

III. BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, serta Laboratorium Pengujian Mutu Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Januari sampai Agustus 2015.

B. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan yaitu beras varietas Ciherang, daun salam dan air. Beras diperoleh dari petani, Bapak Supardiono di Dusun IV, Desa Karang Anyar, Kecamatan Labuhan Maringgai, Kabupaten Lampung Timur. Sedangkan daun salam diperoleh dari pekarangan rumah Bapak M. Anwar Kholik di Dusun Muhajirun, Desa Negararatu, Kecamatan Natar, Lampung Selatan. Bahan-bahan lain yang dibutuhkan untuk analisis antara lain enzim α -amilase (*porcin* α -*amylase*, ethanol 96 % (pro analisis), buffer fosfat 0,1 M pH 7, akuades, folin ciocalteu, natrium karbonat (Na_2CO_3) 2 % dan DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).

Alat yang digunakan antara lain *rice cooker* merk Miyako untuk menanak nasi instan, loyang untuk wadah dalam proses pengeringan nasi, blender merk Miyako untuk menghaluskan daun salam, ayakan 60 mesh untuk sortasi bubuk daun

salam, neraca analitik, oven, kertas saring teknis, dan kain saring. Sedangkan alat yang digunakan untuk analisis antara lain mikro pipet, labu ukur, erlenmeyer, beaker glass, vorteks, *waterbath*, *rotary evaporator*, sonifikator, sentrifugasi, *blood glucose test meter* merk Gluco Dr., *spectrophotometer* dan mangkuk.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial dengan tiga kali ulangan. Penelitian dilakukan dengan enam taraf perlakuan konsentrasi ekstrak daun salam (DS) yaitu 0 % (DS1), 5 % (DS2), 10 % (DS3), 15 % (DS4), 20 % (DS5), dan 25 % (DS6).

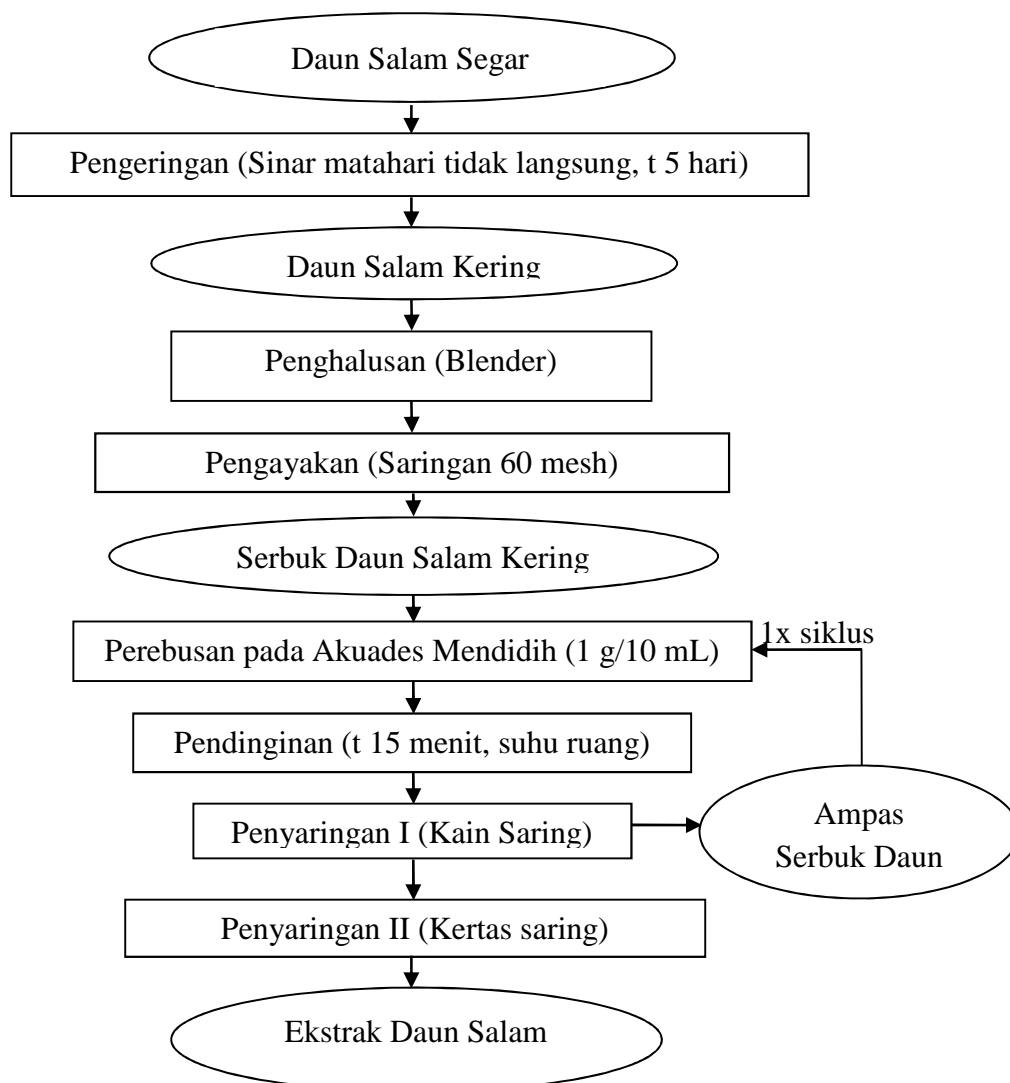
Data tingkat hidrolisis pati, aktivitas antioksidan dan total fenol nasi instan dianalisis dengan analisis ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan uji signifikan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan.

Kehomogenan data diuji dengan uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjut dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5 %. Evaluasi data uji sensori dilakukan dengan menghitung jumlah panelis yang menyukai (skor 4) dan sangat menyukai (skor 5) nasi instan, kemudian dipersentasekan terhadap jumlah seluruh panelis.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Daun Salam

Pembuatan ekstrak daun salam dilakukan berdasarkan metode Murhadi *et al.* (2007), yaitu diawali dengan memilih daun salam segar dari pangkal daun nomor tiga sampai nomor 10 dari pucuk kemudian dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari hingga kering. Daun salam kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk kering daun salam. Agar ukuran bubuk daun salam lebih seragam, serbuk selanjutnya diayak dengan saringan 60 mesh. Proses ekstraksi daun salam dilakukan berdasarkan penelitian Dewi (2012) yang dimodifikasi. Serbuk kering daun salam yang diperoleh kemudian direbus pada suhu akuades mendidih selama 10 menit dengan perbandingan 1 g/10 mL. Setelah dingin, ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dengan menggunakan kain saring sehingga terpisah dengan ampas serbuk daun salam. Setelah penyaringan selesai, ampas daun salam direbus kembali pada suhu akuades mendidih selama 10 menit dengan jumlah akuades yang sama pada perebusan pertama. Setelah dingin, dilakukan kembali proses penyaringan dengan kain saring dan simpan pada wadah yang sama dengan hasil ekstraksi pertama. Agar partikel terlarut lebih halus, ekstrak selanjutnya disaring kembali menggunakan kertas saring. Ekstrak daun salam yang diperoleh selanjutnya dimasukkan dalam botol dan disimpan dalam freezer sebelum digunakan. Hasil ekstrak yang diperoleh dinyatakan sebagai seratus persen larutan yang digunakan dalam proses pemasakan nasi. Diagram proses pembuatan ekstrak daun salam dapat dilihat pada Gambar 3.

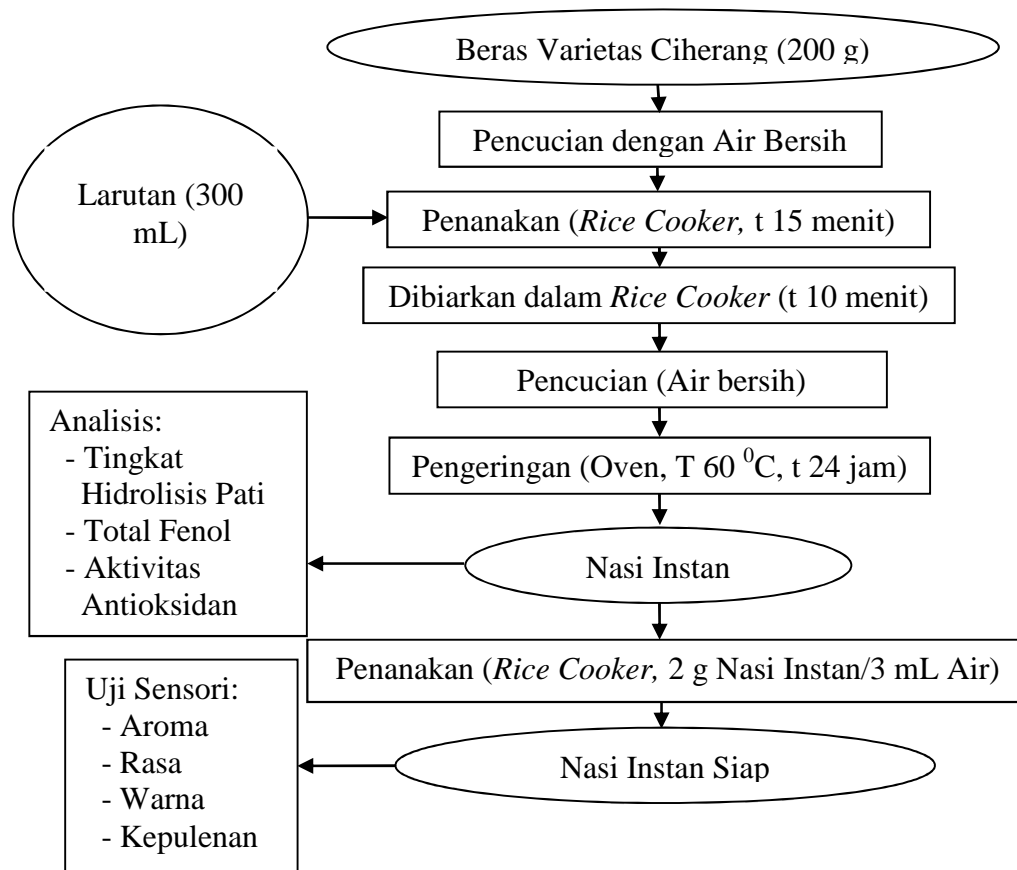


Gambar 3. Proses pembuatan ekstrak daun salam (Murhadi *et al.*, 2007 dan Dewi, 2012) yang telah dimodifikasi

2. Pembuatan Nasi Instan

Prosedur pembuatan nasi instan mengikuti metode yang digunakan oleh (Rewthong *et al.*, 2011). Beras Ciherang yang sudah dicuci sebanyak 200 g ditambah larutan berupa campuran air dan ekstrak daun salam dengan perbandingan 2 g beras/3 mL larutan (b/v) atau sebanyak 300 mL larutan. Penambahan ekstrak daun salam sesuai dengan perlakuan, yaitu konsentrasi 0 % (DS1), 5 % (DS2), 10 % (DS3), 15 % (DS4), 20 % (DS5), dan 25 % (DS6)

terhadap total volume larutan yang digunakan untuk pemasakan. Setelah itu, beras ditanak dalam *rice cooker* selama 15 menit kemudian dibiarkan tetap dalam *rice cooker* selama 10 menit. Nasi yang diperoleh dicuci menggunakan air bersih untuk menghindari penggumpalan pada nasi instan. Selanjutnya nasi dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama 24 jam sehingga diperoleh nasi instan kering. Setelah nasi instan kering, untuk mendapatkan nasi yang siap dikonsumsi dilakukan penanakan kembali menggunakan *rice cooker* dengan perbandingan 2 g nasi instan/3 mL air (b/v) hingga matang. Diagram alir pembuatan nasi instan dengan penambahan ekstrak daun salam dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Proses pembuatan nasi instan dengan penambahan ekstrak daun salam (Rewthong *et al.*, 2011)

E. Pengamatan

Parameter yang diamati pada nasi instan dengan penambahan ekstrak daun salam meliputi tingkat hidrolisis pati, aktivitas antioksidan, total fenol dan sifat sensori dengan uji hedonik atau uji tingkat kesukaan.

1. Analisis Tingkat Hidrolisis Pati Metode Enzimatis

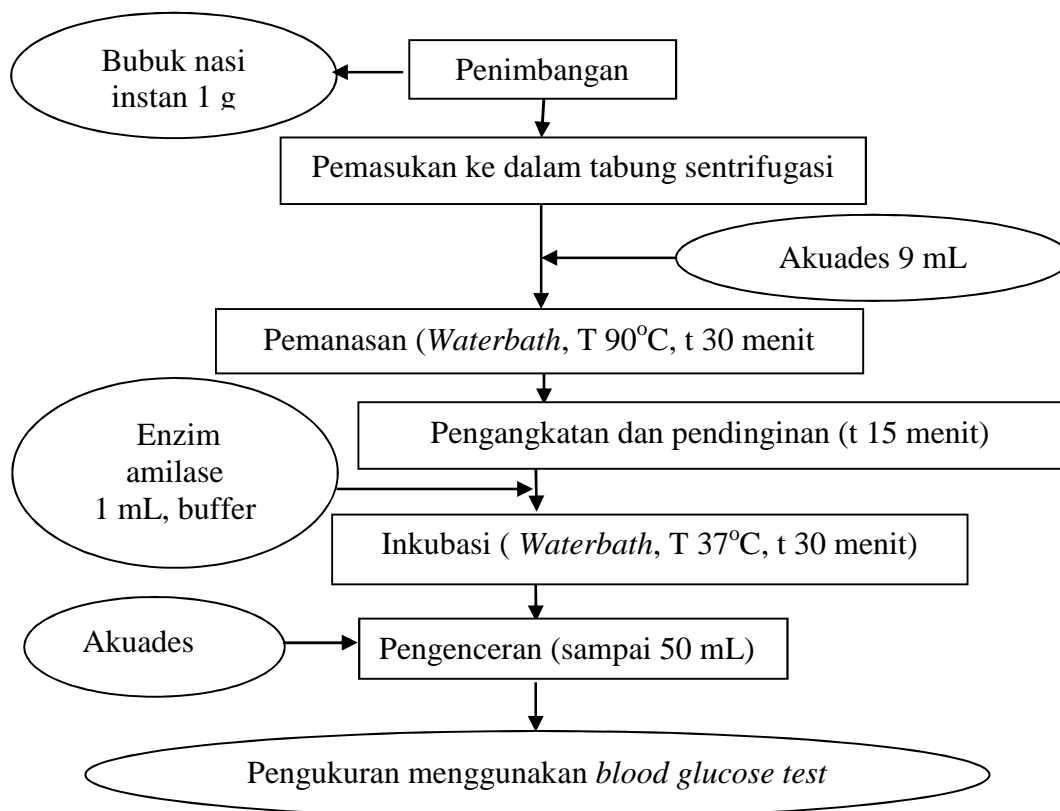
a. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Prosedur pembuatan kurva standar glukosan diawali dengan menimbang 1 g glukosa murni dan dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan akuades sampai volume 100 mL sebagai larutan induk. Larutan kemudian diencerkan sehingga setara dengan 50, 100, 150, 200, 250 dan 300 mg glukosa murni dalam 100 mL (1 dL). Sampel kemudian diukur jumlah glukosa larutan menggunakan *blood glucose test meter* merk Gluco Dr pada kode strip 8 sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y=ax+c$.

b. Penentuan Tingkat Hidrolisis Pati Nasi Instan

Jumlah glukosa nasi instan hasil hidrolis oleh enzim diukur dengan menggunakan alat *blood glucose test meter*. Hasil pengukuran kemudian dibandingkan dengan jumlah glukosa standar sehingga diperoleh kadar glukosa nasi instan yang dapat dinyatakan sebagai jumlah pati yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa. Tahap awal yang dilakukan pada uji ini adalah dengan dihaluskannya nasi instan dan ditimbang sebanyak 1 g, dimasukan ke dalam tabung sentrifugasi dan ditambahkan 9 mL akuades kemudian divorteks. Selanjutnya sampel dipanaskan

dengan *waterbath* pada suhu 90°C hingga berbentuk gel atau selama 30 menit sambil divorteks setiap 10 menit agar pati terlarut, diangkat dan didinginkan selama 15 menit. Larutan nasi instan ditambah enzim α -amilase 1 mL dan 1 mL buffer fosfat 0,1 M pH 7, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Sampel selanjutnya diencerkan menggunakan akuades hingga volume 50 mL dengan menggunakan labu ukur. Sampel kemudian diukur kadar glukosa larutan menggunakan *blood glucose test meter*. Hasil pengukuran jumlah glukosa dibagi dua agar ekuivalen dengan kurva standar. Diagram alir proses pengujian tingkat hidrolisis pati nasi instan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Proses pengujian tingkat hidrolisis pati nasi instan

Tingkat hidrolisis pati oleh enzim α -amilase diperoleh dengan cara membandingkan jumlah glukosa yang terhidrolisis dengan berat padatan nasi

intan (berat basah dan berat kering). Tingkat hidrolisis pati basis kering diperoleh dengan persamaan rumus:

$$\text{Tingkat Hidrolisis Pati} = \frac{KG}{BS - (Ka \times BS)} \times 100\%$$

Keterangan :

KG = Jumlah glukosan nasi (g/g bahan)

BS = Berat sampel nasi instan (g)

Ka = Kadar air

2. Aktivitas Antioksidan (Ismail *et al.*, 2012 yang telah dimodifikasi)

Pengukuran persentase aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) yang ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning atau kuning muda, setelah dilakukan inkubasi selama 30 menit dalam wadah tertutup. Penentuan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH diawali dengan disiapkannya 2 g bubuk nasi instan yang dimasukkan ke dalam tabung centrifuge dan ditambah 10 mL ethanol 96 %, kemudian divorteks selama 60 detik. Sampel dicentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit dan selanjutnya larutan hasil ekstraksi nasi instan diuji aktivitas antioksidannya.

Larutan hasil ekstraksi nasi instan dimasukkan ke dalam dua tabung reaksi yang telah ditutup dengan alumunium foil masing-masing sebanyak 3,750 mL. Selain itu, disiapkan pula satu wadah tertutup lain untuk larutan DPPH. Larutan DPPH dibuat dengan cara menimbang sebanyak 0,0027 g DPPH dalam ruang gelap yang dilarutkan dalam ethanol 96 % sampai volume 100 mL. Larutan ekstrak nasi pada tabung pertama ditambahkan ethanol 96 % dan tabung kedua ditambahkan larutan

DPPH masing-masing sebanyak 1,250 mL serta satu tabung yang hanya berisi larutan DPPH. Setelah itu, sampel diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Larutan selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm menggunakan *spektrofotometer*. Hasil pengukuran absorbansi larutan DPPH dihitung sebagai Absorbansi kontrol (Ak). Absorbansi larutan sampel yang digunakan sebagai Absorbansi sampel (As) adalah hasil pengurangan Absorbansi sampel dan larutan DPPH (AsD) oleh Absorbansi sampel dan ethanol 96 % (AsE). Absorbansi sampel (As) yang diperoleh dibandingkan dengan absorbansi DPPH (Ak) sehingga diperoleh persen aktivitas antioksidannya. Perhitungan persentase aktivitas antioksidan dapat menggunakan rumus (Molyneux, 2004).

$$As = AsD - AsE$$

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{(Ak - As)}{Ak} \times 100\%$$

Keterangan :

Ak = Absorbansi kontrol

As = Absorbansi sampel

AsD = Absorbansi sampel dan larutan DPPH

AsE = Absorbansi sampel dan ethanol 96 %

3. Analisis Total Fenol (Ismail *et al.*, 2012 yang telah dimodifikasi)

Pengujian total fenol dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kandungan senyawa fenol di dalam nasi instan yang ditambahkan ekstrak daun salam.

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan reagen Folin Ciocalteau. Adanya

senyawa fenol ditandai dengan perubahan warna larutan dari hijau (warna reagen Folin Ciocalteu) menjadi warna biru akibat telah teroksidasi dan mereduksi senyawa fenolik. Pada penelitian ini, nasi instan yang diuji total fenol hanya pada pembahan ekstrak daun salam sebanyak 0 % (DS1), 5 % (DS2), 15% (DS4) dan 25 % (DS6). Tahapan analisis total fenol diawali dengan disiapkannya 3 g bubuk nasi instan dalam tabung plastik ukuran 30 mL. Bubuk nasi instan selanjutnya ditambahkan 15 mL ethanol 96 %, divorteks selama 60 detik dan dimasukkan ke dalam sonifikator selama 30 menit. Larutan yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan bubuk nasi instan dan disimpan dalam tabung lain. Ditambahkan kembali 15 mL ethanol 96 % ke dalam bubuk nasi yang tertinggal di dalam tabung, divorteks selama 60 detik dan ulangi proses sonifikasi selama 30 menit. Larutan yang dihasilkan dipisahkan dengan bubuk nasi instan dan dicampurkan dengan larutan yang dihasilkan pada proses pertama. Larutan kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60 °C hingga kering. Kemudian ditambahkan 1 mL ethanol 96 % dan dipindahkan dalam botol penyimpanan sebelum dianalisis.

Tahapan selanjutnya adalah disiapkan sampel larutan yang diperoleh pada tahap sebelumnya sebanyak 0,2 mL ditambah dengan 0,2 mL akuades dan 0,2 mL reagen folin ciocalteu, dan kemudian divorteks selama 60 detik. Setelah itu, ditambah 4 mL larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) 2 %, divorteks kembali selama 60 detik dan didiamkan dalam ruang gelap pada suhu kamar selama 30 menit. Selain itu, dibuat pula blanko dengan prosedur yang sama seperti prosedur untuk sampel, namun sampel dari nasi instan diganti dengan akuades. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 760 nm dengan spektrofotometer.

Hasilnya diplotkan terhadap kurva standar asam galat dengan menggunakan persamaan regresi linier. Hubungan antara konsentrasi asam galat dinyatakan sebagai sumbu x dan besarnya absorbansi hasil reaksi asam galat dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dinyatakan sebagai sumbu y. Cara pembuatan larutan asam galat adalah menimbang sebanyak 1 mg bubuk asam galat dan larutkan dalam akuades sampai volume 100 mL. Selanjutnya dibuat seri pengenceran larutan induk asam galat 0 %, 20 %, 40 %, 60 %, 80 % dan 100 %. Hasilnya dinyatakan ppm GAE yang diperoleh dari persamaan kurva standar yaitu:

$$y = ax + c$$

Keterangan :

y = Absorbansi sampel

a = Gradien

x = Konsentrasi ekivalen asam tanat

c = Intersef

4. Uji Sensori

Uji tingkat penerimaan konsumen terhadap nasi instan dengan penambahan ekstrak daun salam dilakukan dengan pengujian sensori menggunakan skala hedonik (kesukaan). Pengujian diawali dengan menyajikan nasi instan yang telah dimasak dan pada kondisi dingin disajikan kepada panelis menggunakan piring. Sebanyak 35 panelis kemudian diinstruksikan untuk menuliskan tingkat kesukaan terhadap nasi instan pada kuisioner. Pengujian menggunakan skala hedonik bertujuan untuk mengetahui gambaran tingkat kesukaan konsumen pada nasi instan dengan penambahan ekstrak daun salam. Skala yang digunakan pada uji

hedonik yaitu, 1 : sangat tidak suka, 2 : tidak suka, 3 : netral (biasa saja), 4 : suka, 5 : sangat suka. Berikut adalah contoh lembar kuisioner uji sensori dengan metode uji hedonik.

KUISIONER

Uji Hedonik

Nama :
 Jenis Kelamin :
 Umur :
 Tanggal :
 Sampel : Nasi

Instruksi

Di hadapan Anda disajikan enam sampel nasi yang akan dijadikan bahan konsumsi bagi penderita diabetes mellitus. Silahkan diuji aroma, warna, rasa, dan kepuhlenan dari masing - masing sampel dengan cara mencicipi sampel satu persatu. Netralkan indera pengecap Anda dengan air putih setelah selesai mencicipi satu sampel. Setelah mencicipi, berikan skor 1–5 sesuai dengan tingkat kesukaan Anda. Setelah selesai, berikan komentar Anda dengan memberikan penilaian dalam ruang yang telah disediakan.

KODE	AROMA	RASA	WARNA	KEPULENAN
427				
880				
133				
581				
304				
184				

Keterangan :

- 1 : Sangat tidak suka
- 2 : Tidak suka
- 3 : Netral (biasa saja)
- 4 : Suka
- 5 : Sangat suka

Komentar

.....

.....

.....

.....