

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Maret sampai Agustus 2011 di beberapa laboratorium, yaitu di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian dan Laboratorium Pengolahan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung serta *Pilot Plan* Politeknik Negeri Lampung.

B. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian terdiri dari bahan baku utama dan bahan tambahan. Bahan baku utama yang digunakan adalah pati sukun (dibuat sendiri dari buah sukun berumur 5 bulan yang berasal di daerah sekitar Bandar Lampung), tapioka (pati ubi kayu) merek Sagu Tani Bogor), pati sagu aren merek Morissi, mie pati beras komersial merek Dua Burung Hong produksi Sumber Alam Bogor yang dibeli di Chandra supermarket, mie pati jagung komersial merek Tanam Jagung produksi PT. Subafod Pangan Jaya Tangerang yang dibeli di Chandra supermarket. Bahan tambahan yang digunakan dalam pembuatan mie adalah guar gum, STTP, dan Minyak goreng merek Bimoli. Bahan kimia yang digunakan diantaranya enzim α -amilase, enzim pepsin, enzim pankreatin, enzim

protease, buffer fosfat, aquades, HCL, NaOH, etanol, aseton, fenol, H₂SO₄, K₂SO₄, indikator pp, petroleum benzene, HgO, H₃BO₃, NaS₂O₃.

2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, pipet tetes, erlenmeyer, *baker glass*, timbangan, pisau, baskom, oven, kain saring, plastik, wadah alumunium, mesin pencetak mie (Oxone-355at), refrigrator, desicator, cawan porselen, panci, *hot plate*, sendok, *cabinet dryer*, termometer, cawan porselen, dan *glucometer* merek Gluppy.

C. Metode Penelitian

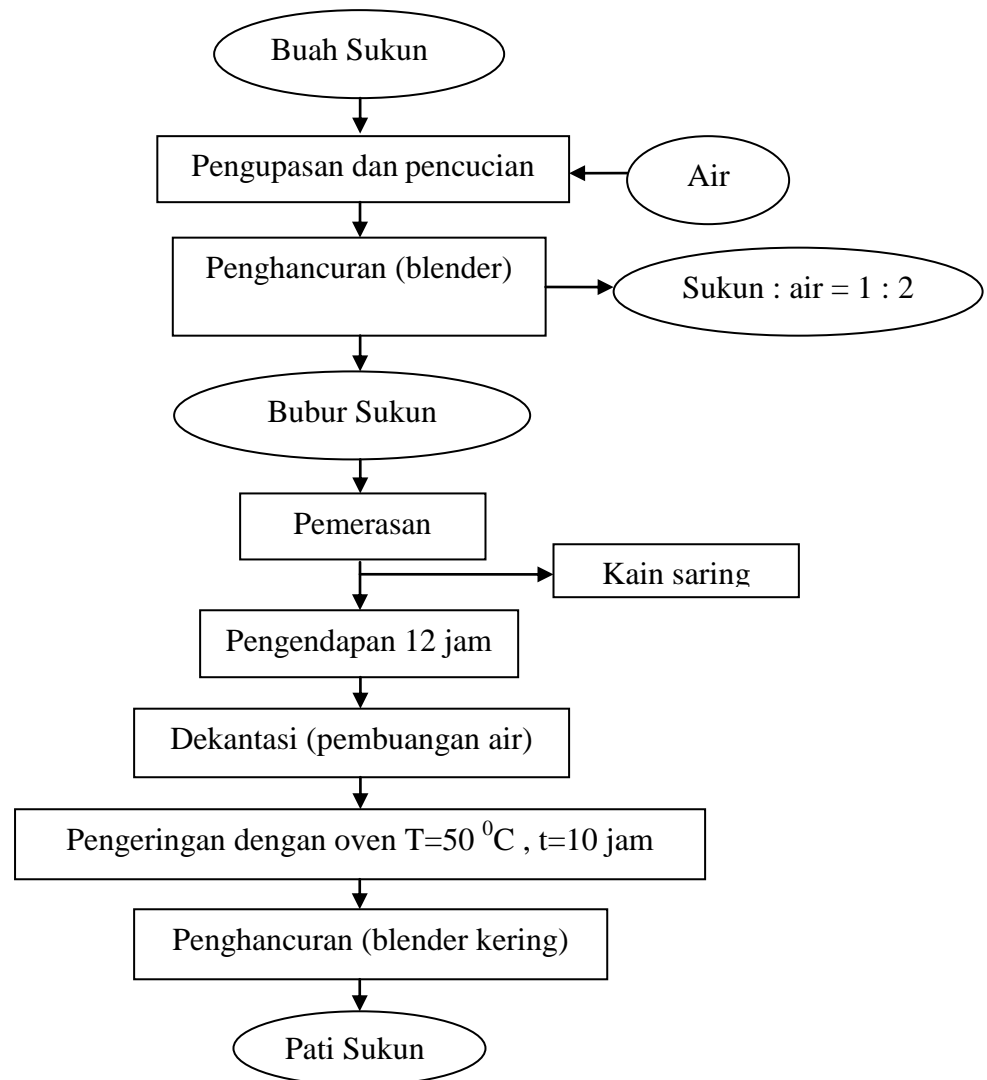
Penelitian disusun dalam faktor tunggal dengan dua ulangan. Faktor tunggal tersebut adalah jenis mie yaitu mie pati sukun, mie pati sagu, mie pati singkong, mie beras komersial, dan mie pati jagung komersial. Data hasil penelitian yaitu evaluasi nilai gizi mie dengan parameter kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat, kadar serat kasar, total serat pangan, pati resisten, dan daya cerna pati, serta nilai indeks glikemik dirata-rata dan disajikan secara deskriptif dalam bentuk diagram batang.

Penelitian dimulai dengan pembuatan pati sukun (Gambar 1). Setelah diperoleh pati sukun, dilakukan pembuatan mie pati sukun (Gambar 2). Proses pembuatan mie pati sagu disajikan pada Gambar 3, Sedangkan pembuatan mie pati singkong tersaji pada Gambar 4.

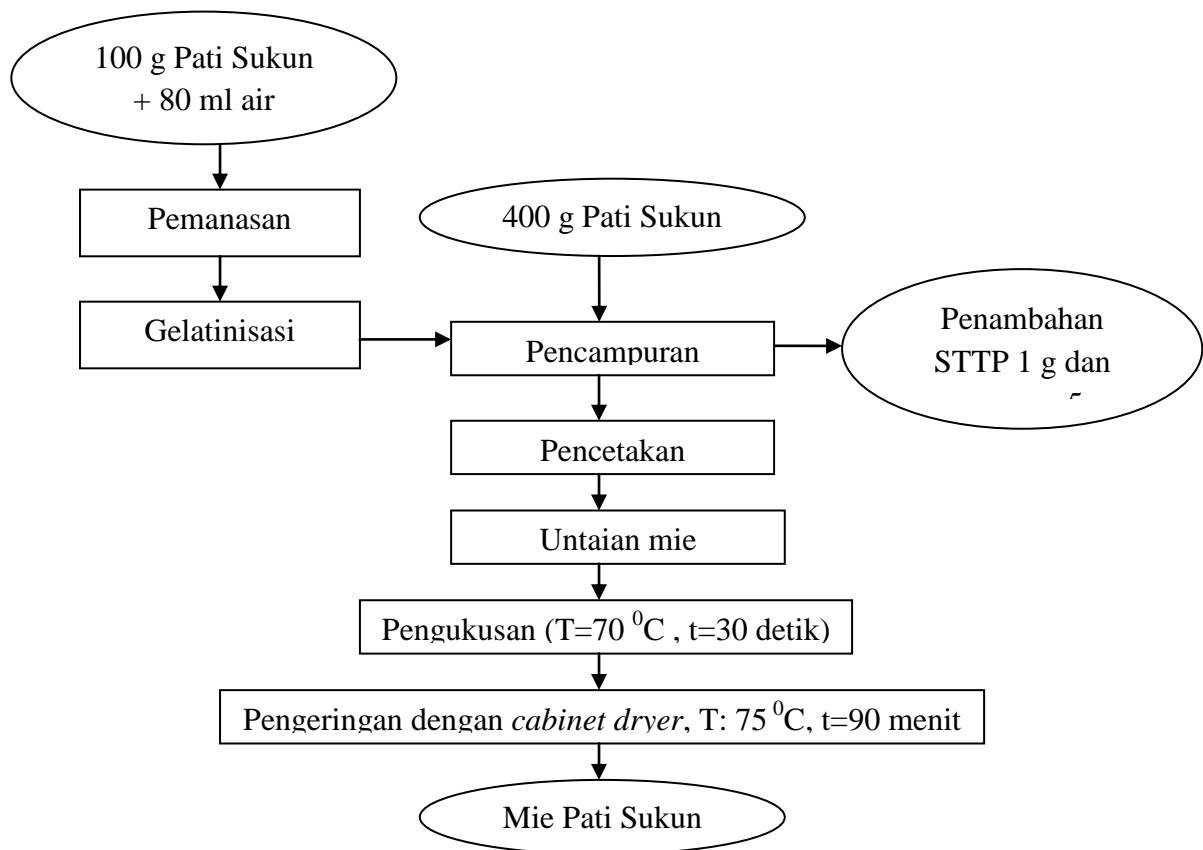
D. Tahapan Penelitian

1. Pembuatan Mie Pati Sukun

Pembuatan mie pati sukun diawali dengan pembuatan pati sukun. Pati sukun diekstrak dari buah sukun dengan tingkat kematangan optimum yaitu tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua. Buah sukun dikupas bersih, kemudian dipotong-potong. Selanjutnya diparut atau dihancurkan dengan blender. Penghancuran bertujuan untuk merusak jaringan umbi dan sel-sel umbi agar sari pati dari umbi mudah keluar. Bahan hasil penghancuran (bubur sukun) ditambahkan air dengan perbandingan air dan umbi sebesar 2:1. Penyaringan dilakukan sebanyak 2–3 kali hingga seluruh pati terlarut yang ditandai dengan air yang semakin jernih. Selanjutnya pati dibiarkan mengendap dengan memperhatikan lapisan air di bagian atasnya. Semakin jernih air berarti pengendapan semakin baik. Setelah air endapan dibuang, pati dikeringkan dalam oven selama 24 jam dengan suhu 50 °C. Pati sukun yang sudah kering dapat disimpan dalam plastik. Diagram alir ekstraksi pati sukun dapat dilihat pada Gambar 1. Sedangkan pembuatan mie pati sukun (Hadi, 2011) disajikan pada Gambar 2.



Gambar 1. Diagram alir ekstraksi pati sukun (Aminah, 2002)

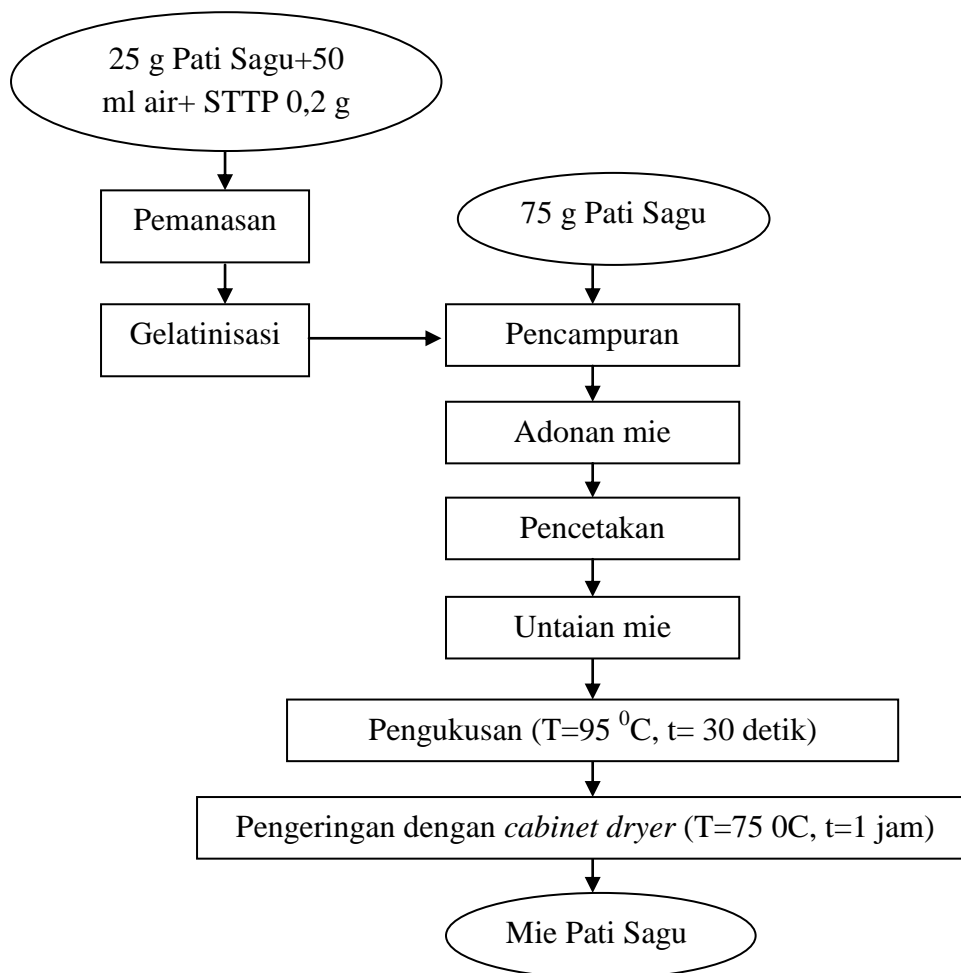


Gambar 2. Diagram alir pembuatan mie pati sukun (Modifikasi Hadi, 2011)

2. Pembuatan Mie Pati Sagu

Metode pembuatan mie pati sagu mengacu pada Ramadhan (2009) yang dimodifikasi. Pembuatan mie pati sagu ini terdiri atas beberapa tahap, meliputi pembuatan *binder* adonan, pembuatan adonan, pencetakan mie, pengukusan, dan pengeringan. *Binder* adonan dibuat dengan cara mencampurkan 25% pati sagu dari total pati yang digunakan untuk adonan dengan air hingga terbentuk suspensi. Perbandingan pati sagu dengan air yang digunakan adalah 1:2. Selanjutnya suspensi pati dipanaskan hingga mengental. Pati yang telah mengental atau tergelatinisasi seluruhnya digunakan sebagai *binder*. Adonan dibuat dengan mencampurkan *binder*, pati kering, dan guar gum 0,2 g. Campuran diaduk dan

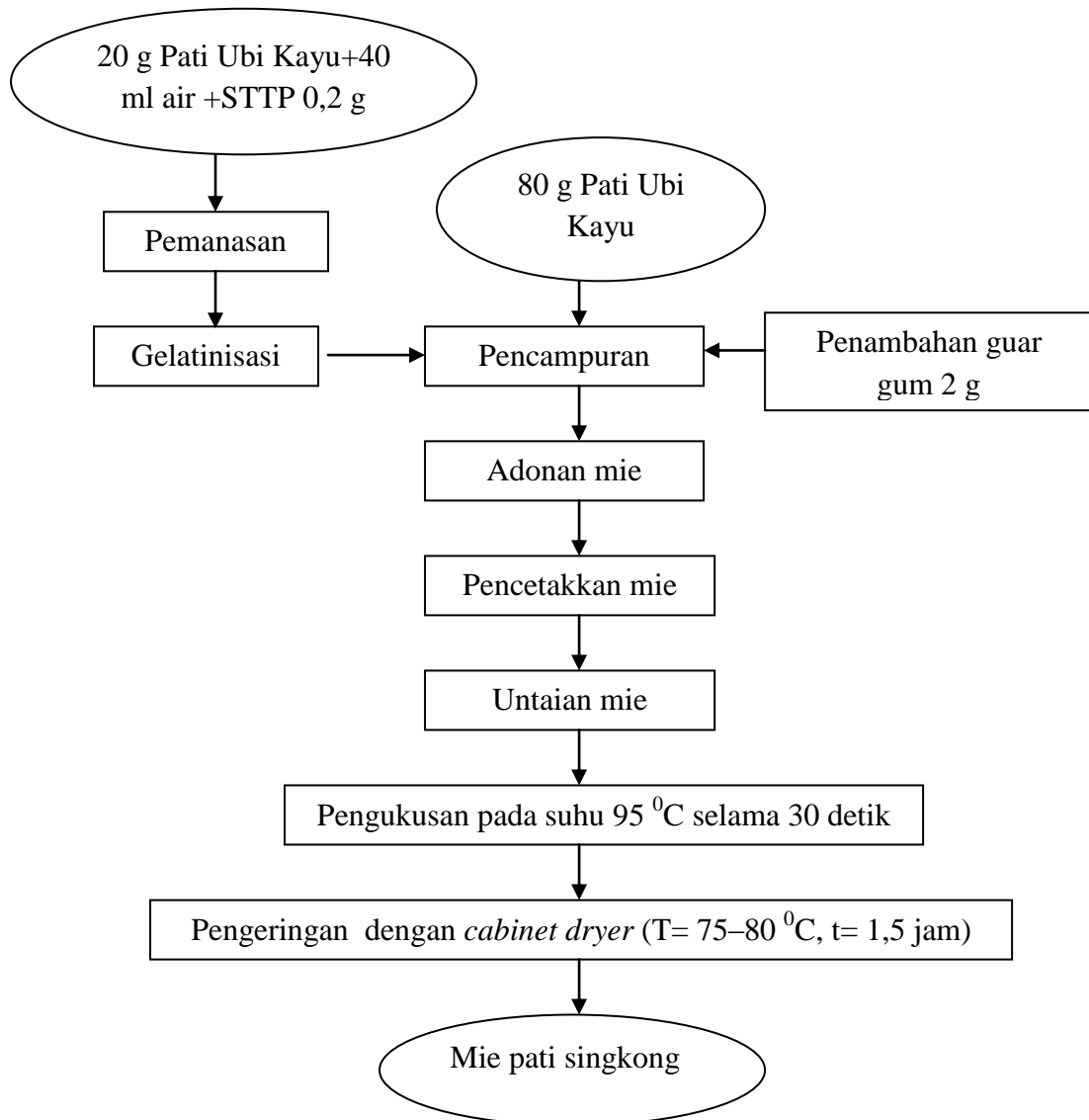
diadon hingga merata. Adonan yang sempurna terbentuk ketika pati kering telah tercampur merata dan terikat oleh *binder* sehingga dapat menyatu saat digenggam. Setelah itu adonan dicetak menjadi untaian mie dan dikukus selama 30 detik pada suhu 95°C . Mie yang telah dikukus kemudian dikeringkan dalam *cabinet dryer* selama 1 jam pada suhu 75°C . Mie yang telah kering dikeluarkan dari dalam *cabinet dryer* kemudian didiamkan beberapa saat supaya mengalami penurunan suhu hingga suhu ruang tercapai. Diagram alir proses pembuatan mie pati sagu dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram alir pembuatan mie pati sagu (Modifikasi Ramadhan, 2009)

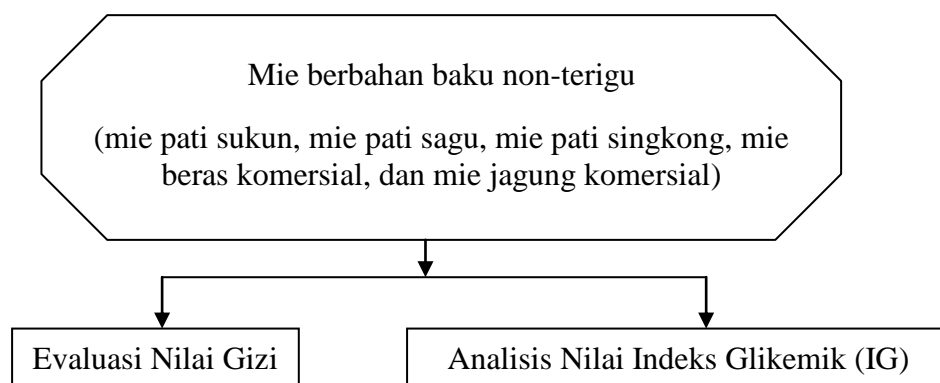
3. Pembuatan Mie Pati Singkong

Proses pembuatan mie pati singkong dilakukan berdasarkan modifikasi Hidayat (2008). Proses pembuatan mie pati singkong diawali dengan membuat adonan yaitu dengan mencampurkan 20% pati sagu dari total pati yang digunakan untuk adonan dengan air hingga terbentuk supensi. Perbandingan pati singkong dengan air yang digunakan adalah 1:2. Setelah pati singkong tergelatinisasi, kemudian dicampurkan dengan STTP 0,2% dan sisa pati singkong. Campuran tersebut diadon hingga merata. Setelah itu adonan dicetak menjadi untaian mie dan dikukus selama 30 detik pada suhu 95 °C. Mie yang telah dikukus kemudian dikeringkan dalam *cabinet dryer* selama 1,5 jam pada suhu 75 °C. Mie yang telah kering dikeluarkan dari dalam *cabinet dryer* kemudian didiamkan beberapa saat supaya mengalami penurunan suhu hingga suhu ruang tercapai. Diagram alir proses pembuatan mie pati singkong dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir pembuatan mie pati singkong (modifikasi Hidayat, 2008)

E. Analisis Penelitian



Gambar 5. Diagram alir analisis mie berbahan baku non-terigu

Analisis mie berbahan baku non-terigu yaitu evaluasi nilai gizi dilakukan terhadap parameter: analisis kadar air (metode oven), kadar abu (metode pengabuan kering), kadar protein (metode *micro-kjeldahl*), kadar lemak (metode *soxhlet*), kadar karbohidrat (*by difference*), kadar serat kasar (AOAC, 1995), serat pangan (AOAC,1995), kadar pati resisten (Kim *et al*, 2003), daya cerna pati (Dubois *et al*, 1956), dan pengukuran nilai indeks glikemik (Miller *et al*, 1996).

1. Evaluasi Nilai Gizi

a. Kadar Air

Pengamatan kadar air menggunakan metode AOAC (1995). Cawan porselin dikeringkan dalam oven selama 30 menit lalu didinginkan dalam desikator, dan ditimbang. Sebanyak 3 g contoh dimasukkan ke dalam cawan, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105 °C selama 3 jam, lalu didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang. Panaskan lagi dalam oven selama 30 menit. Dinginkan dalam desikator kemudian timbang. Perlakuan ini diulang hingga berat konstan (selisih penimbangan berturut – turut kurang dari 0,2 mg).

Rumus menghitung kadar air :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Bobot Awal (g)} - \text{Bobot Akhir (g)}}{\text{Bobot Awal (g)}} \times 100\%$$

b. Kadar Abu

Pengamatan kadar abu menggunakan metode AOAC (1995). Sampel bekas pengukuran air dipijarkan dengan tanur 600 °C sampai selama 4 jam (hingga diperoleh abu berwarna keputih–putihan). Sampel beserta wadah didinginkan dalam desikator. Kadar abu dihitung menurut rumus

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

c. Kadar Protein

Pengamatan kadar protein menggunakan analisis *micro-kjeldahl* AOAC (1995). Sampel sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam labu *Kjedahl* 30 ml, tambahkan 1,9 g K₂SO₄, 40 mg HgO dan 2 ml H₂SO₄ pekat. Kemudian sampel dididihkan selama 1- 5,5 jam sampai cairan menjadi jernih.

Sampel didinginkan dan ditambah sejumlah penambahan air secara perlahan – lahan, kemudian didinginkan kembali. Isi tabung dipindahkan ke alat destilasi dan labu dibilas 5–6 kali dengan 1–2 ml air. Air cucian dipindahkan ke labu destilasi. Erlenmeyer berisi 5 ml larutan H₃BO₃ dan 2 tetes indikator (campuran 2 bagian merah meril 0,2 % dalam alkohol dan 1 bagian metilen biru 0,2 % dalam alkohol) diletakkan di bawah kondensor. Ujung tabung kondensor harus terendam di bawah larutan H₃BO₃. Ditambahkan larutan NaOH-Na₂S₂O₃, sebanyak 8–10 ml, kemudian didestilasi dalam erlenmeyer. Tabung kondensor dibilas dengan air dan bilasannya ditampung dalam erlenmeyer yang sama. Isi erlenmeyer diencerkan samapi kira-kira 50 ml, kemudian dititrasi dengan HCL 0,02 N sampai terjadi perubahan warna. Penetapan untuk blanko juga dilakukan.

$$\text{Kadar N \%} = \left[\frac{\text{mL HCL} - \text{mL NaOH blanko}}{\text{mg sampel}} \right] \times N \times 14,007 \times 100 \%$$

$$\text{Kadar protein (\%)} = \% N \times \text{Faktor koreksi (6,25)}$$

d. Kadar Lemak

Pengukuran kadar lemak dilakukan berdasarkan metode *soxhlet* AOAC (1995). Labu lemak dikeringkan di dalam oven, dinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Sampel seberat 5 g dibungkus kertas saring dan dimasukkan ke dalam alat ekstraksi *soxhlet*. Kemudian alat dipasang. *Petroleum benzene* dituang ke dalam labu lemak dan diekstraksi selama 5 jam. Cairan yang ada di dalam labu lemak didestilasi dan pelarutnya ditampung. Labu lemak yang berisi lemak tersebut diuapkan dalam oven 105 °C selama 15–20 menit. Kemudian ditimbang sampai beratnya konstan.

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

e. Kadar Karbohidrat

Metode *by difference* (Winarno, 1997) : Kadar karbohidrat sampel dihitung menggunakan rumus :

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

f. Kadar Serat Kasar (AOAC, 1995)

Sampel sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 300 ml kemudian ditambah dengan H₂SO₄ 0,3 N di bawah pendingin balik kemudian dididihkan selama 30 menit dengan kadang-kadang digoyang-goyangkan. Suspensi disaring dengan kertas saring, dan residu yang dapat dicuci dengan air mendidih hingga tidak bersifat asam lagi (diuji dengan kertas lakmus). Residu dipindahkan ke dalam erlenmeyer, sedangkan yang tertinggal di kertas saring dicuci kembali dengan 200 ml NaOH mendidih sampai semua residu masuk

kedalam erlenmeyer. Sampel dididihkan kembali 30 menit dan disaring sambil dicuci dengan larutan K_2SO_4 10%. Residu dicuci dengan 15 ml alkohol 95%, kemudian kertas saring dikeringkan pada suhu $110\text{ }^\circ\text{C}$ sampai berat konstan kemudian ditimbang.

$$\text{Serat kasar (\%)} = \frac{(\text{berat kertas saring} + \text{residu}) - \text{berat kertas saring kosong}}{\text{Berat sampel}} \times 100$$

g. Kadar serat pangan

Pengujian kadar serat pangan dilakukan dengan menggunakan metode enzimatik (AOAC, 1995). Timbang sampel sebanyak 1 g, kemudian tambahkan petroleum eter dengan perbandingan 1 : 2, lalu dipindahkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 25 ml buffer fosfat 0,1 M pada pH 6 diaduk hingga tersuspensi merata.

Kemudian ditambahkan 0,1 ml enzim α -amilase, erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan diinkubasi pada suhu $80\text{ }^\circ\text{C}$ dalam *waterbath* selama 15 menit sesekali sambil diaduk. Setelah itu diangkat dan didinginkan lalu ditambahkan aquades sebanyak 20 ml pH diatur menjadi 1,5 dengan penambahan HCL, kemudian ditambahkan 0,1 enzim pepsin, erlenmeyer ditutup kembali dengan aluminium foil dan diinkubasi dengan *shaker waterbath* dengan suhu $40\text{ }^\circ\text{C}$ selama 60 menit. Setelah itu ditambahkan 20 ml aquades, pH diatur menjadi 6,8 dengan larutan NaOH 0,1 N. Lalu ditambahkan enzim pankreatin sebanyak 0,1 g, ditutup dengan menggunakan *aluminium foil* dan diinkubasi dengan *shaker waterbath* dengan suhu $40\text{ }^\circ\text{C}$ selama 60 menit. Kemudian pH diatur dengan

menggunakan HCL menjadi 4,5, lalu disaring menggunakan 0,5 *celite* kering dan telah diketahui bobot tetapnya (KSI) dengan bantuan pompa vakum.

Pada tahap akhir dicuci dengan 2 x 10 ml etanol 90%. Residu yang diperoleh (merupakan serat makanan yang tidak larut atau IDF) dicuci dengan 2 x 10 ml aseton. Kemudian kertas saring beserta residunya dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C hingga mencapai berat konstan (kira-kira 12 jam) dan ditimbang (KS2). Setelah berat konstan diperoleh, masukkan ke dalam cawan pengabuan yang telah diketahui bobot tetapnya (CW1) lalu diarangkan, kemudian diabukan dalam tanur suhu 550 °C sampai menjadi abu (paling sedikit 5 jam), kemudian didinginkan dalam desikator lalu timbang beratnya (CW2).

Perhitungan *Insoluble Dietary Fiber* (IDF) adalah sebagai berikut :

$$\text{IDF (\% berat sampel kering)} = \frac{((KS2 - KS1) - (CW2 - CW1)) - B}{\text{Berat sampel (gr)}} \times 100 \%$$

Keterangan :

- KS1 = Kertas saring kosong (gr)
- KS2 = Kertas saring + residu serat (gr)
- CW1 = Cawan pengabuan kosong (gr)
- CW2 = Cawan pengabuan + abu (gr)
- B = Blanko bebas serat

Sedangkan filtrat yang diperoleh (berupa serat makanan larut atau SDF) diatur volumenya dengan menggunakan aquades hingga 100 ml lalu ditambahkan 400 ml etanol 95% hangat (60 °C) dan didiamkan semalam. Saring dengan menggunakan kertas saring yang mengandung 0,5 g *celite* kering dan telah diketahui bobot tetapnya (KS3) dengan bantuan pompa vakum.

Terakhir dicuci dengan 2 x 10 ml aseton. Kertas saring beserta residunya dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C hingga beratnya konstan dan ditimbang (KS4) dimasukkan cawan pengabuan yang telah diketahui bobot tetapnya (CW3) lalu diarangkan kemudian diabukan dalam tanur suhu 550 °C sampai menjadi abu, kemudian didinginkan dalam desikator lalu timbang beratnya (CW4). Untuk blanko diperoleh dengan cara yang sama tetapi tanpa menggunakan sampel.

Perhitungan *Soluble Dietary Fiber* (SDF) adalah sebagai berikut :

$$\text{IDF (\% berat sampel kering)} = \frac{((KS4 - KS3) - (CW4 - CW3)) - B}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100 \%$$

Keterangan :

- KS3 = Kertas saring kosong (g)
- KS4 = Kertas saring + residu serat (g)
- CW3 = Cawan pengabuan kosong (g)
- CW4 = Cawan pengabuan + abu (g)
- B = Blanko bebas serat

Untuk perhitungan *Total Dietary Fiber* adalah sebagai berikut :

$$\text{TDF} = \text{IDF} + \text{SDF}$$

h. Kadar Pati Resisten (Kim *et al*, 2003)

Sebanyak 0,5 g pati dilarutkan dengan 25 ml buffer fosfat 0.08 (pH 6.0) dalam gelas piala 250 ml, lalu ditutup dengan alumunium foil. Kemudian ditambahkan 0.05 ml enzim termamyl, dan campuran diinkubasi dalam penangas air suhu 95 °C selama 15 menit, dengan diaduk lembut setiap 5 menit sekali. Setelah didinginkan pada suhu ruang pH diatur hingga 7.5 dengan 5 ml larutan NaOH 0.275 N dan ditambahkan 0.05 ml enzim protease (50 mg/ml protease dalam buffer fosfat), lalu diinkubasi dalam penangas air bergoyang suhu 60 selama 30 menit.

Setelah diinkubasi selesai, ditambahkan empat bagian etanol 95% dan campuran didiamkan selama satu malam pada suhu ruang. Endapan disaring dengan kertas saring whatman 40. Residu yang tertinggal dicuci dengan 20 ml etanol 78% sebanyak tiga kali, lalu dengan 10 ml etanol murni sebanyak dua kali, dan dengan 10 ml aseton sebanyak dua kali. Residu dikeringkan dalam oven suhu 105 °C hingga bobot konstan. Kadar pati resisten dihitung dengan cara membandingkan bobot residu dengan bobot sampel dikalikan 100.

$$Kadar\ RS = \frac{Bobot\ residu}{Bobot\ sampel} \times 100$$

i. Daya Cerna Pati

Penentuan tingkat konversi pati menjadi glukosa menggunakan enzim α -amilase dengan menentukan glukosa yang dilakukan dengan cara spektrofotometri yaitu menggunakan metode fenol asam sulfat (Dubois *et al.*, 1956). Prinsip dari tingkat hidrolisis mie berbahan baku non-terigu adalah pati dihidrolisis oleh enzim α -amilase menjadi gula-gula sederhana (glukosa, maltosa) dan alfa limit dekstrin. Semakin tinggi tingkat hidrolisis suatu pati berarti semakin banyak pati yang dapat dihidrolisis dalam waktu tertentu yang ditunjukkan oleh semakin banyak glukosa dan maltosa yang dihasilkan.

Penentuan tingkat hidrolisis mie berbahan baku non-terigu oleh enzim α -amilase dimulai dengan memasukkan 1 gram sampel halus kedalam erlenmeyer 250 ml lalu tambahkan aquades 100 ml dan ditutup aluminium foil. Selanjutnya panaskan dalam waterbath hingga suhu 90 °C, lalu angkat dan dinginkan. Tambahkan 5 ml enzim α -amilase dan inkubasi pada suhu 30 °C selama 20 menit. Ambil 1 ml larutan sampel tersebut dalam tabung reaksi dan tambahkan fenol 5%

sebanyak 1 ml dan asam sulfat pekat sebanyak 5 ml. Setelah itu panaskan dalam air mendidih selama 5 menit dan dinginkan dalam air mengalir. Panjang absorbansi diukur pada gelombang 520 nm. Sebelum penentuan glukosa sampel, terlebih dahulu dibuat kurva standard dengan membuat larutan glukosa standard (10 mg glukosa anhidrat/100 ml air). Kurva standard dibuat seperti pada penyiapan glukosa sampel untuk analisis kadar mie berbahan baku non-terigu.

$$\text{Kadar glukosa} = \left(\frac{A \times B \times C}{D} \right) \times 100 \%$$

Keterangan :

A = Glukosa yang diperoleh dari kurva standard

B = Volume sampel (ml)

C = Konsentrasi pengenceran larutan sampel (μg)

D = Berat sampel (g)

2. Uji Indeks Glikemik (Miller *et al*, 1996)

Pengukuran nilai indeks glikemik dilakukan pada mie berbahan baku non-terigu dengan formulasi terbaik yang didapatkan dari penelitian sebelumnya. Mie yang disajikan merupakan mie yang telah direhidrasi. Sejumlah mie yang memiliki kandungan karbohidrat sebesar 25 g dimasak dalam air yang mendidih kira-kira 3-4 menit.

Uji indeks glikemik dilakukan dengan menggunakan darah manusia sebagai objek penelitian (*in vivo*). Sukarelawan yang berpartisipasi berjumlah 10 orang. Sukarelawan yang ikut serta dalam analisis ini adalah sukarelawan yang telah lolos seleksi, untuk meminimalisasi variasi yang mungkin timbul antar sukarelawan. Syarat-syarat sukarelawan yang digunakan dalam analisis ini adalah sehat, non-diabetes, dan memiliki nilai IMT (Indeks Massa Tubuh) dalam kisaran normal 18,5-25 Kg/m².

Pengukuran kadar gula darah dilakukan setelah periode puasa selama 10 jam. Selama dua jam pasca konsumsi pangan uji mie, diambil sampel darah sukarelawan sebanyak 0.2 μL (*finger-prick capillary blood sample method*) diambil sampel setiap selang 30 menit sekali yaitu 0 menit (kadar gula darah puasa), 30 menit, 90 menit, dan 120 menit setelah konsumsi sampel tersebut. Pengukuran kadar gula darah dilakukan dengan menggunakan *glucometer*. Selama pengambilan sampel darah, semua relawan dikumpulkan dalam suatu ruangan tanpa melakukan kegiatan yang berat. Setiap relawan diambil sampel darah secara berurutan.

Nilai kadar gula darah ini kemudian diplotkan menjadi sebuah grafik dengan sumbu x sebagai waktu pengukuran dan sumbu y sebagai kadar gula darah indeks glikemik dihitung sebagai perbandingan antara luas kurva kenaikan kadar gula darah setelah mengkonsumsi sampel dan glukosa sebagai standar (Haliza *et al*, 2009). Nilai indeks glikemik akhir adalah nilai rata-rata dari 10 orang sukarelawan tersebut.

Indeks Glikemik hanya memberikan informasi mengenai kecepatan perubahan karbohidrat menjadi gula darah. IG tidak memberikan informasi mengenai banyaknya karbohidrat dan dampak pangan tertentu terhadap kadar gula darah. Beban Glikemik (BG) didefinisikan sebagai IG pangan dikalikan dengan kandungan karbohidrat pangan tersebut. Oleh karena itu, BG menggambarkan kualitas dan kuantitas karbohidrat serta interaksinya dalam pangan (Liu *et al*, 2001, dalam Siagian, 2004). BG dapat ditentukan dengan rumus berikut :

$$\text{Nilai BG} = \frac{\text{IG} \times \text{Kadar karbohidrat per takaran saji}}{100}$$

