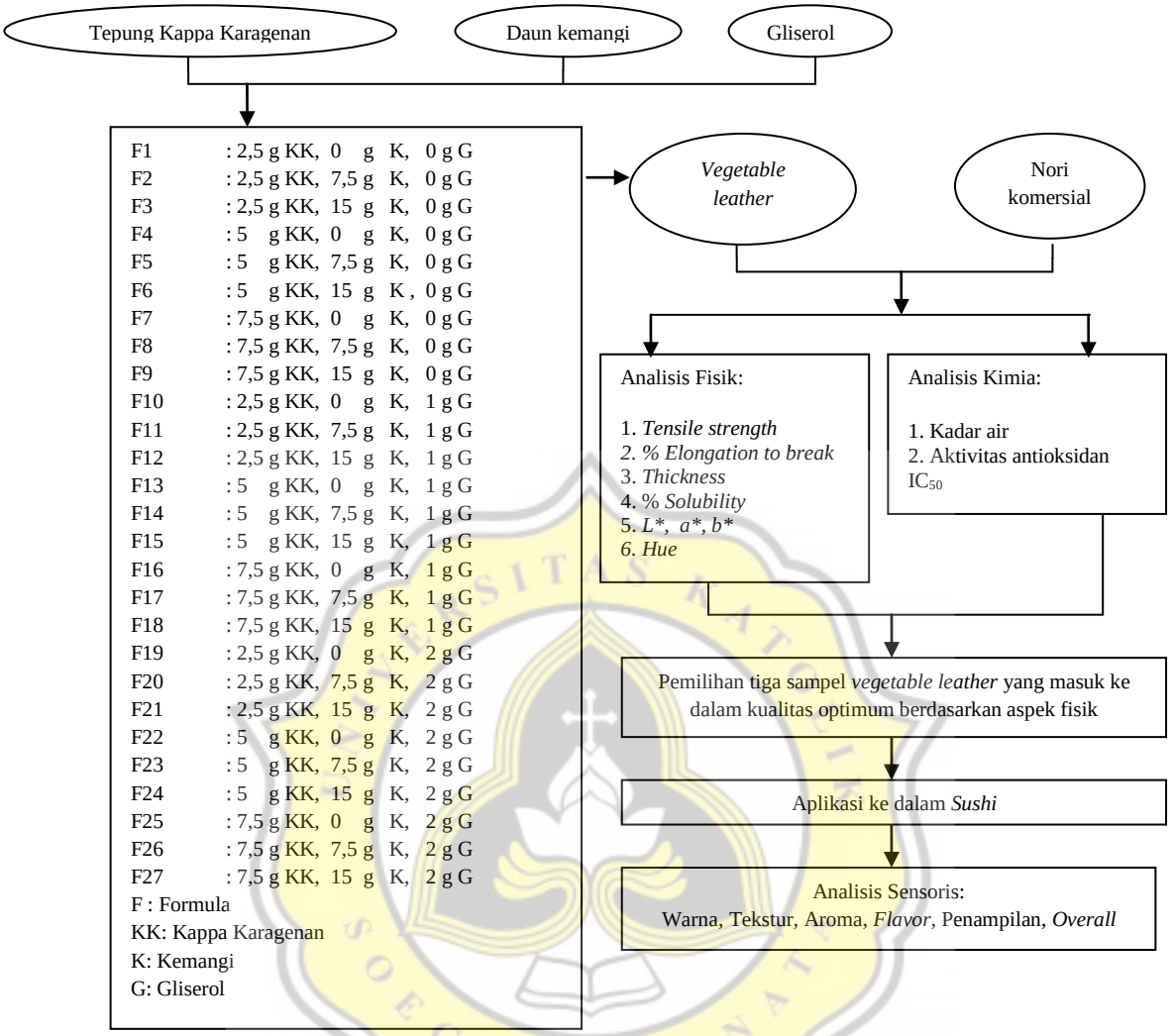
III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Ilmu Pangan, laboratorium Rekayasa Pangan, Laboratorium Skripsi, Laboratorium Penelitian dan laboratorium Kuliner Universitas Katolik Soegijapranata, Semarang. Penelitian ini berlangsung dari bulan 01 November 2018 hingga 10 Juli 2019.

3.2. Rancangan Percobaan Penelitian

Rancangan Percobaan Penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.



Keterangan:

▭ : Proses / Analisis

⬭ : Bahan / Produk

Gambar 3. Rancangan Percobaan Penelitian

3.3. Alat

Kompor, *beaker glass*, *magnetic stirrer*, *hot plate*, thermometer, statif, klem,*vortex*, *bamboo mat*, *rice cooker*, *cabinet dryer*, loyang kaca berukuran 35 × 26 × 2 cm, spektrofotometer, *thermocouple*, mikrometer sekrup, labu takar, pipet tetes, plastik mikha.

3.4. Bahan

Ekstrak *Refined Kappa Carrageenan*, air mineral, daun kemangi, gliserol, akuades, DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrasil) 0,05mM, metanol 75%.

3.5. Metode

3.5.1. Formulasi *Vegetable Leather* Kemangi

Di dalam penelitian ini, peneliti membuat *vegetable leather* dengan menggunakan tiga variabel bebas, yaitu kappa karagenan, gliserol dan kemangi. Variabel bebas kappa karagenan terdiri dari tiga konsentrasi yaitu 2,5-2,6 gram, 5,0-5,2 gram dan 7,5-7,7 gram. Variabel bebas gliserol yang terdiri dari satu gram dan 2,0-2,1 gram serta terdapat formula yang tidak menggunakan gliserol. Variabel bebas kemangi yaitu 7,5 g dan 15 g kemangi serta terdapat formula yang tidak menggunakan kemangi. Variasi formula yang disusun dan dilakukan di dalam penelitian ini adalah sebanyak 27 variasi formulasi. Variasi formulasi *vegetable leather* dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Variasi Formulasi *Vegetable Leather* Kemangi

Komponen	Formula																										
dasar	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15	F16	F17	F18	F19	F20	F21	F22	F23	F24	F25	F26	F27
KK (g)	2,5	2,5	2,6	5	5,1	5,2	7,5	7,6	7,7	2,5	2,5	2,6	5	5,1	5,2	7,5	7,6	7,7	2,5	2,5	2,6	5	5,1	5,2	7,5	7,6	7,7
K (g)	0	7,5	15	0	7,5	15	0	7,5	15	0	7,5	15	0	7,5	15	0	7,5	15	0	7,5	15	0	7,5	15	0	7,5	15
G (g)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2,1	2	2	2,1	2	2	2,1

Keterangan: KK: Kappa Karagenan, K: Kemangi. G: Gliserol

3.5.2. Proses Pembuatan *Vegetable Leather* Kemangi

Daun kemangi di *steam blanching* menggunakan suhu 60-70°C selama satu menit, kemudian kappa karagenan dicampurkan ke dalam 100 ml air matang (Rianse, 2017) setelah itu daun kemangi yang sudah di *blanching*, suspensi karagenan dan gliserol dimasukkan ke dalam *blender* dan ditambahkan 400 ml air matang lalu dilumatkan selama 30 detik (Rianse, 2017,

modifikasi) setelah itu, bubur daun kemangi dipanaskan menggunakan suhu 60-70°C selama dua menit sambil diaduk (Rodiyanti *et al.*, 2017) dengan kecepatan 60 rpm. Selanjutnya, bubur kemangi dituang ke dalam loyang kaca berukuran 35 ×26× 2 cm yang telah dilapisi oleh plastik *mika* (Rodiyanti *et al.*, 2017, modifikasi). Bubur kemangi dikeringkan di dalam *cabinet dryer* dengan suhu 60°C selama 21 jam (Rianse, 2017, modifikasi). Foto proses pembuatan *vegetable leather* kemangi dapat dilihat pada Gambar 4. Proses pembuatan *vegetable leather* kemangi dapat dilihat pada Gambar 5.

Kemangi segar

Pencucian

Pemetikkan daun

Penimbangan kemangi

Pemblansiran kemangi suhu 60-70°C selama 1 menit

Penimbangan air

Penimbangan Gliserol

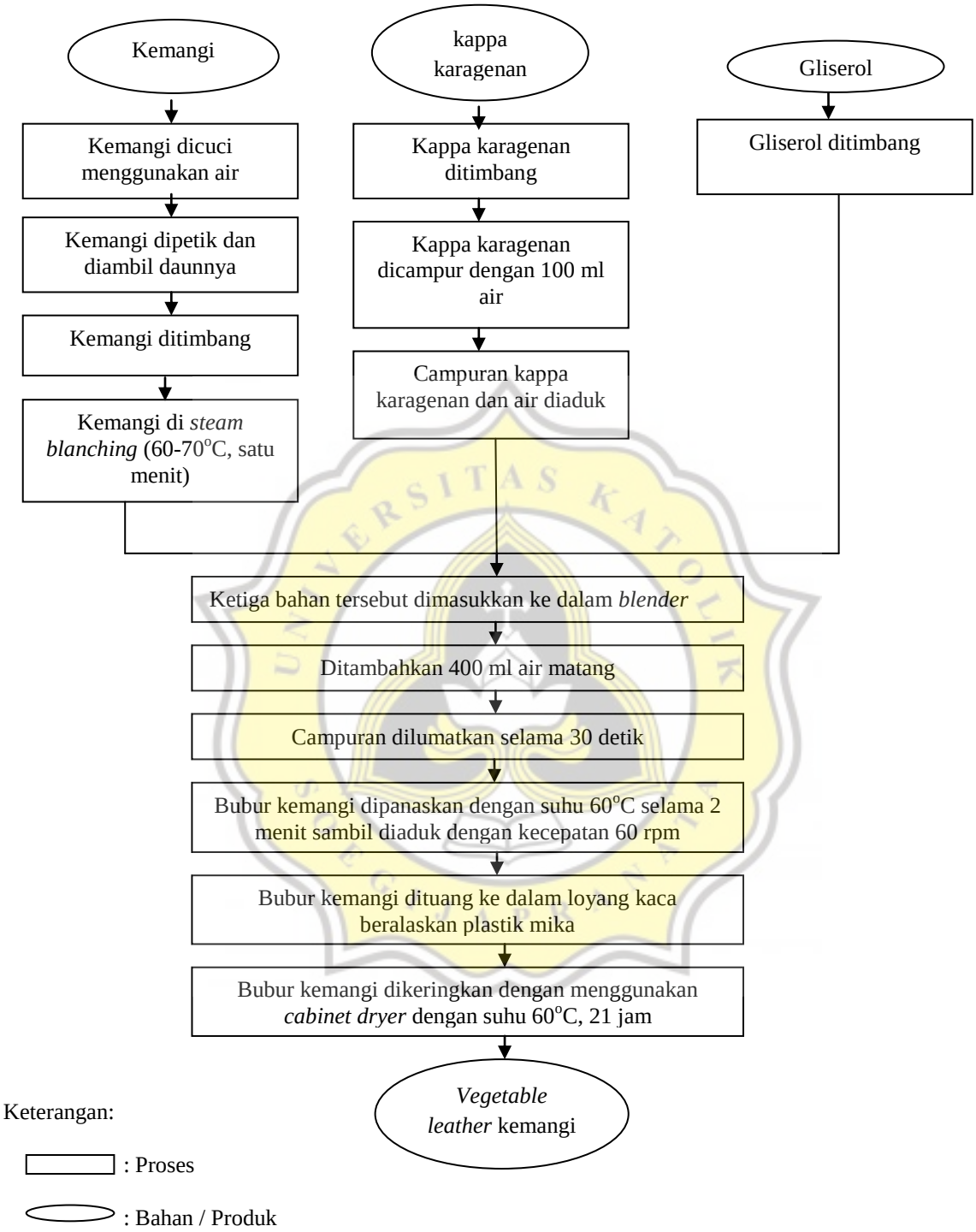
Penimbangan Karagenan

Pencampuran karagenan dengan 100 g air

UNIVERSITAS KATOLIK SOEGIJAPRANATA

Gambar 4. Proses Pembuatan *Vegetable Leather* Kemangi

(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

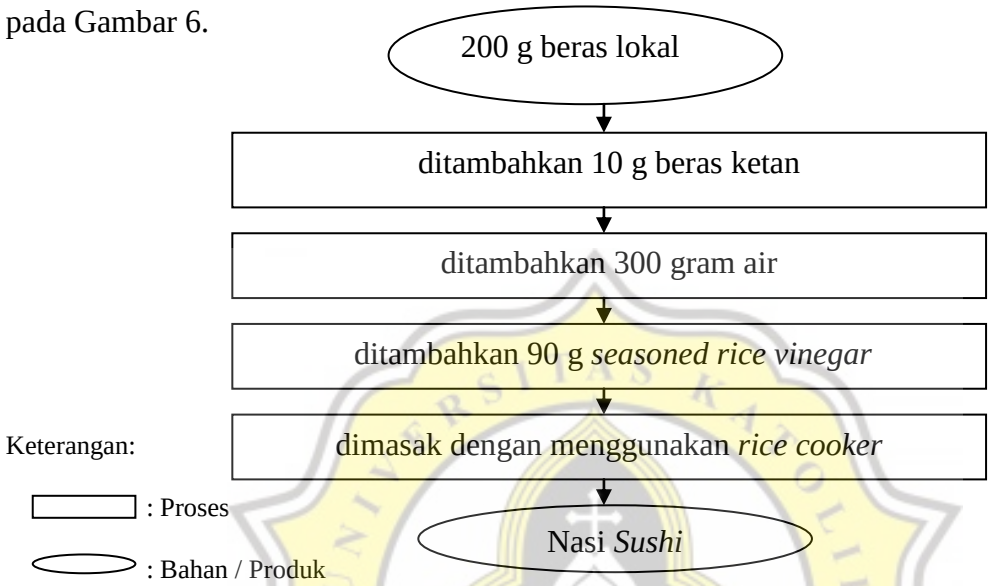


Gambar 5. Proses Pembuatan *Vegetable Leather* Kemangi

(Riyadi et al., 2016; Rianse, 2017; Rodiyanti et al., 2017, modifikasi)

3.5.3. Pembuatan Nasi *Sushi*

Sebanyak 200 g beras lokal dan 10 g beras ketan dimasukkan ke dalam 300 g air setelah itu, dimasak dengan menggunakan *rice cooker*. Campuran dimasukkan ke dalam mangkuk plastik besar dan ditambahkan *seasoned rice vinegar* dan diaduk. Pembuatan nasi *sushi* dapat dilihat pada Gambar 6.

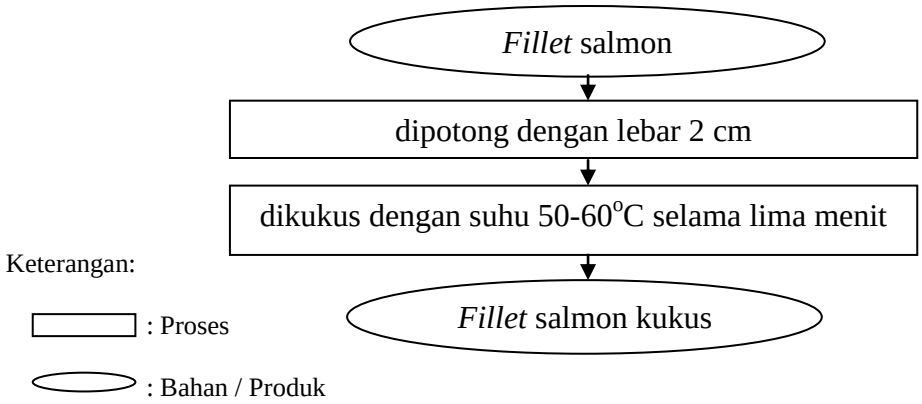


Gambar 6. Proses Pembuatan Nasi Sushi

(Rianse, 2017; Young, 2018)

3.5.4. Pengukusan Salmon

Fillet salmon disiapkan dan dipotong dengan lebar dua cm setelah itu, fillet dikukus dengan menggunakan suhu 50-60°C selama lima menit dengan menggunakan api kecil. Proses pengukusan ikan salmon dapat dilihat pada Gambar 7.

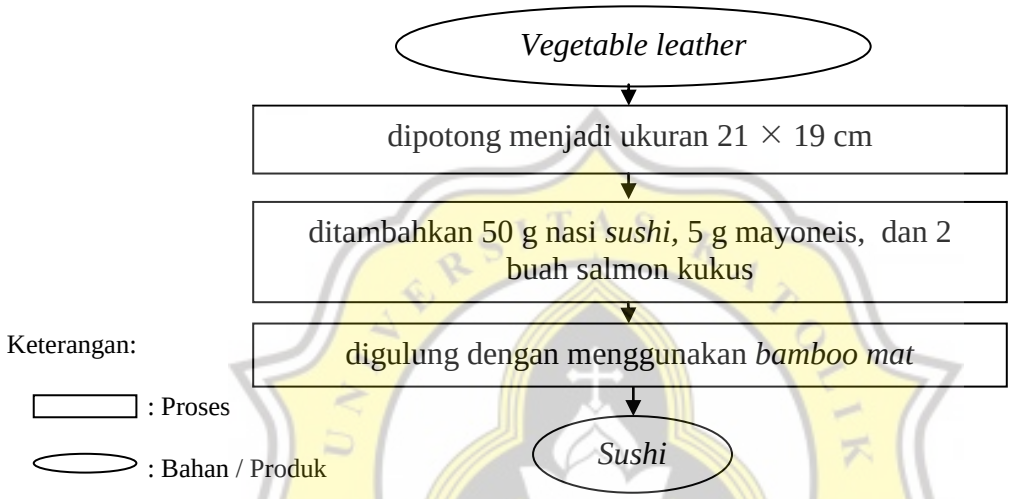


Gambar 7. Proses Pengukusan Ikan Salmon

(Mcgee, 2004; Mouritsen, 2009; Young, 2018)

3.5.5. Pembuatan *Sushi*

Pertama-tama lembaran *vegetable leather* dipotong menjadi ukuran 21 × 19 cm dan diletakkan nasi *sushi*, salmon dan mayoneis lalu, *vegetable leather* digulung dengan menggunakan *bamboo mat.* Proses pembuatan *sushi* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Proses Pembuatan *Sushi*

(Mcgee, 2004; Mouritsen, 2009; Young, 2018)

3.5.6. Analisis Kualitas *Vegetable Leather* Daun Kemangi.

a. Analisis Fisik

a.1. Uji *Thickness*(Rianse, 2017)

Vegetable leather dipotong dengan ukuran 2×2 cm. Uji ketebalan dilakukan dengan menggunakan mikrometer sekrup dengan tingkat ketelitian 0,001 mm.

a.2.. Uji *Tensile Strength* (ASTM, 2002)

Prinisip uji *tensile strength* adalah sampel ditarik hingga putus kemudian, gaya serta luas permukaan sampel diukur. Berdasarkan ASTM D882-00, uji *tensile strength* diteliti menggunakan *texture analyzer Lloyd* dengan *cross head speed* sebesar satu mm/s, Lembaran diapit dengan menggunakan klem, dengan jarak awal antar klem sebesar lima cm. Sampel

yang digunakan berukuran 1×9 cm. Data pengujian yang dianalisa harus berasal dari sampel yang putus di bagian tengah. *Tensile strength* dapat dihitung menggunakan rumus.

Rumus:

$$\textit{Tensile strength}(\sigma)\ (\mathrm{N/mm^2}) = \frac{\text{Maximum Load (N)}}{\text{Cross Sectional Area (mm}^2\text{)}}$$

a.3. Uji *Elongation to break*(ASTM, 2002)

Metode uji *elongation to break* adalah pertama-tama, sampel diapit dengan menggunakan *texture analyzer*, selanjutnya panjang sampel awal diukur menggunakan penggaris mika, lalu sampel ditarik dengan menggunakan alat hingga putus, setelah itu panjang sampel setelah putus diukur, kemudian panjang sampel setelah putus dikurangi dengan panjang awal sampel dan dibagi dengan panjang awal. Berdasarkan ASTM D882-00, uji *%elongation to break* diteliti menggunakan *texture analyzer Lloyd* dengan spesifikasi *cross head speed* sebesar satu mm/s, Lembaran diapit dengan menggunakan klem, dengan jarak awal antar klem sebesar lima cm. Sampel yang digunakan berukuran 1×9 cm. Data pengujian yang dianalisa harus berasal dari sampel yang putus di bagian tengah. *%Elongation to break* dapat dihitung dengan menggunakan rumus.

Rumus:

$$\%\textit{Elongation to break (\%)}: \frac{\text{Panjang awal (cm)} - \text{Panjang setelah putus (cm)}}{\text{Panjang awal (cm)}} \times 100\%$$

a.4. Uji *Modulus Young* (E)(Kadhim & Shakheer, 2018)

Prinisip uji *modulus young*adalah menarik sampel hingga putus kemudian, dilakukan pembagian antara nilai *tensile strength* dan *% elongation to break*.*Modulus young* dihitung dengan menggunakan rumus.

Rumus:

$$Modulus\ Young\ (\mathrm{E})(\mathrm{MPa}) = \frac{\mathrm{Stress}\ (\sigma)}{\mathrm{Strain}\ (\varepsilon)} = \frac{\frac{\mathrm{F\ (N)}}{\mathrm{A\ (m^2)}}}{\frac{\mathrm{L1-Lo\ (cm)}}{\mathrm{Lo\ (cm)}}}$$

Keterangan :
Modulus young (E) = Kekakuan (MPa)
Stress (σ) = nilai *tensile strength (*MPa*).*
Strain (ε) = nilai *elongation to break.*

a.5..Uji *Solubility* (AOAC, 1983)

Vegetable leather daun kemangi dipotong berukuran 2 cm × 2 cm. Sampel dan kertas saring dikeringkan secara terpisah dengan menggunakan suhu 105°C. Kertas saring ditimbang secara terpisah dengan berat sampel. Berat kertas saring dan sampel ditimbang (W1), setelah itu, sampel dilarutkan di dalam 50 ml air sambil diaduk secara periodik. Setelah larut, sampel disaring menggunakan kertas saring, selanjutnya, kertas saring dikeringkan menggunakan suhu 105°C lalu residu ditimbang (W2). Persen kelarutan dihitung dengan menggunakan rumus.

Rumus:

$$\%\ Solubility: \frac{W_1 - W_0}{W_0} \times 100\%$$

Keterangan:
W_0: berat kertas saring awal (g)
W_1: berat kertas saring akhir (g)

a.6. Uji Warna(Siah *et al.*, 2015)

Uji warna dilakukan pada aspek *lightness*, a*, b* (Siah *et al.*, 2015; Sajida, 2016) dan *hue*(Rodiyanti *et al.*, 2017; Sinurat, 2017). Nilai a* dan b* dihitung dengan menggunakan instrumen *Chromameter Minolta* CR 10.Berdasarkan CIE (*Commission Internationale de l'éclairage*) sistem L*, a* dan b*. Pertama-tama, kromameter minolta dikalibrasi terlebih

dahulu pada plat putih hingga mendapatkan nilai kalibrasi L= 94,76, a*= 0,795, b*=2,20 (Ulfah *et al.*, 2018), setelah itu digunakan pada produk *vegetable leather* kemangi.

Nilai L* sebesar 100 menunjukkan bahwa produk berwarna sangat terang, cenderung berwarna putih sedangkan nilai L* sebesar 0 menunjukkan bahwa produk berwarna sangat gelap, cenderung berwarna hitam. Nilai a* sebesar -60 menunjukkan bahwa produk berwarna kehijauan, sedangkan nilai a* sebesar +60 menunjukkan bahwa produk berwarna kemerahan. Nilai b* sebesar -60 menunjukkan bahwa produk berwarna kebiruan, sedangkan nilai b* sebesar +60 menunjukkan bahwa produk berwarna kekuningan (Ulfah *et al.*, 2018). Berdasarkan *review* Pathare *et al.* (2013) produk yang memiliki sudut *hue* sebesar 0° ataupun 360° memiliki warna merah, sudut *hue* sebesar 90° memiliki warna hijau, sudut *hue* sebesar 180° memiliki warna kuning dan sudut *hue* sebesar 270° memiliki warna biru. Nilai *hue* dihitung menggunakan rumus.

Rumus:

$$Hue\ (^o) : \tan^{-1}\left(\frac{b*}{a*}\right)$$

Keterangan :
b:* Nilai b* hasil pengukuran warna
a:* Nilai a* hasil pengukuran warna

b. Uji Kimia

b.1. Kadar Air (AOAC, 2005)

Menurut penelitian Rianse (2017), kadar air dilakukan dengan metode pengovenan. Pertama, cawan poselein dipanaskan dalam oven menggunakan suhu 105-110°C selama satu jam, kemudian didinginkan di dalam desikator selama 30 menit lalu, berat cawan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak dua gram dan diletakkan di dalam cawan, kemudian berat cawan + sampel ditimbang (B). setelah itu, cawan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C-110°C sampel konstan selama 24 jam dan didinginkan di dalam desikator selama 30 menit dan berat cawan setelah didinginkan, ditimbang (C). Kadar air dapat dihitung menggunakan rumus:

Rumus:

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

Keterangan:
A: Berat kering cawan (g)
B: Berat kering cawan dan sampel sebelum dikeringkan (g)
C: Berat kering cawan dan sampel setelah dikeringkan (g)

b.2. IC_{50} (Ariesta, 2016)

IC_{50} merupakan konsentrasi larutan yang dibutuhkan untuk menangkal sebanyak 50% radikal bebas. Sebanyak 0,05 g sampel ditimbang dan ditambahkan 50 ml methanol 75% setelah itu, larutan di *shaker* selama tiga jam dengan kecepatan 200 rpm. Setelah itu, larutan disaring menggunakan kertas saring dan dilanjutkan dengan pembuatan larutan blanko dan larutan dengan berbagai konsentrasi yaitu 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 800 ppm. Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan 75 ml methanol 99% dengan 25 ml akuades.

Larutan 200 ppm dibuat dengan cara mengencerkan sebanyak dua ml larutan stok (1000 ppm) dengan delapan ml methanol 75%. Larutan 400 ppm dibuat dengan cara mengencerkan sebanyak empat ml larutan stok (1000 ppm) dengan enam ml methanol 75%. Larutan 600 ppm dibuat dengan cara mengencerkan sebanyak enam ml larutan stok (1000 ppm) dengan empat ml methanol 75%. Larutan 800 ppm dibuat dengan cara mengencerkan sebanyak empat ml larutan stok (1000 ppm) dengan enam ml methanol 75% setelah itu, dari masing-masing larutan stok dan larutan blanko diambil sebanyak 0,1 µL menggunakan mikropipet dan ditambahkan tiga ml DPPH (1,1,-difenil-2-pikirilhydrazil) lalu ditunggu selama 30 menit kemudian di *vortex*.

Nilai absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 515 nm untuk formula dengan kemangi (Ariesta, 2016) sedangkan formula tanpa menggunakan kemangi digunakan panjang gelombang 517 nm (Tongnuanchan, 2015). Setelah ditemukan nilai abosrbansi dari masing-masing konsentrasi , selanjutnya % inhibisi dihitung menggunakan rumus.

Rumus:

$$\%\text{Inhibisi } (\%) = \frac{(\text{Ablanko} - \text{Asampel})}{\text{Ablanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Ablanko: Absorbansi blanko

Asampel: Absorbansi sampel

Setelah nilai %inhibisi ditemukan, selanjutnya membuat grafik menggunakan *Microsoft Excel* dengan konsentrasi X berupa konsentrasi ekstrak dan Y berupa %inhibisi dan mencari persamaan $y = ax + b$, Terakhir, IC_{50} dihitung dengan menggunakan rumus (Ariesta, 2016).

Rumus:

$$IC_{50}\,(\text{ppm}) = \frac{50 - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

a: *y intercept* dari grafik dengan sumbu X sebagai konsentrasi ekstrak dan sumbu Y sebagai nilai %inhibisi

b: gradien dari grafik dengan sumbu X sebagai konsentrasi ekstrak dan sumbu Y sebagai nilai %inhibisi

c. Penentuan Formulasi Terpilih

Berdasarkan hasil penelitian, *Tensile strength* yang didapat F21, *thickness* yang didapat F23 dan F24 termasuk kualitas optimum. F23 dan F24 memiliki *thickness*, yaitu 0,12 dan 0,13 mm, formula tersebut termasuk ke dalam kualitas optimum *thickness vegetable leather* yaitu 0,11-0,15 mm dan F21 memiliki *tensile strength*, yaitu 4,58 N/m^2 dan telah termasuk kualitas optimum *tensile strength* yaitu 1,59-4,68 N/m^2. Kualitas optimum masing-masing *vegetable leather* pada Tabel 4. ditentukan berdasarkan hasil sensori masing-masing penelitian dengan skor hedonik tertinggi.

d, Evaluasi Sensori *Sushi*

Pengujian hedonik dilakukan dengan metode *rating.* Pengujian dilakukan pada aspek *overall*, tekstur, warna, aroma, *flavour*, penampilan *sushi*(Rianse, 2017; Amiludin *et al.*, 2018). Pengujian menggunakan sembilan skala hedonik (9: sangat amat disukai; 8: sangat disukai; 7: disukai, 6:agak disukai, 5: netral. 4: agak tidak disukai; 3: tidak disukai; 2: sangat tidak disukai, 1: amat sangat tidak disukai). Panelis yang digunakan adalah panelis terlatih, yaitu koki yang menggeluti di bidang *Asian cuisine*. Pengujian yang dilakukan menggunakan pengujian *rating.* Panelis terlatih yang digunakan dalam penelitian ini adalah tidak merokok, mendapatkan gelar diploma / sarjana *culinary arts* dan sudah berpengalaman bekerja sebagai juru masak selama 20 tahun, menjabat sebagai *executive chef*(Chron, 2018).

Pengujian hedonik dilakukan dengan pengujian tipe monadik. Menurut Mazzucchelli & Guniard (1998) pengujian monadik adalah pengujian sensori yang metode penyajiannya secara satu per satu kemudian dari satu sampel dinilai keseluruhan atributnya. Sampel yang diujikan sebanyak empat sampel, tiga formulasi terbaik dan satu kontrol (nori komersial). Penentuan formulasi terbaik berdasarkan kemiripan aspek fisik *(elongation to break)* sampel dengan nori komersial.

Penggunaan sampel untuk sensori hanya sebatas empat, bertujuan untuk mencegah kelelahan pada panelis dan meminimalisir bias. Menurut Hui (2006) batas maksimal sampel yang diberikan kepada panelis adalah 5-6 sampel. *Nori* yang dipilih sebagai *nori* kontrol adalah *nori* komersial yang terdapat gambar *sushi*. Merk Tao Kae Noi tidak dipilih sebagai produk kontrol.

3.5.6. Analisis data

Pengujian warna yaitu *lightness*, tekstur yaitu *tensile strength, elongation to break, %solubility* kimia yaitu kadar air dilakukan dengan menggunakan rancangan faktorial 3×3×3 dengan menggunakan *Randomized Complete Block Design (RCBD).* Aspek sensori dianalisis dengan menggunakan *one way ANOVA (Analysis of Variances).* Aspek ketebalan, a*, b*, *hue, modulus young* dan IC_{50} tidak dianalisis secara statistik.Analisis fisik yaitu *tensile strength, elongation to break, modulus young*, *%solubility*, warna (*lightness*, a*, b*, *hue*) dilakukan

sebanyak tiga *batch* tiga kali ulangan. Analisis kimia yaitu kadar air dilakukan sebanyak tiga *batch* tiga kali ulangan sedangkan, analisis IC_{50} hanya dilakukan sebanyak tiga *batch* dua kali ulangan. Data di analisis dengan menggunakan SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versi 23.