

3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan mulai bulan Oktober 2005 sampai bulan Maret 2006. Penelitian terdiri dari dua tahap yaitu penelitian lapang dan dilanjutkan dengan analisis laboratorium.

Lokasi penelitian lapang di Desa Punagaya, Kecamatan Arungkeke Kabupaten Jeneponto, Provinsi Sulawesi Selatan, sedangkan analisis laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Pilot Plant *Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology Center* (SEAFAST CENTER) dan Laboratorium *Agricultural Product Processing Pilot Plant* (AP4) IPB.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah rumput laut jenis *Eucheuma cottonii*. Bahan-bahan kimia yang digunakan selama proses pembuatan karaginan adalah KOH, isopropil alkohol (IPA) dan akuades, sedangkan bahan-bahan yang digunakan untuk proses analisis antara lain asam klorida (HCl), kalium klorida (KCl), barium klorida (BaCl_2), natrium hidroksida (NaOH), natrium sulfat (NaSO_4), asam sulfat (H_2SO_4), barium sulfat (BaSO_4) dan kalium sulfat (K_2SO_4).

Alat-alat yang digunakan untuk proses pembuatan karaginan adalah: panci perebus, timbangan analitik, baskom, pan penjendal, para-para penjemur, saringan, mesin penepung, kertas pH, *stop watch* dan kompor gas. Alat-alat yang digunakan untuk analisis mutu karaginan adalah cawan porselen, desikator, labu erlenmeyer, gelas piala, pengaduk, kertas saring tak berabu, spatula, oven, tanur, kertas saring, corong, pipet, termometer, *curd tension meter*, cetakan dan *Viscosimeter Brookfield*.

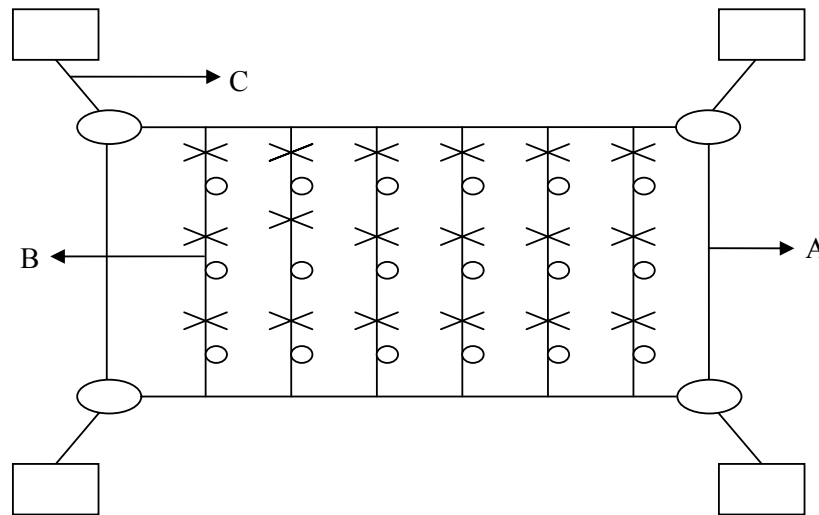
Alat-alat yang digunakan untuk mengukur faktor-faktor lingkungan perairan adalah: termometer, pH meter, salinometer dan current meter.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu tahap pertama metode budidaya rumput laut dan tahap kedua ekstraksi karaginan dari rumput laut hasil budidaya.

3.3.1 Budidaya rumput laut

Metode budidaya yang dilakukan berdasarkan kebiasaan dan pengalaman penduduk di Kabupaten Jeneponto dengan sistem *longline* atau dengan sistem tali permukaan (Gambar 6).



Gambar 6 Desain *longline* untuk budidaya rumput laut *Eucheuma cottonii* di Kabupaten Jeneponto.

Keterangan:

- = Pemberat
- = Pelampung utama
- = Pelampung tali ris
- × = Ikatan/rumpun bibit rumput laut *Eucheuma cottonii*
- A = Tali utama
- B = Tali ris
- C = Tali pemberat

Metode budidaya sebagai berikut:

- (1) Menentukan lokasi budidaya, kemudian dipasang tali utama yang disambungkan dengan pemberat berupa karung berisi pasir. Masing-masing sudut tali utama diberi pelampung tanda.
- (2) Diantara tali utama dipasang tali ris yang berjumlah 6 (enam) buah dengan panjang masing-masing berkisar 25 m.
- (3) Bibit rumput laut diikat pada tali ris dengan tali nilon yang telah disimpul dengan jarak antar simpul 25 cm. Pelampung yang digunakan pada tali ris berupa botol akua.

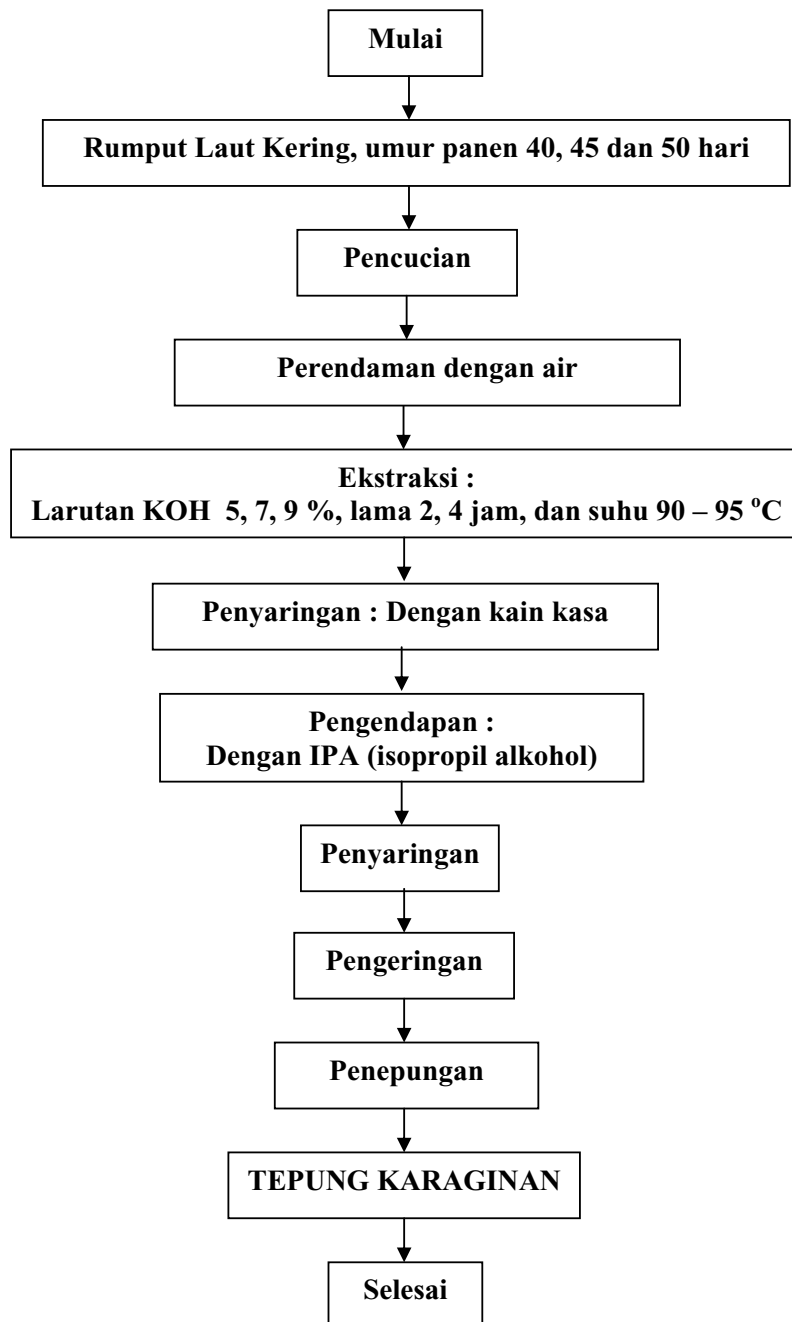
- (4) Untuk memudahkan dalam mengetahui tanaman uji maka 6 tali ris dibagi menjadi 3 perlakuan yaitu 2 tali ris untuk umur 40 hari diberi tanda tali rafia berwarna merah, 2 tali ris untuk umur 45 hari tali rafia berwarna hitam dan 2 tali ris untuk umur 50 hari berwarna biru.
- (5) Setelah semua bibit rumput laut diikat pada tali ris, tali ris diikat pada tali utama dengan jarak antar tali ris 1 m.
- (6) Setiap minggu kondisi tanaman dipantau dan dibersihkan dari sampah serta biota pengganggu lainnya.

3.3.2 Ekstraksi karaginan

Penelitian tahap ini diterapkan tiga perlakuan yaitu umur panen rumput laut (A), konsentrasi KOH (B) dan lama ekstraksi (C), masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Pada penelitian tahap ini dilakukan ekstraksi karaginan dengan menggunakan umur rumput laut 40 hari (A1), 45 hari (A2) dan 50 hari (A3), dengan konsentrasi KOH 5 % (B1), 7 % (B2) dan 9 % (B3), sedangkan lama ekstraksi 2 jam (C1) dan 4 jam (C2). Penentuan kondisi terbaik karaginan dipilih berdasarkan parameter rendemen, kekuatan gel, viskositas, kadar air dan kadar abu yang sesuai dengan standar mutu karaginan.

Karaginan dengan perlakuan umur panen, konsentrasi KOH dan lama ekstraksi terbaik yang diperoleh dari penelitian sebelumnya, selanjutnya dibandingkan dengan karaginan komersial. Pengamatan dilakukan terhadap parameter yang menjadi indikator mutu karaginan yang terdiri atas: rendemen, kekuatan gel, viskositas, kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, titik leleh, titik jendal, derajat putih, kadar sulfat dan logam berat. Diagram alir proses pembuatan tepung karaginan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7 Proses pembuatan tepung karaginan (Yunizal *et al.* 2000 yang telah dimodifikasi).

3.4 Analisis Fisika-Kimia

Tepung karaginan yang dihasilkan kemudian dianalisis rendemen, kekuatan gel, viskositas, kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, titik leleh, titik jendal, derajat putih, kadar sulfat dan logam berat.

(1) Rendemen (FMC Corp. 1977)

Rendemen karaginan sebagai hasil ekstraksi dihitung berdasarkan rasio antara berat karaginan yang dihasilkan dengan berat rumput laut kering yang digunakan.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat karaginan kering}}{\text{Berat rumput laut kering}} \times 100 \%$$

(2) Kekuatan Gel (FMC Corp. 1977)

Larutan karaginan 1,6 % dan KCl 0,16 % dipanaskan dalam bak air mendidih dengan pengadukan secara teratur sampai suhu 80 °C. Volume larutan dibuat sekitar 50 ml.

Larutan panas dimasukkan ke dalam cetakan berdiameter kira-kira 4 cm dan dibiarkan pada suhu 10 °C selama 2 jam. Gel dalam cetakan dimasukkan ke dalam alat ukur (*curd tension meter*) sehingga plunger yang akan bersentuhan dengan gel berada ditengahnya. Plunger diaktifkan dan dilakukan pengamatan. Pembacaan dilakukan pada saat pegas kembali. Perhitungan kekuatan gel adalah sebagai berikut :

$$\text{Kekuatan gel (dyne/cm}^2\text{)} = \frac{F}{S} \times 980 \text{ dyne/ cm}^2$$

Keterangan : F = tinggi kurva
 S = luas permukaan sensing rod (cm²)

(3) Viskositas (FMC Corp. 1977)

Viskositas adalah pernyataan tahanan dari suatu cairan untuk mengalir. Satuan dari viskositas adalah poise (1 poise = 100 cP). Makin tinggi viskositas menandakan makin besarnya tahanan cairan yang bersangkutan. Larutan karaginan dengan konsentrasi 1,5 % dipanaskan dalam bak air mendidih sambil diaduk secara teratur sampai suhu mencapai 75 °C. Viskositas diukur dengan *Viscometer Brookfield*.

Spindel terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 75 °C kemudian dipasang ke alat ukur *viscometer Brookfield*. Posisi spindel dalam

larutan panas diatur sampai tepat, viskometer dihidupkan dan suhu larutan diukur. Ketika suhu larutan mencapai 75 °C dan nilai viskositas diketahui dengan pembacaan viskosimeter pada skala 1 sampai 100. Pembacaan dilakukan setelah satu menit putaran penuh 2 kali untuk spindel no 1.

(4) Kadar Air (AOAC 1995)

Penentuan kadar air didasarkan pada perbedaan berat contoh sebelum dan sesudah dikeringkan. Cawan porselin yang akan digunakan, dikeringkan terlebih dahulu kira-kira 1 jam pada suhu 105 °C, lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang hingga beratnya tetap (A). Contoh ditimbang kira-kira 2 g (B) dalam cawan tersebut, dikeringkan dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama 5 jam atau beratnya tetap. Cawan yang berisi contoh didinginkan di dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang hingga beratnya tetap (C). Kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(A+B)-C}{(B)} \times 100 \%$$

(5) Kadar abu (AOAC 1995)

Penentuan kadar abu didasarkan menimbang sisa mineral sebagai hasil pembakaran bahan organik pada suhu sekitar 550 °C. Cawan porselin dikeringkan di dalam oven selama satu jam pada suhu 105 °C, lalu didinginkan selama 30 menit di dalam desikator dan ditimbang hingga didapatkan berat tetap (A). Ditimbang contoh sebanyak 2 g (B), dimasukkan kedalam cawan porselin dan dipijarkan di atas nyala api pembakar bunsen hingga tidak berasap lagi. Setelah itu dimasukkan kedalam tanur listrik (*furnace*) dengan suhu 650 °C selama ± 12 jam. Selanjutnya cawan didinginkan selama 30 menit pada desikator, kemudian ditimbang hingga didapatkan berat tetap (C). Kadar abu dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{(A+B) - A}{B} \times 100 \%$$

(6) Kadar Protein (AOAC 1995)

Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode mikro Kjeldahl. Contoh sebanyak 0,75 g dimasukkan kedalam labu Kjeldahl, kemudian ditambahkan 6,25 g K₂SO₄ dan 0,6225 g CuSO₄ sebagai katalisator. Sebanyak 15 ml H₂SO₄ pekat dan 3 ml H₂O₂ secara perlahan-lahan ditambahkan kedalam labu dan didiamkan selama 10 menit dalam ruang asam.

Tahap selanjutnya adalah proses destruksi pada suhu 410 °C selama 2 jam atau hingga didapatkan larutan yang jernih, didiamkan hingga mencapai suhu kamar dan ditambahkan 50 – 75 ml akuades.

Disiapkan erlenmeyer berisi 25 ml larutan H₃BO₃ 4 % yang mengandung indikator (*bromocherosol green* 0,1 % dan *methyl red* 0,1 % (2:1)) sebagai penampung destilat. Labu Kjeldahl dipasang pada rangkaian alat destilasi uap. Ditambahkan 50 ml Na₂(SO₄)₃ (alkali). Dilakukan destilasi dan destilat ditampung dalam erlenmeyer tersebut hingga volume destilat mencapai 150 ml (hasil destilat berwarna hijau).

Destilat dititrasi dengan HCl 0,2 N, dilakukan hingga warna berubah menjadi abu-abu natural. Blanko dikerjakan seperti tahapn contoh. Pengujian contoh dilakukan duplo. Kadar protein ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar protein (\%)} = \frac{(A-B) \times \text{normalitas HCl} \times 14,007 \times 6,2}{W \text{ (g)}} \times 100 \%$$

Keterangan: A= ml titrasi HCl sampel

B = ml tirasi HCl blank

(7) Kadar Lemak (Apriyantono *et al.* 1989)

Labu lemak yang telah dikeringkan di dalam oven (105 °C) ditimbang hingga didapatkan berat tetap (A). Sebanyak 2 g contoh (C) dibungkus dengan kertas saring bebas lemak kemudian dimasukkan kedalam selongsong lemak. Selongsong tersebut dimasukkan kedalam tabung Soxhlet. Sebanyak 150 ml kloroform dimasukkan kedalam labu lemak. Contoh direfluks selama 8 jam, setelah pelarut sudah terlihat jernih menandakan lemak sudah terekstrak semua. Selanjutnya pelarut yang ada pada labu lemak dievaporasi untuk memisahkan pelarut dan

lemak, kemudian labu lemak dikeringkan dalam oven 105 °C selama 30 menit. Setelah itu ditimbang hingga didapatkan berat tetap (B). Kadar lemak dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \frac{(B - A)}{C} \times 100 \%$$

(8) Kadar Karbohidrat

Dilakukan dengan menghitung sisa (*by difference*):

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

(9) Logam Berat (Apriyantono *et al.* 1989)

Prinsip yang digunakan adalah penghilangan bahan-bahan organik dengan pengabuan kering, residu dilarutkan dalam asam encer. Larutan disebarkan dalam nyala api yang ada di dalam alat AAS sehingga absorpsi atau emisi logam dapat dianalisis dan diukur pada panjang gelombang. Kandungan logam berat yang ingin dianalisis adalah Pb, Zn, Cu dan As menggunakan Spektrofotometer Absorpsi Atom (AAS).

Prosedurnya sebanyak 5-6 ml HCl 6 N ditambahkan ke dalam cawan berisi abu, kemudian dipanaskan di atas hot plate (pemanas) dengan pemanasan rendah sampai kering. Setelah itu ditambahkan 15 ml HCl 3 N, lalu cawan dipanaskan di atas pemanas sampai mulai mendidih. Setelah didinginkan dan disaring, filtrat dimasukkan ke dalam labu takar yang sesuai. Diusahakan padatan tertinggal sebanyak mungkin dalam cawan, dan diencerkan dengan air sampai tanda tera. Blanko disiapkan menggunakan pereaksi yang sama.

Alat AAS diset sesuai petunjuk dalam manual alat tersebut. Diukur larutan standar logam, blanko dan larutan sampel. Selama penetapan sampel, dilakukan pemeriksaan apakah nilai standar tetap konstan. Kemudian dibuat kurva standar untuk masing-masing logam (nilai absorpsi/emisi vs konsentrasi logam dalam µg/ml).

(10) Kadar abu tidak Larut Asam (FMC Corp. 1977)

Karaginan yang telah diabukan dididihkan dengan 25 ml HCl 10 % selama 5 menit. Bahan-bahan yang tidak terlarut disaring dengan menggunakan kertas saring tak berabu. Kertas saring diabukan dengan cara yang sama seperti di atas, lalu didinginkan dalam desikator untuk

selanjutnya ditimbang. Kadar abu tidak larut asam diitung dengan rumus:

$$\text{Kadar abu tidak larut asam (\%)} = \frac{\text{Berat abu}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

(11) Kadar Sulfat (FMC Corp. 1977)

Prinsip yang dipergunakan adalah gugus sulfat yang telah ditimbang dan dihidrolisa diendapkan sebagai BaSO₄. Contoh ditimbang sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam labu erlemeyer yang ditambahkan 50 ml HCl 0,2 N kemudian direfluks sampai mendidih selama 6 jam sampai larutan menjadi jernih. Larutan ini dipindahkan ke dalam gelas piala dan dipanaskan sampai mendidih. Selanjutnya ditambahkan 10 ml larutan BaCl₂ di atas penangas air selama 2 jam.

Endapan yang terbentuk disaring dengan kertas saring tak berabu dan dicuci dengan akuades mendidih hingga bebas klorida. Kertas saring dikeringkan ke dalam oven pengering, kemudian diabukan pada suhu 1000 °C sampai diperoleh abu berwarna putih. Abu didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Perhitungan kadar sulfat adalah sebagai berikut :

$$\text{Kadar Sulfat (\%)} = \frac{P \times 0,4116}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

Keterangan:

0,4116 = massa atom relatif SO₄ dibagi dengan massa atom relatif BaSO₂

P = berat endapan BaSO₄ (g).

(12) Titik Leleh (Suryaningrum dan Utomo 2002)

Larutan karaginan dengan konsentrasi 6,67 % (b/b) disiapkan dengan akuades. Sampel diinkubasi pada suhu 10 °C selama ± 2 jam. Pengukuran titik leleh dilakukan dengan cara memanaskan gel karaginan dalam *waterbath*. Di atas gel karaginan tersebut diletakkan gotri dan ketika gotri jatuh ke dasar gel karaginan maka suhu tersebut dinyatakan sebagai titik leleh karaginan.

(13) Titik Jendal (Suryaningrum dan Utomo 2002)

Larutan karaginan dengan konsentrasi 6,67 % (b/b) disiapkan dengan akuades dalam gelas ukur volume 15 ml. Suhu sampel diturunkan secara perlahan-lahan dengan cara menempatkan pada wadah

yang telah diberi pecahan es. Titik jendal diukur pada saat larutan karaginan mulai membentuk gel dengan menggunakan termometer digital Hanna.

(14) Derajat Putih (Food Chemical Codex 1981)

Alat yang digunakan adalah Whiteness meter. Contoh sebanyak 3 g, diletakkan dalam satu wadah tertentu. Sebelumnya alat sudah disiapkan dan dihidupkan, standar petunjuk harus berada dalam posisi nol. Filter yang dapat digunakan ada tiga macam yaitu: biru, hijau dan merah dengan panjang gelombang masing-masing secara berurutan 425 nm, 550 nm, dan 520 nm. Perlakuan ini dapat diulang beberapa kali sampai mendapatkan nilai rata-rata yang tepat.

3.5 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap faktorial dengan tiga faktor utama yaitu: umur panen dengan 3 taraf, konsentrasi KOH dengan 3 taraf, dan lama ekstraksi dengan 2 taraf. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 (tiga) kali dengan jumlah satuan percobaan yang diamati adalah: $3 \times 3 \times 2 \times 3 = 54$ unit.

- Faktor masa panen (A):
 - A1 = umur 40 hari
 - A2 = umur 45 hari
 - A3 = umur 50 hari
- Faktor konsentrasi KOH (B):
 - B1 = 5 %
 - B2 = 7 %
 - B3 = 9 %
- Faktor lama ekstraksi (C):
 - C1 = 2 jam
 - C2 = 4 jam

Data hasil pengamatan diolah dengan analisis ragam dan dilanjutkan dengan Uji Beda Jarak Berganda Duncan (Steel dan Torrie, 1993). Data diolah dengan program SPSS 12 pada tingkat kepercayaan 95 %. Model rancangan percobaan yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Dimana:

- Y_{ijkl} = Nilai pengamatan
- μ = Nilai tengah umum
- A_i = Pengaruh umur panen taraf ke-i (i=1,2,3)
- B_j = Pengaruh konsentrasi KOH taraf ke-j (j=1,2,3)
- C_k = Pengaruh lama ekstraksi taraf ke-h (h=1,2)
- AB_{ij} = Pengaruh interaksi umur panen taraf ke-i (i=1,2,3) dengan konsentrasi KOH taraf ke-j (j=1,2,3)
- AC_{ik} = Pengaruh interaksi umur panen taraf ke-i (i=1,2,3) dengan lama ekstraksi taraf ke-h (h=1,2)
- BC_{jk} = Pengaruh interaksi konsentrasi KOH taraf ke-j (j=1,2,3) dengan lama ekstraksi taraf ke-h (h=1,2)
- ABC_{ijk} = Pengaruh interaksi umur panen taraf ke-i (i=1,2,3), konsentrasi KOH taraf ke-j (j=1,2,3) dan lama ekstraksi taraf ke-h (h=1,2)
- ε_{ijkl} = Pengaruh galat percobaan.