

Lampiran 1. Prosedur Penelitian Pendahuluan

Prosedur penelitian pendahuluan :

- Sampel alga coklat segar dicuci menggunakan air keran, sambil di sikat bagian daun agar sisa pasir dan lendir yang menempel pada daun maupun batangnya hilang dan alga coklat menjadi bersih
- Sampel ditiriskan lalu dipotong kecil-kecil menggunakan gunting untuk memperluas permukaan bahan
- Ditimbang dengan timbangan digital sebanyak 100 gram untuk setiap perlakuan
- Sampel dikeringkan dalam *microwave* dengan suhu berbeda yaitu 60°C, 70°C, 80°C, 90°C, 100°C dan 110°C selama 20 menit
- Sampel dihaluskan dengan blender sampai menjadi seperti serbuk teh
- Sampel diseduh dengan air panas suhu 89°C
- Diuji organoleptik (warna, rasa, bau)
- Hasil



Lampiran 2. Data Hasil Penelitian Pendahuluan
Hasil Organoleptik Warna

Panelis	Perlakuan Suhu Pengeringan					
	60°C	70°C	80°C	90°C	100°C	110°C
1	5	5	6	5	5	2
2	5	5	6	5	3	3
3	5	6	6	5	3	2
4	6	5	7	6	5	2
5	7	6	6	3	3	2
6	5	5	6	5	3	2
7	5	5	6	4	3	3
8	4	5	7	5	2	1
9	5	5	6	4	3	1
10	7	6	6	5	3	3
11	5	6	6	6	6	6
12	5	5	6	6	5	6
13	4	4	5	4	5	5
14	3	3	5	5	5	5
15	5	5	6	6	6	5
16	3	4	5	5	4	4
17	4	4	7	7	6	5
18	3	4	5	6	5	5
19	4	5	6	6	5	4
20	5	6	6	6	6	6
Total	95	99	119	104	86	72
Rerata	4.75	4.95	5.95	5.2	4.3	3.6

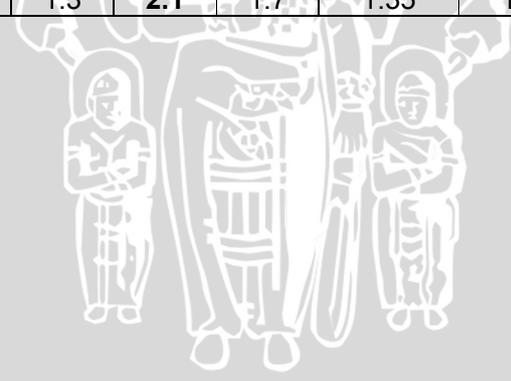


Hasil Organoleptik Aroma

Panelis	Perlakuan Suhu Pengeringan					
	60°C	70°C	80°C	90°C	100°C	110°C
1	1	1	2	2	1	1
2	1	2	3	3	2	1
3	2	1	3	2	2	1
4	1	2	3	2	2	2
5	2	2	3	1	1	1
6	2	1	3	2	2	2
7	2	2	3	1	2	2
8	1	1	2	2	2	2
9	1	3	3	2	2	2
10	1	1	3	2	3	2
11	1	1	2	1	1	1
12	1	1	1	1	1	1
13	1	1	1	1	1	1
14	1	1	1	1	1	1
15	1	1	1	2	3	3
16	1	1	1	3	1	1
17	1	1	1	1	1	1
18	1	1	2	1	1	1
19	1	1	3	2	3	3
20	1	1	3	3	2	3
Total	24	26	44	35	34	32
Rerata	1.2	1.3	2.2	1.75	1.7	1.6

Hasil Organoleptik Rasa

Panelis	Perlakuan Suhu Pengeringan					
	60°C	70°C	80°C	90°C	100°C	110°C
1	1	1	2	1	1	1
2	2	1	3	2	1	2
3	2	2	2	2	2	1
4	1	1	2	3	2	1
5	1	2	3	2	1	1
6	2	2	2	1	2	1
7	1	2	2	3	2	1
8	2	2	2	1	2	2
9	2	2	2	2	1	1
10	1	1	2	1	2	1
11	1	1	2	2	1	1
12	1	1	2	2	1	1
13	1	1	2	1	1	1
14	1	1	2	1	1	1
15	1	1	2	2	2	2
16	1	1	2	2	1	1
17	1	1	2	1	1	1
18	1	1	2	1	1	1
19	1	1	2	2	1	1
20	1	1	2	2	1	1
Total	25	26	42	34	27	23
Rerata	1.25	1.3	2.1	1.7	1.35	1.15



Lampiran 3. Proses Pembuatan Larutan Kapur

- Disiapkan kapur sirih, timbangan digital, 6 buah ember plastic dan pH paper.
- Diambil air keran masing-masing perlakuan sebanyak 8000 ml menggunakan beaker glass 1000 ml lalu dimasukan masing-masing ke dalam 6 ember plastik
- Ditimbang kapur sirih masing- masing 3gr untuk pH 8, 5 gr untuk pH 9, 10 gr untuk pH 10, 20 gr untuk pH 11 dan 22gr untuk pH 12. Kemudian dimasukkan ke dalam ember plastik yang telah berisi 8000ml air.
- Diukur pH larutan dalam masing-masing menggunakan pH paper



Lampiran 4. Score sheet Penilaian Uji Organoleptik

LEMBAR UJI ORGANOLEPTIK

Tanggal :

Nama Panelis :

Nama Produk : **Teh Alga Coklat**

Ujilah rasa, warna dan aroma dari produk berikut dan tuliskan seberapa jauh saudara menyukai dengan menuliskan angka dari 1 – 8 yang paling sesuai menurut anda pada tabel yang tersedia.

Produk	Rasa	Warna	Aroma
K			
L			
M			
N			
O			
P			

Keterangan :

- 8 : amat sangat menyukai
- 7 : sangat menyukai
- 6 : menyukai
- 5 : agak menyukai
- 4 : sedikit menyukai
- 3 : tidak menyukai
- 2 : sangat tidak menyukai
- 1 : amat sangat tidak menyukai

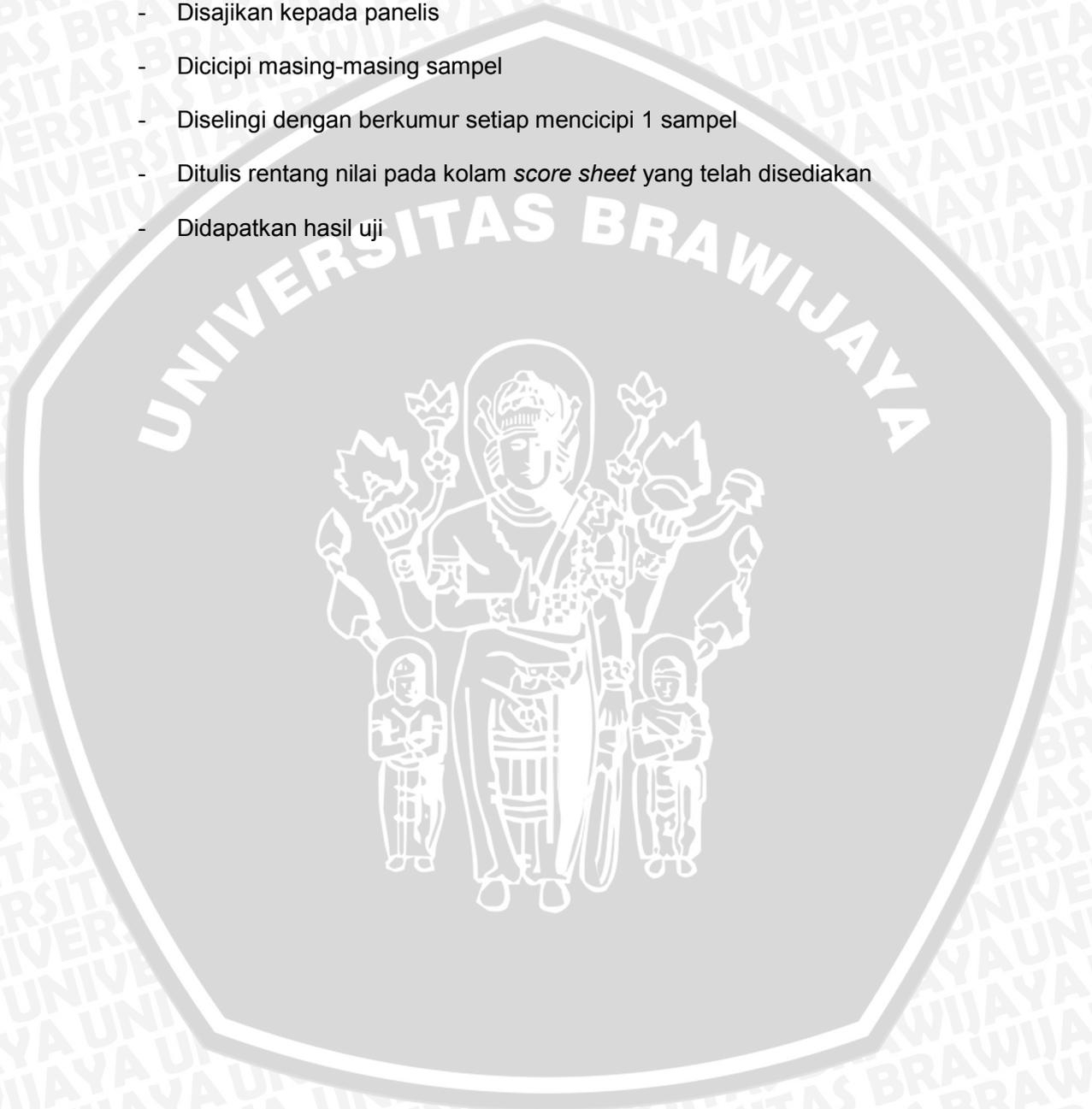
#TERIMAKASIH#



Lampiran 5. Prosedur Uji Organoleptik

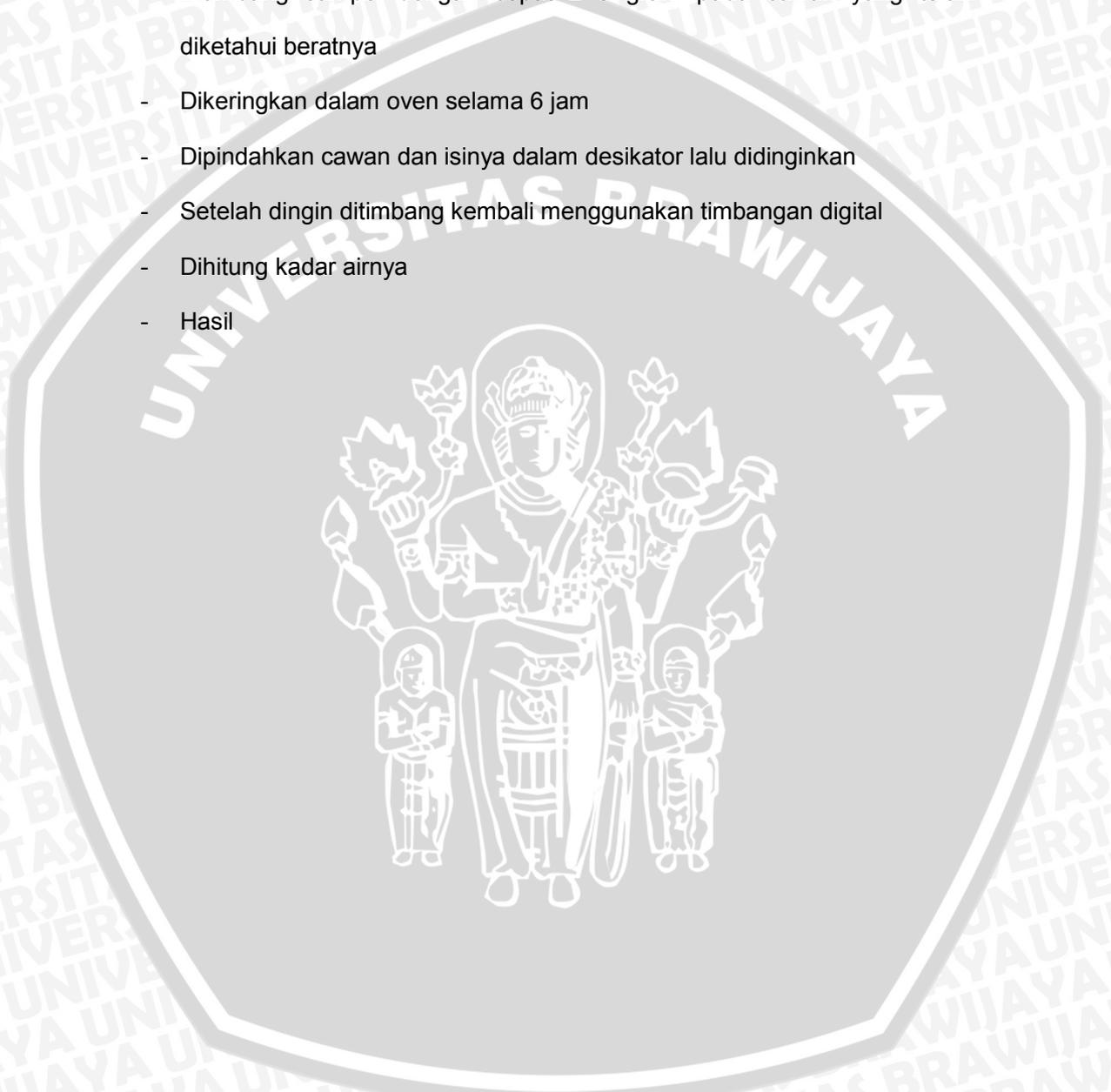
Prosedur uji hedonik adalah sebagai berikut :

- Disiapkan produk the alga coklat
- Diberi kode (K, L, M, N, O, P)
- Disajikan kepada panelis
- Dicipi masing-masing sampel
- Diselingi dengan berkumur setiap mencicipi 1 sampel
- Ditulis rentang nilai pada kolom *score sheet* yang telah disediakan
- Didapatkan hasil uji



Lampiran 6. Prosedur Analisa Kadar Air

- Dikeringkan cawan kosong dalam oven selama 15 menit pada suhu 105°C
- Didinginkan dalam desikator ± 20 menit, kemudian ditimbang
- Ditimbang sampel dengan cepat ± 5 gram pada cawan yang telah diketahui beratnya
- Dikeringkan dalam oven selama 6 jam
- Dipindahkan cawan dan isinya dalam desikator lalu didinginkan
- Setelah dingin ditimbang kembali menggunakan timbangan digital
- Dihitung kadar airnya
- Hasil



Lampiran 7. Prosedur Analisa Kadar Protein

Prinsip analisis dengan metode ini meliputi destruksi, destilasi dan titrasi.

Pada tahap destruksi langkah-langkah yang dilakukan yaitu :

- Ditimbang sampel sebanyak 1 gram
- Dimasukkan ke dalam tabung *kjeltec* dan satu tablet *kjeltec* dimasukkan kedalamnya
- Ditambahkan 10 ml H_2SO_4 pekat
- Diletakkan tabung yang berisi larutan tersebut pada alat pemanas dengan suhu $450^{\circ}C$
- Dilakukan destruksi sampai warna larutan menjadi bening
- Didinginkan hasil destruksi dan diencerkan dengan 15 ml aquades.

Tahap destilasi dimulai dengan persiapan alat *kjeltec system*

- Dilakukan persiapan dengan menyalakan kran air, dilakukan pengecekan terhadap alkali dan air dalam tangki.
- Diletakkan tabung berisi sampel pada tempatnya dan dihubungkan dengan selang.
- Pintu tempat tabung selanjutnya ditutup rapat, kemudian tombol alkali ditekan sampai lampu berhenti menyala dan tombol steam ditekan
- Destilasi dilakukan sampai volume larutan dalam erlenmeyer mencapai 200 ml

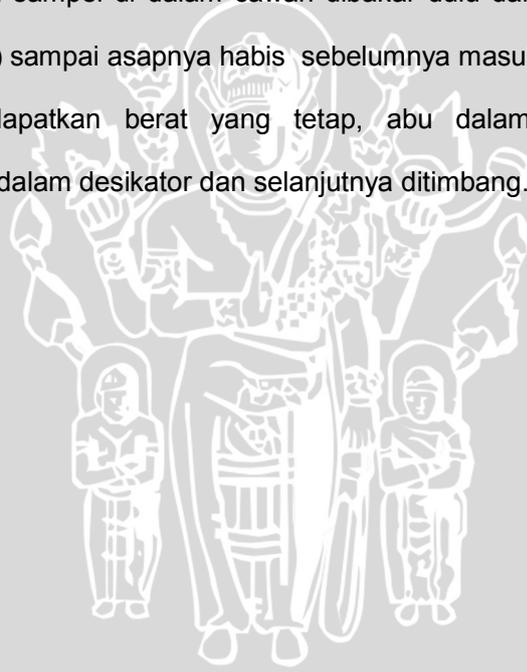
Tahap proses titrasi

- Sampel yang telah didestilasi dengan meneteskan larutan HCl 0,01 N dari buret sampai warna sampel berubah menjadi merah.

Lampiran 8. Prosedur Analisa Kadar Abu

Abu dalam bahan pangan ditetapkan dengan menimbang sisa mineral hasil pembakaran bahan organik pada suhu 550°C, prosedur pengabuan yaitu :

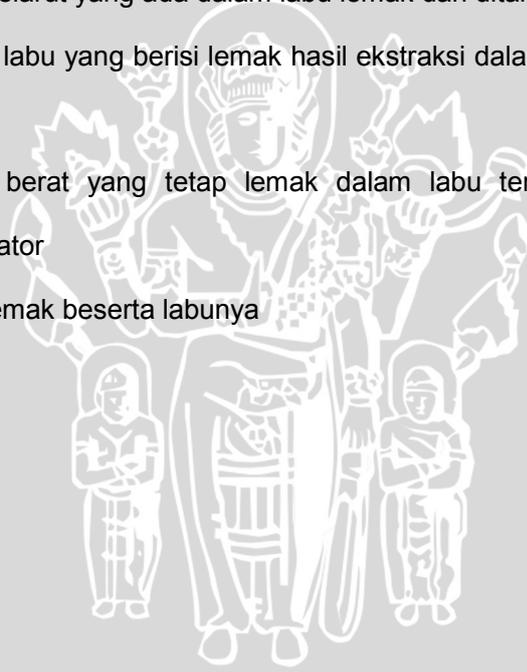
- Diletakkan cawan pengabuan dalam oven
- Didinginkan dalam desikator dan ditimbang setelah beratnya tetap.
- Dimasukkan sampel sebanyak ± 2 gram dalam cawan dan dibakar di dalam tanur 400°C
- Dinaikkan suhu menjadi 550°C sampai terdapat abu berwarna abu-abu atau sampai beratnya tetap
- Dibakar terlebih dulu sampel di dalam cawan sampai beratnya tetap.
- Sebelumnya sampel di dalam cawan dibakar dulu dalam pembakar gas (api sedang) sampai asapnya habis sebelumnya masuk tanur.
- Setelah didapatkan berat yang tetap, abu dalam cawan tersebut didinginkan dalam desikator dan selanjutnya ditimbang.
- Hasil



Lampiran 9. Prosedur Analisa Kadar Lemak

Analisis lemak dilakukan dengan menggunakan metode *soxhlet* Labu yang sesuai ukurannya dengan alat ekstraksi *soxhlet* dikeringkan dalam oven lalu didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Prosedur analisa kadar lemak yaitu :

- Ditimbang sampel sebanyak 5 gram dalam saringan timbal
- Ditutup sampel dengan menggunakan kertas saring
- diletakkan kertas saring yang berisi sampel dalam ekstraksi *soxhlet* lalu kondensor dipasang di atasnya dan labu lemak di bawahnya
- Dilakukan refluks selama lima jam sampai pelarut yang turun kembali ke labu lemak berwarna jernih
- Didestilasi pelarut yang ada dalam labu lemak dan ditampung pelarutnya
- Dipanaskan labu yang berisi lemak hasil ekstraksi dalam oven pada suhu 105°C
- Didapatkan berat yang tetap lemak dalam labu tersebut didinginkan dalam desikator
- Ditimbang lemak beserta labunya

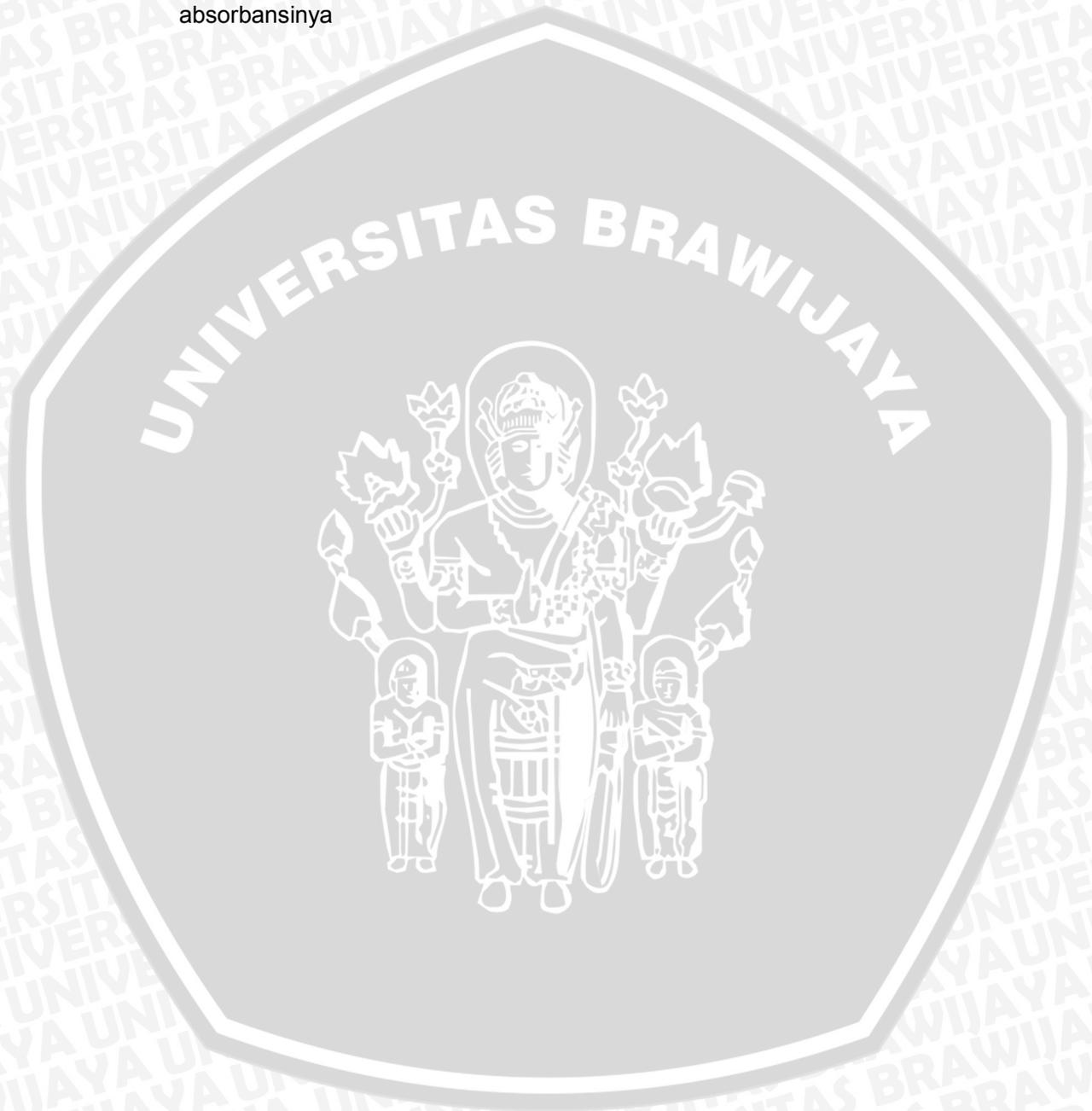


Lampiran 10. Prosedur Analisa Logam

Prosedur penentuan kadar logam berat timbal (Pb), Kadmium (Cd), dan Merkuri (Hg) pada produk teh alga coklat adalah sebagai berikut :

- Ditimbang sampel sebanyak 2 gram ke dalam cawan porselen
- Pembuatan *spiked* 0,05 mg/kg Pb, Cd, atau Hg
 - ✓ Ditambahkan sebanyak 0,25 ml larutan standar Pb (akuarebia) Pb 1 mg/l ke dalam contoh sebelum dimasukkan ke tungku pengabuan
 - ✓ Ditambahkan sebanyak 0,25 ml larutan standar Pb (akuarebia) Cd 1 mg/l ke dalam contoh sebelum dimasukkan ke tungku pengabuan
 - ✓ Ditambahkan sebanyak 0,25 ml larutan standar Pb (akuarebia) Hg 1 mg/l ke dalam contoh sebelum dimasukkan ke tungku pengabuan
- Diuapkan *spiked* diatas *hot plate* pada suhu 100°C sampai kering.
- Dimasukkan sampel dan *spiked* ke dalam tungku pengabuan dan tutup separuh permukaannya. Naikkan suhu tungku pengabuan secara bertahap 100°C selama 30 menit sampai 450°C.
- Dikeluarkan sampel dan *spiked* dari tungku pengabuan dan didinginkan pada suhu kamar. Setelah dingin tambahkan 1 ml HNO₃ 65%, goyangkan secara hati-hati sehingga semua abu terlarut dalam asam dan selanjutnya uapkan diatas *hot plate* pada suhu 100°C sampai kering
- Setelah kering dimasukkan kembali sampel dan *spiked* ke dalam tungku pengabuan. Naikkan suhu secara bertahap 100°C sampai mencapai 450°C dan pertahankan selama 3 jam.
- Setelah abu terbentuk sempurna berwarna putih, dinginkan sampel dan *spiked* pada suhu ruang. Tambahkan 5 ml HCl ke dalam masing-masing sampel dan *spiked* goyangkan secara hati-hati sehingga semua abu larut dalam asam. Uapkan diatas *hot plate* pada suhu 100°C sampai kering.

- Ditambahkan 10 ml HNO_3 0,1 M dan dinginkan pada suhu ruang selama 1 jam, pindahkan larutan ke dalam labu takar *polypropylene* 50 ml , tepatkan sampai tanda batas dengan menggunakan HNO_3 0,1 M
- Baca dengan AAS menggunakan katode Pb, Cd, dan Hg dan dicatat absorbensinya

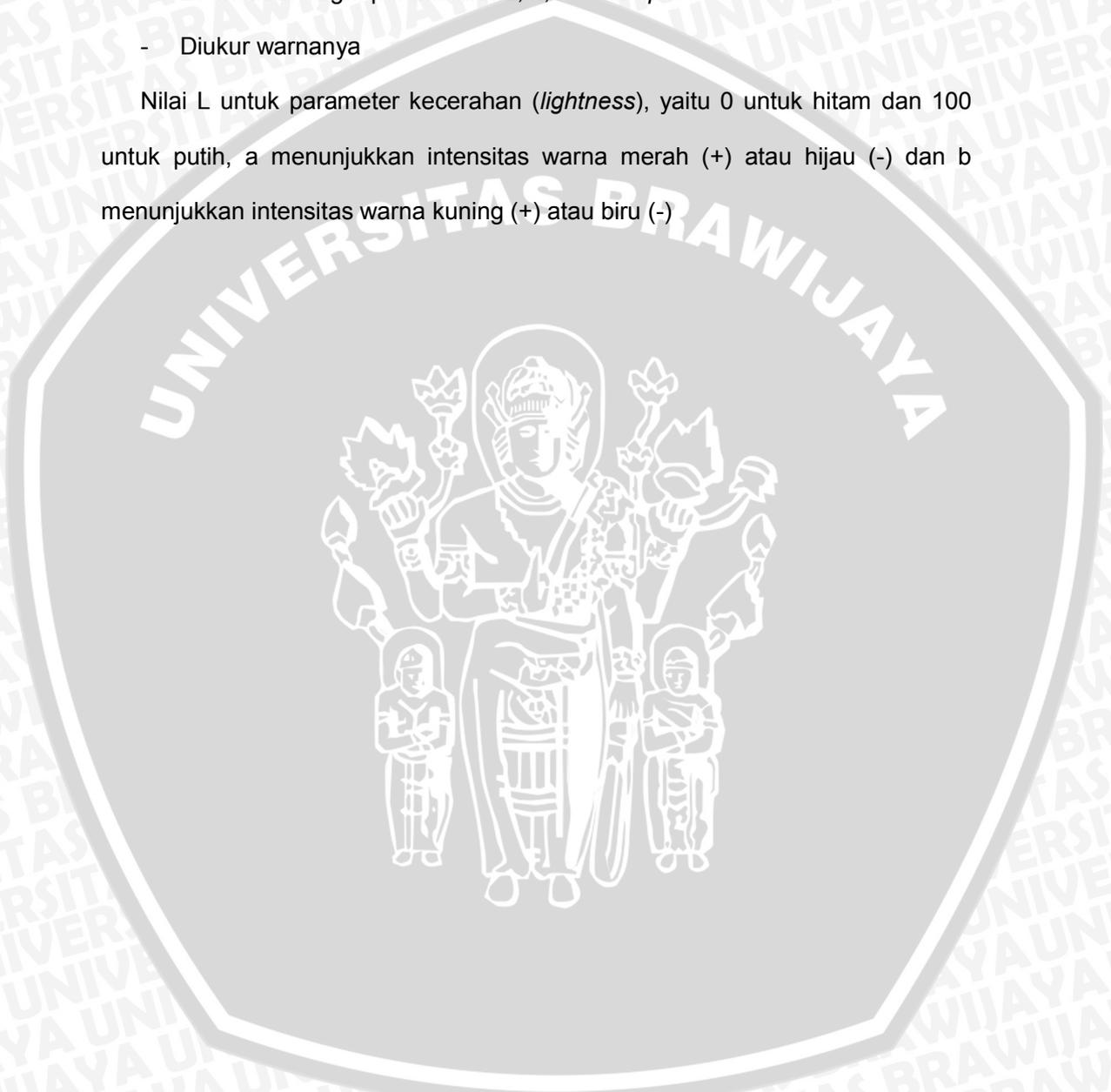


Lampiran 11. Prosedur Analisis Intensitas Warna

Prosedur analisis intensitas warna sebagai berikut :

- Disiapkan sampel, jika sampel cair taruh dalam gelas
- Dihidupkan *color reader*
- Ditentukan target pembacaan L, a, b *color space*
- Diukur warnanya

Nilai L untuk parameter kecerahan (*lightness*), yaitu 0 untuk hitam dan 100 untuk putih, a menunjukkan intensitas warna merah (+) atau hijau (-) dan b menunjukkan intensitas warna kuning (+) atau biru (-)



Lampiran 12. Prosedur Uji pH

Prosedur penentuan pH yang dilakukan pada pH meter yang telah dikalibrasi, sebagai berikut :

- Diukur suhu sampel, set pengatur suhu pH meter pada suhu terukur
- Dinyalakan pH meter, dibiarkan sampai stabil (15-30 menit)
- Bilas elektroda dengan aliquot sampel atau aquades (jika menggunakan aquades, keringkan elektroda dengan kertas tissue)
- Dichelupkan elektroda pada larutan sampel, set pengukuran pH
- Dibiarkan elektroda tercelup beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil
- Dicatat pH sampel



Lampiran 13. Prosedur Uji TPC (*Total Plate Count*)

Pembuatan Media NA (*Nutrient Agar*)

- Ditimbang media NA (*Nutrient Agar*) sebanyak 8 gram
- Ditimbang agar sebanyak 3 gram
- Ditambahkan asam nitrat 10%
- Dimasukkan aquades 20 ml kedalam erlenmeyer kemudian ditambahkan media NA dan agar sedikit demi sedikit sembari dihomogenkan dengan spatula
- Ditutup bagian mulut Erlenmeyer menggunakan kapas dan dilapisi Koran kemudian diikat dengan tali.
- Direbus dengan selama 20 menit
- Diangkat lalu disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

Pembuatan Larutan Nafis Steril

- Ditimbang NaCl sebanyak 2,7 gram
- Ditambahkan aquades 60 ml dalam *beaker glass* dan dihomogenkan
- Disiapkan 25 buah tabung reaksi
- Dimasukkan aquades kedalam tabung reaksi masing-masing 9 ml
- Ditutup tabung reaksi dengan kapas dan dilapisi Koran kemudian diikat dengan tali
- Disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1 atm

Pengenceran

- Ditimbang sampel 1 gram
- Dimasukkan sampel kedalam tabung reaksi yang telah terisi Nafis steril
- Diberi label pada tabung reaksi sebagai pengenceran 10^{-1}
- Dihomogenkan menggunakan *vortexmixer*



- Diambil sebanyak 1 ml dari tabung reaksi 10^{-1} menggunakan pipet serologis steril dan dilakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-5}
- Dilakukan penanaman dari pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} secara duplo pada cawan petri steril dengan metode tuang
- Dimasukkan media NA kedalam cawan petri sebanyak ± 10 ml
- Digoyangkan sampai permukaan agar merata dan didiamkan beberapa saat hingga permukaan agar mengeras
- Dimasukkan cawan petri dalam inkubator dengan posisi terbalik
- Diinkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam
- Dilakukan pengamatan dan dihitung bakteri menggunakan *colony counter*



Lampiran 14. Prosedur Uji *E.coli*

Pembuatan Media VRBA (*Volatile Bile Red Agar*)

- Ditimbang media VRBA sebanyak 11,7 gram
- Ditimbang Agar sebanyak 3 gram
- Dimasukkan aquades 400 ml kedalam erlenmeyer kemudian ditambahkan media VRBA dan agar sedikit demi sedikit sembari dihomogenkan dengan spatula
- Ditutup bagian mulut Erlenmeyer menggunakan kapas dan dilapisi Koran kemudian diikat dengan tali.
- Direbus dengan selama 20 menit
- Diangkat

Pembuatan Larutan Nafis Steril

- Ditimbang NaCl sebanyak 2,7 gram
- Ditambahkan aquades 60 ml dalam *beaker glass* dan dihomogenkan
- Disiapkan 25 buah tabung reaksi
- Dimasukkan aquades kedalam tabung reaksi masing-masing 9 ml
- Ditutup tabung reaksi dengan kapas dan dilapisi Koran kemudian diikat dengan tali
- Disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 1 atm

Pengenceran

- Ditimbang sampel 1 gram
- Dimasukkan sampel kedalam tabung reaksi yang telah terisi Nafis steril
- Diberi label pada tabung reaksi sebagai pengenceran 10^{-1}
- Dihomogenkan menggunakan *vortexmixer*
- Diambil sebanyak 1 ml dari tabung reaksi 10^{-1} menggunakan pipet serologis steril dan dilakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-5}



- Dilakukan penanaman dari pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} secara duplo pada cawan petri steril dengan metode tuang
- Dimasukkan media VRBA kedalam cawan petri sebanyak ± 10 ml
- Digoyangkan sampai permukaan agar merata dan didiamkan beberapa saat hingga permukaan agar mengeras
- Dimasukkan cawan petri dalam inkubator dengan posisi terbalik
- Diinkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam
- Dilakukan pengamatan dan dihitung bakteri menggunakan *colony counter*

