III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian dan Laboratorium Analisis Hasil Pertanian di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni sampai Agustus 2014.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rice cooker (Miyako), neraca analitik (AY 200), blender (miyako), oven (Memment dan Heraous), beaker glass (Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), spatula, pipet, alumunium foil, vortex, tabung centrifuge (corning), kuvet dan spektrofotometer (HACH–Beneyes 20).

Bahan yang digunakan beras varietas Ciherang yang dibeli di kota Metro. Teh hijau dengan merk dagang teh Djenggot PT. Gunung Subur diperoleh dari pasar lokal dan teh hitam diperoleh dari PTPN VII Unit Pagar Alam-Sumatera Selatan. Bahan-bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquadest, fenol 5% enzim α–amilase (novozyme), asam sulfat pekat (H_2SO_4), ethanol (J.T. Bakker) buffer fosfat 0,5M (pH 7), DPPH (1,1–diphenyl-2-picryl hydrazyl), dan heksana.

3.3 Metode Penelitian

Percobaan ini disusun secara faktorial (2x6) menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan 4 kali ulangan. Faktor pertama adalah jenis teh (T) terdiri dari 2 taraf yaitu teh hijau (T1) dan teh hitam (T2). Faktor kedua yaitu konsentrasi bubuk ekstrak teh (K) terdiri dari 6 taraf yaitu (K1) 0%, (K2) 1%, (K3) 2%, (K4) 3%, (K5) 4%, dan (K6) 5%. Data yang diperoleh diuji kemenambahannya dengan menggunakan uji Tuckey dan kesamaan ragam (kehomogenan) diuji menggunakan uji Bartlett. Data dianalisis dengan sidik ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan mengetahui ada tidaknya perbedaan perlakuan. Data dianalisis lebih lanjut menggunakan perbandingan dan polinominal ortogonal pada taraf 1% dan 5% untuk mengetahui perbedaan dan kecenderungan antar perlakuan (Steel dan Torrie, 1991).

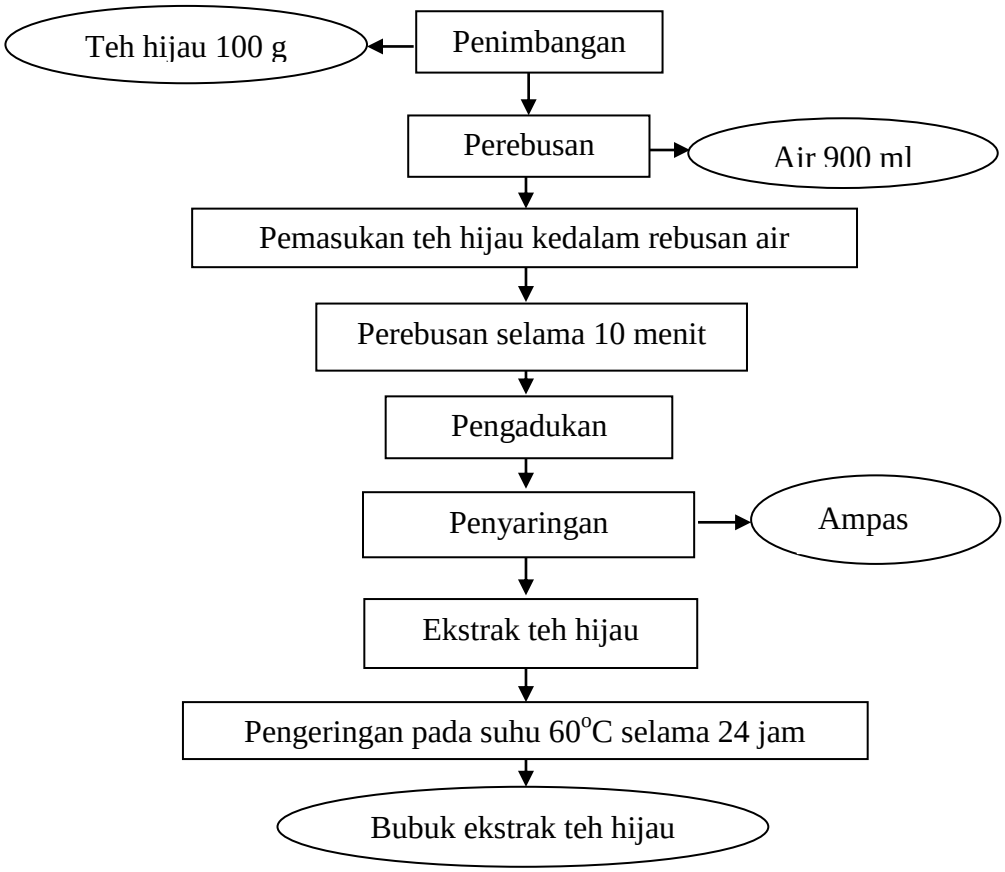
3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Prosedur Penelitian

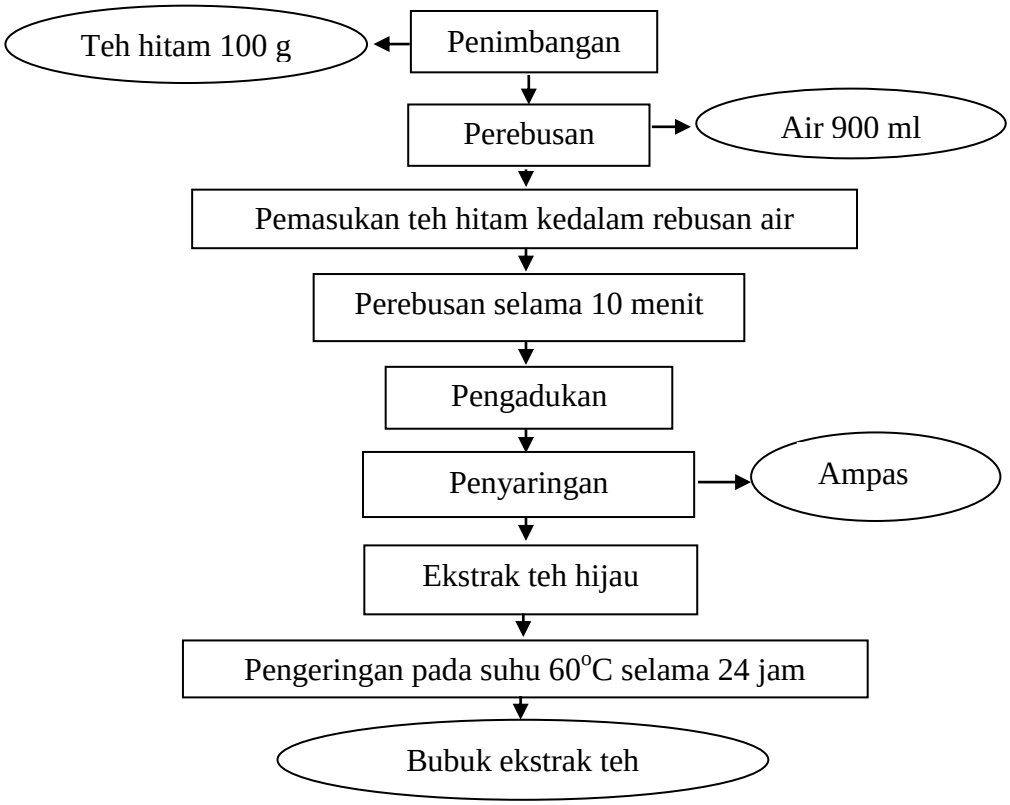
3.4.1.1 Proses pembuatan bubuk ekstrak teh hijau dan teh hitam

Pembuatan ekstrak teh dilakukan berdasarkan penelitian Sharief (2006) yang dimodifikasi. Proses ekstraksi teh diawali dengan penimbangan 100 g teh hijau dan 100 g teh hitam setelah itu menyiapkan air sebanyak 1800 mL, 900 mL air untuk merebus teh hijau sedangkan 900 mL untuk merebus teh hitam. Setelah air mendidih sebanyak 100 g teh hijau dan 100 g teh hitam masing-masing direbus selama 10 menit sambil terus diaduk. Hasil perebusan teh disaring dengan

menggunakan kain saring, kemudian ekstrak teh dimasukan kedalam loyang yang dilapisi alumunium foil dengan ketebalan ekstrak 1 cm di oven dengan suhu 60°C selama 24 jam. Diagram alir proses pembuatan bubuk ekstrak teh dan teh hitam dapat dilihat pada Gambar 4 dan Gambar 5.



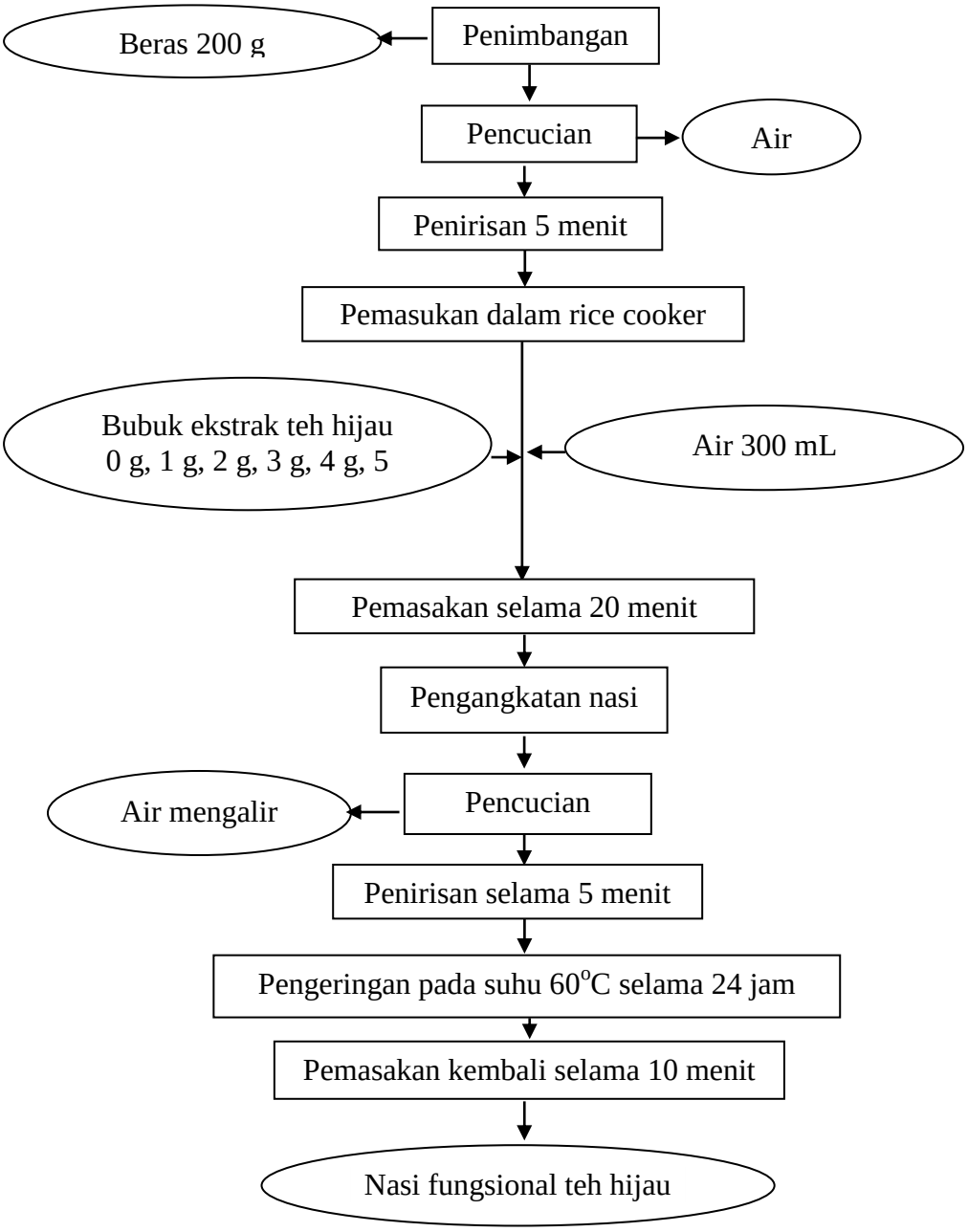
Gambar 4. Diagram alir proses pembuatan bubuk ekstrak teh hijau



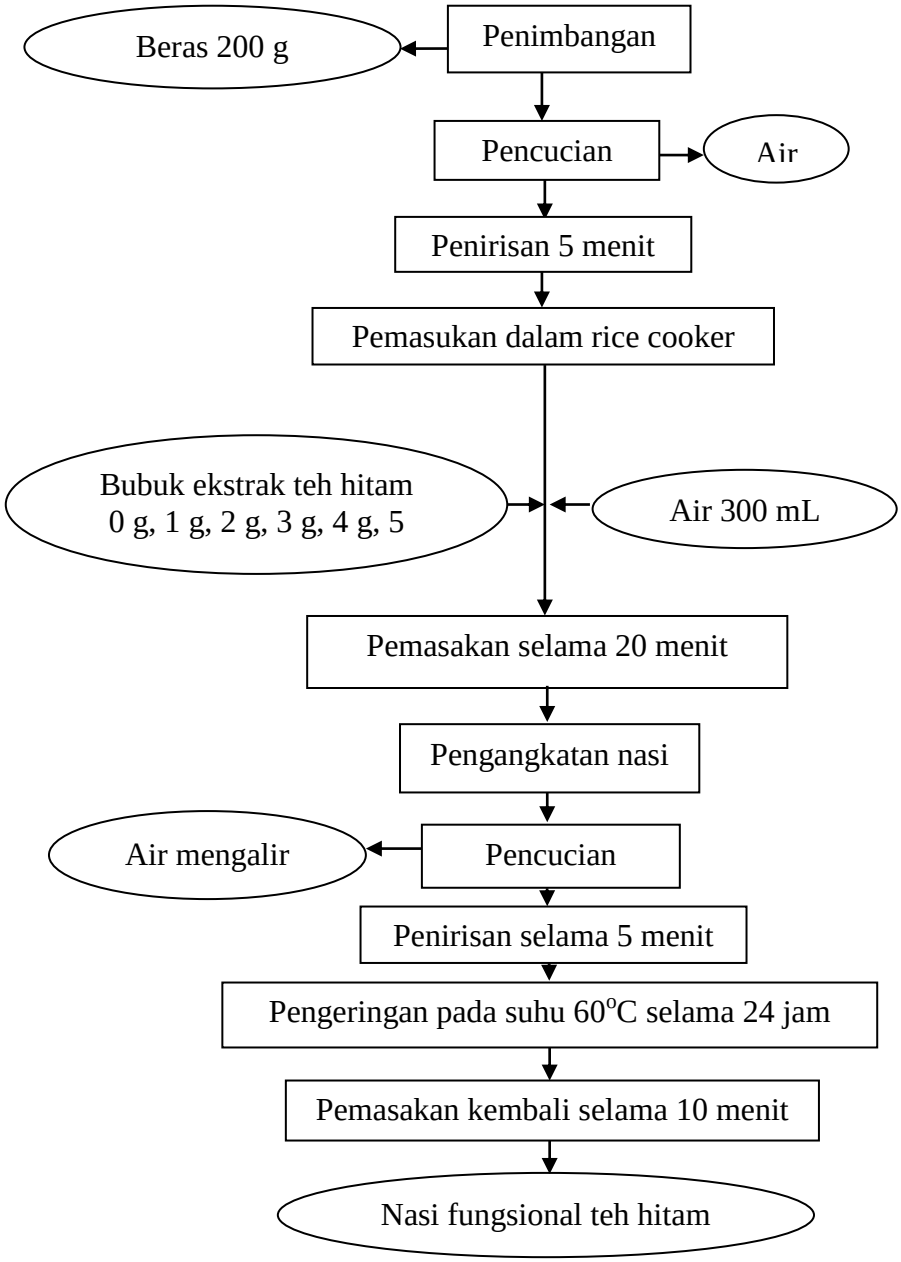
Gambar 5. Diagram alir proses pembuatan bubuk ekstrak teh hitam

3.4.1.2 Proses pembuatan nasi fungsional ekstrak teh hijau dan teh hitam

Prosedur pembuatan nasi instan mengikuti metode yang digunakan oleh Rewthong dkk. (2011) yang dimodifikasi. Beras Ciherang ditimbang 200 g dicuci dan ditambahkan air dengan perbandingan beras-air 1:1,5. Beras ditambahkan bubuk ekstrak teh hijau dan teh hitam dengan konsentrasi 0 g, 1 g, 2 g, 3 g, 4 g dan 5 g dan ditambah air 300 mL setiap perlakuan di masak dalam rice cooker selama 20 menit. Nasi dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan 5 menit. Nasi dikeringkan di oven pada suhu 60°C selama 24 jam dan dimasak kembali selama 10 menit hingga menjadi nasi fungsional. Diagram alir proses pembuatan nasi fungsional teh hijau dan teh hitam dapat dilihat pada Gambar 6 dan Gambar 7.



Gambar 6. Diagram alir proses pembuatan nasi fungsional dengan bubuk ekstrak teh hijau



Gambar 7. Diagram alir proses pembuatan nasi fungsional dengan bubuk ekstrak teh hitam

3.4.2 Pengamatan

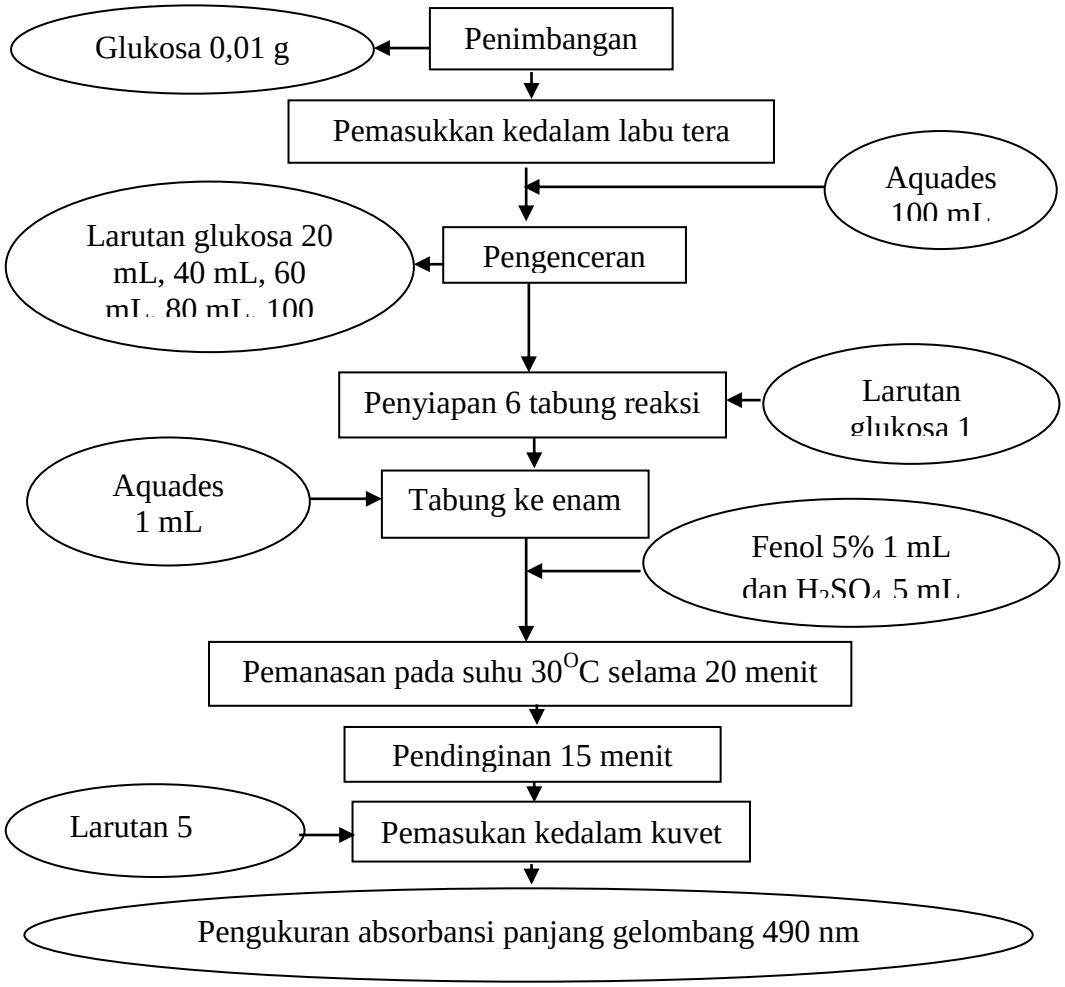
Pengamatan yang dilakukan meliputi penentuan daya cerna pati, aktivitas antioksidan serta uji organoleptik meliputi tekstur, aroma rasa, aroma, warna, dan penerimaan keseluruhan.

3.4.2.1 Analisis daya cerna pati

a. Pembuatan kurva standar glukosa

Jumlah glukosa hasil hidrolisis enzim amilase diukur secara spektrofotometri. Larutan hasil hidrolisis direaksikan dengan asam sulfat dan fenol sehingga terbentuk warna jingga kemerahan yang kepekatannya berbanding lurus dengan kadar glukosa dalam larutan. Kandungan glukosa sampel ditentukan berdasarkan kurva standar glukosa (Muchtadi dkk., 1992).

Glukosa ditimbangan 0,01 g dimasukkan kedalam labu tera dan ditambahkan 100 mL aquades. Pengenceran dilakukan 20 mL, 40 mL, 60 mL, 80 mL, dan 100 mL kemudian disiapkan 6 tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi dimasukan 1 mL dari larutan glukosa tersebut. Tabung keenam diisi aquades sebagai pengganti larutan glukosa (blanko). Larutan ditambahkan 1 mL fenol 5% pada masing-masing tabung reaksi dan ditambah 5 mL H_2SO_4 pekat. Tabung reaksi dipanaskan dalam penangas air pada suhu $30^{O}C$ selama 30 menit dan didinginkan selama 15 menit. Larutan dimasukan kedalam kuvet sebanyak 5 mL diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Diagram alir proses pembuatan kurva standar glukosa dapat dilihat pada Gambar 8.

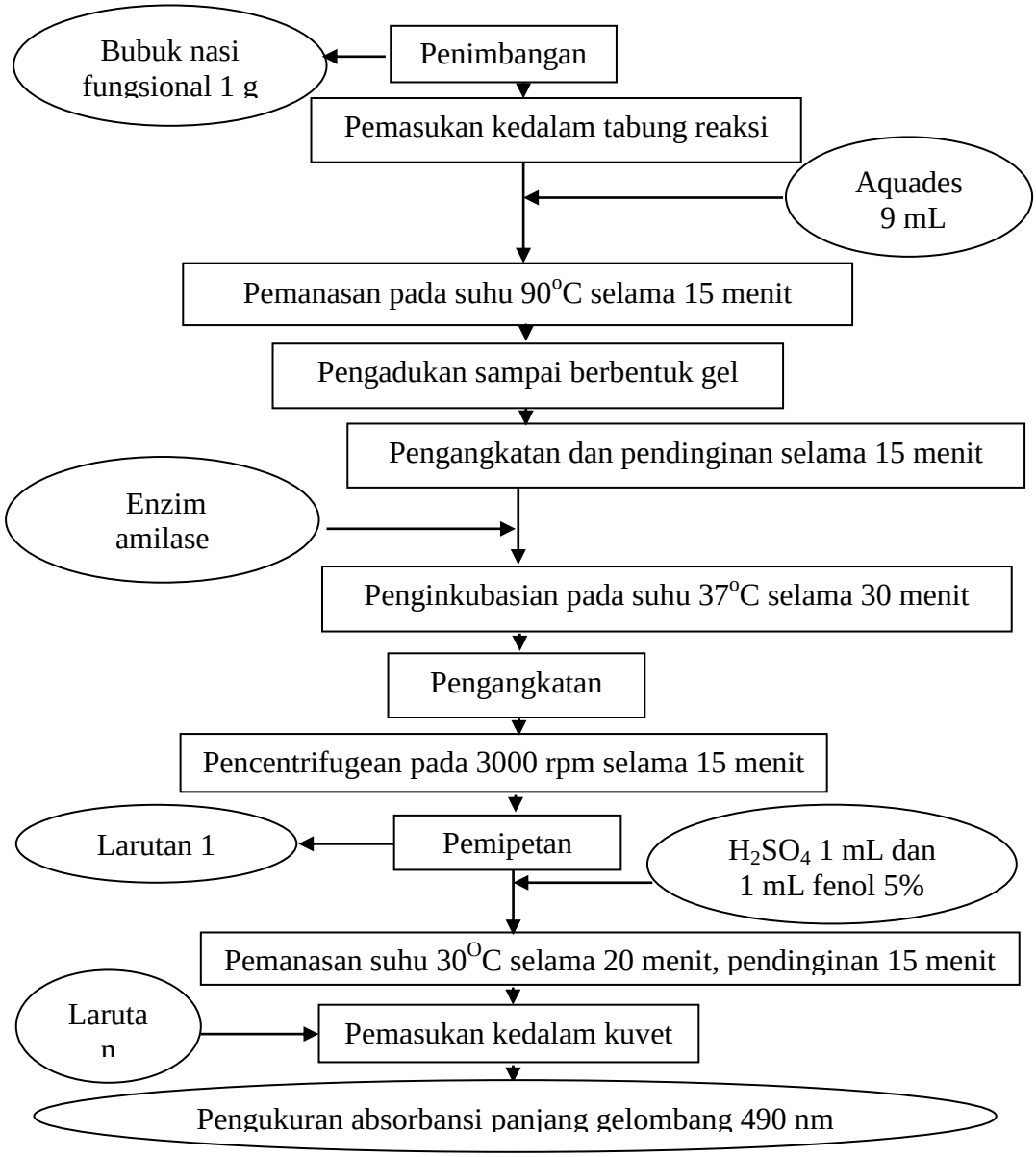


Gambar 8. Diagram alir proses pembuatan kurva standar glukosa

b. Penentuan daya cerna pati nasi fungsional

Bubuk nasi fungsional ditimbang 1 g dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL akuades (D), dipanaskan pada penangas air pada suhu 90°C hingga berbentuk gel sambil diaduk, diangkat dan didinginkan selama 15 menit. Larutan bubuk nasi fungsional ditambah enzim amilase 1 mL dan 5 mL buffer fosfat 0,1 M pH 7, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, dicentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Sampel dipipet 1 mL dan ditambahkan 9 mL aquades. Sampel cair dihitung sebagai konsentrasi volume pengenceran (B),

sampel dipipet 1 mL ditambah 1 mL H_2SO_4 dan 1 mL fenol 5%. Larutan sampel (C) dipanaskan pada suhu 30^0C selama 20 menit didinginkan 15 menit. Sampel 5 mL dimasukan kedalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Nilai yang diperoleh dari pengukuran absorbansi dilakukan persamaan pada kurva standar glukosa. Nilai y sebagai hasil absorbansi pengukuran daya cerna pati dan nilai x dihitung sebagai nilai (A). Diagram alir proses penentuan daya cerna pati nasi fungsional dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram alir proses pengujian daya cerna pati nasi fungsional

Rumus penentuan daya cerna pati, yaitu :

Keterangan :

Daya Cerna Pati (%) = $\frac{A \times B \times C}{D} \times 100$ %

A = Glukosa yang diperoleh dari kurva standar (mg/100 mL)

B = Volume sampel (mL)

C = Konsentrasi pengenceran larutan sampel (mL)

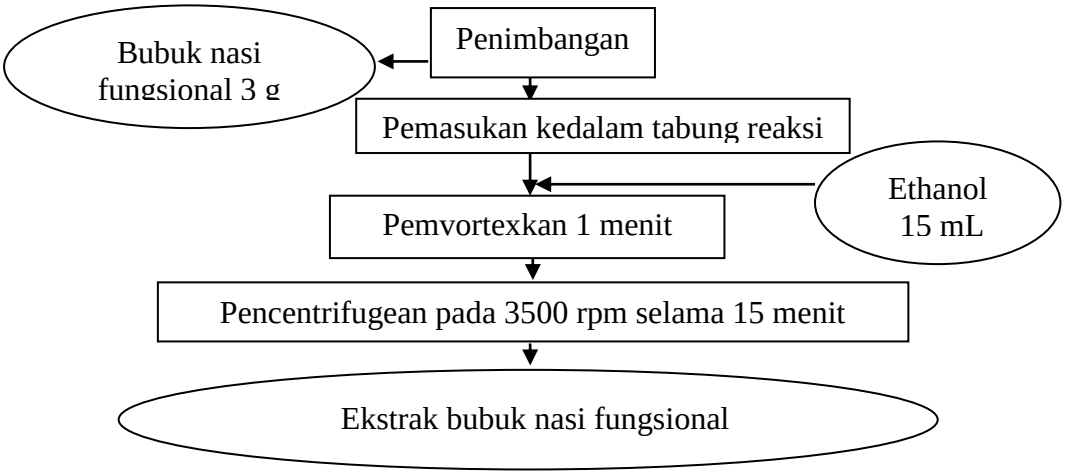
D = Berat sampel (g)

3.4.2.2 Aktivitas antioksidan nasi fungsional

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Molyneux, 2004). Metode DPPH ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning atau kuning muda, setelah dilakukan inkubasi selama 30 menit dalam wadah tertutup alumunium foil. Tujuan dilakukan inkubasi adalah untuk mempercepat reaksi antara DPPH sebagai radikal bebas dengan ektrak nasi fungsional yang bertindak sebagai antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan nasi fungsional pada panjang gelombang 517 nm, kemudian dari absorbansi yang diperoleh dihitung persen (%) penghambatannya. Semakin tinggi nilai absorbansi maka nilai persentase penghambatnya akan semakin rendah.

a. Persiapan ekstrak bubuk nasi fungsional untuk pengujian aktivitas antioksidan

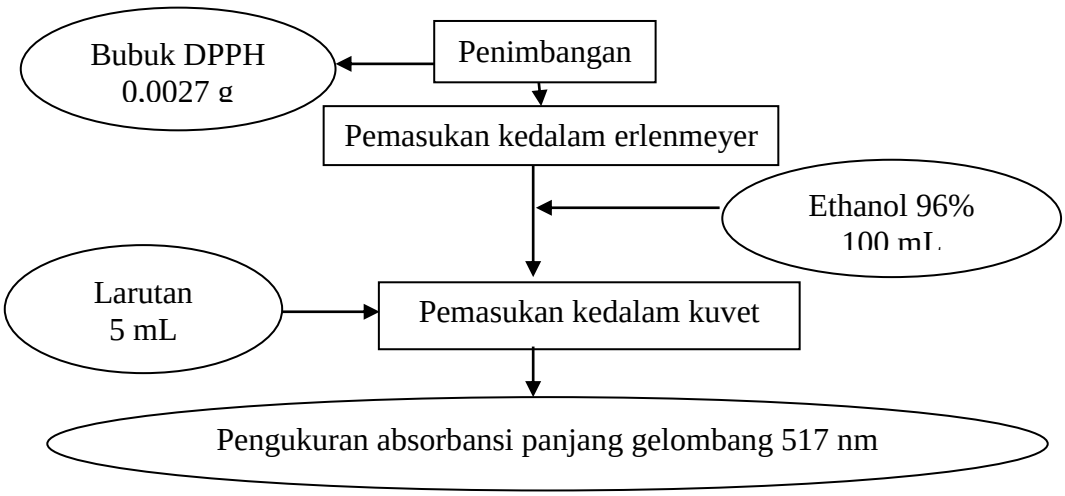
Bubuk nasi fungsional ditimbang 3 g dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambah 15 mL ethanol 96%, dan divortex 1 menit. Sampel dicentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit dan didinginkan selama 15 menit. Diagram alir proses persiapan ekstrak bubuk nasi fungsional dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Diagram alir proses persiapan ekstrak bubuk nasi fungsional

b. Persiapan larutan kontrol DPPH

Aktivitas antioksidan dianalisis dengan diawali pembuatan larutan kontrol DPPH (diphentyl picrylhydrazil). Larutan DPPH 0,07 mM ditimbang 0,0027 g dalam ruang gelap kemudian dilarutkan dalam ethanol 96% sebanyak 100 mL. Larutan diambil 5 mL dimasukan kedalam kuvet untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Hasil pengukuran absorbansi dihitung sebagai Absorbansi kontrol (Ak). Diagram alir proses persiapan larutan kontrol DPPH dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Digram alir proses persiapan larutan kontrol DPPH

c. Pengujian aktivitas antioksidan nasi fungsional

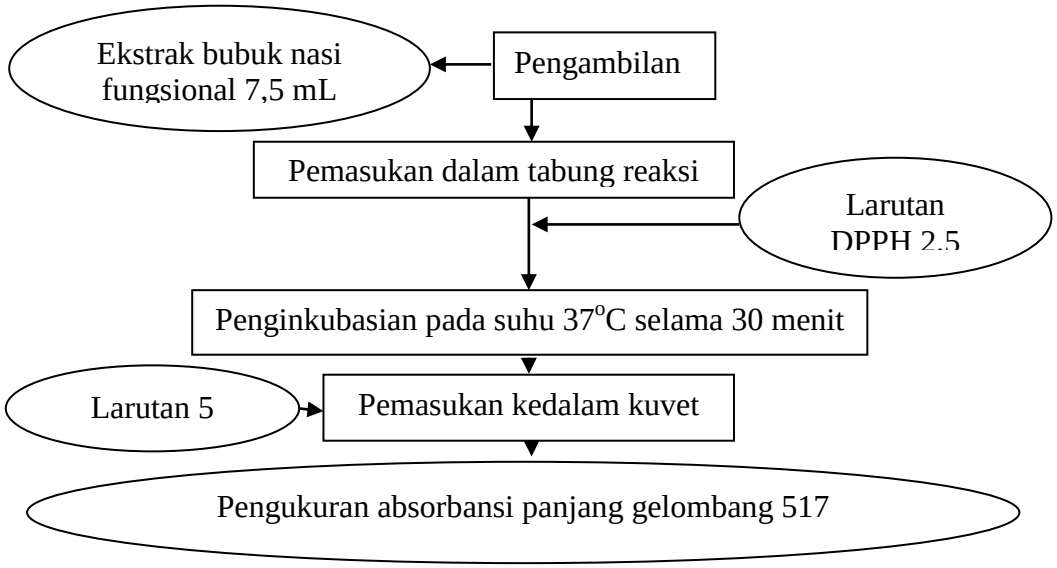
Larutan ekstrak bubuk nasi fungsional dipipet 7,5 mL dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 2,5 mL, setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian dimasukan kedalam kuvet sebanyak 5 mL untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Larutan sampel yang didapat digunakan sebagai Absorbansi sampel (As). Diagram alir proses pengujian aktivitas antioksidan nasi fungsional dapat dilihat pada Gambar 12. Absorbansi dari ekstrak bubuk nasi fungsional dan yang diperoleh dibandingkan dengan absorbansi DPPH sehingga diperoleh % aktivitas antioksidannya. Perhitungan persentase aktivitas antioksidan dapat menggunakan rumus (Molyneux, 2004).

$$\textbf{\% Aktivitas Antioksidan} = \frac{(Ak-As)}{Ak} x 100\%$$

Keterangan :

Ak = Absorbansi kontrol

As = Absorbansi sampel



Gambar 12. Diagram alir proses pengujian aktivitas antioksidan nasi fungsional

3.4.2.3 Uji organoleptik

Pengamatan organoleptik nasi fungsional meliputi tekstur, rasa, aroma, warna, dan penerimaan keseluruhan. Penilaian dilakukan dengan menggunakan 30 orang panelis. Pengujian organoleptik dalam penelitian ini menggunakan uji skoring (tekstur, rasa, aroma, dan warna) dan uji hedonik penerimaan keseluruhan (Setyaningsih dkk., 2010). Tingkat kesukaan menggunakan 1–5 skala skoring, tekstur yaitu (5=sangat pulen, 4=pulen, 3=agak pulen, 2=tidak pulen, dan 1=sangat tidak pulen). Aroma yaitu (5=sangat aroma teh, 4=aroma teh, 3=agak aroma teh, 2=tidak beraroma teh, 1=sangat tidak beraroma teh). Rasa yaitu (1=sangat pahit, 2=pahit, 3=sepat, 4=agak manis, 5=manis). Warna yaitu (5=sangat coklat, 4=coklat, 3=agak coklat, 2=tidak coklat, 1=sangat tidak coklat). Skala hedonik penerimaan keseluruhan yaitu (1=sangat tidak suka, 2=tidak suka, 3=agak suka, 4=suka, 5=sangat suka. Lembar quisioner uji skoring dan uji hedonik pada Tabel 3.

Tabel 3. Lembar quisioner uji skoring dan uji hedonik

Lembar Quisioner Uji Skoring dan Uji Hedonik

ama :
Tanggal :

Dihadapan Anda disajikan sampel nasi fungsional dengan bubuk ekstrak teh hijau dan teh hitam. Anda diminta untuk memberikan penilaian terhadap tekstur, rasa, aroma, dan warna serta penerimaan keseluruhan berupa skor 1 sampai 5. Berikan penilaian anda di bawah kode sampel pada tabel penilaian berikut :

Penilaian	245	160	279	315	189	123	345	657	231	871	367
Tekstur											
Aroma											
Rasa											
Warna											
Penerimaan keseluruhan											

Keterangan skor mutu uji skoring nasi fungsional dengan bubuk ekstrak teh hijau dan teh hitam:

Tekstur
Sangat pulen : 5
Pulen : 4
Agak pulen : 3
Keras : 2
Sangat keras : 1

Aroma
Sangat khas teh : 5
Khas teh : 4
Agak khas teh : 3
Tidak khas teh : 2
Sangat tidak khas teh : 1

Rasa
Manis : 5
Agak manis : 4
Sepat : 3
Pahit : 2
Sangat pahit : 1

Warna
Sangat coklat : 5
Coklat : 4
Agak coklat : 3
Tidak coklat : 2
Sangat tidak coklat : 1

Keterangan uji hedonik sampel nasi fungsional dengan bubuk ekstrak teh hijau dan teh hitam.:

Penerimaan keseluruhan
Sangat suka : 5
Suka : 4
Agak suka : 3
Tidak suka : 2
Sangat tidak suka : 1