3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam pembuatan dodol rumput laut adalah rumput laut jenis *E.cottonii* dengan umur panen 45 hari yang didapat dari Desa Andelan Kecamatan Wongsorejo, Banyuwangi. Bahan tambahan dalam pembuatan dodol rumput laut adalah gula dan air. Bahan yang digunakan untuk merendam *E.cottonii* adalah kapur tohor ($CaCO_3$), jeruk nipis, dan air. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk analisis proksimat adalah silika gel, petroleum eter, kertas saring, tablet Kjeldahl, NaOH, H_2SO_4 pekat, 0,1N, 0,3N, 4N, akuades, metilen oranye, H_3BO_3, KI 10%, indikator amilum, K_2SO_4, alkohol 95%.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam pembuatan dodol rumput laut adalah blender, panci pengukus, wajan, pengaduk kayu, timbangan digital, loyang, oven, kompor gas, termometer, dan baskom. Alat yang digunakan untuk uji analisis proksimat adalah timbangan analitik, cawan petri, oven merk Binder tipe RE53, eksikator, Goldfisch merk Labconco, gelas piala, *sample tube*, kurs porselain, *muffle*, alat destruksi, destilator, labu Kjeldahl, buret dan statif, erlenmayer 300 mL, *beaker glass* 1000 mL, spektrofotometer UV-Vis.

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen untuk mencapai tujuan utama yaitu mengetahui pengaruh konsentrasi gula yang berbeda terhadap indeks glikemik dan kualitas dari dodol *E. cottonii* umur panen 45 hari. Metode ini dilaksanakan dengan memberikan peubah bebas secara sengaja kepada objek

penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam peubah terikat. Metode eksperimen dilakukan dengan cara memberikan perlakuan tertentu terhadap subyek penelitian yang akan diteliti akibat dari perlakuan tersebut (Jaedun, 2011).

Adapun peubah-peubah dalam penelitian ini adalah :

1. Peubah bebas :konsentrasi gula yang berbeda yaitu 16%, 18%, dan 20%
2. Peubah terikat :parameter yang diamati yaitu indeks glikemik kadar air, kadar lemak,kadar protein, kadar abu, kadar karbohidrat, kadar iodium, kadar serat kasar, kekerasan, warna, kekenyalan, rasa, dan aroma.

3.2.1 Penelitian Tahap Pertama

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui perbandingan yang tepat antara rumput laut, air dan gula untuk pembuatan dodol *E. cottonii* sehingga diperoleh dodol yang memiliki rasa yang dapat diterima dari segi sensori.

3.2.2 Penelitian Tahap Kedua

Pada penelitian tahap kedua dilakukan pembuatan dodol *E. cottonii* dengan komposisi dan waktu pemasakan terbaik pada penelitian tahap pertama.

3.2.2.1 Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Perlakuan yang digunakan pada penelitian tahap kedua adalah penggunaan perbandingan *E.* cottonii dan gula. Penelitian tahap kedua menggunakan 1 faktor yaitu jumlah gula dengan 3 perlakuan. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. 3 perlakuan terdiri dari :

A = 400 g *E. cottonii* dan 160 g gula

B = 400 g *E. cottonii* dan 180 g gula

C = 400 g *E. cottonii* dan 200 g gula

Model desain percobaan penelitian tahap kedua dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Desain Percobaan Konsentrasi Gula yang Berbeda Terhadap Indeks Glikemik dan Kualitas Dodol *E.cottonii* Umur Panen 45 Hari

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
A	A1	A2	A3	TA	RA
B	B1	B2	B3	TB	RB
C	C1	C2	C3	TC	RC

Keterangan :
A : konsentrasi gula 16%
B : konsentrasi gula 18%
C : konsentrasi gula 20%

Penelitian ini menggunakan analisis data metode ANOVA sebagai berikut :

$Y_{ij} = \mu + T_i + €_{ij}$

Dimana :
Y_{ij} : parameter
μ : nilai rata-rata umum
T_i : pengaruh konsentrasi gula pada taraf ke-i terhadap parameter
$€_{ij}$: pengaruh galat percobaan pada taraf ke-i dan ulangan pada taraf ke-j
i : konsentrasi gula ke-i
j : ulangan ke-j

Selang kepercayaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 95%. Dimana jika F hitung nilainya lebih dari F 5%, maka dilanjutkan dengan uji BNT.

3.2.2.2 Prosedur Penelitian

3.2.2.2.1 Pembuatan Dodol *E. cottonii*

Formulasi bahan yang digunakan pada pembuatan dodol *E. cottonii* pada konsentrasi gula yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Formulasi bahan pembuatan dodol

Jenis Bahan	Dodol A	Dodol B	Dodol C
E.cottonii segar (g)	400	400	400
Air (ml)	400	400	400
Gula (%)	16	18	20

Pembuatan dodol *E. cottonii* meliputi beberapa tahap, yaitu pengukusan, penghalusan, pemasakan, pencetakan, dan pengovenan.

a. Pengukusan

E. cottonii yang telah putih dan tidak berbau amis ditimbang sebanyak 500 g. *E. cottonii* kemudian dibersihkan dengan air mengalir dan dikukus selama 15 menit. hal ini bertujuan untuk mempermudah pelumatan *E. cottonii*.

b. Pelumatan

E. cottonii yang telah matang kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender agar saat pemasakan *E. cottonii* dapat tercampur dengan rata.

c. Pemasakan

E. cottonii yang telah halus kemudian dimasak dengan air dan gula dengan konsentrasi 16%, 18%, dan 20%. Perlakuan dengan penambahan jumlah gula yang berbeda diharapkan mampu memberikan pengaruh terhadap sifat fisikokimia, indeks glikemik dan organoleptik dodol *E. cottonii*. Pemasakan dilakukan selama 45 menit.

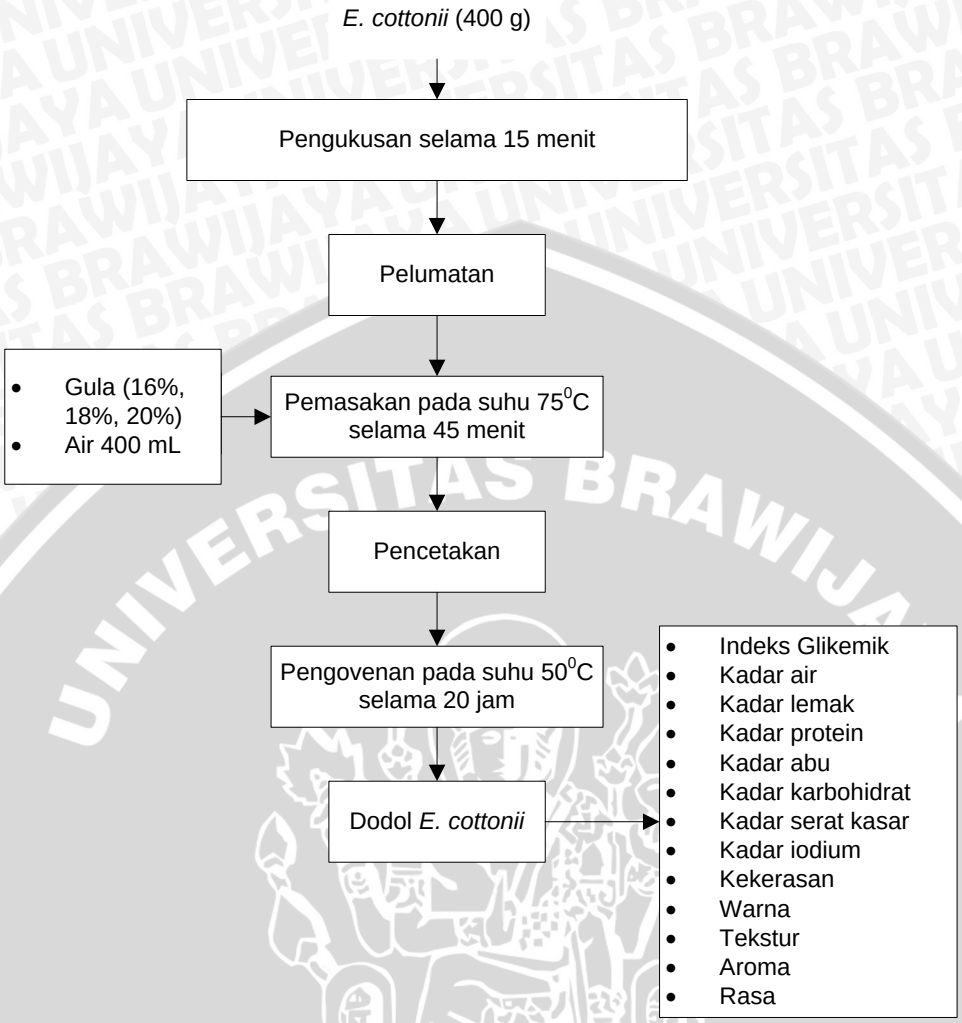
d. Pencetakan

Pencetakan dilakukan dalam loyang persegi dengan panjang 22 cm, lebar 10 cm, dan tinggi 10 cm. Dodol yang telah dicetak kemudian didinginkan selama 12 jam sehingga dodol menjadi padat. Dodol kemudian dipotong kecil dengan ukuran 3 cm x 2 cm x 1,5 cm.

e. Pengovenan

Dodol yang telah dipotong kecil kemudian diletakkan dalam loyang. Dodol kemudian dioven pada suhu 50 ^{0}C selama 20 jam untuk menghasilkan dodol.

Diagram alir pembuatan dodol *E. cottonii* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram alir pembuatan dodol *E. cottonii*

3.3 Analisis

3.3.1 Indeks Glikemik (Hasan *et al*., 2011)

Prinsip dari penentuan indeks glikemik adalah pengukuran kadar gula darah setelah mengkonsumsi sampel uji dan sampel standar. Proses pengukuran indeks glikemik adalah sebagai berikut :

- Relawan puasa kecuali air putih selama 10 jam sebelum dilakukan pengujian.

- Diambil darah relawan sebanyak 0,5 µL dengan menggunakan *finger prick* setiap 0 menit (kadar gula darah puasa), 30 menit, 60 menit, 90 menit, dan 120 menit setelah mengkonsumsi sampel uji.
- Nilai kadar gula darah diplotkan menjadi grafik dengan sumbu x sebagai waktu pengukuran dan sumbu y sebaga kadar gula darah.
- Perhitungan indeks glikemik merupakan perbandingan antara luas kurva kenaikan kadar gula darah setelah mengkonsumsi sampel dan roti tawar sebagai standar.
- Rumus perhitungan dari indeks glikemik adalah :

$$IG=\frac{a}{b} \times 100$$

Dimana :
a = luas area di bawah kurva respon glikemik sampel
b = luas area di bawah kurva respon glikemik standar roti tawar

3.3.2 Kandungan Gizi

3.3.2.1 Kadar Air (Sudarmadji *et al.,* 2010)

Prinsip dari metode *thermogravimetry* untuk analisis kadar air adalah menguapkan air bebas sampel dengan cara dipanaskan bahan pada suhu 105 ^{0}C selama 3 jam hingga berat sampel konstan. Prosedur dari analisis kadar air adalah sebagai berikut :

- Timbang bahan yang telah dihaluskan sebanyak 2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya.
- Dikeringkan dalam oven bersuhu 100 – 105 ^{0}C selama 3 – 5 jam. Kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang.
- Pengurangan berat bahan merupakan banyaknya air dalam bahan. Persentase kadar air dalam bahan dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Berat basah (\% WB)} = \frac{(A+B)- C}{B} \times 100\%$$

Dimana :
A : berat botol timbang
B : berat sampel
C : berat akhir (botol timbang +sampel) yang telah dikeringkan

3.3.2.2 Kadar Lemak (Sudarmadji *et al.,* 2010)

Prinsip dari metode Goldfisch untuk analisis kadar lemak adalah melarutkan lemak yang ada di dalam bahan selama beberapa jam dengan menggunakan bahan pelarut lemak. Prosedur dari metode ini adalah sebagai berikut :

- Timbang bahan yang telah dihaluskan sebanyak 5 g dan diletakkan dalam kertas saring, kemudian dimasukkan ke dalam *thimble*.
- Pasang *thimble* yang telah berisi sampel pada *sample tube* yang berupa gelas penyangga dengan bagian bawah terbuka dan berada tepat di bawah kondensor *Goldfisch*.
- Masukkan pelarut petroleum eter secukupnya ke dalam gelas piala yang telah diketahui beratnya. Kemudian pasang gelas piala pada kondensor hingga tidak dapat diputar-putar lagi.
- Alirkan air ada kondensor. Naikkan pemanas smapai menyentuh bagian bawah gelas piala. Kemudian nyalakan aliran listrik.
- Lakukan ekstraksi selama 4 jam. Setelah selesai, turunkan pemanasnya dan tunggu hingga tidak ada pelarut yang menetes lagi.
- Lepaskan gelas piala dari kondensor dan oven pada suhu 105 ^{0}C hingga pelarut menguap semua.
- Timbang berat gelas piala. Selisih berat gelas piala merupakan banyaknya lemak pada bahan. Persentase lemak dalam bahan dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Lemak} = \frac{\text{berat gelas piala akhir-gelas piala awal}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.3.2.3 Kadar Protein (Sudarmadji *et al*., 2010)

Prinsip dari metode Kjeldahl untuk analisis kadar protein adalah menetukan jumLah nitrogen (N) total pada bahan melalui 3 tahapan, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Prosedur dari metode Kjeldahl adalah sebagai berikut :

- Timbang bahan yang telah dihaluskan sebanyak 1 g dan masukkan ke dalam labu Kjeldahl.
- Tambahkan 15 mL H_2SO_4 pekat dan 1/3 tablet Kjeldahl sebagai katalisator.
- Masukkan ke dalam ruang asam dan panaskan sampai larutan berwarna bening dan berhenti berasap, kemudian dinginkan. Siram bagian dalam dinding labu Kjeldahl dengan 30 mL akuades.
- Tambahkan 100 mL akuades dan 50 mL NaOH kemudian didestilasi. Tampung hasil destilat pada 100 mL larutan H_3BO_3 dan tetesi dengan metilen oranye sebanyak 1 tetes.
- Titrsasi dengan H_2SO_4 0,3 N hingga berubah warna menjadi merah muda. Porsentase protein bahan dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Protein} = \frac{(\text{mL } H_2SO_4 \text{ sampel} - \text{mL } H_2SO_4 \text{blanko})}{\text{g contoh}} \times \text{N } H_2SO_4 \times 1{,}4008 \times 6{,}25$$

3.3.2.4 Kadar Abu (Sudarmadji *et al.,* 2010)

Prinsip dari metode pengabuan kering untuk analisis kadar abu ini adalah pembakaran bahan organik pada suhu tinggi selama beberapa jam sehingga hanya tersisa bahan anorganik dalam bentuk abu. Prosedur dari metode ini adalah sebagai berikut :

- Timbang bahan sebanyak 2 – 10 g dalam kurs porselin kering yang telah diketahui beratnya.
- Pijarkan pada *muffle* suhu 600 ^{0}C selama 4 jam hingga berwarna keputih-putihan.
- Masukkan krus dan abu ke dalam eksikator dan ditimbang berat abu. Kadar abu dalam bahan dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Abu} = \frac{\text{berat kurs porselin akhir-berat porselin awan}}{\text{berat sampel}} \text{ x } 100\%$$

3.3.2.5 Kadar Karbohidrat (Winarno, 2004)

Prinsip dari analisis kadar karbohidrat dengan metode *Carbohydrate by Difference* adalah pengurangan angka 100 dengan komponen non karbohidrat seperti kadar air, kadar lemak, kadar protein, dan kadar abu. Kadar karbohidrat dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

% Karbohidrat = 100% - (% air + lemak + protein + abu)

3.3.2.6 Kadar Serat Kasar (Sudarmadji *et al*., 2010)

Prinsip dari analisis kadar serat kasar adalah ekstraksi bahan dengan asam dan basa untuk memisahkan serat kasar dengan bahan lainnya. Prosedur dari analisis ini adalah sebagai berikut :

- Haluskan bahan dan timbang sebanyak 2 g.
- Ekstrasksi lemaknya dengan Soxhlet.
- Pindahkan bahan yang telah diekstraksi ke dalam erlenmeyer 600 mL. Tambahkan 0,5 g asbes yang telah dipijarkan dan 3 tetes antifoam agent.
- Tambahkan 200 mL H_2SO_4 mendidih (1,25 g H_2SO_4 pekat/100 mL = 0,255 N H_2SO_4) tutup dengan pendingin balik dan didihkan selama 30 menit sambil sesekali digoyang-goyang.

- Saring suspensi dengan kertas saring dan residu yang tertinggal dalam erlenmeyer dicuci dengan akuades mendidih. Cuci kertas saring yang berisi residu dengan air hingga netral.
- Pindahkan residu dari kertas saring ke erlenmeyer dengan spatula, dan sisanya dicuci dengan larutan NaOH mendidih (1,25 g NaOH/100 mL = 0,313 N) sebanyak 200 mL sampai semua residu masuk ke erlenmeyer. Didihkan dengan pendingin balik selama 30 menit dan sesekali digoyang-goyang.
- Saring dengan kertas saring kering yang diketahui beratnya (A) sambil dicuci dengan larutan K_2SO_4 10%. Cuci lagi residu dengan akuades mendidih dan cuci kembali dengan alkohol 95% sebanyak 15 mL.
- Keringkan kertas saring pada suhu 110 ^{0}C sampai berat konstan (1 – 2 jam), dinginkan dengan desikator dan timbang (B). Kurangkan dengan berat asbes jika digunakan.
- Berat residu merupakan berat serat kasar dari bahan. Porsentase serat kasar bahan dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Serat Kasar} = \frac{\text{B-A}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3.3.2.7 Kadar Iodium (Febrianti *et al*., 2013)

Prinsip dari analisis kadar iodium adalah pembentukan kompleks amilum-iodida menggunakan oksidator iodat. Prosedur dari analisis ini adalah sebagai berikut :

- Timbang bahan sebanyak 2 g, dan masukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL kemudian tambahkan H_2SO_4 0,1 N sebanyak 50 mL, kocok sengan *shaker* selama 15 menit.
- Saring dan masukkan filtrat ke dalam labu ukur 100 mL kemudian tambahkan akuades sampai tanda batas, kocok hingga homogen.

- Ambil 10 mL larutan dan masukkan ke dalam tabung reaksi.
- Tambahkan 1 mL H_2SO_4 4 N, kocok dan tambahkan larutan KI 10% sebanyak 1 mL kocok kembali.
- Tambahkan 1 mL indikator amilum, kocok hingga homogen.
- Baca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 410 nm dan catat absorbansinya.
- Persamaan kurva :

$$y=0,010x+0,313$$

Dimana:
y = nilai absorbansi
x = kadar iodium

3.3.3 Sifat Fisikokimia

3.3.3.1 Kekerasan (Midayanto dan Yuwono, 2014)

Penentuan kekerasan bahan prinsipnya adalah mengukur kekuatan bahan untuk menahan gaya (N) persatuan luas (kg/cm^2) melalui jarum alat *tensile strength*. Cara kerja dari alat ini adalah :

- Hidupkan mesin *tensile strength* dan pasang alat sesuai dengan sampel yang akan dianalisa (tekanan atau tarikan).
- Hidupkan komputer dan masuk ke program *software* untuk mesin *tensile strength* (ZP *Recorder*).
- Setelah muncul tampilan program, letakkan kursor di ZERO dan ON kan supaya antara alat *tensile strength* dan monitor komputer menunjukkan angka 0,0 pada waktu pengujian.
- Letakkan sampel si bawah aksesoris penekan atau penjepit sampel dengan aksesoris penjepit.

- Letakkan kursor pada tanda [ ] dan ON kan sehingga secara otomatis komputer akan mencatat GAYA (N) dan jarak yang ditempuh oleh tekanan atau tarikan terhadap sampel.
- Tekan tombol [▼] untuk penekanan (COMPRESSION) yang ada pada alat *tensile strength*.
- Setelah pengujian selesai tekan tombol [■] untuk berhenti dan menyimpan.
- Catat hasil pengukuran dan matikan komputer serta alat *tensile strength*.
- Bersihkan alat dari sisa sampel.

3.3.4 Uji Organoleptik (Jaya *et al*., 2013)

Prinsip dari metode *multiple comparison* pada uji organoleptik adalah membandingkan parameter yang telah ditentukan antara sampel uji dengan sampel standar. Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah warna, kekenyalan, rasa, dan aroma. Prosedur dari uji organoleptik adalah sebagai berikut :

- Disiapkan semua sampel yang akan diuji dan disiapkan pula sampel dari produsen sebagai standar.
- Beri kode sampel yang akan diuji dengan kode yang telah ditentukan dan beri kode sampel dari produsen dengan R.
- Panelis diberi sampel R untuk diuji terlebih dahulu kemudian baru diberi sampel uji, lalu panelis membandingkan sampel uji dengan sampel R dalam segi warna, tekstur, aroma, dan rasa.
- Sebelum mencicipi sampel panelis diwajibkan untuk meminum air putih terlebih dahulu agar tidak terjadi kesalahan saat pengujian.
- Panelis mencatat hasil pengamatan pada lembar kuisioner yang telah disediakan.