

3. METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua bagian yaitu bahan untuk pembuatan nori dan analisis sampel. Bahan pembuatan nori terdiri dari *Spirogyra*, *E. cottonii*, dan minyak wijen. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan untuk analisis sampel antara lain kertas saring, kertas label dan pelarut lemak (petroleum eter), tablet Kjeldahl, indikator pp, NaOH pekat, H_3BO_3 , H_2SO_4 dengan kualitas Pro Analyse.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua bagian yaitu untuk pembuatan nori, alat untuk analisis sampel. Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan nori adalah baskom, gelas ukur, pengaduk, *blender*, *hot plate*, cetakan berukuran 25x20 cm, oven dan timbangan digital. Alat-alat yang digunakan untuk pengujian karakteristik fisik yaitu *microcal meshmer*, *chromameter minolta CR 300* dan wadah perendaman sampel. Sedangkan alat-alat yang digunakan untuk analisis kimia yaitu timbangan, cawan alumunium, penjepit, desikator, oven, cawan porselen, bunsen, tanur, pH meter, gelas ukur, spatula dan *hotplate* dan *glassware*

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Hadi (1985), penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan untuk mengetahui akibat yang ditimbulkan dari suatu perlakuan yang diberikan secara sengaja oleh peneliti. Sejalan dengan hal tersebut, Latipun (2002) mengemukakan bahwa penelitian eksperimen merupakan penelitian yang

dilakukan dengan melakukan manipulasi yang bertujuan untuk mengetahui akibat manipulasi terhadap perilaku individu yang diamati. Penelitian eksperimen pada prinsipnya dapat didefinisikan sebagai metode sistematis guna membangun hubungan yang mengandung fenomena sebab akibat (*causal-effect relationship*) (Sukardi, 2011).

3.2.2 Variabel Penelitian

Variabel adalah gambaran di suatu benda yang menjadi obyek penelitian yang mempunyai bermacam-macam nilai. Variabel terdiri dari variabel bebas yaitu variabel yang diselidiki pengaruhnya dan variabel tergantung yaitu variabel yang diramalkan akan muncul sebagai pengaruh variabel bebas (Nasir, 1988).

Adapun variabel-variabel dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas meliputi proporsi yang berbeda antara *Spirogyra* dan *E. Cottonii*
2. Variabel tergantung meliputi ketebalan, kekuatan tarik, daya serap air intensitas warna, kadar air, kadar lemak, kadar abu, ,kadar protein, total serat pangan, kadar karbohidrat, rendemen, TPC, dan organoleptik

3.3 Tahapan Penelitian

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan diawali dengan melakukan uji TPC (*Total Plate Count*) untuk mengetahui total bakteri yang ada pada *Spirogyra* karena belum ada penelitian tentang total bakteri pada *Spirogyra*. Total bakteri yang diperoleh sebesar $4,9 \times 10^5$ CFU/g. Sedangkan untuk *E. cottonii* memiliki total bakteri sebesar $4,1 \times 10^3$ CFU/g (Diachanty *et al.* 2017). Menurut Solberg, *et al.* (1977), kandungan mikroorganisme maksimum yang ada pada bahan pangan yang siap dikonsumsi tidak lebih dari 10^5 CFU/g produk. Hasil yang diperoleh menandakan total mikroba *Spirogyra* telah melawati batas maksimum. Hal ini dipengaruhi karena kandungan air yang cukup banyak dari *Spirogyra* mencapai 76,18%.

Menurut Yusuf (2004) mikroorganismenya sama seperti halnya semua organisme, yaitu memerlukan air untuk mempertahankan hidupnya. Bakteri tumbuh pada lingkungan yang memiliki kadar air lebih banyak. *Spirogyra* masih bisa digunakan untuk bahan baku pembuatan nori karena pada pembuatan nori terdapat proses pemanasan dan pengeringan di dalam oven yang menyebabkan kadar air menurun sehingga memungkinkan total bakteri menjadi berkurang sehingga aman untuk dikonsumsi.

3.3.2 Penelitian Utama

Penelitian utama pada penelitian ini yaitu pembuatan nori dengan menggunakan bahan baku *Spirogyra* dan *E. cottonii* dengan proporsi yang berbeda. Untuk kontrol pada penelitian ini menggunakan nori komersial dengan merk Kimono *Yaki Sushi Nori*. Proporsi bahan pembuatan nori dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Proporsi Pembuatan Nori dengan Perbandingan *Spirogyra* dan *E. cottonii* (Modifikasi Ihsan, 2016)

Perlakuan	Komponen Bahan			
	<i>Spirogyra</i> (gr)	<i>E. cottonii</i> (gr)	Air (ml)	Minyak Wijen (ml)
A	100	0	40	1
B	80	20	40	1
C	60	40	40	1
D	40	60	40	1
E	20	80	40	1
F	0	100	40	1

Adapun nori komersial sebagai kontrol dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Nori Komersial Merk Kimono Yaki Sushi Nori

3.4 Rancangan Percobaan

Analisa data pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 6 perlakuan dan 4 kali ulangan. Metode pengujian data yang digunakan adalah analisis keragaman (ANOVA) dimana jika terdapat pengaruh yang nyata atau sangat nyata maka akan dilanjutkan uji lanjut Duncan. Untuk uji organoleptik analisis data menggunakan metode *Kruskal Wallis* dan di uji lanjut dengan *Mann Whitney Test* dengan aplikasi *software SPSS 16*.

Pengulangan sebanyak 4 kali diperoleh dari rumus berikut:

$n =$ perlakuan; $r =$ ulangan

$$n(r - 1) \geq 15$$

$$6(r - 1) \geq 15$$

$$6r - 6 \geq 15$$

$$6r \geq 21$$

$$r = 3,5$$

$$r \approx 4$$

Jadi, pada penelitian ini menggunakan r (ulangan) sebanyak 4 kali. Untuk lebih jelas maka kombinasi perlakuan dan ulangan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rancangan Percobaan Pembuatan Nori

Perlakuan	Ulangan			
	1	2	3	4
A	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄
B	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄
C	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
D	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄
E	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄
F	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄

Keterangan:

- A = 100% makroalga jenis *Spirogyra* : 0% rumput laut jenis *E. Cottonii*
 B = 80% makroalga jenis *Spirogyra* : 20% rumput laut jenis *E. Cottonii*
 C = 60% makroalga jenis *Spirogyra* : 40% rumput laut jenis *E. Cottonii*
 D = 40% makroalga jenis *Spirogyra* : 60% rumput laut jenis *E. Cottonii*
 E = 20% makroalga jenis *Spirogyra* : 80% rumput laut jenis *E. Cottonii*
 F = 0% makroalga jenis *Spirogyra* : 100% rumput laut jenis *E. Cottonii*

Model persamaan dari perlakuan di atas adalah:

$$Y_{ij} = \mu + P_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

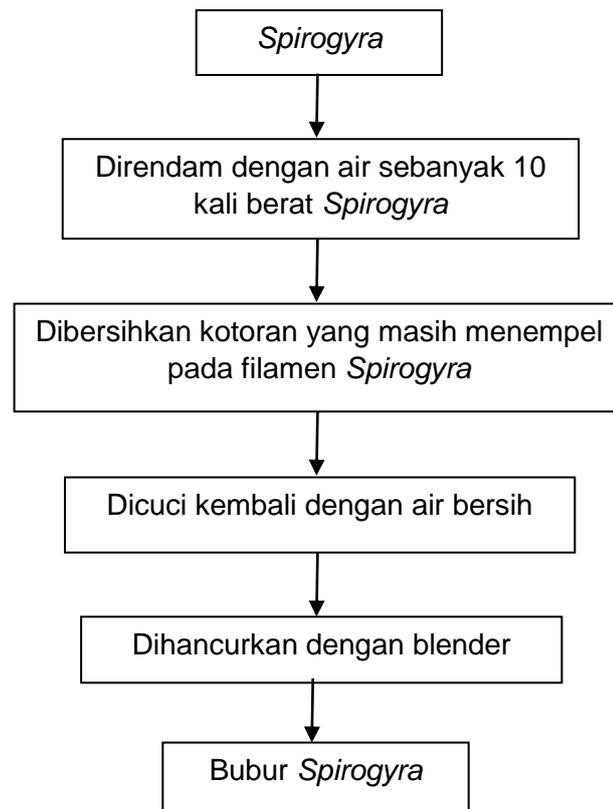
- Y_i = Hasil Pengamatan dari unit percobaan yang mendapat perlakuan perbandingan ke-i yang terletak pada ulangan ke-j
 μ = Nilai rata-rata umum
 P_i = Pengaruh penambahan *E. cottonii* terhadap pembuatan nori pada taraf ke-i
 ε_{ij} = Galat sisa pada satuan percobaan yang mendapat perlakuan ke-i yang terletak pada ulangan ke-j
 i = Jumlah penambahan *Spirogyra sp* dan *Euclima cottonii* terhadap nori (i = A, B, C, D, E, F)
 j = Banyak ulangan (j = 1, 2, 3, 4)

1.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Bubur *Spirogyra* (Modifikasi Hendra dan Cinthya, 2014)

Spirogyra direndam dengan menggunakan air bersih sebanyak 10 kali dari berat *Spirogyra* hal ini bertujuan agar kotoran-kotoran dari makro alga ini

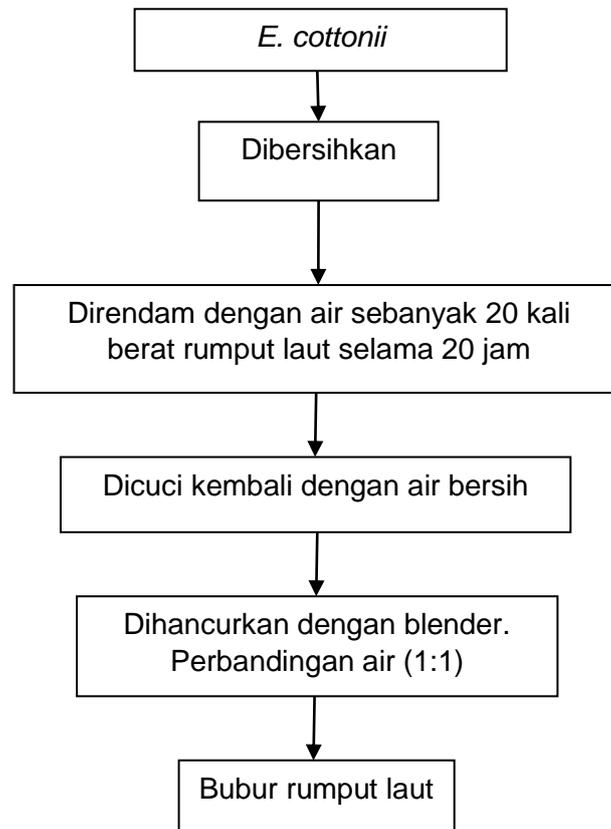
dapat mengapung di atas permukaan air dan dibuang. Kemudian *Spirogyra* dibersihkan dengan cara membuang kotoran yang masih menempel pada filamen-filamennya dan dibersihkan kembali dengan menggunakan air bersih. Proses selanjutnya yaitu penghancuran menggunakan *blender* untuk mendapatkan *Spirogyra* berbentuk bubuk. Pembuatan bubuk dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Diagram Alir Prosedur Pembuatan Bubur *Spirogyra*

3.5.2 Pembuatan Bubur *E. cottonii* (Ihsan, 2016)

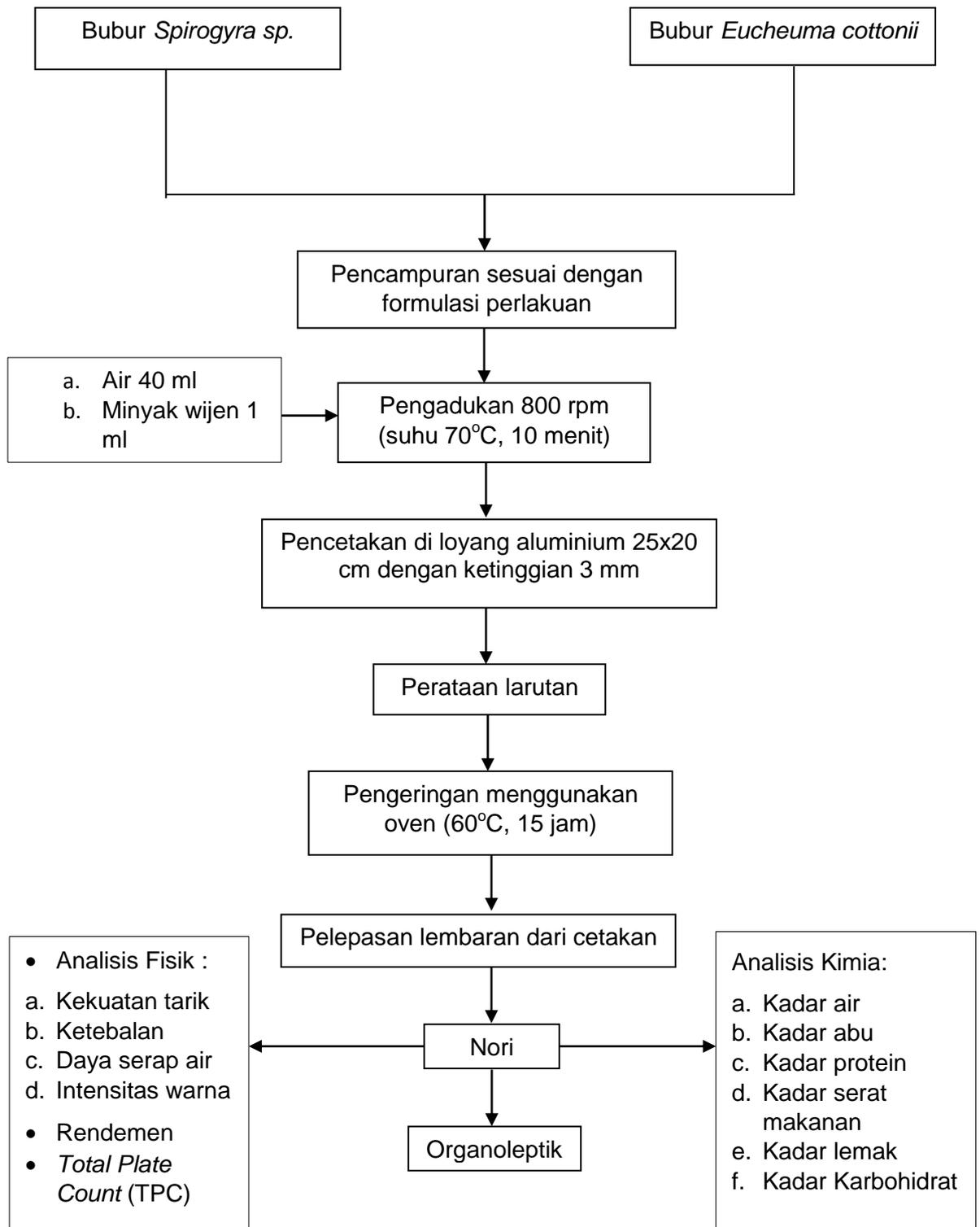
Rumput laut dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel. Setelah itu direndam dalam air bersih yang bertujuan untuk melunakkan jaringan rumput laut agar memudahkan pada saat proses penghancuran. Air yang digunakan yaitu sebanyak 20 kali berat rumput laut, perendaman ini dilakukan selama 20 jam. Setelah itu, rumput laut dicuci kembali dengan air. Proses selanjutnya yaitu penghancuran rumput laut menggunakan blender dengan perbandingan air (1:1) sampai terbentuk bubur rumput laut. Pembuatan bubur dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Diagram Alir Prosedur Pembuatan Bubur *E. cottonii*

3.5.3 Pembuatan Nori (Modifikasi Ihsan, 2016)

Bubur *Spirogyra sp.* dan bubur rumput laut dicampurkan sesuai dengan formulasi perlakuan di atas. Penghomogenan dilakukan menggunakan *hotplate magnetic stirrer* dengan kecepatan maksimal (800 rpm) selama 10 menit pada suhu 70°C. Selama penghomogenan ditambahkan minyak wijen 1 ml, dan air 40 ml. Pencetakan dilakukan pada cetakan berukuran 25x20 cm (ketinggian larutan yang dituangkan 3 mm). Tahap selanjutnya pengeringan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 15 jam. Setelah 15 jam nori yang terbentuk kemudian dilepaskan dari cetakan. Proses pembuatan nori dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Diagram Alir Prosedur Pembuatan Nori

3.6 Metode Analisis Fisik Nori

3.6.1 Analisis ketebalan (ASTM, 1989)

Ketebalan nori diukur dengan menggunakan alat *microcal mesmher*. Alat ini memiliki ketelitian sampai 0,001 mm. Pengukuran dilakukan pada 5 bagian yang berbeda, kemudian hasilnya dirata-ratakan sehingga diperoleh nilai ketebalan nori rata-rata dalam satuan mm.

3.6.2 Analisis Kekuatan Tarik (ASTM, 1989)

Kekuatan tarik nori diukur dengan menggunakan alat *Tansile strength*. Contoh uji memiliki ukuran panjang minimal 22 cm dan lebar 1,5 cm untuk setiap penentuan diperlukan sebanyak 16 lembar contoh uji. Kekuatan tarik ditentukan berdasarkan beban maksimal pada saat nori sobek.

3.6.3 Analisis Daya Serap Air (Ban et al. 2005)

Prinsip kerja dari analisis daya serap air yaitu menimbang berat awal sampel terlebih dahulu kemudian sampel dimasukkan kedalam akuades selama beberapa detik kemudian diangkat dan ditimbang sampai beratnya konstan. Prosedur analisis daya serap air dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.6.4 Analisis Intensitas Warna (BSN-01-2345-1991)

Pengukuran intensitas warna dilakukan menggunakan metode (L, a dan b) dengan alat *chromameter minolta CR 300*. Alat ini menggunakan sistem warna L, a dan b. Dimana L menunjukkan kecerahan yang memiliki kisaran nilai 0 (gelap/hitam) hingga 100 (terang/putih), a dan b menunjukkan koordinat-koordinat *chroma*, dimana a menunjukkan warna merah (a positif) sampai hijau (a negatif), b untuk warna biru (b negatif) sampai kuning (b positif). Konversi nilai L, a dan b Menjadi (⁰hue) dapat dilakukan dengan rumus :

Nilai ⁰hue ini menyatakan warna $^{\circ}\text{hue} = \tan^{-1} \frac{b}{a}$ guhnya. Nilai ⁰hue dan daerah kisaran warna kromatisitasnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai ^ohue dan Daerah Kisaran Warna Kromatisitas

Nilai ^o hue	Daerah kisaran warna kromatisitas
342 – 18	Merah keunguan (RP)
18 – 54	Merah (R)
54 – 90	Orange (YR)
90 – 126	Kuning (Y)
126 – 162	Kuning kehijauan (YG)
162 – 198	Hijau (G)
198 – 234	Hijau kebiruan (BG)
234 – 270	Biru (B)
270 – 306	Biru keunguan (BP)
306 – 342	Ungu (P)

3.7 Metode Analisis Kimia Nori

Analisis yang dilakukan untuk mengetahui komposisi kimia yang dimiliki nori meliputi: kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu, kadar karbohidrat, dan total serat pangan.

3.7.1 Kadar Air Metode Thermogravimetri (AOAC, 2005)

Uji kadar air yang dilakukan berdasarkan metode *thermogravimetri* dengan prinsip kerja mengeringkan bahan dalam oven pada suhu 105 – 110°C selama 2 – 5 jam atau sampai didapat berat yang konstan. Selisih berat tersebut sebelum dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air yang diuapkan. Prosedur pengujian kadar air dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.7.2 Penetapan Kadar Lemak Metode Soxhlet (AOAC, 2005)

Prinsip kerja dari metode soxhlet adalah lemak diekstraksi dengan pelarut non polar. Metode soxhlet yaitu lemak yang terekstrasi dalam pelarut akan terakumulasi dalam labu soxhlet, kemudian dipisahkan dari pelarutnya dengan cara dipanaskan dengan oven 105°C. Pelarut akan menguap sedangkan lemak tidak karena titik didih lemak lebih tinggi dari 105°C, sehingga menguap dan tinggal dalam wadah. Lemak hasil ekstraksi kemudian ditimbang beratnya lalu dihitung sehingga diperoleh kadar lemak dalam sampel. Prosedur pengujian kadar air dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.7.3 Penetapan Kadar Abu (AOAC, 2005)

Prinsip kerja penentuan kadar abu adalah membakar bahan dalam tanur atau tungku (*furnace*) dengan suhu 600°C selama 6 – 8 jam sehingga seluruh unsur utama pembentuk senyawa organik (C, H, O, N) habis terbakar dan berubah menjadi gas dan sisanya adalah abu yang merupakan kumpulan dari mineral-mineral. Prosedur pengujian kadar abu dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.7.4 Penetapan Kadar Protein Metode Mikro Kjeldhal (AOAC, 2005)

Penetapan kadar protein dilakukan berdasarkan metode mikro Kjeldhal yang meliputi tiga tahap yaitu destruksi, destilasi dan titrasi. Pada tahap destruksi dilakukan pemanasan sampel dalam labu Kjeldhal dengan menambahkan larutan asam pekat. Selanjutnya pada tahap destilasi ditambahkan larutan NaOH 40% sehingga pada tahap ini dihasilkan destilat. Hasil destilat tersebut kemudian dititrasi. Hasil titrasi tersebut digunakan untuk menghitung % N dan selanjutnya dapat diketahui % P. Prosedur pengujian kadar protein dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.7.5 Penetapan Kadar Karbohidrat Metode *By Different* (Winarno, 20014)

Analisis yang dapat digunakan untuk mengetahui kandungan karbohidrat adalah dengan cara perhitungan kasar (*proximate analysis*) atau juga disebut *Carbohydrate by Difference*. *Proximate analysis* adalah suatu analisis dimana kandungan karbohidrat melalui perhitungan. Persentase banyaknya kandungan karbohidrat di dalam bahan didapat dari hasil pengurangan dari 100 % dengan kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan kadar air.

Perhitungan *Carbohydrate by Difference* adalah penentuan karbohidrat dalam bahan makanan secara kasar, dan hasilnya ini biasanya dicantumkan dalam daftar komposisi bahan makanan (Winarno, 2004).

Perhitungan *Carbohydrate by Difference* dapat dirumuskan sebagai berikut :

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

3.7.6 Penetapan Total Serat Pangan (Asp *et al.* 1992)

Analisa total serat pangan pada nori dilakukan dengan menggunakan metode enzimatik gravimetri. Prinsip dari metode *enzymatic-gravimetric* pada analisa total serat pangan yaitu hidrolisis pati dan protein dengan menggunakan enzim. Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis pati dan protein merupakan enzim fisiologis yang terdapat di saluran pencernaan pada tubuh manusia (Jelita, 2011).

3.8 Rendemen (AOAC, 2005)

Rendemen adalah presentase perbandingan produk akhir dengan bahan baku yang dinyatakan dalam desimal atau persen. Sehingga pada penelitian ini rendemen yang dihitung merupakan presentase perbandingan berat produk akhir (nori setelah dioven) terhadap berat bahan baku (adonan nori sebelum dioven). Nilai rendemen ini berguna untuk mengetahui nilai ekonomis suatu produk atau bahan. Apabila nilai rendemen suatu produk atau bahan semakin tinggi, maka nilai ekonomisnya juga semakin tinggi sehingga pemanfaatannya dapat menjadi lebih efektif.

3.9 Uji TPC (*Total Plate Count*) (Fardiaz, 1996)

Prinsip dari metode hitungan cawan atau *Total Plate Count* (TPC) adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar, sehingga mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Metode ini merupakan metode yang paling sensitif untuk menentukan jumlah mikroorganisme. Pada metode ini, teknik pengenceran merupakan hal yang harus dikuasai. Prosedur Uji TPC dapat dilihat pada Lampiran 7.

3.10 Organoleptik

Organoleptik merupakan suatu metode ilmiah yang digunakan untuk mengukur, menganalisis dan menginterpretasikan respon terhadap suatu produk berdasarkan kemampuan indera manusia seperti pengelihatannya, penciuman, perasa, peraba dan pendengaran (Handayani, 2016).

Penilaian organoleptik sangat banyak digunakan untuk menilai mutu dalam industri pangan. Dalam penilaian organoleptik ini sangat dibutuhkan beberapa panel yang bertugas untuk memberikan penilaian berdasarkan kesan subyektif (Susiwi, 2009).

Analisa organoleptik pada penelitian ini menggunakan metode *Multiple Comparison Test*, yaitu evaluasi sensori yang dilakukan dengan sampel tertentu sebagai kontrol dan beberapa sampel lain sebagai contoh untuk diuji. Parameter yang biasa diuji adalah dari segi rasa, aroma, warna, tekstur, tergantung dari kebutuhan dan tujuan penguji melakukan analisa sensori tersebut (Salehifar, 2007).