalami penurunan serupa dengan nilai pH sebelum sterilisasi. Gambar 4.1. merupakan hasil pengamatan pH pada perlakuan lele asap *retort pouch* berbumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) selama 8 minggu.



Gambar 4.1. Nilai pH pada lele asap bumbu khas Indonesia dengan kemasan *retort pouch* selama penyimpanan 8 minggu

B : lele asap *retort pouch* balado; R : lele asap *retort pouch* rendang; G : lele asap *retort pouch* sambal goreng. Huruf yang berbeda antar minggu pada bumbu yang sama menunjukkan perubahan beda nyata

Lele asap *retort pouch* bumbu balado memiliki nilai pH berkisar antara 6,43-5,66, lele *retort pouch* bumbu rendang berkisar antara 6,1-5,66 dan lele *retort pouch* bumbu sambal goreng berkisar antara 6,4-5,9. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa baik penambahan bumbu tidak berpengaruh pada nilai pH namun durasi penyimpanan berpengaruh pada perubahan nilai pH pada lele asap *retort pouch*. Nilai pH pada lele asap *retort pouch* bumbu balado, rendang, dan sambal goreng pada enam minggu awal pengamatan tidak terdapat beda nyata ($p > 0,05$). Penurunan secara signifikan dapat diamati antara minggu 6 ke minggu 8.

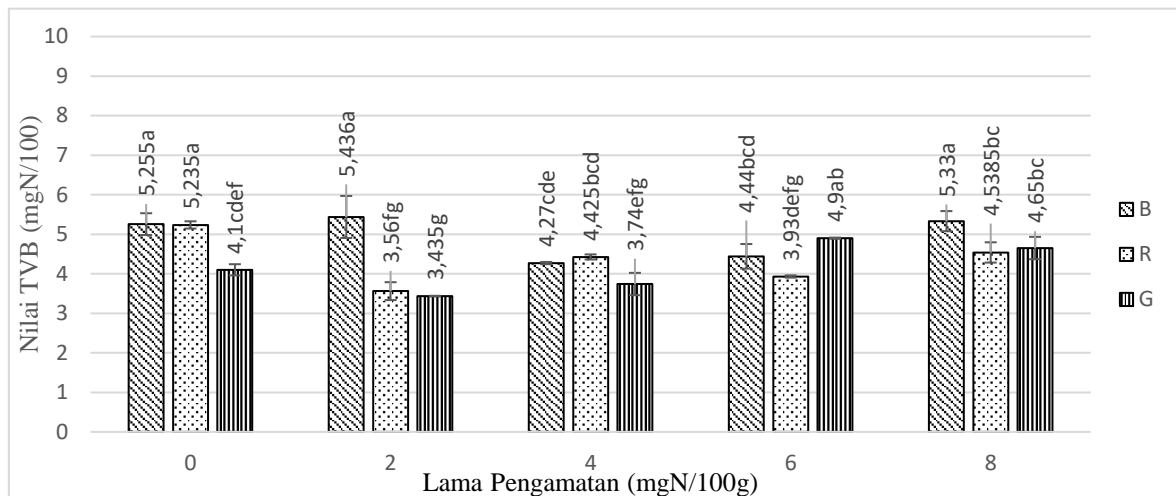
Kandungan bahan pada tiga medium yang digunakan memiliki pengaruh besar pada menurunnya pH selama penyimpanan. Bahan utama yang terkandung pada medium bumbu khas Indonesia adalah cabai. Cabai mengandung senyawa fenolik dan asam askorbat yang tinggi (Nagy *et al.*, 2015). Senyawa-senyawa inilah yang berperan dalam penurunan pH medium. Selain cabai, dua dari tiga medium yaitu bumbu sambal goreng dan bumbu rendang mengandung santan yang merupakan bahan makanan dengan pH 6, mengandung banyak senyawa organik seperti lemak yang menyebabkan mutunya dapat cepat menurun. Penelitian Sahany dan Ramasany (2019) menunjukkan bahwa pH santan pada *retort pouch* menurun dari 6,28 menjadi 6,22 pada penyimpanan selama 4 bulan. Senyawa pada bahan-bahan inilah yang berperan dalam penurunan pH medium. Kombinasi antara kandungan cabai dan santan yang tinggi menyebabkan nilai pH pada bumbu sambal goreng paling rendah dibanding bumbu balado dan rendang.

Penelitian Ravishankar *et al* (2008) mengenai pengamatan kari makarel India pada kemasan *retort pouch* menunjukkan penurunan pH dari bulan pertama (5,5) hingga bulan 12 (5,25). Mugale *et al* (2018) juga mendapatkan hasil penurunan pH yang serupa pada pengamatannya pada kari belut dari 6,7 pada bulan pertama menjadi 5,8 pada bulan delapan.

2.2 Total Volatile Base (TVB)

Pengujian *total volatile base* bertujuan untuk menentukan jumlah kandungan basa yang terbentuk akibat degradasi protein. Semakin tinggi nilai TVB maka mutu ikan semakin rendah. Nilai TVB sebelum sterilisasi (Tabel 4.1) dan sesudah sterilisasi (Gambar 4.2) mengalami peningkatan untuk lele *retort pouch* berbumbu balado dan rendang sementara sambal goreng mengalami penurunan. Gambar 4.2 merupakan hasil pengamatan nilai TVB

pada perlakuan lele asap *retort pouch* berbumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) selama 8 minggu.



Gambar 4.2. Grafik pengamatan nilai TVB pada lele asap dengan bumbu khas Indonesia dengan kemasan *retort pouch*

B : lele asap *retort pouch* balado; R : lele asap *retort pouch* rendang; G : lele asap *retort pouch* sambal goreng. Huruf yang berbeda antar minggu pada bumbu yang sama menunjukkan perubahan beda nyata

Lele asap *retort pouch* bumbu balado memiliki nilai *total volatile base* (TVB) berkisar antara 4,27-5,436 mgN/100g, lele *retort pouch* bumbu rendang berkisar antara 3,56-5,235 mgN/100g dan lele *retort pouch* bumbu sambal goreng berkisar antara 3,435-4,9 mgN/100g. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan bumbu maupun durasi penyimpanan tidak berpengaruh pada nilai TVB pada lele asap *retort pouch*. Terdapat peningkatan pada bumbu balado pada dua minggu awal pengamatan dilanjutkan dengan penurunan beda nyata ($p < 0,05$) dapat diamati antara minggu 2 dengan minggu 4 yang dilanjutkan pada kenaikan hingga minggu ke-6. Pada minggu 8 terjadi peningkatan nilai TVB yang signifikan. Nilai TVB Lele asap *retort pouch* bumbu rendang diamati cenderung fluktuatif dari minggu 0 ke minggu 2 mengalami penurunan signifikan ($p < 0,05$) disertai dengan peningkatan secara signifikan dapat diamati pada minggu 2 ke minggu 4. Penurunan nilai TVB terjadi pada minggu 6 lalu kembali mengalami peningkatan signifikan pada minggu ke-8. Pengamatan nilai TVB untuk lele asap *retort pouch* sambal goreng menunjukkan hasil fluktuatif di mana terjadi penurunan signifikan terjadi pada minggu 2 disertai dengan peningkatan signifikan pada minggu 6. Secara keseluruhan, nilai TVB baik pada bahan baku segar, bahan baku asap, maupun bahan baku asap dengan perlakuan bumbu tradisional (balado, rendang, dan sambal goreng) masih berada di bawah batas kelayakan

konsumsi. Menurut Farber (1965), tingkat kesegaran hasil perikanan berdasarkan nilai TVB dikelompokkan menjadi empat yaitu: ikan sangat segar dengan kadar TVB 10 mgN/100g atau lebih kecil; ikan segar dengan keadaan TVB 10-20 mgN/100 g; ikan yang berada pada garis batas kesegaran ikan yang masih dapat dikonsumsi dengan kadar TVB 20-30 mgN/100g; dan terakhir ikan busuk yang tidak dapat dikonsumsi dengan kadar TVB lebih besar dari 30 mgN/100g.

Penelitian Ammu *et al* (2017) mengenai pengamatan kari makarel India pada kemasan *retort pouch* menunjukkan hasil TVB yang juga rendah yaitu 23,8 mgN/100g pada hari ke-60. Ravishankar *et al* (2010) melakukan penelitian pada karakteristik pada sup *seafood* yang dikemas dalam *retort pouch* dengan hasil TVB pada pengamatan hari ke-45 menunjukkan angka 6,31 mgN/100g. Nilai TVB yang berbeda dipengaruhi oleh kandungan protein pada masing-masing ikan. Tiap ikan mengandung protein yang berbeda karena dipengaruhi beberapa faktor seperti genetik, umur, jenis kelamin, tingkat kematangan gonad serta keadaan iklim (Haard, 1995).

Nilai TVB pada produk lele asap *retort pouch* berbumbu khas Indonesia mengalami fluktuasi namun cenderung mengalami peningkatan. Peningkatan TVB tidak disebabkan oleh adanya aktivitas bakteri pembusuk melainkan akibat pengaruh panas pada proses sterilisasi selama pengemasan *retort pouch*. Menurut Kaba *et al.* (2013), peningkatan TVB yang tidak disebabkan pembusukan dapat dihubungkan dengan penguraian senyawa nitrogen setelah terjadi denaturasi protein selama proses sterilisasi. Pernyataan ini didukung Mohan *et al.* (2015) yang menyatakan perubahan protein terjadi karena kontak dengan panas sehingga asam amino dan senyawa nitrogen berubah menjadi basa nitrogen saat proses sterilisasi.

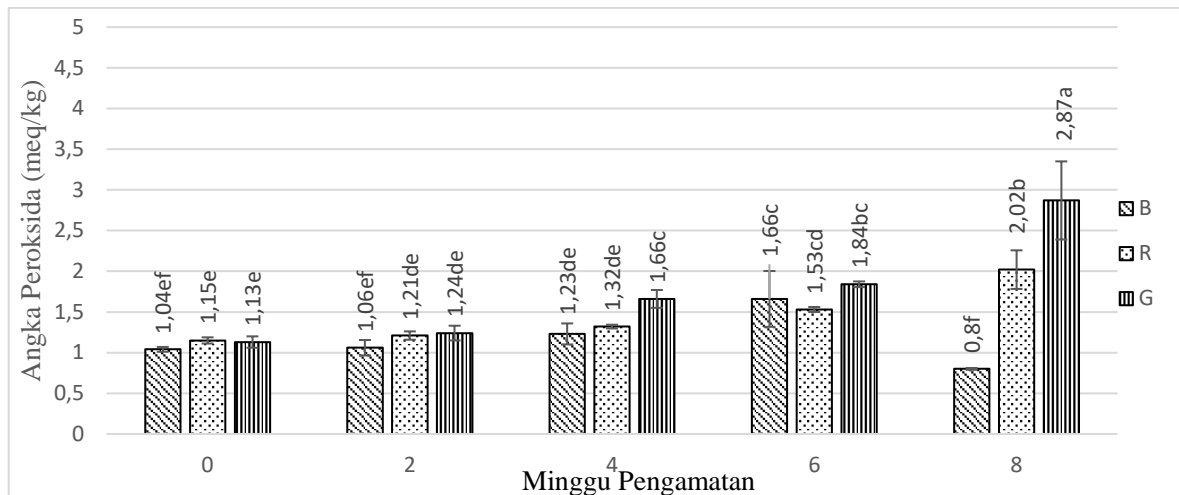
Nilai TVB pada produk lele asap *retort pouch* berbumbu khas Indonesia meskipun mengalami fluktuasi namun masih dalam kadar rendah dan di bawah batas kelayakan konsumsi. Hal ini dapat dicapai karena kemampuan pengemasan *retort pouch* dalam menahan pertumbuhan bakteri pembusuk baik dari proses pengemasan dengan vakum, proses sterilisasi maupun karakteristik kemasan *retort pouch* itu sendiri. Pertumbuhan bakteri yang terbatas menyebabkan tidak terjadi proses penguraian protein menjadi basa volatil.

2.3 Angka Peroksida

Angka peroksida merupakan suatu tanda adanya pemecahan atau kerusakan pada lemak atau minyak karena terjadi oksidasi yang menyebabkan bau/aroma tengik pada minyak. Ukuran dari ketengikan dapat diketahui dengan menentukan bilangan peroksida. Semakin tinggi bilangan peroksida maka semakin tinggi pula tingkat ketengikan suatu minyak (Wildan, 2002). Peroksida dapat mempercepat proses timbulnya bau tengik dan *flavor* yang tidak dikehendaki dalam bahan pangan.

Proses oksidasi berlangsung apabila terjadi pembentukan peroksida dan hidroperoksida dari kontak antara lemak dengan oksigen. Asam lemak kemudian terurai diikuti dengan konversi hidroperoksida menjadi aldehid, keton, dan asam lemak bebas (Ketaren, 2005). Oksidasi lemak menyebabkan berkurangnya asam lemak esensial pada makanan dan terjadinya perubahan kualitas sensoris seperti *flavor*, aroma, dan warna, serta mengurangi nilai gizi dan keamanan pada produk minyak (Sivakanthan *et al.*, 2018). Faktor yang mempengaruhi terjadinya oksidasi lemak antara lain kontak dengan oksigen, panas, cahaya, dan enzim. *Retort pouch* yang dalam kondisi vakum meminimalisir kontak dengan oksigen serta cahaya, sehingga faktor utama yang mempengaruhi terbentuknya peroksida adalah panas.

Nilai angka peroksida sebelum sterilisasi (Tabel 4.1) dan sesudah sterilisasi (Gambar 4.3) cenderung mengalami penurunan untuk semua lele *retort pouch* berbumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng. Proses pemanasan saat sterilisasi pada proses pengemasan menyebabkan terurainya lemak menjadi peroksida. Gambar 4.3. merupakan hasil pengamatan angka peroksida pada perlakuan lele asap *retort pouch* berbumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) selama 8 minggu.



Gambar 4.3. Grafik pengamatan angka peroksida pada lele asap dengan bumbu khas Indonesia dengan kemasan *retort pouch*

B : lele asap *retort pouch* balado; R : lele asap *retort pouch* rendang; G : lele asap *retort pouch* sambal goreng. Huruf yang berbeda antar minggu pada bumbu yang sama menunjukkan perubahan beda nyata

Lele asap *retort pouch* bumbu balado memiliki angka peroksida berkisar antara 0,8-1,66 meq/kg, lele *retort pouch* bumbu rendang berkisar antara 1,15-2,02 meq/kg dan lele *retort pouch* bumbu sambal goreng berkisar antara 1,13-2,87 meq/kg. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan bumbu dan durasi penyimpanan berpengaruh pada nilai angka peroksida pada lele asap *retort pouch*. Nilai angka peroksida pada lele asap *retort pouch* bumbu balado pada empat minggu awal pengamatan mengalami kenaikan namun tidak terdapat beda nyata ($p > 0,05$). Kenaikan secara signifikan dapat diamati antara minggu 4 dengan minggu 6. Kemudian terjadi penurunan dengan beda nyata ($P < 0,05$) pada minggu 6 ke minggu 8. Angka peroksida lele asap *retort pouch* bumbu rendang diamati mengalami kenaikan namun tidak signifikan pada enam minggu pertama. Terjadi kenaikan dengan beda nyata dari minggu 6 ke minggu 8. Pengamatan angka peroksida untuk lele asap *retort pouch* sambal goreng menunjukkan peningkatan signifikan pada minggu 4. Kenaikan dengan beda nyata juga dapat diamati dari minggu 6 ke minggu 8.

Angka peroksida lele *retort pouch* berbumbu khas Indonesia cenderung mengalami kenaikan selama delapan minggu pengamatan. Kenaikan angka peroksida terjadi dari minggu ke-0 hingga minggu ke-6 pada seluruh sampel. Kenaikan di minggu awal disebabkan proses sterilisasi yang menggunakan suhu tinggi. Selanjutnya, lemak terus mengalami oksidasi sehingga menyebabkan meningkatnya angka peroksida. Penambahan bumbu tradisional juga berpengaruh pada angka peroksida. Santan pada bumbu rendang dan sambal goreng mengandung asam lemak jenuh dan tak jenuh yang tinggi. Asam lemak tidak jenuh

mengalami oksidasi sehingga penambahan bumbu ikut berperan dalam peningkatan angka peroksida. Pada minggu ke-8, lele *retort pouch* bumbu balado mengalami penurunan secara signifikan. Penurunan ini disebabkan terjadinya kerusakan lemak primer yang diikuti dengan kerusakan sekunder. Pembentukan peroksida akan mencapai titik maksimum lalu dilanjutkan dengan penurunan secara signifikan pada tahap oksidasi lemak yang lebih lanjut sesuai dengan kandungan asam lemak tidak jenuhnya (Frankel, 2012). Peroksida yang terbentuk pada penyimpanan terurai menjadi senyawa lain seperti aldehid yang merupakan senyawa pembentuk *thiobarbituric acid* atau TBA (Bindu *et al.*, 2013). Angka peroksida yang mengalami fluktuasi juga terjadi pada penelitian Ammu *et al* (2017) mengenai kari makarel India. Pada hari ke-0, angka peroksida tercatat sebesar 11,36 meq/kg diikuti dengan $14,47 \pm 0,88$ pada hari ke 30 dan kembali menurun pada hari ke-60 menjadi $13,12 \pm 0,35$ meq/kg.

Secara keseluruhan, angka peroksida baik pada bahan baku segar, bahan baku asap, maupun bahan baku asap dengan perlakuan bumbu tradisional (balado, rendang, dan sambal goreng) masih berada di bawah batas kelayakan konsumsi. Batas angka peroksida maksimal pada makanan adalah 10-20 meq/kg (Connell, 1975) sementara batas angka peroksida untuk produk perikanan adalah 5 meq/kg (Sikorsi *et al.*, 1990).

Berdasarkan data pengamatan selama delapan minggu, angka peroksida untuk lele asap *retort pouch* bumbu tradisional (balado, rendang, dan sambal goreng) masih tergolong rendah. Hal ini dapat dicapai dengan kombinasi antara perlakuan pengasapan, sterilisasi, dan pengemasan menggunakan *retort pouch*. Asap cair yang digunakan pada proses pengasapan mengandung senyawa fenol yang bersifat sebagai antioksidan, sehingga dapat menghambat kerusakan pangan dengan cara mendonorkan hidrogen sehingga efektif dalam jumlah sangat kecil untuk menghambat auto-oksidasi lemak, sehingga dapat mengurangi kerusakan pangan karena oksidasi lemak oleh oksigen (Lawrie, 2003). Pengemasan dengan *retort pouch* yang bersifat vakum dan hermetis menyebabkan bahan makanan yang tersimpan tidak mengalami kontak langsung dengan oksigen. Tiga lapisan pada *retort pouch* juga mencegah adanya kontak dengan cahaya. Karakteristik pengemasan inilah yang mampu menghambat terjadinya perubahan lemak menjadi peroksida karena mengurangi paparan oksigen dan cahaya sebagai faktor yang mempercepat proses oksidasi lemak.

Penelitian yang dilakukan oleh Rao *et al* (2013) mengenai filet ikan pangasius dengan berbagai kemasan termasuk kemasan vakum menyatakan bahwa angka peroksida filet ikan

vakum dapat dihambat kenaikannya dari 1,85 meq/kg menjadi 2,33 meq/kg hingga hari ke-12.

Angka peroksida tertinggi hingga terendah berturut-turut pada sambal goreng, rendang, dan balado. Kandungan santan yang cukup tinggi pada sambal goreng merupakan salah satu faktor menyebabkan tingginya angka peroksida. Waktu pemasakan juga berperan dalam peningkatan angka peroksida. Rendang, diikuti dengan sambal goreng, membutuhkan waktu pemasakan yang lama. Durasi pemasakan mempengaruhi jumlah asam lemak tidak jenuh yang terurai karena terkena kontak langsung dengan udara dan panas sehingga angka peroksida meningkat yang disebabkan oleh berikatannya oksigen dengan ikatan rangkap rantai karbon yang terputus (Gunawan *et al.*, 2003). Angka peroksida pada penambahan bumbu balado pada lele asap *retort pouch* mengalami penurunan tercepat yang menunjukkan telah terjadinya penguraian peroksida menjadi senyawa turunannya. Penurunan angka peroksida menandakan telah terjadi kerusakan lemak sekunder yang disebabkan bumbu balado yang tidak mengandung santan sehingga lemak tidak jenuh yang berasal hanya dari ikan dan minyak lebih cepat terurai menjadi TBA.

2.4 Total Plate Count (TPC)

Total plate count atau angka lempeng total merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada dalam suatu sampel dengan menghitung jumlah koloni yang dapat diamati. Adanya jumlah *total plate count* yang ditemukan pada suatu sampel dapat dijadikan acuan bahan sampel tersebut masih layak untuk dikonsumsi atau tidak. Pengemasan dengan *retort pouch* berupaya untuk mencegah tumbuh dan aktifnya bakteri pembusuk dengan tahap *sealing*, vakum, dan sterilisasi. Gambar 4.4. merupakan hasil pengamatan nilai TPC pada perlakuan lele asap *retort pouch* berbumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) selama 8 minggu.

Nilai TPC sebelum sterilisasi (Tabel 4.1) dan sesudah sterilisasi (Tabel 4.2) mengalami penurunan untuk semua lele *retort pouch* berbumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng).

Tabel 4.2. Pengamatan nilai TPC pada lele asap dengan bumbu tradisional khas Indonesia dengan kemasan *retort pouch*

Perlakuan	Total Plate Count (CFU/mL)				
	0 minggu	2 minggu	4 minggu	6 minggu	8 minggu
B	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$1,95 \times 10^{2\text{dc}}$	$4,3 \times 10^{2\text{dc}}$
R	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$4,3 \times 10^{2\text{b}}$	$5,4 \times 10^{2\text{b}}$
G	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$5,4 \times 10^{2\text{ab}}$	$6,6 \times 10^{2\text{ab}}$

B : lele asap *retort pouch* balado; R : lele asap *retort pouch* rendang; G : lele asap *retort pouch* sambal goreng. Huruf yang berbeda antar minggu pada bumbu yang sama menunjukkan perubahan beda nyata

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa baik penambahan bumbu tidak berpengaruh pada nilai TPC namun durasi penyimpanan berpengaruh pada perubahan nilai TPC pada lele asap *retort pouch*. Nilai TPC untuk minggu 0 hingga 4 pada lele *retort pouch* berbumbu khas Indonesia (balado, rendang, dan sambal goreng) yaitu $<1 \times 10^1$ CFU/mL kemudian terdapat peningkatan pada minggu ke-6 dan ke-8. Peningkatan secara beda nyata dapat diamati dari minggu ke-4 hingga ke-6 pada semua bumbu. Pada minggu ke-6 hingga ke-8, peningkatan beda nyata ($P < 0,05$) hanya terjadi pada lele asap *retort pouch* berbumbu balado. Lele asap *retort pouch* berbumbu sambal goreng dan rendang mengalami peningkatan namun tidak signifikan. Nilai TPC lele *retort pouch* berbagai bumbu tradisional hingga minggu ke-8 masih berada di bawah standar SNI yaitu $<1 \times 10^5$ CFU/mL. Peningkatan nilai TPC pada minggu ke-6 dan ke-8 dimungkinkan terjadi karena terdapat kesalahan saat proses *sampling* pada pengujian yang menyebabkan terjadinya kontaminasi.

Proses sterilisasi pada saat pengolahan *retort pouch* dilakukan untuk mencapai tingkat steril komersial. Steril komersial adalah kondisi yang dapat dicapai melalui perlakuan inaktivasi spora dengan panas dan/atau perlakuan lain yang cukup untuk menjadikan pangan tersebut bebas dari mikroba yang memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam suhu ruang (*non-refrigerated*) selama distribusi dan penyimpanan. Proses sterilisasi inilah yang menyebabkan nilai TPC pada empat minggu pertama menjadi $<1 \times 10^1$ CFU/mL. Sterilisasi dilakukan untuk mengeliminasi mikroorganisme patogen yang dapat mempengaruhi keamanan pangan serta menghambat penurunan mutu yang disebabkan bakteri dan enzim pembusuk (Majumdar *et al.*, 2014). *Retort pouch* yang dalam kondisi vakum setelah penyegelan dan penghampaan udara memastikan kondisi dalam kemasan tetap dalam kondisi anaerobik sehingga menghambat tumbuhnya mikrobia aerob. Kemampuan sterilisasi dalam membunuh mikrobia dapat dilihat dari perbandingan antara nilai TPC sebelum

sterilisasi dari berbagai bumbu tradisional (balado, rendang, dan sambal goreng) yaitu $1,04 \times 10^2 - 7,52 \times 10^2$ CFU/mL menjadi $<1 \times 10^1$ CFU/mL setelah sterilisasi.

Penelitian yang dilakukan oleh Yi *et al* (2013) mengenai udang dengan marinasi *wine* menggunakan kemasan *retort pouch* tidak terdeteksi koloni bakteri dari hari pertama hingga hari ke-15. Peningkatan nilai TPC terjadi pada hari ke-30 menjadi $2,36 \pm 0,13 \log_{10}$ CFU/mL, $2,57 \pm 0,17 \log_{10}$ CFU/mL pada hari ke-60, dan $2,84 \pm 0,31 \log_{10}$ CFU/mL.

Nilai TPC pada pengamatan selama 8 minggu masih tergolong rendah berdasarkan batas maksimum SNI pada BSN (2013) yaitu 1×10^5 CFU/mL untuk ikan asap. Hal ini dapat dicapai dengan kombinasi antara perlakuan dan pengemasan dengan *retort pouch* yang dapat menghambat pertumbuhan mikrobial secara signifikan. Sterilisasi dengan suhu 121°C mampu membunuh bakteri patogen penyebab penurunan mutu produk. Pengemasan dengan *retort pouch* yang terdiri dari beberapa tahap juga mampu menghambat pertumbuhan mikrobial dengan baik.

3. Pembahasan Umum

Lele asap *retort pouch* dengan berbagai bumbu tradisional khas Indonesia memiliki kualitas yang baik dilihat dari karakteristik kimiawi dan mikrobiologis yang diamati selama 8 minggu penyimpanan. Parameter uji pH, nilai TVB, angka peroksida, dan nilai TPC berada pada batas kelayakan konsumsi hingga akhir durasi penyimpanan selama 8 minggu.

Penggunaan asap cair untuk menggantikan proses pengasapan tradisional memiliki pengaruh baik pada pH, TVB, dan TPC. Kandungan asam organik pada asap cair mampu menurunkan pH sehingga menciptakan kondisi yang tidak optimal untuk pertumbuhan bakteri. Asap cair mengandung senyawa fenol yang bersifat antioksidan dan antibakteri mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang berpengaruh penting dalam mempertahankan nilai TVB dan TPC tetap rendah. Proses penggaraman yang dilakukan dalam pengasapan juga mampu membunuh mikrobial yang masih tersisa. Pengeringan dengan oven pada suhu tinggi mengakibatkan peningkatan angka peroksida.

Komposisi bumbu tradisional khas Indonesia yaitu balado, rendang, dan sambal goreng mempengaruhi terjadinya penurunan pH dan TPC. Cabai yang merupakan bahan utama dalam ketiga bumbu ini mengandung senyawa fenolik dan asam askorbat yang menurunkan tingkat keasaman produk lele asap secara keseluruhan. Senyawa aktif pada cabai yaitu capsaicin merupakan senyawa antimikrobial sehingga menghambat pertumbuhan

koloni bakteri. Santan yang terkandung pada bumbu rendang dan sambal balado juga berperan dalam penurunan pH dikarenakan kandungan bahan organiknya sangat mudah mengalami kemunduran mutu sehingga mempengaruhi pH bumbu. Lemak jenuh dan tak jenuh yang dimiliki santan mengakibatkan oksidasi lemak terjadi semakin cepat sehingga meningkatkan angka peroksida.

Pengemasan *retort pouch* yang hermetis mampu menahan laju pertumbuhan mikrobia sehingga berpengaruh positif terhadap menghambat kenaikan nilai TPC dan pembusukan yang dilakukan oleh bakteri pembusuk sehingga nilai TVB yang rendah pun dapat dipertahankan. Kemasan *retort pouch* yang memiliki permeabilitas oksigen yang rendah serta mampu meminimalisir kontak dengan cahaya menyebabkan angka peroksida masih bertahan pada angka yang rendah.

Kombinasi perlakuan pengasapan (pemberian asap cair, penggaraman, pengeringan), pemberian bumbu khas Indonesia sebagai medium, serta pengemasan dengan *retort pouch* (penghampaan udara, *sealing*, sterilisasi) mampu menghambat penurunan mutu lele asap. Berdasarkan seluruh perlakuan, pengemasan *retort pouch* merupakan perlakuan dengan pengaruh tertinggi dalam mempertahankan karakteristik kimiawi dan mikrobiologis selama 8 minggu.

KESIMPULAN

1. Kesimpulan

Penyimpanan berpengaruh terhadap karakteristik kimiawi (pH, *total volatile base*, Angka Peroksida) dan mikrobiologis (*total plate count*) pada lele asap bumbu tradisional khas Indonesia dalam kemasan *retort pouch*. Meskipun demikian, tiap uji menunjukkan bahwa kualitas lele asap bumbu tradisional khas Indonesia *retort pouch* masih berada dalam batas kelayakan konsumsi selama penyimpanan 8 minggu.

2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai prediksi umur simpan menggunakan metode ASLT agar mendapatkan estimasi yang lebih jelas mengenai pengaruh pengemasan *retort pouch* terhadap umur simpan lele asap dengan berbagai bumbu tradisional khas Indonesia

DAFTAR PUSTAKA

- Adaszek, Ł., D. Gadomska., Ł. Mazurek., P. Łyp., J. Madany., and S. Winiarczyk. 2019. Properties of capsaicin and its utility in veterinary and human medicine. *Research in veterinary science*, 123: 14-19.
- Adeyeye, S.A.O. O.B. Oyewole., A.O. Obadina., A.M. Omemu., O.E. Adeniran., H.A. Oyedele. and S.O. Abayomi., 2015. Quality and safety assessment of traditional smoked fish from Lagos State, Nigeria. *International Journal of Aquaculture*, 5: 1-9
- Ahmad, H. R. S., 2017. Karakteristik Fisika, Kimia dan Total Bakteri Produk Lele Asap Kaleng dengan berbagai Bumbu Khas Indonesia. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Skripsi.
- Al-Baali, A.A.G. and M.M. Farid. 2007. Sterilization of food in retort pouches. Springer Science & Business Media.
- Ammu, D., C.O. Mohan., S.K. Panda., C.N. Ravishankar. and T.S. Gopal. 2017. Process optimisation for ready to eat Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) curry in high impact polypropylene (HIPP) containers using still water spray retort. *Indian J. Fish.*, 64(2): 83-89
- AOAC. 2005. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist International 18 th edition 2005. Association of Official Analytical Chemist SUITE 500, 481 North Federick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877- 2417 USA
- Apriyantono, A. 1989. Analisis Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor
- Arifin, M. Z. 2009. Budidaya Lele Dumbo. Dohara Prize. Semarang.
- Arsa, M. 2016. Proses Pencoklatan (*Browning Process*) Pada Bahan Pangan. Universitas Udayana Denpasar. Skripsi
- Asiah, N., L. Cempaka. dan W. David., 2018. Panduan praktis pendugaan umur simpan Produk pangan. UB Press. Malang
- Ayala, A., M.F. Muñoz. and S. Argüelles. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, (2014): 1-31
- Ayudiarti, D. L. dan R. N. Sari. 2010. Asap Cair dan Aplikasinya pada Produk Perikanan. *Squalen*. 5 (3): 101-108.
- Bindu, J., Kamalakanth, C.K., Ravishankar, C.N. and Gopal, T.S. 2013. Development of ready to serve rice and sardine curry in high impact polypropylene containers. *Fishery Technology* 50 (2013): 307-312
- BSN. 2013. Ikan Asap dengan Pengasapan Panas. Standar Nasional Indonesia. SNI 2725-2013.
- Cardelle-Cobas, A., A.C. Soria., N. Corzo. and M. Villamiel. 2010. A comprehensive survey of garlic functionality. *Garlic Consumption and Health*, 1: 1-60
- Chou, L.M. 1994. Growth of Hybrid Catfishes Under Different Supplemental Diets. The Third Asian Fishes Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines: 633-636.
- Chukwu, O. and I.M. Shaba. 2009. Effects of drying methods on proximate compositions of catfish (*Clarias gariepinus*). *World journal of agricultural sciences*, 5(1): 114-116.
- Coles, R., and M. Kirwan. 2011. Food and beverage packaging technology (2nd ed.). Wiley-Blackwell. United Kingdom

- Dhanapal, K., G.V.S. Reddy., B.B. Nayak., S. Basu., K. Shashidhar., G. Venkateshwarlu. and M.K. Chouksey. 2010. Quality of ready to serve tilapia fish curry with PUFA in retortable pouches. *Journal of food science*, 75(7) :348-354.
- Dien, H.A., R.I. Montolalu. and S. Berhimpon. 2019. Liquid smoke inhibits growth of pathogenic and histamine forming bacteria on skipjack fillets. *Proceeding IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 278 (1): 12-18
- Dwiyitno, D. dan R. Riyanto. 2007. Studi Penggunaan Asap Cair Untuk Pengawetan Ikan Kembung (*Rastrelliger neglectus*) Segar. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 1(2): 143-148
- Erikson, U. and E. Misimi. 2008. Atlantic salmon skin and fillet color changes effected by perimortem handling stress, rigor mortis, and ice storage. *Journal of food science*, 73(2): 50-59.
- Fajri, P.Y., M. Astawan. dan T. Wresdiyati. 2013. Evaluasi Nilai Biologis Protein Rendang dan Kalio Khas Sumatera Barat. *Nutrition and Food Research*, 36(2): 113-120.
- Farber, L.1965. Freshness test. Di dalam: Borgstorm G, editor *Fish as Food Volume IV*. Academic Press. New York
- Faza, T. N. 2020. Kandungan Gizi dan Penerimaan Konsumen Produk Lele Asap Retort Pouch dengan Berbagai Bumbu Tradisional Indonesia. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Skripsi.
- Fitriya, W., A. Husni dan S.A. Budhiyanti. 2006. Pengaruh Pengemasan dan Suhu Penyimpanan terhadap Daya Awet Filet Lele Dumbo Asap Berbumbu. *Seminar Nasional Tahunan Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*. 3:506-516.
- Frankel, E. N. 2012. Methods to determine extent of oxidation. *Lipid Oxidation*, 2: 99–127.
- Gunawan, S. 2010. Kiat Sukses Budidaya Lele di Lahan Sempit. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Gunawan, G., Aloysius, M., dan Rahayu, A. 2003. Analisis Pangan: Penentuan Angka Peroksida dan Asam Lemak Bebas pada Minyak Kedelai dengan Variasi Menggoreng. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 6: 13-16
- Haard, N.F. 1995. Composition and Nutritive Value of Fish Protein and Other Nitrogen Compunds, In: Ruiter, A. (Ed.), *Fish and Fishery Products: Composition, Nutritive Properties and Stability*. ACB International, Wallingford, pp. 77-115.
- Hassan, I.M., 1988. Processing of smoked common carp fish and its relation to some chemical, physical and organoleptic properties. *Food Chemistry*, 27(2), pp.95-106.
- Hattula, T., K. Elfving., U.M. Mroueh. and T. Luoma. 2001. Use of liquid smoke flavouring as an alternative to traditional flue gas smoking of rainbow trout fillets (*Oncorhynchus mykiss*). *LWT-Food Science and Technology*, 34(8): 21-525.
- Hustiany, R. 2016. Reaksi Maillard Pembentuk Citarasa dan Warna pada Produk Pangan. LMU Press. Banjarmasin.
- Jun, S., L.J. Cox. and A. Huang. 2006. Using the flexible retort pouch to add value to agricultural products. *Food Safety and Technology FST-16*: 1-6
- Kaba, N., B. Corapci., K. Eryasar. and H.N. Karabek. 2013. Sensory, chemical and microbiological characteristics of canned smoked whiting roe pate. *GIDA Journal of Food*, 38(5) .259-266.
- Karungi, C., Y.B. Byaruhanga. and J.H. Muyonga. 2004. Effect of pre-icing duration on quality deterioration of iced Nile perch (*Lates niloticus*). *Food chemistry*, 85(1): 13-17.
- Ketaren, S. 2005. Minyak dan Lemak Pangan. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Khoirunnisa, S. 2014. Aneka Masakan Padang Paling Populer. Dunia Kreasi. Jakarta.
- Khoirunnisa, Z., A.S. Wardana. dan R. Rauf. 2020. Angka Asam dan Peroksida Minyak Jelantah dari Penggorengan Lele secara Berulang. *Jurnal Kesehatan*, 12(2): 81-90.

- Kirwan, M.J. and J.W. Strawbridge. 2003. Plastics in food packaging. In Coles, R.D., McDowland M. J. Kirwan (eds.): Food Packaging Technology. CRC Press, Blackwell Publishing, United Kingdom, p: 174-237.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2018. Refleksi 2018 & Outlook 2019. Direktorat Jenderal Pengelolaan Ruang Laut. KKP. Jakarta
- Kusharto, C.M. dan S.A. Marliyati. 2012. Formulasi biskuit dengan substitusi tepung ikan lele dumbo (*clarias gariepinus*) dan isolat protein kedelai (*glycine max*) sebagai makanan potensial untuk anak balita gizi kurang Gl. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, 23(1): 9-16
- Lampi, R.A., 1980. Retort Pouch: The Development of a Basic Packaging Concept in Today's High Technology Era 1. Journal of Food Process Engineering, 4(1): 1-18.
- Lawrie, R.A., 2003. Ilmu Daging. UI Press. Jakarta.
- Liviawaty, E. dan E. Afrianto. 2014. Penentuan Waktu Rigor Mortis Ikan Nila Merah Berdasarkan Pola Perubahan Derajat Keasaman. Jurnal Akuatika. 5(1): 40-44.
- Mailoa, M.N., E. Lokollo., D.M. Nendissa. and P.I. Harsono. 2019. Karakteristik Mikrobiologi dan Kimiawi Ikan Tuna Asap. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 22(1): 89-99.
- Manurung, H.J., F. Swastawati. dan I. Wijayanti. 2018. Pengaruh Penambahan Asap Cair Terhadap Tingkat Oksidasi Ikan Kembung (*Rastrelliger SP*) Asin dengan Metode Pengeringan yang Berbeda. Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan, 6(1): 30-37.
- McDonald, S.T., 2015. Comparison of health risks of smoked foods as compared to smoke flavorings: are smoke flavors “healthier”. Adv Food Technol Nutr Sci Open J, 1(6): 130-134.
- Moeljanto. 1992. Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan. Penebar Swadaya. Jakarta
- Mohan, C.O., C.N. Ravishankar., J. Bindu., V. Geethalakshmi. and T.K. Srinivasa Gopal. 2006. Effect of thermal process time on quality of “shrimp kuruma” in retortable pouches and aluminum cans. Journal of food science, 71(6): 496-500.
- Mohan, C.O., S. Remya., L.N. Murthy., C.N. Ravishankar. and K.A. Kumar. 2015. Effect of filling medium on cooking time and quality of canned yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). Food Control, 50: 320-327.
- Mugale, R., S.B. Patange., V.R. Joshi., G.N. Kulkarni. and M.M. Shirdhankar. 2018. Heat penetration characteristics and shelf life of ready to serve eel curry in retort pouch. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci, 7(2): 89-100.
- Nagy, Z., H. Daood., Z. Ambrózy. and L. Helyes. 2015. Determination of polyphenols, capsaicinoids, and vitamin C in new hybrids of chili peppers. Journal of analytical methods in chemistry, 2015: 1-10
- Nitibaskara, R. 1988. Pengasapan Ikan. Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan IPB. Bogor
- Perikanan Budidaya. Kementrian Kelautan dan Perikanan.
- Prakoso, A. 2016. Pengalengan Lele Asap dalam Medium Minyak dan Larutan Garam. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Skripsi.
- Prastowo, A. 2019. Nilai Sterilitas Lele Asap Bumbu Tradisional yang Dikemas Menggunakan Retort Pouch. Universitas Gadjah Mada. Skripsi
- Putri, R.E., dan Diana. 2015. Karakterisasi Asap Cair Dari Tempurung Kelapa Sebagai Pengganti Pengasapan Tradisional Pada Ikan Bilih (*Mystacoleuseus padangensis*). Agrica Ekstensia. 9 (2): 9-15

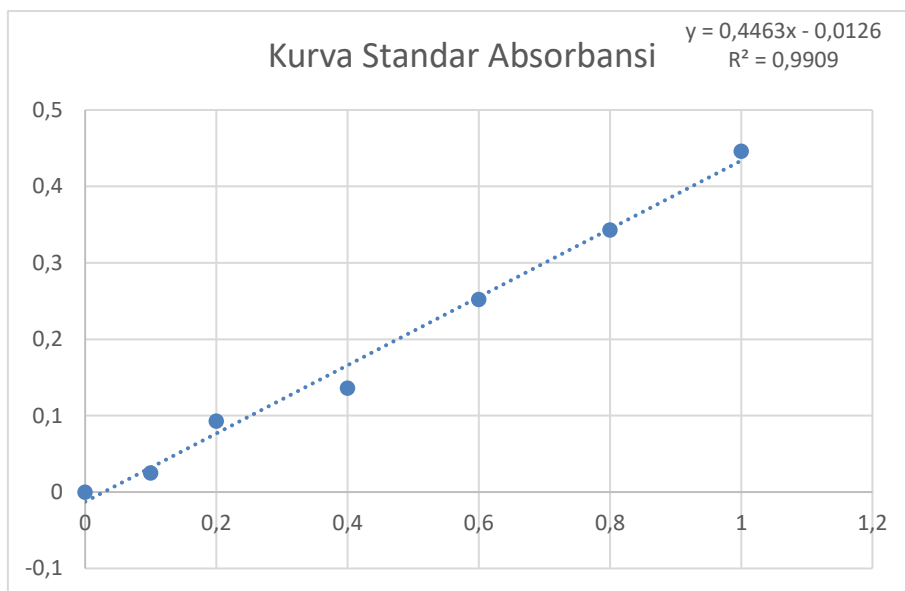
- Rahayu, P.W. 2000. Aktivitas Antimikroba Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak. Buletin Teknologi dan Industri Pangan, 11(2): 34-46
- Rajan, S., V.V. Kulkarni. and V. Chandirasekaran. 2011. Preparation and storage stability of retort processed Chettinad chicken. J.FoodSci.Technol., 51: 173-177.
- Rao, B.M., L.N. Murthy. and M.M. Prasad. 2013. Shelf life of chill stored panagasius (*pangasianodon hypophthalmus*) fish fillets: effect of vacuum and polyphosphate. Indian Journal of Fisheries, 60(4): 93-98
- Ravishankar, C.N., J. Bindu. and S.T.K. Gopal. 2008. Ready to serve mackerel curry (Goan style) in retortable pouches. Fishery Technology 2008, Vol. 45(2): 171 - 180
- Ravishankar, C.N., K. Sihabudheen., S. Joseph., S. Basheer., C.O. Mohan., J. Bindu. and T.K.S. Gopal., 2010. Heat penetration characteristics of seafood cocktail soup processed at different temperatures in retortable pouches. In Meenakumari, B., M.R. Boopendranath., L. Edwin., T.V. Sankar., N. Gopal. and G. Ninan., (Eds). Coastal Fishery Resources of India: Conservation and Sustainable Utilisation. Society of Fisheries Technologists, p. 1-13,
- Rochima, E., 2005. Pengaruh fermentasi garam terhadap karakteristik jambal roti. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 8(2): 46-56
- Rørvik, L.M., 2000. *Listeria monocytogenes* in the smoked salmon industry. International journal of food microbiology, 62(3), pp.183-190.
- Saanin, H. 1984. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan Volume I. Bina Rupa Aksara. Jakarta.
- Sahana, N. and D. Ramasamy., 2019. Process optimization and shelf-life study of retort processed coconut milk. The Pharma Innovation Journal 2019; 8(9): 134-136
- Saloko, S., P. Darmadji., B. Setiaji., Y. Pranoto., and S. Widyastuti. 2014. Determination of Principal Volatile Compounds of Nanoencapsulated Coconut Shell-Liquid Smoke as a Food Biopreservative. Jurnal of Advances in Food Science and Technology, 3(3): 114-118.
- Sari. A.W. 2017. Pengaruh Medium Terhadap Nilai Sterilisasi (Fo) Proses Pengalengan Lele Asap dengan Aneka Bumbu Tradisional. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Skripsi.
- Schlegel, H. G., 1994. Mikrobiologi Umum. Edisi 6. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sibuea, P. 2005. Mekanisme *Quenching* Oksigen Singlet oleh Kuertesin dan Peran Emulsifier terhadap Stabilitas Oksidatif Emulsi Minyak dalam Air. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Disertasi.
- Sikorski, Z. E., A. Kolakowska., and J.R. Burt. 1990. Post Harvest Biochemical and Microbial Changes. CRC Press. Boca Raton.
- Simon, R., B. de la Calle., S. Palme., D. Meier. and E. Anklam. 2005. Composition and analysis of liquid smoke flavouring primary products. Journal of Separation Science, 28(9-10): 871-882.
- Sivakanthan, S., D. Bopitiya. and T. Madhujith. 2018. A comparative study on stability of different types of coconut (*Cocos nucifera*) oil against autoxidation and photo-oxidation. African Journal of Food Science, 12(9): 216-229.
- Soewitomo, S. 2009. 30 Menu untuk 1 Bulan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Sulistijowati R, O. Djunaedi., J. Nurhajati., E. Afrianto. dan Z. Udin. 2011. Mekanisme Pengasapan. Percetakan Universitas Padjadjaran. Bandung.

- Swastawati, F., B. Cahyono. and I. Wijayanti. 2018. Perubahan Karakteristik Kualitas Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan Metode Pengasapan Tradisional dan Penerapan Asap Cair. Jurnal INFO, 19(2): .55-64.
- Tamtomo, D. S. dan B. Ariputra. 2015. Sedap: Masakan dan Kue Indonesia. PT. Media Boga Utama. Jakarta.
- Tenyang, N., B. Tiencheu., and H.M. Womeni. 2018. Effect of smoking and refrigeration on lipid oxidation of *Clupea harengus*: A fish commonly consumed in Cameroon. Food science & nutrition, 6(2): 464-473.
- Thariq, A.S., F. Swastawati. and T. Surti. 2014. Pengaruh perbedaan konsentrasi garam pada peda ikan kembung (*Rastrelliger neglectus*) terhadap kandungan asam glutamat pemberi rasa gurih (umami). Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan, 3(3): 104-111.
- Wibowo, I.R., Y.S. Darmanto. dan A.D. Anggo. 2014. Pengaruh cara kematian dan tahapan penurunan kesegaran ikan terhadap kualitas pasta ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan, 3(3): 95-103.
- Wijaya, O., B.S. Rahardja. dan P. Prayogo., 2014. Pengaruh Padat Tebar Ikan Lele terhadap Laju Pertumbuhan dan *Survival Rate* ada Sistem Akuaponik. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, 6(1): 55-58
- Wildan, F, 2002, Penentuan Bilangan Peroksida dalam Minyak Nabati dengan Cara Titration. Jurnal Temu Teknis Fungsional Non Peneliti, 3(2): 64-65
- Yi, J., L. Zhang., G. Ding., X. Hu., X. Liao. and Y. Zhang., 2013. High hydrostatic pressure and thermal treatments for ready-to-eat wine-marinated shrimp: An evaluation of microbiological and physicochemical qualities. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 20: 16-23.
- Yuliasri, V., R. Suwandi., and Uju., 2015. Hasil Penilaian Organoleptik dan Histologi Lele Asap pada Proses Pre-Cooking. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 18 (2): 190-204
- Yusra dan Y. Efendi 2010. Dasar-Dasar Teknologi Hasil Perikanan. Bung Hatta University Press. Padang.
- Zhang, Z.S., D. Li. and L.X. Zhang., 2013. Effect of Heating on the Fatty Acid Composition and Oxidation Products of Flaxseed Oil. Asian journal of chemistry, 25(18): 1-5

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Absorbansi FeCl_3 dan Grafik Persamaan Y

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A°)
0	0
0,1	0,025
0,2	0,093
0,4	0,136
0,6	0,252
0,8	0,343
1	0,446



Lampiran 2. Nilai Bahan Baku Segar dan Bahan Baku Asap terhadap pH, *Total Volatile Base* (TVB), Angka Peroksida, *Total Plate Count* (TPC)

Sampel	Nilai			
	pH	TVB (mgN/100g)	Angka Peroksida (meq/kg)	TPC (CFU/mL)
BB1	7,1	3,42	0,64	42216
BB2	7,3	3,84	0,54	57009
BB3	7,1	3,75	0,62	
D1	6,6	6,38	0,83	2103
D2	6,3	6,83	0,8	1584
D3	6,4	6,3	0,88	

Lampiran 3. Nilai Bahan Baku Asap dengan Bumbu Tradisional khas Indonesia terhadap pH, *Total Volatile Base* (TVB), Angka Peroksida, *Total Plate Count* (TPC)

Sampel	Nilai			
	pH	TVB (mgN/100g)	Angka Peroksida (meq/kg)	TPC (CFU/mL)
BX1	6,7	5,4	0,89	95
BX2	6,6	5,63	1,02	113
BX3	6,6	5,12	0,96	
RX1	6,8	5,27	1,34	272
RX2	6,7	6,01	0,93	348
RX3	6,5	5,62	1,3	
GX1	6,6	5,92	1,03	693
GX2	6,8	5,38	1,14	812
GX3	6,4	5,97	0,97	

Lampiran 4. Nilai pH pada Lele Asap dengan Bumbu Tradisional Khas Indonesia dalam *Retort Pouch* selama Penyimpanan 8 minggu

Sampel	Minggu ke-				
	0	2	4	6	8
B1	6,4	6,2	6,4	6,3	5,7
B2	6,4	6,4	6,6	6,3	5,5
B3	6,3	6,5	6,3	6,2	5,8
R1	6,4	6,3	6,3	6,8	5,6
R2	6,1	6,1	5,9	6,3	5,8
R3	6,3	6,2	6,1	6	5,6
G1	6,6	6,3	6,1	6,2	6
G2	6,1	6,1	6,1	6,3	5,8
G3	6,5	6,6	6,2	6,2	5,9

Lampiran 5. Nilai *Total Volatile Base* (TVB) pada Lele Asap dengan Bumbu Tradisional Khas Indonesia dalam *Retort Pouch* selama Penyimpanan 8 minggu

Sampel	Minggu ke- (mgN/100g)				
	0	2	4	6	8
B1	5,45	5,812	4,25	4,22	5,15
B2	5,06	5,06	4,29	4,66	5,51
R1	5,3	3,72	4,47	3,91	4,357
R2	5,17	3,4	4,38	3,95	4,72
G1	4	3,44	3,94	4,89	4,45
G2	4,2	3,43	3,54	4,91	4,85

Lampiran 6. Angka Peroksida pada Lele Asap dengan Bumbu Tradisional Khas Indonesia dalam *Retort Pouch* selama Penyimpanan 8 minggu

Sampel	Minggu ke- (meq/kg)				
	0	2	4	6	8
B1	1,01	0,97	1,09	1,43	0,8
B2	1,04	1,07	1,27	2,06	0,8
B3	1,07	1,16	1,34	1,51	0,82
R1	1,17	1,26	1,31	1,5	2,24
R2	1,11	1,16	1,35	1,54	1,77
R3	1,18	1,23	1,31	1,56	2,06
G1	1,2	1,16	1,79	1,81	3,36
G2	1,06	1,34	1,6	1,85	2,4
G3	1,13	1,23	1,6	1,88	2,86

Lampiran 7. Nilai *Total Plate Count* (TPC) pada Lele Asap dengan Bumbu Tradisional Khas Indonesia dalam *Retort Pouch* selama Penyimpanan 8 minggu

Sampel	Minggu ke- (CFU/mL)				
	0	2	4	6	8
B1	0	0	0	24	35
B2	0	0	0	15	41
R1	0	0	0	30	44
R2	0	0	0	56	65
G1	0	0	0	46	50
G2	0	0	0	62	83

Lampiran 8. Analisa Statistika pH (Sebelum Sterilisasi)

Tests of Normality

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
pH	.924	15	.225

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
pH	.687	4	10	.617

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pH	Between Groups	.913	4	.228	11.048	.001
	Within Groups	.207	10	.021		
	Total	1.120	14			

pH

Duncan

Kode_Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1 b	2 a
2.00	3	6.4333	7.1667
5.00	3	6.6000	
3.00	3	6.6333	
4.00	3	6.6667	
1.00	3		
Sig.		.093	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 9. Analisa Statistika TVB (Sebelum Sterilisasi)

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai_TV	.194	15	.133	.901	15	.098

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Nilai_TV

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.265	4	10	.894

ANOVA

Nilai_TV

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.175	4	3.294	37.443	.000
Within Groups	.880	10	.088		
Total	14.054	14			

Nilai_TV

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1 c	2b	3 a
1.00	3	3.6700		
3.00	3		5.3833	
4.00	3		5.6333	
5.00	3		5.7567	
2.00	3			6.5033
Sig.		1.000	.172	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 10. Analisa Statistika angka peroksida (Sebelum Sterilisasi)

Tests of Normality

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Angka_Peroksida	.966	15	.798

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Angka_Peroksida	5.399	4	10	.014

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Angka_Peroksida	Between Groups	.598	4	.150	11.130	.001
	Within Groups	.134	10	.013		
	Total	.733	14			

Angka_Peroksida

Duncan

Kode_Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1 c	2b	3 a
1.00	3	.6000		
2.00	3		.8367	
3.00	3		.9567	
5.00	3		1.0467	1.0467
4.00	3			1.1900
Sig.		1.000	.060	.161

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 11. Analisa Statistika TPC (Sebelum Sterilisasi)

Test of Homogeneity of Variances

TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.89	14	15	.083

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TPC	.363	30	.110	.738	30	.090

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17843.467	14	1274.533	14.826	.000
Within Groups	1289.500	15	85.967		
Total	19132.967	29			

TPC

Duncan

Kode_Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.00	2	.0000			
2.00	2	.0000			
3.00	2	.0000			
4.00	2	.0000			
5.00	2	.0000			
6.00	2	.0000			
7.00	2	.0000			
8.00	2	.0000			
9.00	2	.0000			
10.00	2	19.5000	19.5000		
13.00	2		38.0000	38.0000	
11.00	2			43.0000	
12.00	2			54.0000	54.0000
14.00	2			54.5000	54.5000
15.00	2				66.5000
Sig.		.085	.065	.121	.220

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

Lampiran 12. Analisa Statistika ANOVA (Sesudah Sterilisasi)

```
> str(dat.rcbd)
'data.frame': 45 obs. of 6 variables:
 $ Bumbu      : chr  "Balado" "Balado" "Balado" "Rendang" ...
 $ Minggu     : int   0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 ...
 $ Perlakuan  : int   1 1 1 2 2 2 3 3 3 4 ...
 $ Hasil_pH   : num   6.4 6.4 6.3 6.4 6.1 6.3 6.6 6.1 6.5 6.2 ...
 $ Angka_Peroksida: num   1.01 1.04 1.07 1.17 1.11 1.18 1.2 1.06 1.13 0.97 ...
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> model.rcbd <- lm(Angka_Peroksida~Bumbu+Minggu,data=dat.rcbd)
> summary.aov(model.rcbd)

          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Bumbu      2  2.599   1.300    9.77 0.000339 ***
Minggu     1  3.944   3.944   29.65 2.66e-06 ***
Residuals 41  5.454   0.133
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> dat.rcbd <- read.table("clipboard",header = T,sep="\t")
> model.rcbd <- lm(Hasil_pH~Bumbu+Minggu,data=dat.rcbd)
> summary.aov(model.rcbd)

          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Bumbu      2  0.084   0.0420    0.794    0.459
Minggu     1  1.320   1.3201   24.966 1.13e-05 ***
Residuals 41  2.168   0.0529
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
>
> str(dat.rcbd)
'data.frame': 30 obs. of 3 variables:
 $ Bumbu : chr  "Balado" "Balado" "Rendang" "Rendang" ...
 $ Minggu: int   0 0 0 0 0 0 2 2 2 2 ...
 $ TPC   : int   0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 ...
> model.rcbd <- lm(TPC~Bumbu+Minggu,data=dat.rcbd)
> summary.aov(model.rcbd)

          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Bumbu      2    813     407    1.843    0.178
Minggu     1 12586  12586   57.071 5.09e-08 ***
Residuals 26  5734     221
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
>

> ##### Model anova dan plot diagnostics #####
> model.rcbd <- lm(TVB~Bumbu+Minggu,data=dat.rcbd)
> summary.aov(model.rcbd)

          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Bumbu      2  3.368   1.6840    4.645 0.0188 *
Minggu     1  0.032   0.0323    0.089 0.7677
Residuals 26  9.426   0.3625
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
>
```

Lampiran 13. Hasil Analisa Statistika Uji Berganda Duncan (DMRT) pH (Setelah Sterilisasi)

Kode_Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1 c	2 b	3 a
13.00	3	5.6667		
14.00	3	5.6667		
15.00	3	5.9000	5.9000	
8.00	3		6.1000	6.1000
9.00	3		6.1333	6.1333
5.00	3		6.2000	6.2000
12.00	3			6.2333
2.00	3			6.2667
10.00	3			6.2667
6.00	3			6.3333
1.00	3			6.3667
4.00	3			6.3667
11.00	3			6.3667
3.00	3			6.4000
7.00	3			6.4333
Sig.		.140	.067	.062

Lampiran 14. Hasil Analisa Statistika Uji Berganda Duncan (DMRT) TVB (Setelah Sterilisasi)

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05						
		1 g	2 f	3 e	4 d	5 c	6 b	7 a
6.00	2	3.4350						
5.00	2	3.5600	3.5600					
9.00	2	3.7400	3.7400	3.7400				
11.00	2	3.9300	3.9300	3.9300	3.9300			
3.00	2		4.1000	4.1000	4.1000	4.1000		
7.00	2			4.2700	4.2700	4.2700		
8.00	2				4.4250	4.4250	4.4250	
10.00	2				4.4400	4.4400	4.4400	
14.00	2					4.5385	4.5385	
15.00	2					4.6500	4.6500	
12.00	2						4.9000	4.9000
2.00	2							5.2350
1.00	2							5.2550
13.00	2							5.3300
4.00	2							5.4360
Sig.		.071	.050	.054	.068	.053	.087	.056

Lampiran 15. Hasil Analisa Statistika Uji Berganda Duncan (DMRT) angka peroksida (Setelah Sterilisasi)

Kode_Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1 f	2 e	3 d	4 c	5 b	6 a
13.00	3	.8067					
1.00	3	1.0400	1.0400				
4.00	3	1.0667	1.0667				
3.00	3		1.1300				
2.00	3		1.1533				
5.00	3		1.2167	1.2167			
7.00	3		1.2333	1.2333			
6.00	3		1.2433	1.2433			
8.00	3		1.3233	1.3233			
11.00	3			1.5333	1.5333		
9.00	3				1.6633		
10.00	3				1.6667		
12.00	3				1.8467	1.8467	
14.00	3					2.0233	
15.00	3						2.8733
Sig.		.096	.098	.056	.053	.228	1.000

Lampiran 16. Hasil Analisa Statistika Uji Berganda Duncan (DMRT) TPC (Setelah Sterilisasi)

Kode_Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.00	2	.0000			
2.00	2	.0000			
3.00	2	.0000			
4.00	2	.0000			
5.00	2	.0000			
6.00	2	.0000			
7.00	2	.0000			
8.00	2	.0000			
9.00	2	.0000			
10.00	2	19.5000	19.5000		
13.00	2		38.0000	38.0000	
11.00	2			43.0000	
12.00	2			54.0000	54.0000
14.00	2			54.5000	54.5000
15.00	2				66.5000
Sig.		.085	.065	.121	.220

