

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian dan Biomassa, Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung dan Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung pada bulan April-Agustus 2012.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan antara lain ubi kayu varietas Kasesart yang diambil dari Kecamatan Natar, Lampung selatan, tepung ketan hitam dengan merk “kuda laut”, methanol, reagen follin, larutan standar asam tannat, H_2SO_4 , K_2S 4 %, NaOH 50 %, larutan standar HCl 0,1 N, HCl pekat, indikator fenolftalein, larutan standar NaOH 0,1 N, pelarut dietileter, petroleum benzene, alkohol 95%, dan aquades, aluminium foil.

Peralatan yang digunakan adalah blender, panci, Teflon, pipet tip, erlenmeyer oven, spatula, mikro pipet, pipet, tabung reaksi, gelas ukur, vortex, *shaker waterbath*, dan spektrofotometer, cawan porselen, tanur, desikator, labu Kjeldhal 30 ml merk Pyrex. Serta peralatan lainnya yang menunjang untuk uji organoleptik.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) faktor tunggal dengan 4 ulangan. Faktor perlakuan yaitu formulasi onggok dan ketan hitam yang terdiri dari 100:0 (F0), 90:10 (F1), 80:20 (F2), 70:30 (F3), 60:40 (F4), 50:50 (F5).

Data kemudian dianalisis dengan sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan. Kesamaan ragam diuji dengan uji Barlett. Kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey dan uji lanjut menggunakan uji BNT pada taraf uji 5%.

3.4 Pelaksanaan Kegiatan

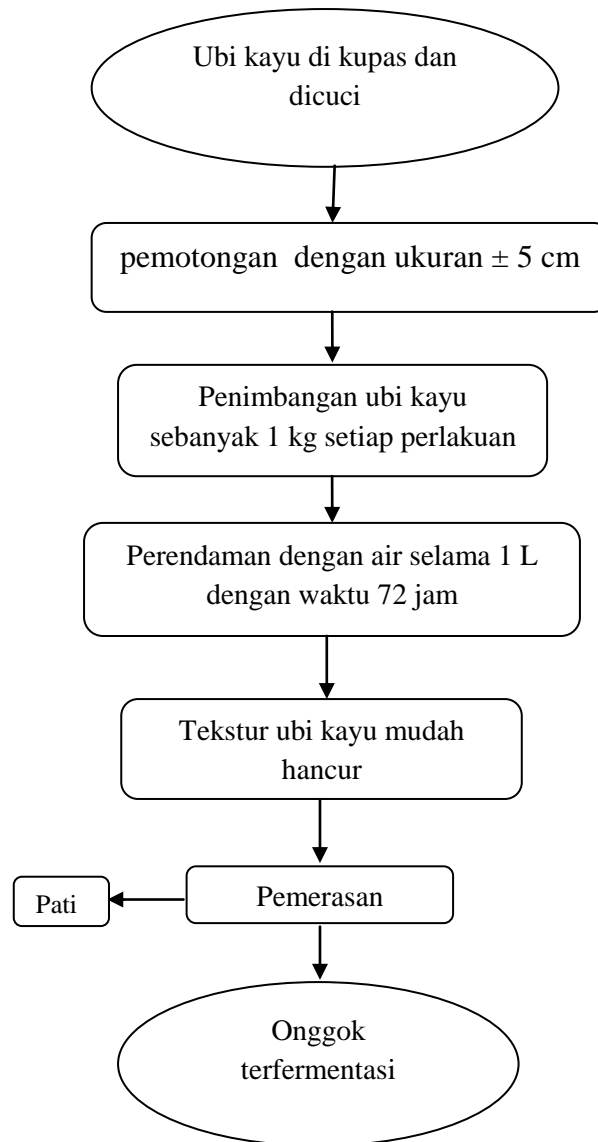
Pelaksanaan penelitian dilakukan dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian pembuatan beras onggok-ketan hitam.

3.4.1 Penelitian Pendahuluan

Penyiapan onggok

Proses diawali dengan pemotongan ubi kayu sepanjang 5 cm. Potongan ubi kayu ini ditimbang sebesar sebanyak 1000 g untuk setiap perlakuan, kemudian direndam dalam baskom plastik yang berisi air sebanyak satu liter dengan waktu perendaman 72 jam (Obilie *et al.*, 2003 dan Pambayun *et al.*, 1997). Perendaman dengan lama waktu yang telah ditentukan diperoleh data tekstur ubi kayu yang mudah hancur. Selanjutnya dilakukan proses pemerasan untuk memisahkan pati

dan ampas ubi kayu dicuci. Ampas ubi kayu inilah yang disebut ongkok terfermentasi Diagram alir perendaman ongkok dapat dilihat pada Gambar 4.

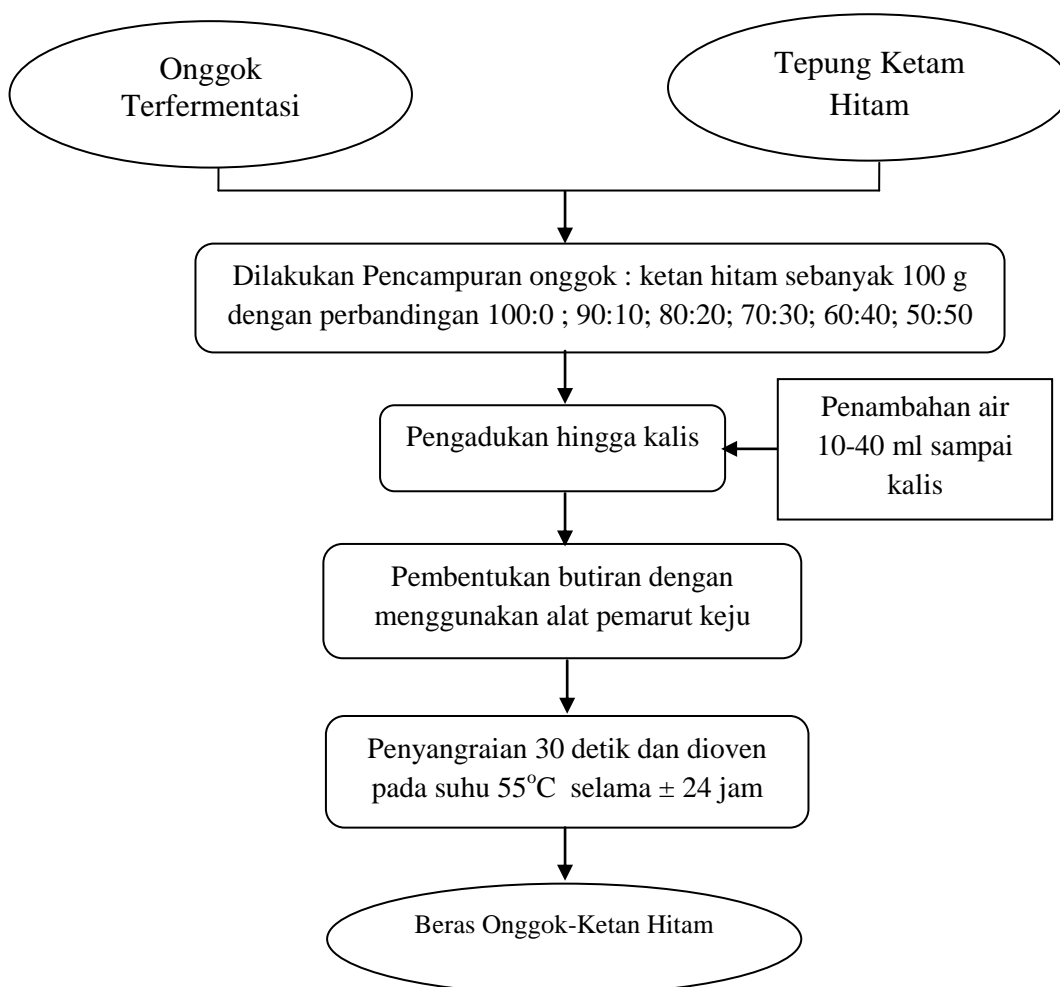


Gambar 4. Pembuatan ongkok terfermentasi

Sumber : Obilie *et al.* (2003) dan Pambayun *et al.* (1997).

3.4.2 Preparasi Beras analog

Onggok terfermentasi dicampur dengan tepung ketan hitam dengan 5 taraf perbandingan onggok : ketan hitam (100:0; 90:10; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50). Berat per sampel yang digunakan adalah 100 g, formulasi bahan baku diaduk sampai kalis, kemudian dibentuk menjadi butiran-butiran beras dengan menggunakan alat pamarut keju. Setelah terbentuk butiran sampel disangrai selama 5 menit selanjutnya dikeringkan dengan oven pada suhu 55°C selama 24 jam. Diagram alir pembuatan beras analog disajikan pada Gambar 6.



Gambar 5. Pembuatan beras analog

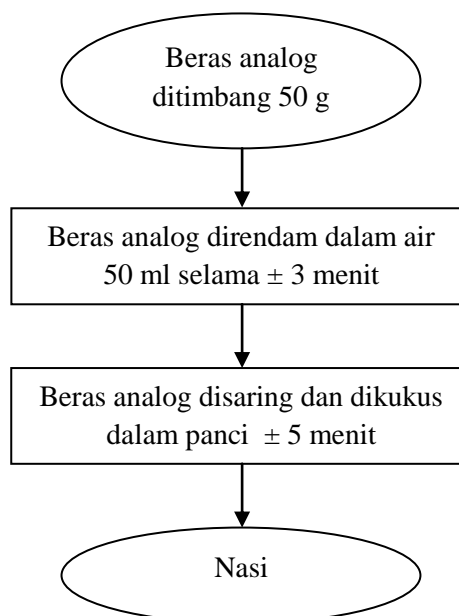
Sumber : Obilie *et al.* (2003) ; Pambayun *et al.* (1997); Sefa-Dedeh *et al.* (2003).



Gambar 6. Adonan formulasi onggok terfermentasi dengan ketan hitam

3.4.3 Pengukusan Beras Analog

Pengukusan beras analog dilakukan dengan cara 50 g sampel di rendam dalam 50 ml air selama ± 3 menit. Sampel disaring kemudian dikukus dalam panci selama ± 5 menit. Diagram alir dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 7. Penanakan beras analog

3.5 Pengamatan

3.5.1 Pengujian Organoleptik Produk

Pengujian organoleptik produk beras onggok dan ketan hitam yang akan diamati ada beberapa parameter yaitu tekstur, warna, rasa, penampakan dan aroma. Pengujian ini akan dilakukan dengan metode skoring baik yang belum dimasak maupun yang telah dimasak serta uji hedonic untuk penerimaan keseluruhan baik sampel mentah maupun yang telah dikukus. Proses pemasakan dilakukan dengan cara pengkukusan. Penyajian untuk uji organoleptik yaitu dengan memberikan tiga angka acak pada wadah untuk penyajian. Lembar pengujian disajikan seperti yang terdapat pada Gambar 8 dan 9.

UJI ORGANOLEPTIK

Nama : Sampel : Beras Fungsional
 NPM :
 Tanggal :

Dihadapan anda disajikan 6 buah sampel beras fungsional yang belum dimasak harap dievaluasi aroma, warna dan penerimaan keseluruhan. Gunakan skala dibawah tabel untuk menyatakan penilaian anda dengan menuliskan angka skala pada kolom dibawah ini.

Pengamatan	Kode sampel					
	021	182	318	468	476	532
Aroma						
Warna						
Penerimaan keseluruhan						

Warna		Aroma	
Ungu kehitaman	5	Dominan Ketan hitam	5
Ungu	4	sedikit ketan hitam	4
Ungu sedikit putih	3	Netral	3
Agak putih	2	Sedikit onggok	2
Putih	1	Dominan Onggok	1

Penerimaan keseluruhan (Uji hedonic)

Sangat suka	5
Suka	4
Netral	3
Tidak suka	2
Sangat tidak suka	1

Gambar 8. Petunjuk pengujian sifat organoleptik beras analog mentah

UJI ORGANOLEPTIK

Nama : Sampel : Beras Fungsional
 NPM :
 Tanggal :

Dihadapan anda disajikan 6 buah sampel beras fungsional yang sudah dimasak harap dievaluasi warna, rasa, tekstur, aroma dan penerimaan keseluruhan. Gunakan skala dibawah tabel untuk menyatakan penilaian anda dengan menuliskan angka skala pada kolom dibawah ini.

Pengamatan	Kode sampel					
	237	307	325	362	371	457
Warna						
Rasa						
Tekstur						
Aroma						
Penerimaan keseluruhan						

Warna		Rasa	
Ungu Kehitaman	5	Ketan hitam	5
Ungu	4	Agak ketan hitam	4
Ungu sedikit putih	3	Tawar	3
Agak putih	2	Agak asam	2
Putih	1	Asam	1
Tekstur		Aroma	
Sangat pulen	5	Ketan hitam	5
Pulen	4	Sedikit ketan hitam	4
Agak pulen	3	Netral	3
Pera	2	Sedikit onggok	2
Sangat pera	1	Onggok	1
Penerimaan keseluruhan (Uji hedonic)			
Sangat suka	5		
Suka	4		
Netral	3		
Tidak suka	2		
Sangat tidak suka	1		

Gambar 9. Petunjuk pengujian sifat organoleptik beras analog kukus

3.5.2 Pengamatan Kandungan Proksimat Beras analog

Pengamatan proksimat beras analog meliputi pengujian kadar air (AOAC, 1984), kadar lemak dengan metode sokhlet (Sudarmadji, 1984), kadar protein dengan metode Kjeldahl (Sudarmadji, 1984), kadar abu (AOAC, 1984), kadar serat kasar (Sudarmadji, 1984), kadar karbohidrat dengan metode by different (Winarno, 1992).

a. Kadar Air

Pengukuran kadar air dilakukan secara Gravimetri (AOAC, sebanyak 3 g sampel yang telah dihaluskan ditimbang dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya. Sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 3 jam. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel dipanaskan lagi dalam Oven selama 30 menit, sampel didinginkan dalam desikator dan ditimbang, perlakuan ini diulang hingga berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg). Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan.

$$\% \text{ Air} = \frac{B-C}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat Contoh

B = Cawan + Contoh Basah

C = Cawan + Contoh Kering

b. Kadar Lemak

Pengukuran kadar lemak dilakukan berdasarkan metode *sokhlet* (Sudarmadji, 1984). Labu lemak dikeringkan di dalam oven lalu ditimbang. Sampel seberat 2

gram dibungkus kertas saring dan dimasukkan ke dalam alat *ekstraksi sokhlet*. Kemudian alat dipasang. *Petroleum benzene* dituangkan ke dalam labu lemak dan di ekstraksi selama 5 jam. Cairan yang ada di dalam labu lemak didistilasi dan pelarutnya ditampung. Labu lemak yang berisi lemak tersebut diuapkan dalam oven 105°C (15-20 menit). Kemudian ditimbang sampai beratnya konstan.

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \frac{\text{Bobot lemak (g)}}{\text{Bobot sampel (g)}} \times 100$$

c. Kadar Protein

Protein ditentukan dengan menggunakan metode *Gunning* (Sudarmadji, 1984). Sampel sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam labu *Kjedahl*, ditambahkan 10 g K_2S dan 10-15 ml H_2SO_4 pekat. Kemudian dilakukan distruksi diatas pemanas listrik dalam lemari asam, mula mula dengan api kecil, setelah asap hilang api dibesarkan, pemanasan diakhiri setelah cairan menjadi jernih tak berwarna lagi. Blanko disiapkan dengan cara perlakuan diatas tanpa menggunakan sampel. Setelah labu *Kjedahl* beserta cairannya menjadi dingin kemudian ditambah 100 ml aquades serta larutan NaOH 45% sampai cair bersifat basis. Labu *Kjedahl* dipasang segera pada alat destilasi. Labu tersebut dipanaskan sampai amonia menguap semua, destilat ditampung dalam Erlenmeyer yang berisi 25 ml HCl 0,1N yang telah diberi indikator pp 1% beberapa tetes. Distilasi di akhiri setelah volume distilat 150 ml atau setelah distilat yang keluar bersifat basis. Distilat dititrasi dengan larutan NaOH 0,1N.

Kadar protein sampel di hitung dengan rumus :

$$\% N = \frac{(\text{mL NaOH blanko} - \text{mL NaOH contoh})}{\text{g contoh} \times 10} \times N \text{ NaOH} \times 14,008$$

$$\% \text{ Protein} = \% N \times \text{Faktor konversi}$$

$$\text{Faktor konversi} = 6,25$$

d. Kadar Abu

Pengukuran kadar abu dilakukan dengan metode AOAC (1984). Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 3 gr dalam cawan porselen yang telah diketahui beratnya. Cawan berisi sampel dibakar di atas kompor hingga tidak berasap. Kemudian dipijarkan dalam Tanur pada suhu 600°C selama 4 jam (hingga diperoleh abu berwarna keputih-putihan). Cawan dan abu didinginkan dalam deksikator kemudian ditimbang.

$$\% \text{ Abu} = \frac{B - C}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat Contoh

B = Cawan + Abu

C = Cawan kosong

f. Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat diukur dengan menggunakan metode by different (Winarno, 1992), perhitungan untuk analisis kadar karbohidrat ini adalah :

$$\% \text{ Karbohidrat} = 100\% - \% (\text{protein} + \text{Lemak} + \text{Abu} + \text{Air})$$

3.5.3 Penentuan Tingkat Konversi Beras Menjadi Glukosa Menggunakan Enzim α -amilase

Tingkat konversi beras menjadi selulosa ditentukan dengan cara sebagai berikut. Sebanyak 1 g sampel disuspensikan dalam 100 ml aquades. Sampel lalu dipanaskan dalam air hingga suhu 90 °C. Proses liquifikasi dilakukan dengan penambahan 0,5 ml enzim alfa amilase pada suhu 40 °C selama 20 menit, kemudian penentuan total glukosa beras analog ditentukan dengan menggunakan metode *Luff Schoorl* (AOAC, 1990).

Sampel ditimbang sebanyak 5 g dan dilarutkan dalam aquades sampai volume 100 ml. kemudian ditambahkan Pb asetat untuk penjernihan, setelah itu ditambahkan Na₂CO₃ untuk menghilangkan kelebihan Pb asetat, ditambahkan aquades hingga 250 ml. Diambil 25 ml larutan sampel dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer, serta ditambahkan 25 ml larutan Luff-Schoorl. Dibuat perlakuan blanko yaitu 25 ml larutan Luff-schoorl ditambah 25 ml aquades. Erlenmeyer dihubungkan dengan pendingin balik dan didihkan selama 10 menit. Sampel didinginkan dan ditambah 15 ml KI 20% dan dengan hati-hati ditambahkan 25 ml H₂SO₄ 26,5%. Yodium yang dititrasi dibebaskan dengan larutan Na-Thiosulfat 0,1 N memakai indicator pati 1% sebanyak 2-3 tetes. (Titrasi diakhiri setelah timbul warna krem susu).

Perhitungan :

$$\frac{(\text{Titration blanko} - \text{Titration sample} *)}{\text{weight sample}} \times 100$$

Keterangan : * Dimasukkan dalam Tabel 5

Tabel 5. Penentuan glukosa, fruktosa dan gula invert dalam suatu bahan dengan menggunakan metode Luff-schoorl.

M1 0,1 N Na-Thiosulfat	Glukosa, fruktosa, gula invert mg C ₆ H ₁₂ O ₆		M1 0,1 N Na-Thiosulfat	Glukosa, fruktosa, gula invert mg C ₆ H ₁₂ O ₆	
		Δ			Δ
1	2,4	2,4	13	33,0	2,7
2	4,8	2,4	14	35,7	2,8
3	7,2	2,5	15	38,5	2,8
4	9,7	2,5	16	41,3	2,9
5	12,2	2,5	17	44,2	2,9
6	14,7	2,5	18	47,3	2,9
7	17,2	2,6	19	50,0	3,0
8	19,8	2,6	20	53,0	3,0
9	22,4	2,6	21	56,0	3,1
10	25,0	2,6	22	59,1	3,1
11	27,6	2,7	23	62,2	-
12	30,3	2,7	24	-	-

3.5.4 Pengujian Total Fenol

Total fenol pada beras analog dapat ditentukan dengan metode Follin ciocalteu (Swain dan Hillis, 1959). Sampel sebanyak 5 g disuspensikan dalam 25 ml methanol 80%, lalu sebanyak 1 ml larutan sampel diambil dan dimasukkan kedalam vial dan ditambahkan dengan 1 ml reagen Folin Ciocalteu 0,25 N. Larutan sampel di homogenisasi dengan menggunakan vortex kemudian didiamkan selama ± 3 menit. Lalu ditambahkan 1 ml Na₂CO₃ 1 N dan dihomogenasi kembali dengan vortex. Setelah itu ditambahkan aquades hingga 10 ml. lalu didiamkan selama ± 10 menit. Kemudian didiamkan selama ± 2 jam. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan 725 nm yang akan memberikan kompleks biru.

Kadar total fenol (mg/l) dihitung berdasarkan kurva standar. Larutan standar berupa larutan asam tannat berkonsentrasi 0 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$, 4 $\mu\text{g/ml}$, 6 $\mu\text{g/ml}$, 8

$\mu\text{g/ml}$, $10 \mu\text{g/ml}$ (Lampiran Gambar 12). Selanjutnya larutan standar yang telah disiapkan tersebut dianalisis dengan prosedur yang sama dengan prosedur yang digunakan pada penentuan total fenol sampel. Absorbansi yang ditunjukkan oleh masing-masing sampel kemudian dikonversi menjadi kandungan fenol menggunakan kurva standar yang telah disiapkan sebelumnya