

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan terdiri dari dua macam jenis yaitu bahan yang digunakan untuk pembuatan tepung dan bahan yang digunakan untuk analisis kimia. Bahan baku untuk pembuatan tepung ini ialah buah mangrove jenis *Avicennia alba* yang memiliki buah berbentuk (seperti cabe/ mente), robek ke bawah, berbulu seperti beludru halus, tipe panjang lurus tegak, dengan panjang 2,5 - 4,0 cm, Buah berwarna hijau muda kekuningan (kuning kehijauan) yang diperoleh dari ekowisata mangrove kecamatan Nguling kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Bahan-bahan lain yang digunakan untuk pembuatan tepung ini ialah asam jawa, aquades, air, tissue dan plastik (untuk tempat sampel tepung yang sudah jadi).

Sedangkan bahan lainnya yang digunakan untuk analisis kimia antara lain yaitu aquades, indikator pp, formaldehid, kertas saring, dan NaOH 0,1 N.

3.1.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini terbagi menjadi dua, yaitu alat yang digunakan untuk pembuatan tepung dan alat yang digunakan untuk analisis parameter uji. Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan tepung antara lain blender, loyang, waterbath, timbangan analitik, penumbuk kayu, lumpang batu, baskom, oven, beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, ayakan, termometer, sendok dan spatula.

Sedangkan alat-alat yang digunakan untuk analisis parameter uji yaitu AAS (*Atomic Absorbption Spectrum*), oven, desikator, muffle, hot plate, botol timbang, kurs porselin, pendingin balik, loyang, cawan petri, pisau, sendok,

mikroburet, sentrifuse, stirer, statif, seperangkat goldfish, rangkaian alat analisis protein dan spatula.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini ialah metode eksperimen.

Tujuan dari penelitian eksperimen ialah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen (Nazir, 1988). Menurut Singarimbun dan Effendi (1983), penelitian eksperimen lebih mudah dilakukan dilaboratorium karena alat-alat yang khusus dan lengkap dapat tersedia, dimana pengaruh luar dapat dengan mudah dicegah selama eksperimen. Eksperimen dalam penelitian ini dibagi dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian inti.

3.2.2 Variabel

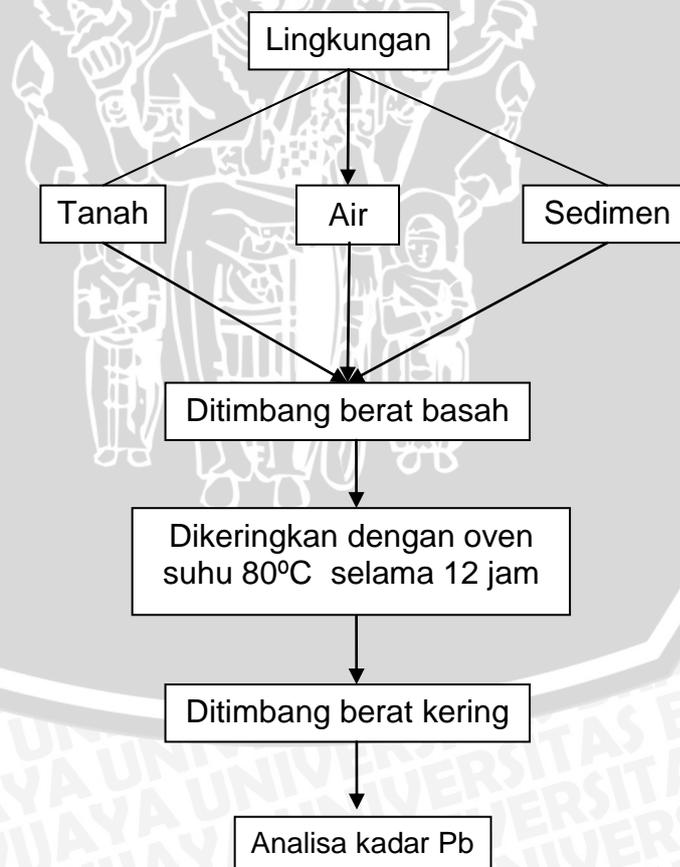
Variabel penelitian ialah sesuatu hal berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 1999). Menurut Koentjaraningrat (1983), variabel ialah faktor yang mengandung lebih dari satu nilai dalam metode statistik. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini dibedakan menjadi variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas ialah faktor yang menyebabkan suatu pengaruh karena perlakuan, sedangkan variabel terikat ialah faktor yang diakibatkan oleh pengaruh perlakuan tersebut.

Variabel bebas pada penelitian ini ialah lama perendaman asam jawa yang berbeda (30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit, 90 menit dan 105 menit). Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini ialah kadar Pb, kadar karbohidrat, kadar air, kadar protein, kadar lemak kadar abu, dan tanin.

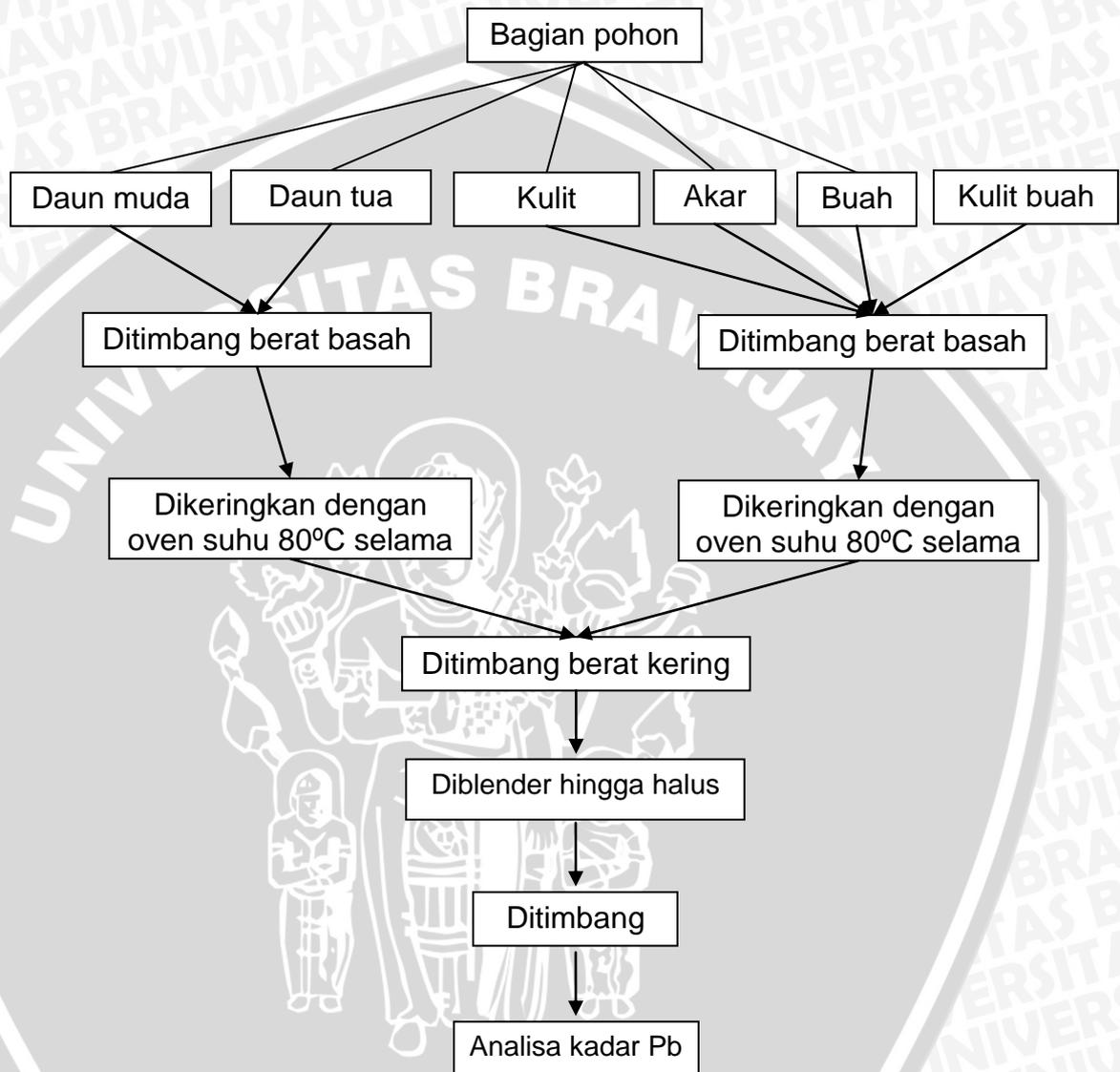
3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Penelitian Pendahuluan I

Penelitian pendahuluan I dilakukan melalui dua tahap. Pada penelitian pendahuluan pertama bertujuan untuk mengetahui kadar timbal pada mangrove *Avicennia alba* pada bagian buah (daging buah lapisan 1, daging buah lapisan 2, kulit dan putik), pada bagian daun (daun tua dan daun muda), akar, kulit pohon, batang pohon, air, tanah dan sedimen. dengan menggunakan metode uji AAS. Sampel tumbuhan mangrove *Avicennia alba* yang akan yang akan dijadikan sebagai tepung diambil dari Nguling Jawa timur. Skema penelitian pendahuluan pertama dapat dilihat pada Gambar 6 dan 7.



Gambar 6. Diagram Pembuatan Sampel Kering Analisa Kadar Pb Lingkungan

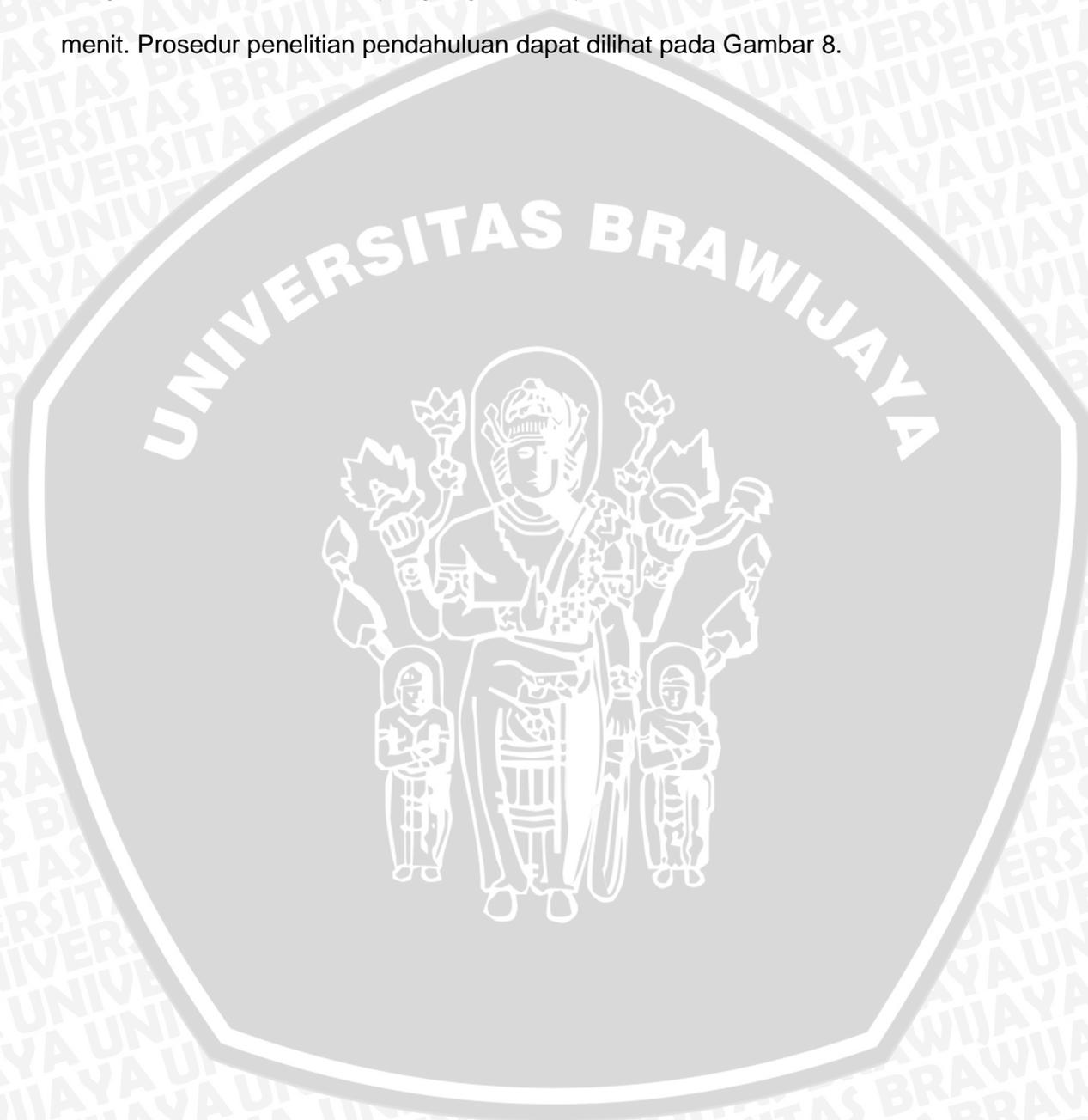


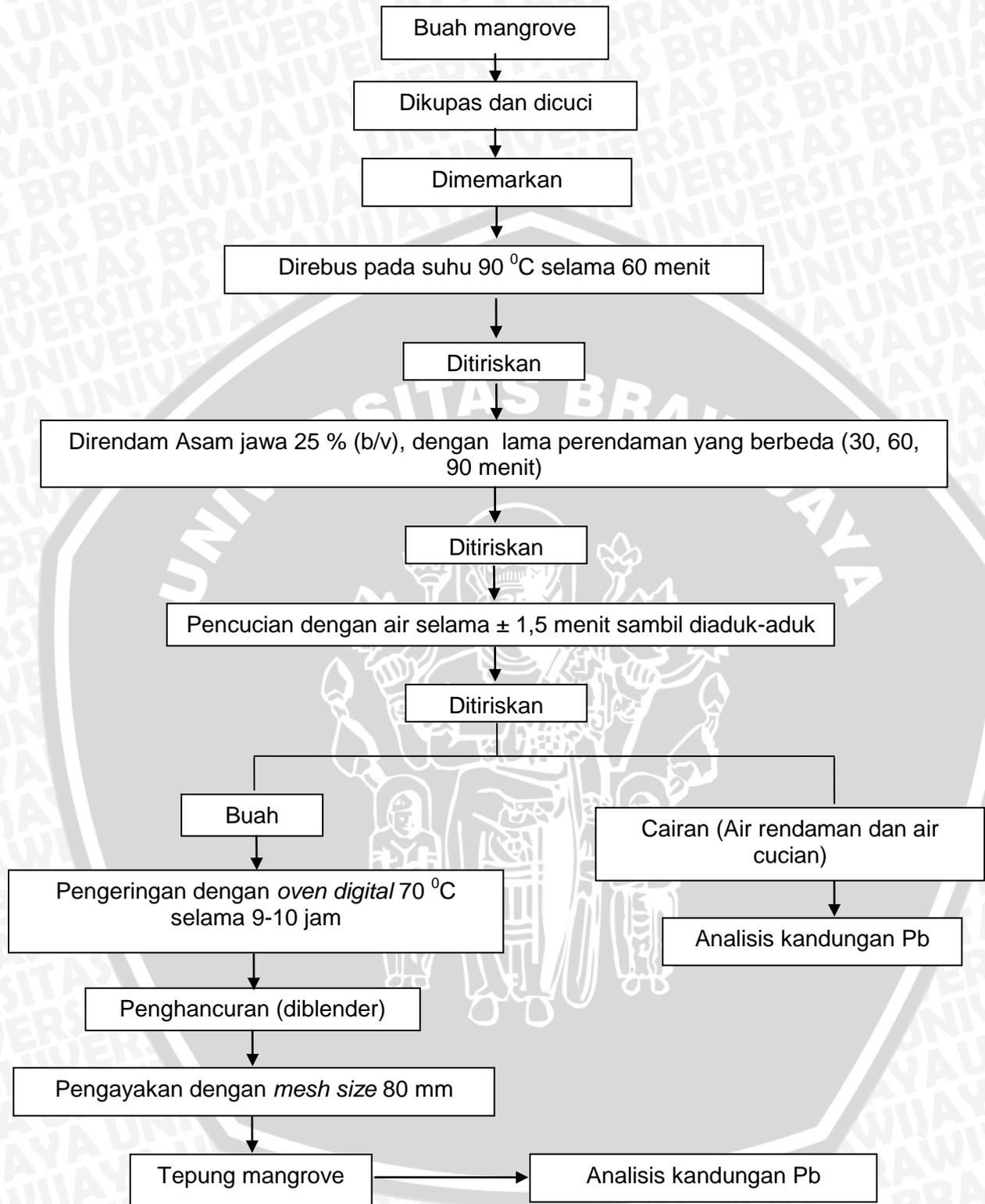
Gambar 7. Diagram Pembuatan Sampel Kering Analisa Kadar Pb Bagian Pohon

Selain itu, pada penelitian pendahuluan pertama juga dilakukan analisis proksimat pada buah mangrove (*Avicennia alba*) segar. Analisis buah mangrove segar meliputi analisis kimia yaitu kadar karbohidrat, kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu dan kadar tanin.

3.3.2 Penelitian Pendahuluan II

Untuk mengetahui lama perendaman larutan asam jawa pada buah *Avicennia alba* yang optimum untuk menghasilkan kadar Pb paling rendah, dengan lama perendaman yang digunakan yaitu 30 menit, 60 menit, dan 90 menit. Prosedur penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 8.





Gambar 8. Diagram Pengaruh Lama Perendaman Larutan Asam Jawa Pada Kandungan Logam berat Pb tepung Buah *Avicennia alba* penelitian pendahuluan

*Hasil modifikasi pembuatan tepung mangrove nugroho, 2009

3.3.3 Penelitian Utama

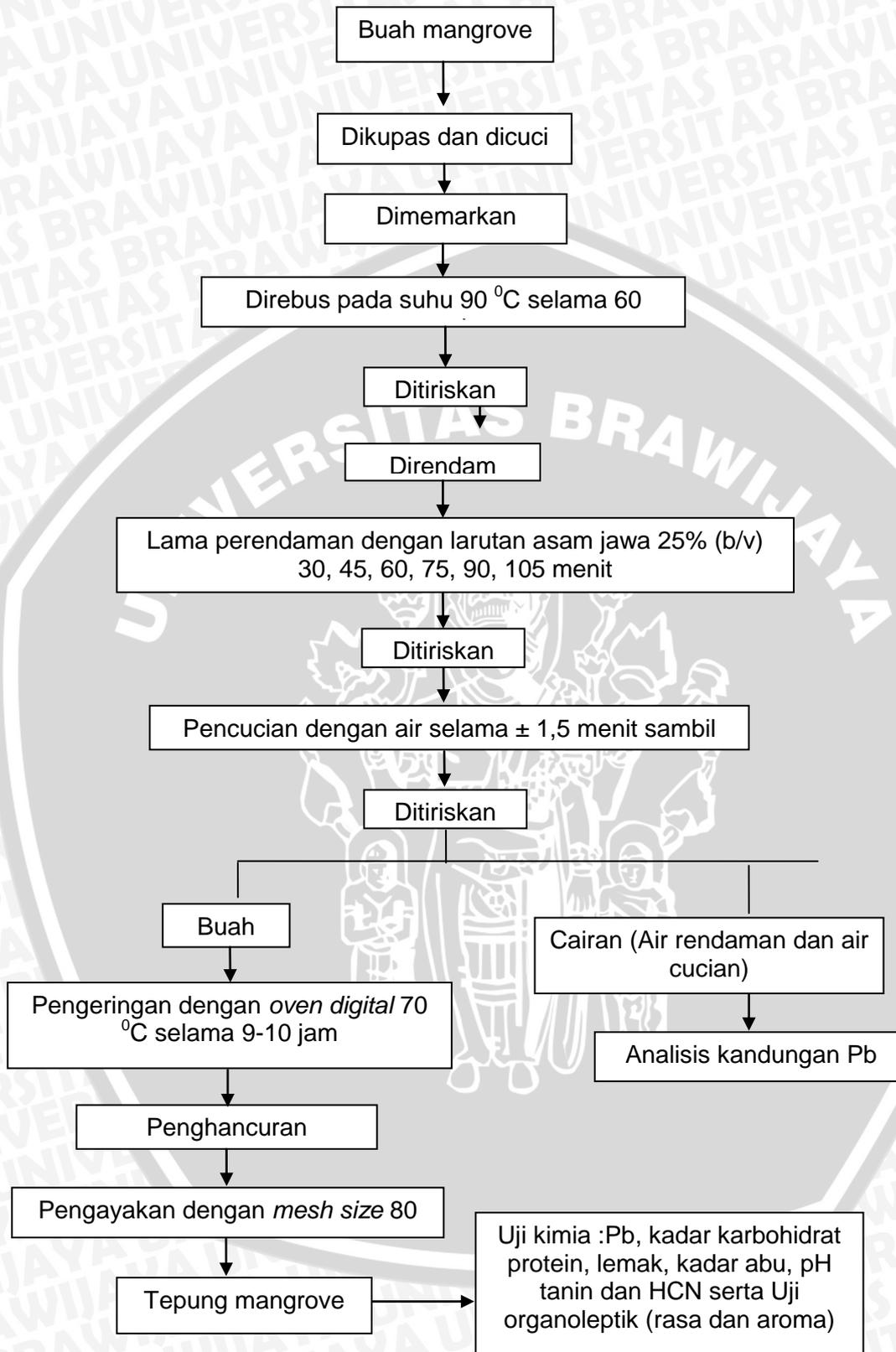
Hasil terbaik yang diperoleh pada penelitian pendahuluan, akan dikembangkan lagi pada penelitian Inti. Pada penelitian inti bertujuan untuk mencari lama perendaman dalam larutan Asam jawa optimum untuk mereduksi logam berat Pb pada tepung *Avicennia alba* (api-api) yang paling tinggi. Adapun lama lama perendaman dengan larutan Asam jawa yang digunakan adalah 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit, 90 menit dan 105 menit dengan empat kali ulangan dengan konsentrasi asam jawa 25 % dengan perbandingan buah mangrove dan larutan asam jawa 1/2 . Konsentrasi 25% berasal dari perlakuan terbaik pada penelitian konsentrasi asam jawa oleh Alifia Mega Bestari dan cara menentukannya 25% (b/v) 25 g asam jawa / 100 ml aquades. Perlakuan yang dilakukan pada penelitian utama dapat dilihat pada Tabel 6. Sedangkan prosedur penelitian utama dapat dilihat pada gambar 9.

Tabel 6. Perlakuan Penelitian Utama

Larutan	Lama (menit)	Ulangan			
		1	2	3	4
Asam Jawa (25%)	30 (A)				
	45 (B)				
	60 (C)				
	75 (D)				
	90 (E)				
	105 (F)				

Rancangan yang digunakan dalam penelitian utama ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana. Hasilnya dianalisa dengan menggunakan ANOVA dengan menggunakan SPSS.

Parameter uji yang dilakukan pada penelitian utama pembuatan tepung *Avicennia alba* adalah analisa kadar timbal, HCN, Tanin dan Proksimat . Kemudian dilakukan pemilihan perlakuan terbaik menurut Zeleny (1982).



Gambar 9. Prosedur pembuatan tepung mangrove *Avicennia alba* (api-api) pada penelitian utama

*Hasil modifikasi pembuatan tepung mangrove nugroho, 2009

3.4 Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian utama ialah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan lima perlakuan dan empat kali ulangan.

Model matematik Rancangan Acak Lengkap (RAL) ialah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \sum I_j$$

$$i = 1,2,3,\dots,i$$

$$j = 1,2,3,\dots,j$$

Keterangan :

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j

μ = nilai tengah umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i

$\sum I_j$ = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

t = perlakuan

r = ulangan

Tabel 7. Model Rancangan Percobaan yang digunakan sebagai berikut :

Larutan	Perlakuan	Ulangan				Total
		1	2	3	4	
Asam Jawa (25%)	A (30')	A1	A2	A3	A4	TA
	B (45')	B1	B2	B3	B4	TB
	C (60')	C1	C2	C3	C4	TC
	D (75')	D1	D2	D3	D4	TD
	E (90')	E1	E2	E3	E4	TE
	F (105')	F1	F2	F3	F4	TF
	Total					

Keterangan :

A : Perendaman dengan Asam Jawa selama 30 menit

B : Perendaman dengan Asam Jawa selama 45 menit

C : Perendaman dengan Asam Jawa selama 60 menit

D : Perendaman dengan Asam Jawa selama 75 menit

E : Perendaman dengan Asam Jawa selama 90 menit

F : Perendaman dengan Asam Jawa selama 105 menit

Langkah selanjutnya ialah membandingkan antara F hitung dengan F tabel :

- Jika F hitung < F tabel 5 %, maka perlakuan tidak berbeda nyata.
- Jika F hitung > F tabel 1 %, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat berbeda nyata.
- Jika F tabel 5 % < F hitung < F tabel 1 %, maka perlakuan menyebabkan hasil berbeda nyata.

Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata (F hitung > F tabel 5 %) maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan yang terbaik.

3.5 Proses Pembuatan Tepung Mangrove

Proses pembuatan tepung mangrove *Avicennia alba* dengan perendaman larutan asam jawa meliputi : persiapan bahan, perebusan, penirisan I, perendaman larutan asam jawa, penirisan II, pencucian, penirisan III, pengeringan, penghancuran dan pengayakan.

3.5.1 Persiapan Bahan

Buah mangrove *Avicennia alba* disortasi dan dibuang kulit luarnya. Sortasi dilakukan untuk memilih buah yang cukup umur (5 – 8 bulan) sebagai bahan baku tepung dan menghilangkan kotoran atau sampah dari bahan baku. Buah *Avicennia alba* yang akan digunakan sebagai tepung dipisahkan antara kulit buah, daging buah dan terutama putik dikarenakan dapat menyebabkan rasa pahit. Yang akan digunakan sebagai tepung adalah bagian daging buah. Buah *Avicennia alba* yang digunakan masih dalam keadaan yang masih segar dan tidak busuk sehingga tepung yang dihasilkan memiliki kualitas yang terbaik. Selain itu sortasi dilakukan untuk memisahkan bahan baku dari sampah atau kotoran (ulat). Buah mangrove yang telah selesai disortasi dilakukan preparasi

dengan cara dimemarkan. Buah mangrove *Avicennia alba* dimemarkan dengan tujuan mempermudah pada saat proses pereduksi logam Pb. Buah mangrove *Avicennia alba* dimemarkan menggunakan alu.

3.5.2 Perebusan

Perebusan dilakukan pada suhu 90°C hingga setengah matang (setengah empuk). Perebusan dilakukan dengan menggunakan pemanas waterbath selama 60 menit. Tujuan perebusan adalah untuk mempercepat proses pelunakan, mengurangi kadar tanin, memperoleh tekstur yang diinginkan, dan membunuh mikroba.

3.5.3 Penirisan I

Penirisan dilakukan untuk mengurangi kandungan air yang terserap pada bahan setelah proses perebusan. Penirisan dilakukan dengan menggunakan saringan teh.

3.5.4 Perendaman dengan penambahan larutan Asam jawa.

Perendaman dengan penambahan larutan Asam jawa dengan konsentrasi 25 % serta lama perendaman masing – masing 30, 45, 60, 75, 90, dan 105 menit yang bertujuan untuk penghilangan logam berat, racun, serta tanin yang terkandung dalam daging buah.

3.5.5 Penirisan II

Penirisan dilakukan untuk mengurangi kandungan air yang terserap pada bahan setelah proses perebusan. Penirisan dilakukan dengan menggunakan saringan teh.

3.5.6 Pencucian

Pencucian dilakukan setelah proses perendaman bertujuan untuk menghilangkan asam jawa yang masih ada pada buah *Avicennia alba*, sehingga tepung yang dihasilkan tidak bau asam jawa.

3.5.7 Penirisan III

Penirisan dilakukan untuk mengurangi kandungan air yang terserap pada bahan setelah proses perebusan. Penirisan dilakukan dengan menggunakan saringan teh.

3.5.8 Pengeringan

Pengeringan adalah terjadinya penguapan air ke udara karena perbedaan kandungan uap air antara udara dengan bahan yang dikeringkan. Tujuan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air bahan sampai batasperkembangan mikroorganisme dan kegiatan enzim yang dapat menyebabkan pembusukan terhambat atau bahkan terhenti sama sekali. Dengan demikian, bahan yang dikeringkan mempunyai lama simpan lebih lama (Adawyah,2007).

Setelah perendaman dan dicuci, buah dikeringkan di dalam oven dengan suhu 70°C selama 10 jam hingga kadar air sebesar 4%. Tujuan pengeringan dengan suhu 70°C ini adalah untuk memperoleh hasil optimal yaitu reaksi browning bisa dikurangi dan mutu produk dapat terjaga.

3.5.9 Penepungan

Setelah proses pengeringan selesai dilakukan proses penepungan, proses penepungan harus dilakukan secepat mungkin sebelum kadar air bertambah. Penepungan dilakukan dengan menggunakan blender hingga halus. Pemplenderan dilakukan selama 2 - 3 menit. Pemplenderan dilakukan berulang-

ulang untuk menghasilkan tepung yang homogen. Pemplenderan bertujuan untuk memperoleh tekstur tepung buah mangrove yang halus

3.5.10 Pengayakan

Pengayakan dilakukan untuk memisahkan butiran tepung yang halus dengan yang kasar atau menghasilkan tepung yang homogen. Pengayakan dilakukan dengan menggunakan ayakan ukuran 80 mesh. Pengayakan bertujuan memisahkan kotoran dan serat yang tertinggal dalam buah.

3.6 Prosedur Analisis Parameter Uji

Analisis uji tepung buah mangrove meliputi analisis kimia yaitu kadar Pb, kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu, kadar karbohidrat, kadar tanin, dan kadar HCN.

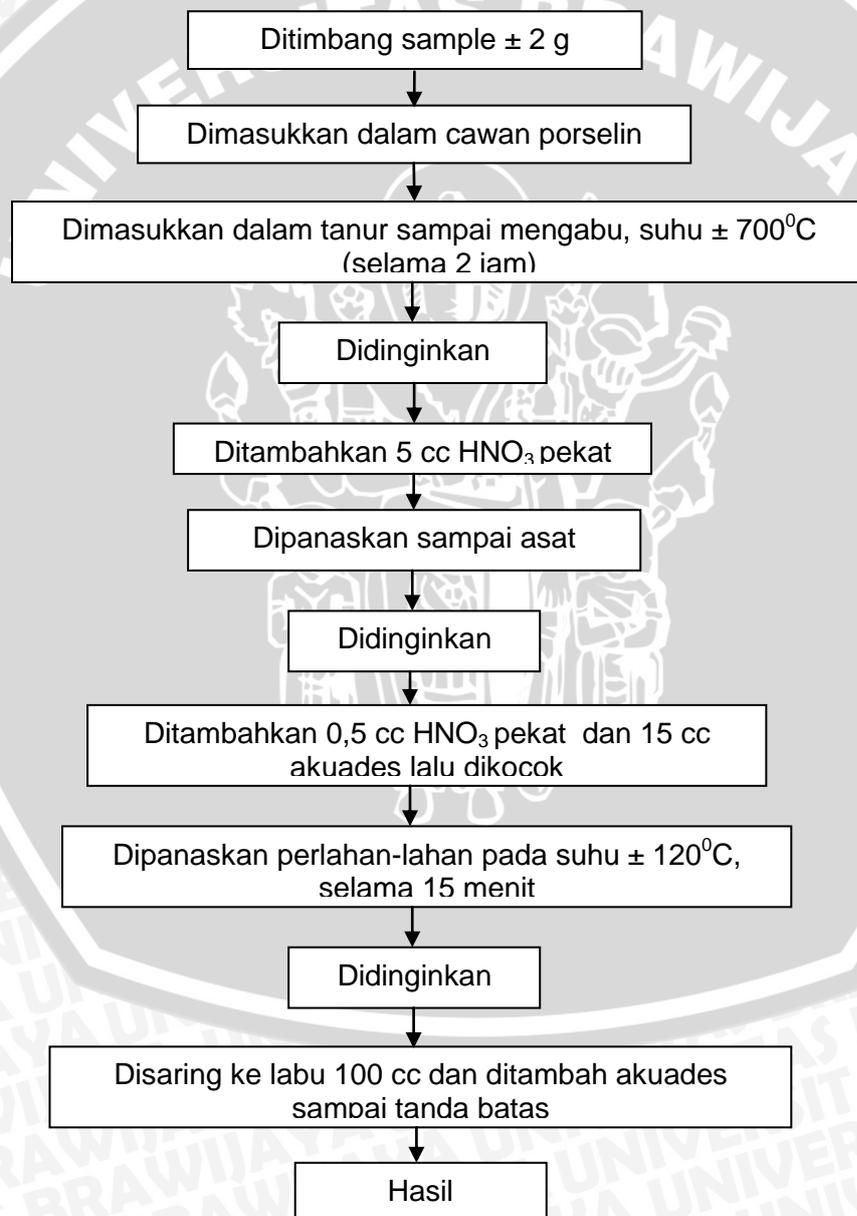
3.6.1 Analisis Logam Berat (Pb) (Metode AAS)

Metode AAS (Atomic Absorbtion Spectrophotometer) berprinsip pada pengukuran sinar yang diserap oleh atom dan unsur-unsur. Seperti metoda analisa mineral lainnya, bahan-bahan organik harus dihilangkan dalam persiapan sampel. Larutan sampel dari pengabuan basah atau pengabuan kering disebarkan dalam nyala api pada alat AAS, absorbs atau emisi logam dapat dianalisa dan diukur pada panjang gelombang tertentu (Andarwulan *et al.*, 2008).

3.6.1.1 Sampel Padat :

1. Ditimbang sampel ± 2 g dan dimasukkan dalam cawan porselin
2. Dimasukkan ke dalam tanur sampai mengabu pada suhu $\pm 700^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam, dinginkan
3. Ditambahkan 5 cc HNO_3 pekat dan dipanaskan sampai asat, dinginkan

4. Ditambahkan 0,5 cc HNO_3 pekat dan 15 cc aquades dan kocok dengan batang pengaduk
5. Dipanaskan perlahan-lahan pada suhu $\pm 120^\circ\text{C}$ selama 15 menit kemudian didinginkan
6. Disaring ke labu 100 cc dan ditambahkan aquades sampai tanda batas
Baca dengan AAS dengan memakai lampu katode yang sesuai. Prosedur analisis penentuan logam berat (pb) pada sampel padat disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Prosedur Analisis Penentuan Logam Berat (Pb) Pada Sampel Padat

3.6.1.2 Sampel Cair :

1. Diambil contoh 25 cc
2. Ditambahkan 5 cc HNO₃ pekat dan dipanaskan sampai asat, didinginkan.

Ditambahkan 0,5 cc HNO₃ pekat 15 cc aquades dan kocok dengan batang pengaduk

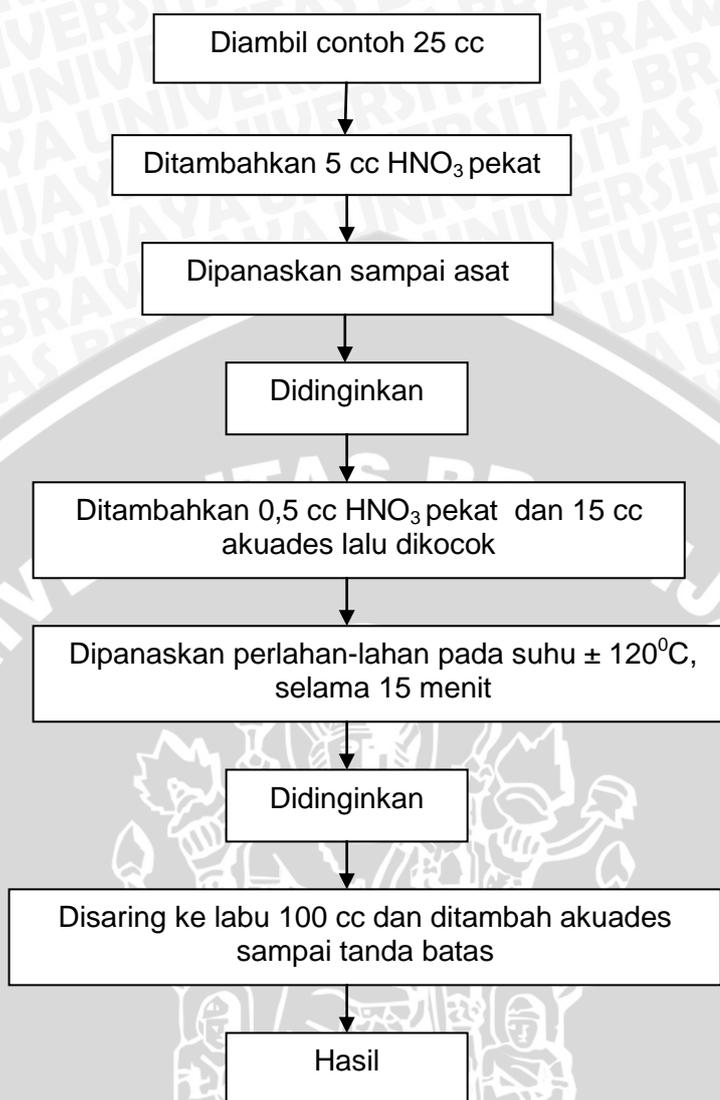
3. Dipanaskan perlahan-lahan pada suhu $\pm 120^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit kemudian diangkat, didinginkan
4. Disaring ke labu 100 cc
5. Ditambahkan aquades sampai tanda batas
6. Baca dengan AAS dengan memakai lampu katode yang sesuai

Rumus Perhitungan Kadar Pb

$$\% = \left(\frac{\text{ppm} \times 10}{bc(\text{gr}) \times 10^6} \times 100\% \right) \times 10.000 \text{ ppm}$$

$$\text{ppm} = \frac{\text{abs contoh}}{\text{slop}(A)=0,0172}$$

Prosedur analisis penentuan logam berat (pb) pada sampel cair disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Prosedur Analisis Penentuan Logam Berat (Pb) Pada Sampel Cair

3.6.2 Analisis Kadar Air (Metode Pengeringan / Thermogravimetri)

Kadar air dapat didefinisikan sebagai jumlah air bebas yang terkandung dalam bahan yang dapat dipisahkan dengan cara fisis seperti penguapan dan destilasi (Sumardi dan Sasmito, 2007). Penentuan kadar air dengan menggunakan metode pengeringan (Thermogravimetri) dalam oven dengan cara memanaskan sampel pada suhu 100-105 °C sampai diperoleh berat konstan (Sudarmadji *et al.*, 1997).

Perlakuan yang dilakukan dalam penentuan kadar air ini yaitu :

1. Dikeringkan botol timbang bersih dalam oven bersuhu 105 °C selama semalam dengan tutup $\frac{1}{2}$ terbuka
2. Dimasukkan dalam desikator selama 15-30 menit dan timbang beratnya
3. Ditimbang sampel sebanyak 2 gram dan masukkan dalam botol timbang
4. Dikeringkan dalam oven bersuhu 105 °C diamati setiap 2 jam sampai berat konstan
5. Didinginkan dalam desikator selama 15-30 menit
6. Ditimbang berat botol timbang dan sampel
7. Dihitung kadar airnya menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air (\%WB)} = \frac{(\text{berat botol timbang} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.6.3 Analisis Kadar Protein (Metode Titrasi Formol)

Protein merupakan suatu zat makanan yang amat penting bagi tubuh karena zat ini disamping berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur. Protein adalah sumber asam amino yang mengandung unsur C, H, O dan N yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Molekul protein mengandung pula fosfor, belerang dan ada jenis protein yang mengandung unsur logam seperti besi dan tembaga (Winarno, 2004).

Tujuan analisa kadar protein dalam bahan makanan adalah untuk menerka jumlah kandungan protein dalam bahan makanan, menentukan tingkat kualitas protein dipandang dari sudut gizi dan menelaah protein sebagai salah satu bahan kimia. Penentuan protein berdasarkan jumlah N menunjukkan banyaknya protein kasar, karena selain protein juga terikut senyawa N bukan protein misalnya urea, asam nukleat, amonia, nitrit, nitrat, asam amino, amida, purin dan pirimidin (Sudarmadji, *et al.*, 1997). Cara kerja pengujian protein metode titrasi formol antara lain :

1. menghaluskan dan menimbang sampel basah sebanyak 2 gram
2. Ditambahkan aquadest sebanyak 40 ml
3. Dimasukkan kuvet dan disentrifuse 2000 rpm 15 menit dan 1000 rpm 15 menit
4. Saring dengan kertas saring sehingga diperoleh supernatan (Jika supernatan yang diperoleh masih keruh masing-masing ditambahkan TCA 1 ml, disentrifuse 2000 rpm selama 10 menit, diambil supernatannya)
5. Tambah supernatan dengan aquadest sebanyak 100 ml
6. Diambil 1 ml larutan dan diencerkan 20x (ditambah 19 ml aquadest)
7. Diambil 10 ml dan dimasukkan erlenmeyer
8. Inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam
9. Ditambahkan 2 ml formaldehid dan indikator pp 3 tetes
10. Dititrasi 0,1 N NaOH

Perhitungan kadar N terlarut dan kadar P menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\%N = \frac{(\text{titrasi sampel} - \text{titrasi blanko}) \times N \text{ NaOH} \times 14,008 \times FP}{\text{berat sampel} \times 1000} \times 100\%$$

$$\%P = \%N \times 6,25$$

3.6.4 Analisis Kadar Lemak (Metode Goldfish)

Lemak merupakan zat makanan yang penting untuk menjaga kesehatan tubuh manusia. Selain itu lemak dan minyak merupakan sumber energi yang lebih efektif dibandingkan dengan karbohidrat dan protein. Lemak dan minyak juga merupakan sebagai sumber dan pelarut bagi vitamin A, D, E dan K (Winarno, 2004).

Metode yang digunakan adalah metode Goldfish, dimana prinsipnya menurut Sudarmadji *et al.*, (1997) adalah mengekstraksi lemak dari sampel dengan pelarut seperti petroleum ether dan dilakukan dengan alat ekstraksi Goldfish. Prosedurnya adalah sebagai berikut :

1. Langkah pertama adalah sampel dikeringkan dalam oven suhu 105 °C selama semalam untuk menghilangkan air dalam sampel.
2. Sampel kering dan halus ditimbang sebanyak 2 gram. Setelah itu sampel tadi diletakkan di atas kertas saring yang telah dikeringkan dan diketahui beratnya. Dilipat menjadi persegi lalu diikat dengan tali. Fungsinya sebagai membran penahan panas ampas sampel sehingga dapat keluar hanya lemak yang larut karena petroleum ether atau petroleum benzene.
3. Kemudian dimasukkan dalam sampel tube dan dipasang tepat di bawah kondensor rangkaian alat goldfish. Bahan pelarut yang digunakan ditempatkan pada gelas piala dan dipasang tepat di bawah kondensor sampai rapat dan tidak dapat diputar lagi.
4. Lalu kran air pendingin diputar dan dialirkan ke kondensor dan alat dinyalakan. Bila gelas piala dipanaskan, uap pelarut akan naik dan didinginkan oleh kondensor sehingga akan mengembun dan menetes pada sampel. Demikian terus-menerus sehingga bahan akan dibasahi oleh pelarut dan lipida akan terekstraksi dan selanjutnya tertampung pada gelas piala.

- Ekstraksi dilakukan selama 3 jam. Setelah selesai maka alat dimatikan dan kertas saring berisi sampel diambil, setelah tetapan petroleum ether atau benzene dari sampel berhenti, lalu dikeringkan dalam oven suhu 105 °C sampai 30 menit dan ditimbang berat timbel agar sisa petroleum ether atau benzene teruapkan sehingga tidak mengganggu berat akhir.
- Perhitungan kadar lemak menggunakan rumus :

$$\text{Kadar lemak} = \frac{(\text{berat sampel} + \text{berat kertas saring}) - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.6.5 Analisis Kadar Abu (Metode Kering)

Kadar abu menggambarkan kandungan mineral dari sampel bahan makanan. Yang disebut kadar abu adalah material yang tertinggal bila bahan makanan dipijarkan dan dibakar pada suhu sekitar 500 – 800 °C. Semua bahan organik akan terbakar sempurna menjadi air dan CO₂ serta NH₃, sedangkan elemen tertinggal sebagai oksidasinya (Sediaoetama, 2000).

Metode yang digunakan dalam analisa kadar abu ini adalah menggunakan metode kering. Prinsip kerja dari metode ini adalah didasarkan pada berat residu pembakaran (oksidasi dengan suhu tinggi sekitar 500-650 °C) terhadap semua senyawa organik dalam bahan. Abu dalam bahan pangan ditetapkan dengan menimbang sisa mineral hasil pembakaran bahan organik pada suhu tinggi sekitar 500-650 °C (Sumardi dan Sasmito, 2007). Prosedurnya penentuan kadar abu adalah sebagai berikut :

- Dikeringkan porselen dalam oven pada suhu 105 °C selama semalam
- Dimasukkan desikator selama 15 – 30 menit
- Ditimbang berat porselen
- Ditimbang sampel kering halus sebanyak 2 gram
- Dimasukkan sampel dalam porselen dan abukan dalam muffle bersuhu 650°C sampai seluruh bahan terabukan (abu berwarna keputih-putihan)

6. Dimasukkan dalam desikator selama 15 – 30 menit
7. Ditimbang beratnya

3.6.7 Analisis Tanin (Ranganna, 1986)

Kadar tanin buah dari perlakuan ethanol baik dengan cara pencelupan ke dalam larutan etanol dan perlakuan dengan uap ethanol serta kontrol diamati pada hari ke dua, empat dan delapan setelah perlakuan (Ranganna, 1986).

Prosedur penentuan kadar tanin adalah seperti dijelaskan berikut ini:

1. Sebanyak ± 1 g sampel yang telah dihaluskan digunakan untuk penentuan kandungan tanin.
2. Ditambahkan 80 cc air suling, dididihkan selama 10 menit dan kemudian didinginkan.
3. Dimasukkan ke dalam labu takar 100 cc, kemudian ditambah aquades sampai tanda batas, dikocok dan disaring.
4. 25 cc larutan dimasukkan dalam erlenmeyer 250 cc, ditambah 20 cc indigo, ditambah 750 cc air suling dan ditambah 1 cc KMnO_4 sampai warna biru berubah menjadi hijau.
5. Dilakukan titrasi dengan KMnO_4 0,0253 N sampai berwarna kuning keemasan.
6. Kandungan tanin dalam sampel dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{Kandungan tanin (\%)} = \frac{(\text{vol larutan} - \text{BL}) \times 0,0241 \times 0,006225}{\text{berat sampel}} 100\%$$

Reagen $\text{KMnO}_4 \longrightarrow 1,3330 \text{ gram } \text{KMnO}_4 / \text{L} = 0,0253 \text{ N}$

3.7 Penentuan Perlakuan Terbaik dengan Zeleny (Zeleny, 1982)

Untuk menentukan kombinasi perlakuan terbaik digunakan metode *Multiple attribute* dengan prosedur pembobotan sebagai berikut:

1. Menentukan nilai ideal pada masing-masing parameter

Nilai ideal adalah nilai yang sesuai dengan pengharapan, yaitu maksimal atau minimal dari suatu parameter. Untuk parameter dengan rerata semakin tinggi semakin baik, maka nilai terendah sebagai nilai terjelek dan nilai tertinggi sebagai nilai terbaik. Sebaliknya untuk parameter dengan nilai terendah semakin baik, maka nilai tertinggi sebagai nilai terjelek dan nilai terendah sebagai nilai terbaik.

2. Menghitung derajat kerapatan (d^*i)

Derajat kerapatan dihitung berdasar nilai ideal untuk masing-masing parameter.

Bila nilai ideal (d^*) min, maka:

$$d^*i = \frac{\text{nilai kenyataan yang mendekati ideal}}{\text{nilai ideal dari masing – masing alternatif}}$$

Bila nilai ideal (d^*i) maks, maka:

$$d^*i = \frac{\text{nilai ideal masing – masing alternatif}}{\text{nilai kenyataan yang mendekati ideal}}$$

3. Menghitung jarak kerapatan (L_p)

Dengan asumsi semua parameter penting, jarak kerapatan dihitung berdasarkan jumlah parameter = 1/jumlah parameter

L_1 = menjumlah derajat kerapatan dari semua parameter pada masing-masing perlakuan. Hasil penjumlahan dikurangkan 1.

$$L_1(\lambda, k) = 1 - \sum_{i=1}^n (\lambda_i 1 + d^k_i)$$

$$L_2(\lambda, k) = \left\{ \sum_{i=1}^n \lambda_i^2 (1 + d^k_i)^2 \right\}^2$$

$$L^\infty = \text{maks} \{ \lambda_i (1 - d^k_i) \}$$

L^∞ dipilih nilai maksimal dari perhitungan diatas.

4. Perlakuan terbaik dipilih dari perlakuan yang mempunyai nilai L_1 , L_2 dan L^∞ minimal