

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Jurusan THP Fakultas Pertanian Unila, Laboratorium Politeknik Negeri Lampung dan Laboratorium Biomassa Terpadu MIPA Unila. Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2013 sampai bulan Desember 2013.

B. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah ubi jalar varietas Ayamurasaki yang diperoleh dari Balai Pelatihan Pertanian (BPP) Lampung. Bahan kimia yang digunakan antara lain : Asam sulfat pekat, asam formiat 5 %, fenol, aquades, MeOH, etanol 80 %, etanol 96 %, gas N₂, larutan DPPH, fenol, asam sulfat pekat, enzim alfa amilase, alumunium foil, larutan bufer NA-Fosfat 0,1, fenol 5 % dan Larutan DPPH.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah pisau, pamarut, ayakan standar *Tyler* 80 mesh, alat penepung tipe *Hummer Mill*, pemanas berputar, *oven cabinet*

dryer, spektrofotometer merk HACH, *centrifuge* (*Thermo electron corporation*), termometer, *beaker glass* (*pyrex*), *kuvet*, *waterbath*, vortek, *Scanning Electron Microscope* (SEM) (model EVO MA 10 Cambridge UK), neraca analitik, labu ukur, baki, *Erlenmeyer* (*pyrex*), pipet ukur, pipet tetes, Spectronic 200 (*Thermoscientific*), *shaker water bath*, lemari es dan mikro pipet.

C. Metode Penelitian

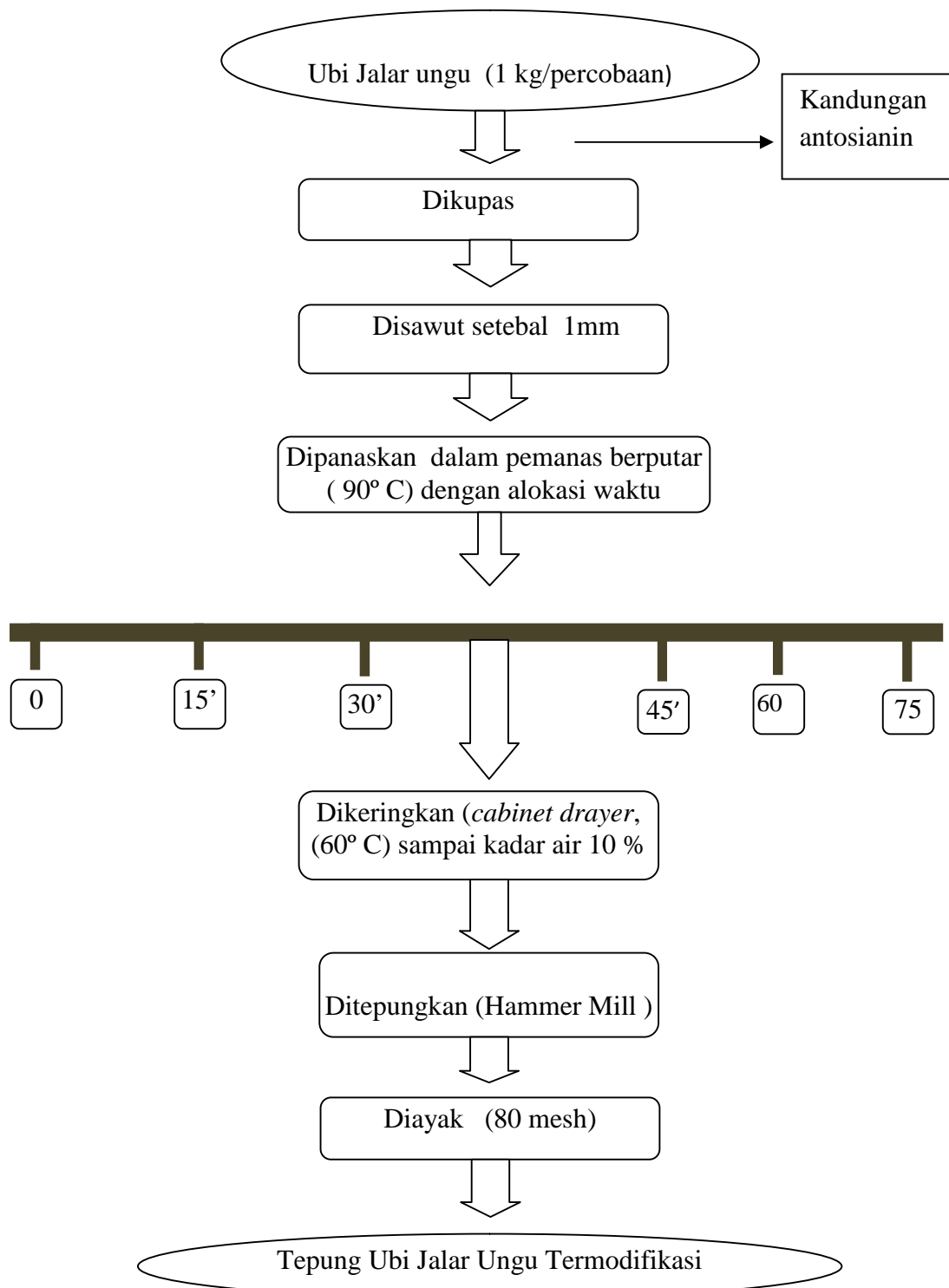
Penelitian berupa perlakuan tunggal disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan empat ulangan. Perlakuan tunggal adalah lama pemanasan dalam pemanas berputar yang terdiri dari 6 taraf yaitu 0, 15, 30, 45, 60 dan 75 menit. Data hasil pengamatan dianalisis kesamaan ragam dengan uji Bartlett untuk mengetahui kehomogenan data antar ulangan. Setelah homogen, data dianalisis sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan. Kemenambahan data diuji dengan uji Tukey, untuk mengetahui perbedaaan antar perlakuan, data dianalisis lebih lanjut dengan uji BNT pada taraf 5 %. Penampakan granula pati disajikan secara deskriptif.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan tepung ubi jalar ungu termodifikasi

Pembuatan tepung ubi jalar ungu termodifikasi secara fisik melalui pemanasan dalam pemanas berputar dilakukan melalui tahapan sebagai berikut : untuk setiap satu satuan percobaan, satu kilogram ubi jalar ungu yang telah disortasi dan dikupas dicuci sampai bersih dan ditiriskan. Kemudian ubi disawut dan dilanjutkan dengan proses pemanasan menggunakan pemanas berputar pada suhu 90°C selama 0, 15, 30,45, 60 dan 75 menit. Setelah pemanasan, sampel dikeluarkan dan dikeringkan dalam *cabinet drayer* pada suhu 60°C sampai kadar air mencapai 10%. Penepungan dilakukan setelah sampel dingin (sesuai suhu ruang) menggunakan *Hummer mill*, dan diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 80 mesh (Hidayat *et al.*, 2009 yang dimodifikasi pada lama pemanasan dan alat yang digunakan). Diagram alir proses pembuatan tepung ubi jalar ungu termodifikasi dapat dilihat pada Gambar.8.

\



Gambar.8. Diagram alir proses pembuatan tepung ubi jalar termodifikasi
 Sumber : Hidayat *et al.* (2009) yang dimodifikasi

E. Pengamatan

Pengamatan terhadap tepung ubi jalar ungu termodifikasi yang dihasilkan meliputi penampakan granula pati, kandungan antosianin, kapasitas antioksidan, dan tingkat hidrolisis enzimatis

1. Penampakan Granula Pati

Penampakan mikroskopis granula tepung ubi jalar diamati dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) model EVO MA 10 dengan cara sebagai berikut:

Sample seberat 0,1 g pada *specimen holder distage*, kemudian tutup *chamber* dan tekan *pump* pada *docking panel vacuum* dan tekanan dalam *chamber* < 1,10 mbar. Pilih *docking panel gun* dan *beam state = on*, tunggu hingga *electron Gun* menyala *full* dengan ditandai V pada *gun*. Proses mendapatkan Gambar menggunakan Prinsip SE (*Secondary Electron*), dipilih pembesaran yang diinginkan (500 x, 2000 x)

2. Kandungan Antosianin

Kadar antosianin ditentukan menggunakan metode spektrofotometer yang dimodifikasi dari Francis (1982). Modifikasi dilakukan terhadap cara ekstraksi antosianin dari tepung ubi jalar ungu, sebagai berikut:

Ekstraksi antosianin

Sebanyak 100 g sampel tepung diekstrak dengan 500 mL ethanol 96% . Sampel diinkubasi selama 24 jam pada 40° C dalam penangas air bergoyang (*shaker water bath*) kemudian disentrifugasi (3000 rpm, 10 menit, 4° C) . Sebanyak 2 ml larutan supernatan diambil dari sampel yang telah disentrifugasi, ditambah larutan etanol-1,5N HCL (85:15) hingga volume menjadi 100 ml. Larutan ini kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 535 nm menggunakan *Spectronic 200 (Thermoscientific)*. Kemudian antosianin dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Total antosianin (\%)} = \frac{\text{Faktor pengenceran X nilai absorbansi}}{98,2}$$

Nilai 98,2 adalah $E_{1cm,535}^{1\%}$, sedangkan factor pengenceran adalah $5/2 \times 100$

3. Kapasitas Antioksidan

Pengujian kapasitas dilakukan menggunakan metode DPPH menurut Molyneux (2004).

a. Penentuan Absorbansi Kontrol

Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,07M dalam etanol 96 % diambil 10 ml, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm.

b. Penentuan Absorbansi Sampel

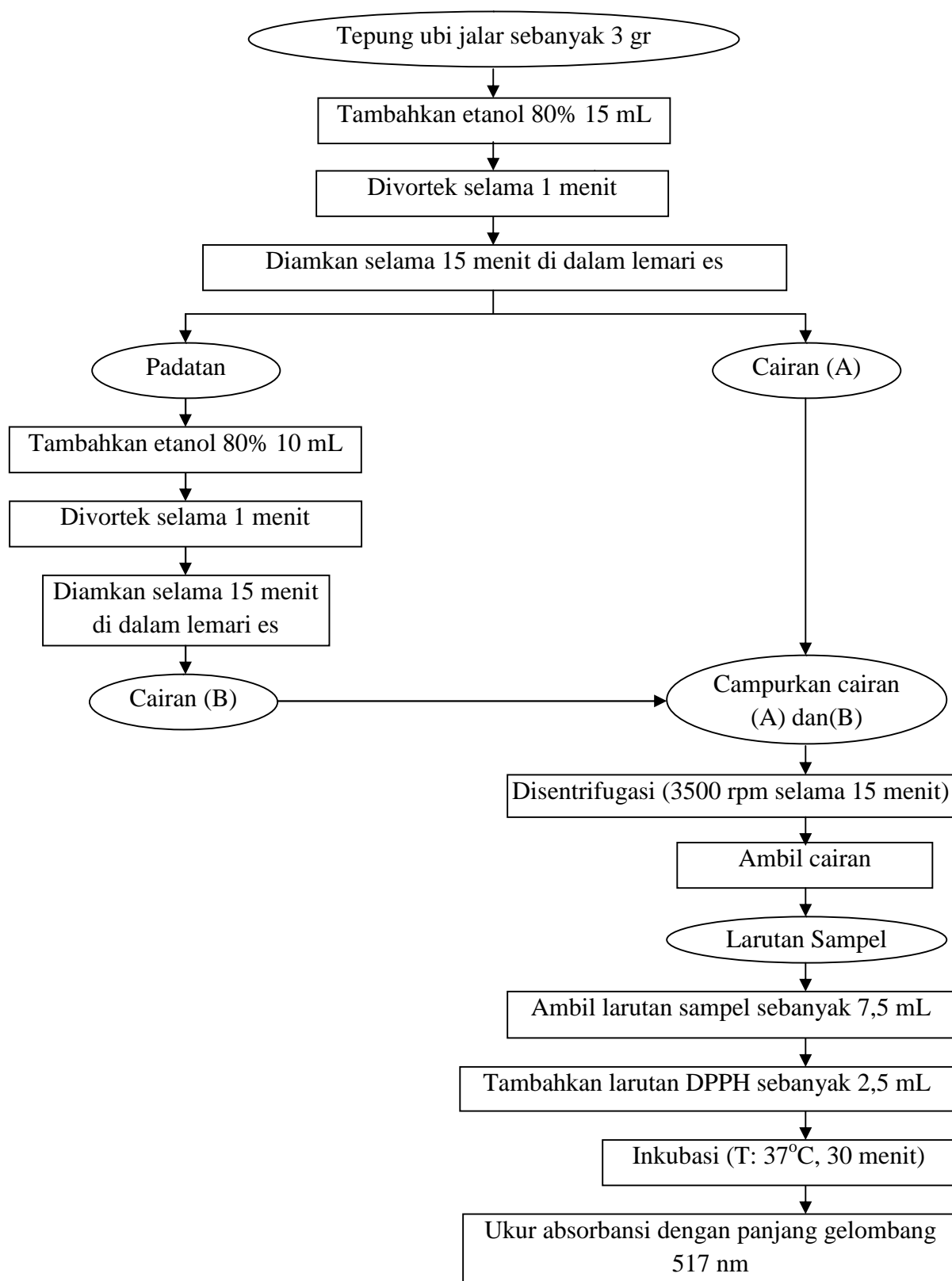
Tepung ubi jalar ungu ditimbang sebanyak 3 g ditambah 15 ml etanol 80% kemudian di vortek larutan didiamkan selama 15 menit, setelah 15 menit ambil cairan simpan (larutan A). Padatan ditambah 10 ml etanol 80 % kemudian divortek didiamkan selama 15 menit ambil cairan (larutan B). Gabungkan larutan A dan B menjadi larutan sampel kemudian divortek. Masing-masing sampel disentrifius dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Setelah terpisah sampel cair dengan padatan diambil sampel cair sebanyak 7,5 ml dan ditambahkan larutan DPPH 0,07 mm dalam etanol 96 % v/v sebanyak 2,5 ml. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit, kemudian dimasukkan kedalam kuvet untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Diagram alir pembuatan dan pengukuran ekstrak antosianin dapat dilihat pada Gambar. 5. Nilai % aktivitas antioksidan diperoleh dengan rumus. sebagai berikut :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{(A_k - A_s)}{A_k} \times 100 \%$$

Keterangan :

A_k = Absorbansi Kontrol

A_s = Absorbansi Sampel



Gambar.9. Diagram Alir pengukuran kapasitas antioksidan

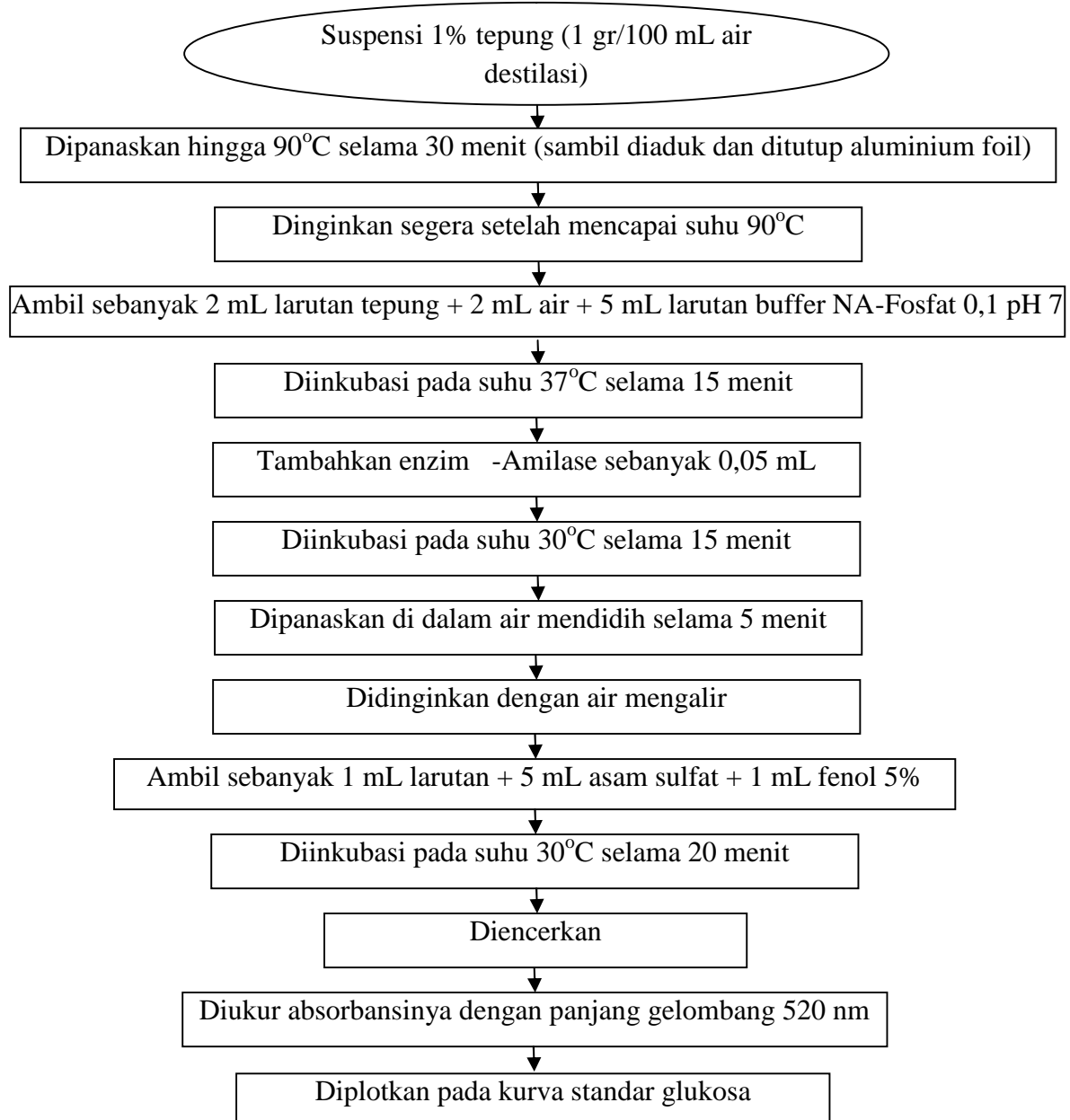
4. Tingkat Hidrolisis Dengan Enzim - Amilase

Penentuan tingkat hidrolisis pati dengan enzim amilase dilakukan dengan cara pembuatan kurva standar yang dibuat untuk mendapatkan nilai regresinya. Penentuan tingkat hidrolisis enzimatis berdasarkan kurva standar glukosa. Setelah didapatkan regresi dari kurva standar, sampel yang dianalisa dengan cara yang sama dengan kurva standar didapat nilai absorbansi yang kemudian diplotkan pada kurva standar.

Pengujian daya cerna pati dilakukan dengan metode invitro, yang ditentukan berdasarkan jumlah pati yang dapat dihidrolisis oleh enzim - amilase menjadi gula-gula sederhana (glukosa dan maltosa) dan - limit dekstrin. Semakin tinggi daya cerna suatu pati berarti semakin banyak pati yang dapat dihidrolisis dalam waktu tertentu yang ditunjukkan oleh semakin banyak glukosa dan maltosa yang dihasilkan yang diukur dengan spektrofotometer. Daya cerna pati sampel dihitung relatif terhadap pati murni (*soluble starch*).

Penentuan sampel glukosa dengan menggunakan metode fenol asam sulfat (Dubois *et al.*, 1956) dengan cara sebagai berikut : Masukkan 1 ml larutan sampel ke tabung reaksi kemudian ditambahkan fenol 5 % 1 ml dan asam sulfat pekat 5 ml. Kemudian diinaktivasi enzim dengan mencelupkan sampel kedalam air mendidih selama 5 menit. didinginkan dengan air mengalir, Sebanyak 1 ml larutan 5 ml as sulfat + fenol 5 % 1 ml kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C, 20 menit

selanjutnya diencerkan dan ukur absorbansi pada 520 nm. Penugujian daya cerna enzimatis metode invitro dapat dilihat pada Gambar. 10.



Gambar.10. Prosedur pengujian daya cerna enzimatis metode invitro
Sumber : Dubois *et al.*, (1956)

Pembuatan kurva standar glukosa

Glukosa sebanyak 0,01 g di larutkan dengan air destilasi 100 ml kemudian buat larutan standar dengan konsentrasi yang berbeda (10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ml), Ambil 1 ml masing –masing larutan ditambah 5 ml asam sulfat pekat dan fenol 5 % 1 ml. Larutan diinkubasi pada suhu 30 ° C selama 20 menit kemudian larutan diencerkan sebanyak 5 kali. Absorbansi diukur pada gelombang 520.

Jumlah glukosa ditentukan berdasarkan OD larutan contoh dan kurva standar dapat dihitung berdasarkan rumus :

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

Keterangan :

A = Glukosa yang diperoleh dari kurva standar

B = Volume sampel (ml).