

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam proses ekstraksi agar-agar antara lain gelas ukur 100 mL, *beaker glass* 500 mL dan 1000 mL, spatula, cawan petri, nampan, sendok bahan, baskom, *waterbath*, oven, timbangan digital, blender, loyang, *stopwatch*, termometer, *freezer*, gunting, jirigen, saringan, pisau, dan gunting. Alat yang digunakan dalam uji *gelling* dan *melting point* antara lain gotri, timbangan digital, termometer, *waterbath*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur 100 mL, dan *beaker glass* 500 mL. Alat yang digunakan dalam uji kadar sulfat antara lain spatula, corong, timbangan digital, bola hisap, *beaker glass* 500 mL, pipet volume, kurs porselen, *chrushable tang*, erlenmeyer 250 mL, *muffle*, timbangan analitik, dan desikator.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam ekstraksi agar-agar adalah *G. verrucosa* yang diambil dari tambak di dusun Tanjungsari kecamatan Jabon kabupaten Sidoarjo, NaOH, akuades, CaO 0,5%, kertas saring, kertas label, air, pH *paper*, plastik, dan kain blacu. Bahan yang digunakan dalam uji *gelling* dan *melting point* antara lain *aquades*, kertas label, karet, dan sampel hasil (agar-agar). Bahan yang digunakan dalam uji kadar sulfat antara lain air, karet, *aluminium foil*, *silica gel*, BaCl₂ 0,25 M, HCHO 40%, HCl, HNO₃, dan sampel hasil (agar-agar).

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Metode eksperimen dilakukan untuk mengetahui sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel lain. Metode ini dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam variabel terikat. Tujuan umum penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki adanya hubungan sebab akibat serta seberapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan-perlakuan tertentu pada kelompok percobaan. (Tohopi *et al.*, 2013)

Adapun variabel-variabel dalam penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas : Waktu ekstraksi yang berbeda yaitu 3 ;3,5 ; dan 4jam.
2. Variabel terikat : Parameter yang diamati yaitu rendemen, *gelling* dan *melting point*, kadar sulfat, kekuatan gel, spektra infra merah, dan viskositas.

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan. Kombinasi perlakuan dan ulangan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Rancangan Percobaan Waktu Ekstraksi Terhadap Fisikokimia Agar

Perlakuan	Ulangan		
	I	II	III
B1	(B1)1	(B1)2	(B1)3
B2	(B2)1	(B2)2	(B2)3
B3	(B3)1	(B3)2	(B3)3

Keterangan :

- B1 : ekstraksi selama waktu 3 jam
 B2 : Perlakuan ekstraksi dengan waktu 3,5 jam
 B3 : Perlakuan ekstraksi dengan waktu 4 jam

Model matematis Rancangan Acak Lengkap menurut Tanujaya (2013) adalah

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_j$$

Dimana :

- Y_{ij} : hasil pengamatan (parameter kualitas agar-agar *G. verrucosa*)
 μ : nilai rata-rata umum
 T_i : pengaruh waktu ekstraksi pada taraf ke-I terhadap parameter
 ϵ_j : pengaruh galat percobaan pada taraf ke-I dan ulangan pada taraf ke-j
 i : perbedaan waktu ekstraksi
 j : ulangan (1, 2, 3)

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini, kemudian dilakukan pengujian normalitas menggunakan metode eksperimen, lalu dilanjutkan dengan ANOVA menggunakan SPSS. Jika analisis keragaman menunjukkan adanya perbedaan pada taraf 5% maka dilanjutkan dengan uji BNT 5% menggunakan Ms. Office Excel 2013.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Sampel

G. verrucosa yang didapat dari desa Kupang kecamatan Jabon Sidoarjo, direndam dengan larutan CaO 0,5% selama 2 jam lalu dicuci dengan air keran untuk menghilangkan kotoran. Setelah sampel bebas dari kotoran kemudian sampel rumput laut bersih yang dikeringkan di dalam oven selama 8 jam pada suhu 60°C dan disimpan dalam kantong plastik tertutup yang kemudian akan digunakan untuk ekstraksi agar.

3.4.2 Proses Ekstraksi Agar (Kumar dan Fotedar, 2009 termodifikasi)

1. Waktu Perendaman

Rumput laut kering yang sudah bersih, disiapkan menjadi 3 sampel masing-masing berat 20 g. Kemudian direndam selama 1 jam pada suhu 25°C. Perendaman dilakukan agar rumput laut mengembang, sehingga mudah dilakukan proses ekstraksi.

2. Persiapan dan Penambahan Alkali

Selanjutnya dilarutkan 3% NaOH dan akuades dari berat kering rumput laut.. Sampel kering seberat 20 g direndam pada larutan alkali dengan konsentrasi 3% selama 3 jam pada suhu kamar dalam 400 mL *beaker glass*. Selanjutnya *beaker glass* dimasukkan dalam waterbath pada suhu 80°C. Masing-masing setelah penambahan alkali, sampel dicuci dengan air keran selama 1 jam untuk menghilangkan kelebihan alkali. Ekstraksi dilakukan dengan merebus sampel selama 2,5 jam dalam 400 mL akuades pada pH 7,0-7,5. Ekstrak disaring menggunakan kain saring/ kain putih dan dimasukkan dalam wadah plastik (500mL). Filtrat dibiarkan membentuk gel pada suhu kamar selama semalam dan dicairkan. Tahap akhir agar dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam, kemudian didinginkan dan ditimbang untuk menghitung persen rendemen agar-agar. Selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Pada penelitian utama bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu ekstraksi terhadap kualitas agar-agar *G. verrucosa*. Adapun perlakuannya meliputi waktu ekstraksi selama 3 jam ; 3,5 jam ; 4 jam dengan tiga kali ulangan. Perlakuan penelitian utama dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Perlakuan Penelitian Utama

Perlakuan (jam)	Ulangan I	Ulangan Ulangan II	Ulangan III
3			
3,5			
4			

3.5 Analisis

3.5.1 Rendemen (FAO, 1990)

Rendemen merupakan salah satu parameter penting dalam menilai efektif tidaknya proses pembuatan tepung agar-agar. Efektif dan efisiennya proses ekstraksi bahan baku untuk pembuatan tepung agar-agar dapat dilihat dari nilai rendemen yang dihasilkan. Perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui presentase tepung agar-agar yang dihasilkan dari rumput laut kering yang digunakan berdasarkan perlakuan pencucian terhadap bahan baku.

Rendemen merupakan perbandingan antara berat agar kering dengan berat rumput laut kering.

$$\text{Rendemen} = \frac{W_a}{W_r} \times 100\%$$

Keterangan : W_a = berat agar kering

W_r = berat rumput laut kering

3.5.2 Kadar Sulfat (AOAC, 1995)

Sampel agar kering 0,5 g dipindahkan ke beaker glass dengan ditambah 10 mL HNO_3 pekat. Beaker glass kemudian dipanaskan pada waterbath dengan suhu $\pm 123^\circ\text{C}$ selama 30 menit dengan volume akhir 2-3 mL. Kemudian didinginkan pada suhu ruang, setelah itu diberikan 2-3 tetes larutan formaldehid 40% untuk mengurangi kelebihan HNO_3 . Campuran disaring ke dalam erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan 0.5 mL HCl pekat diikuti dengan penambahan akuades sampai volume 200 mL. Larutan tersebut dipanaskan sampai mendidih dan 10 mL 0,25 M BaCl_2 ditambahkan tetes demi tetes dengan pengadukan konstan selama 5 menit dan ditiriskan selama 5 jam pada suhu ruang. Endapan BaSO_4 disaring dengan kertas saring Whatman No.5 dan endapan dimasukkan ke dalam cawan porselen dan diabukan pada muffle dengan suhu 700°C selama 1 jam. Setelah itu cawan porselen dipindahkan ke

desikator untuk pendinginan dan ditimbang untuk menentukan berat BaSO₄.

Persentase sulfat dihitung dari persamaan berikut :

$$\% \text{Kadar Sulfat} = \frac{41,16 \times \text{berat BaSO}_4}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

3.5.3 Viskositas (AOAC, 1995)

Larutan agar-agar tepung dengan konsentrasi 1,5% - 1,6% dipanaskan dalam bak air mendidih sambil diaduk secara teratur sampai suhu mencapai 76 – 77°C. Viskometer diukur dengan Spindel Viskometer Brookfield yang berputar pada kecepatan 60 rpm dengan jarum spindle No. 2. Spindel terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 75°C kemudian dipasang ke alat ukur viscometer brookfield. Posisi spindle dalam larutan panas diatur sampai tepat, viscometer diputar dan suhu larutan diukur. Ketika suhu larutan mencapai 75°C thermometer dikeluarkan dan nilai viskositas diketahui dengan pembacaan viscometer pada skala nilai 1 sampai 100. Pembacaan dilakukan setelah satu menit putaran penuh. Hasil bacaan digandakan 5 kali untuk spindle No. 2 bila dijadikan centi poise.

Pengamatan tingkat kekentalan agar-agar dilakukan dengan menggunakan uji viskositas dengan prinsip semakin tinggi viskositas maka semakin besar tahanan cairan yang bersangkutan dengan menggunakan alat ukur viskositas yaitu *Viscometer Brookfield*. Prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- Memanaskan dalam bak air mendidih larutan agar-agar konsentrasi 1,5 % sambil diaduk secara teratur sampai suhu 75°C
- Suhu larutan yang mencapai 75°C nilai viskositas diketahui dengan pembacaan viscometer skala 1 sampai 100

- Pembacaan viscometer dilakukan setelah satu menit putaran penuh 2 kali untuk spindle no 1 dan tombol penekan jarum ditekan, kemudian dibaca angka yang ditunjukkan oleh jarum tersebut (A), angka konversi dari viskositas adalah poise (1 poise = 100 cP)
-
- Nilai viskositas dihitung dengan menggunakan rumus :
Viskositas (cP) = A x angka konversi

3.5.4 Pengukuran kekuatan gel (Yasin, 2005)

Pengukuran kekuatan gel dilakukan di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang untuk mengetahui besarnya kekuatan gel dari SRC yang dihasilkan. Pengukuran kekuatan gel dilakukan dengan menggunakan alat texture analyzer jenis TA-XT2i *Texture Analyzer* (Texture Technologist Corp., Scarsdale NY/Stable Microsystem, Godalman, Surrey, UK). Nilai kekuatan gel diukur menggunakan probe dengan diameter ¼ inchi yang terbuat dari bahan baja stainless dan kecepatan pengukuran sebesar 10 mm/detik. Nilai kekuatan gel yang dihasilkan dinyatakan dalam satuan Newton (N).

3.5.5 *Gelling Point* dan *Melting Point* (Suryaningrum dan Utomo, 2002)

Pengamatan tingkat gelinitas dilakukan dengan uji *gelling point* dan *melting point*. Prinsip pengujian *gelling point* adalah mengukur titik jendal dari sampel dengan menggunakan thermometer. Prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- Membuat larutan agar-agar konsentrasi 6,67 % (melarutkan agar-agar sebanyak 1 g dalam akuades sebanyak 15 mL)

- Menurunkan suhu sampel secara perlahan-lahan dengan cara menempatkan wadah yang telah diberi pecahan es.
- Mengukur titik jendal pada saat larutan agar-agar membentuk gel dengan menggunakan thermometer.

Prinsip pengujian melting point adalah mengukur titik leleh dari sampel dengan cara memanaskan gel sampel dalam pemanas air. Prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- Membuat larutan agar-agar konsentrasi 6,67 % (melarutkan agar-agar sebanyak 1 g dalam akuades sebanyak 15 mL)
- Menginkubasi sampel pada suhu 10^oc selama 2 jam
- Memanaskan sampel yang telah diinkubasi dalam pemanas air untuk mengetahui titik leleh yang sebelumnya di atas gel agar-agar diletakkan gotri dan ketika gotri jatuh ke dasar maka suhu tersebut dinyatakan sebagai titik leleh agar-agar.

3.5.6 Uji *Fourier Transsform Infrared Spectrometer* (FT-IR)

Pengujian spektrofotometer FT-IR dilakukan di Laboratorium Sentral FMIPA Universitas Negeri Malang (UM) untuk mengetahui gugus fungsional dari SRC yang dihasilkan dari ekstraksi *E. Cottoni* dan *E. Spinosum*. Spektrum *infrared* dihasilkan dari pentransmision cahaya yang melewati sampel kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}). Analisis gugs fungsi sampel dilakukan dengan membandingkan pita ansorbansi yang terbentuk pada spektrum *infrared* menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding yang sudah diketahui. (Ewing, 1985)