

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dilaboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, laboratorium Biomassa, laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada bulan Juli hingga September 2014.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pemanas drum berputar hasil modifikasi, tabung sentrifuse (*Corning*), sentrifuse (*Iec Centra cl 2*), labu ukur (*Pyrex*), labu soxhlet (*Philip Haris*), spatula, *beaker glass* (*Pyrex*), kuvet, pemanas soxhlet (*Toshnival*), *spectrophotometer* (*HACH- Geneyes 20*), panci, neraca analitik (*AY 220*), thermometer, pH-meter (*As One 392R*), pipet ukur, mikro pipet, baskom, ayakan, tabung reaksi (*Pyrex*), blender (*miyako*), cawan porselen, *shaker waterbath* (*Memmert*), oven (*Memmert*), *waterbath* (*Adolf kuhner AG schweiz*), dan Erlenmeyer (*Pyrex*).

Bahan baku yang digunakan yaitu ubi jalar ungu yang dikembangkan oleh Balai Pelatihan Pertanian (BPP) Lampung yang di tanam oleh bapak Abdul Hadi. Bahan-bahan kimia yang digunakan yaitu pepsin (Merck KGaA), enzim α -amilase (Novozyme asal Denmark produksi Cina), glukoamilase (Novozyme asal Denmark produksi Cina), HCl (JT. Beaker produksi Jerman) 25%, aquades, H₂SO₄ (JT. Beaker produksi Jerman) pekat, fenol 5%, NaOH 45%, KOH 4M, Buffer KCl-HCl pH 1,5, Buffer Sodium Asetat pH 4,75, dan ethanol (JT. Beaker produksi Jerman) 95%.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan empat ulangan. Ulangan sebagai kelompok yang diberikan perlakuan berupa lama pendinginan (L) pada suhu 5°C terdiri dari 4 taraf yaitu 0 (L0), 5 (L1), 24 (L2) dan 48 (L3), Jam pada suhu 5°C. Data diolah dengan sidik ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan uji signifikansi untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan. Kesamaan ragam diuji dengan uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Data kemudian dianalisis lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% (Hanafiah, 2001).

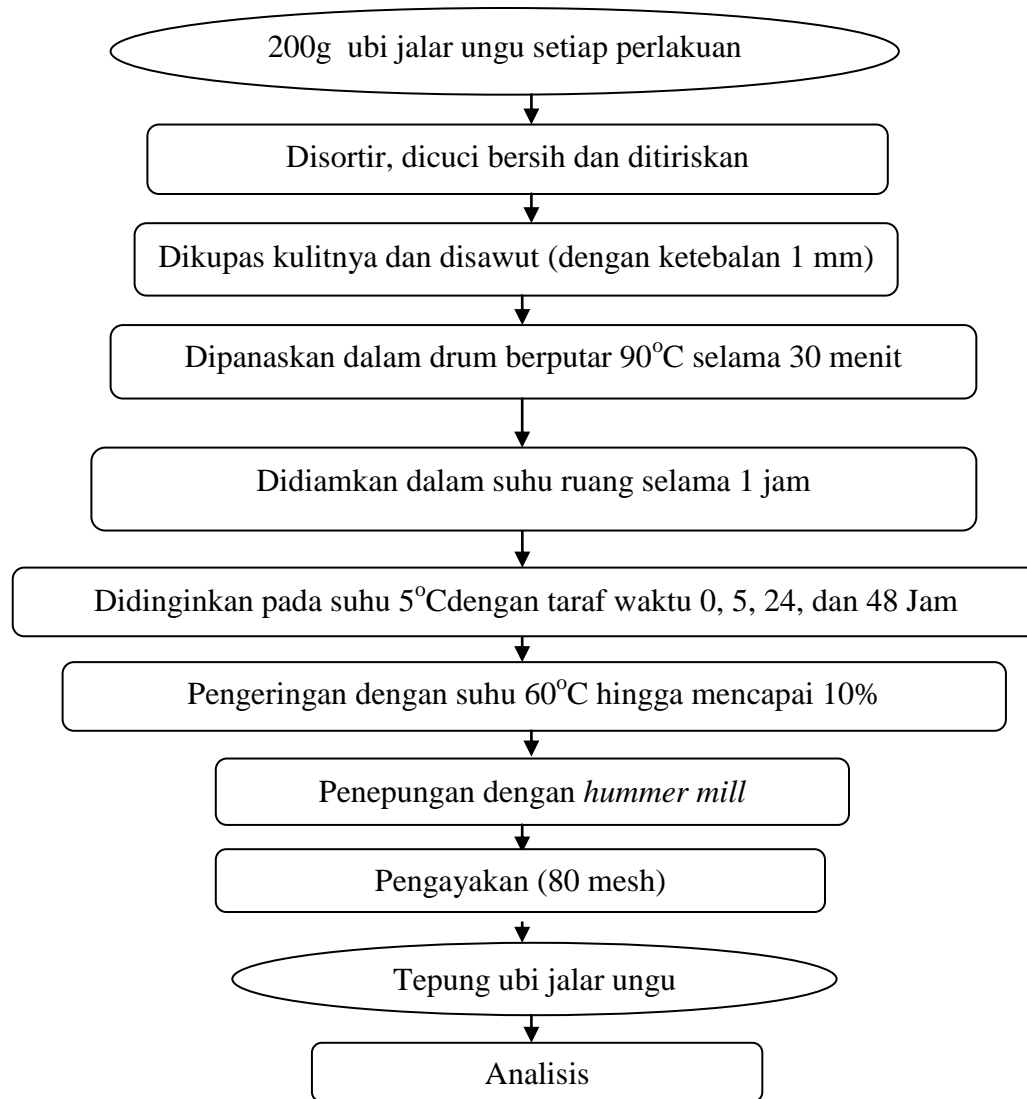
3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yang meliputi:

- (1) Pembuatan tepung ubi jalar ungu termodifikasi, dan (2) Analisis kandungan total pati, pati resisten dan antosianin.

3.4.1 Pembuatan Tepung Ubi Jalar Ungu Termodifikasi

Modifikasi tepung ubi jalar ungu dilakukan dengan metode dari Nurdjanah dan Yuliana (2014), pertama disiapkan 200 g (berat ubi jalar untuk tiap satu percobaan) yang telah disortasi dan dicuci sampai bersih, serta ditiriskan. Ubi dikupas kulitnya, disawut dan dilanjutkan dengan proses pemanasan dengan menggunakan alat pemanas berputar pada suhu 90°C selama 30 menit. Kemudian umbi yang telah disawut dan dipanaskan, kemudian disimpan pada suhu 5°C selama 0, 5, 24 dan 48 jam, selanjutnya dilakukan pengeringan pada suhu 60°C hingga kadar air 10%. Setelah sampel dingin dilakukan penepungan dengan menggunakan *hammer mill* dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh. Diagram alir pembuatan tepung ubi jalar ungu termodifikasi disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Diagram alir proses pembuatan tepung ubi jalar ungu
Sumber: Nurdjanah dan Yuliana (2014)

3.4.2 Analisis Karakteristik Tepung Ubi Jalar Ungu

Pengamatan yang dilakukan terhadap karakteristik tepung ubi jalar ungu termodifikasi meliputi kadar pati resisten, antosianin dan total pati.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Kandungan Pati Resisten

Penentuan pati resisten dilakukan dengan memodifikasi metode yang digunakan oleh Goni *et al.* (1996). Sebanyak 100 mg sampel (tepung ubi jalar ungu termodifikasi) dimasukkan ke dalam tabung *centrifuse*. Lalu ditambahkan 10 mL KCl-HCl buffer pH 1,5 dan pengaturan pH 1,5 dilakukan dengan menambah HCl (2 M) atau NaOH (0,5 M). Kemudian ditambahkan 2 ml larutan pepsin (1 g pepsin/10 mL buffer KCl-HCl). Campuran tersebut dimasukkan ke dalam *water bath* suhu 40°C selama 60 menit. Kemudian campuran tersebut didinginkan pada suhu ruang, pH campuran diatur hingga 6,9 dengan menambahkan NaOH (0,5 M) lalu campuran ditambah 1 ml larutan enzim α -amilase. Campuran diinkubasi selama 16 jam pada *water bath* suhu 37°C dengan pengadukan konstan. Campuran disentrifuse selama 15 menit (3000 rpm) lalu supernatan yang diperoleh dibuang. Sedangkan residu ditambahkan dengan 10 ml air destilat, lalu disentrifuse kembali (15 menit, 3000 rpm) dan supernatan dipisahkan. Sebanyak 3 ml air destilat ditambahkan pada residu kemudian diaduk agar berampur. Setelah itu ditambahkan KOH (4 M) sebanyak 3 ml. Kemudian diinkubasi pada *shaker waterbath (Mammert)* selama 30 menit pada suhu ruang dengan pengadukan konstan. Sebanyak 5,5 ml HCl (2 M) dan 3 ml buffer sodium asetat

(0,4 M) ditambahkan ke dalam campuran dan dilakukan pengaturan pH menjadi 4,75 dengan menambahkan HCl (2 M). Setelah itu sebanyak 80 μ L enzim glukamilase ditambahkan dan dicampurkan secara merata dan dibiarkan dalam *water bath (memmert)* selama 45 menit pada suhu 60°C. Kemudian dilakukan pemisahan dengan menggunakan *centrifuge* (15 menit, 3000 rpm). Supernatan yang didapat disimpan terpisah, dan residu ditambah dengan air destilat sebanyak 10 ml lalu disentrifius kembali. Residu dibuang, sedangkan supernatan yang didapat dicampur dengan supernatan yang telah didapat sebelumnya kemudian campuran tersebut dibuat menjadi 50 ml dengan menambahkan air destilat untuk penentuan glukosa. Penentuan glukosa dilakukan menggunakan spektrofotometri dengan menghubungkan kurva standar glukosa dan glukosa yang telah didapat.

Sebelum penentuan kadar glukosa sampel, terlebih dahulu dibuat kurva standar dengan membuat larutan glukosa standar (10 mg glukosa anhidrat/ 100 ml aquades). Dari larutan tersebut dilakukan pengenceran dengan masing-masing menambahkan 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 mL larutan glukosa kedalam labu ukur, kemudian ditambahkan aquades hingga 100 mL sampai tanda tera, sehingga diperoleh konsentrasi 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/ 100 mL. Sebanyak 6 buah tabung reaksi bersih, masing-masing diisi dengan 1 mL larutan glukosa standar tersebut. Kemudian kedalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL fenol 5% dan asam sulfat pekat 5 mL, setelah selesai dipanaskan dengan penangas air pada suhu 30°C selama 20 menit kemudian diukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer. Kurva standar dibuat dengan cara menghubungkan antara

konsentrasi glukosa dengan absorbansinya. Absorbansi masing-masing larutan tersebut dibaca dengan panjang gelombang 490 nm. Penentuan kadar pati resisten sampel dilakukan sama seperti mengukur kurva standar glukosa, perbedaan hanya terletak pada jumlah sampel yaitu 5 mL. Jumlah kadar pati resisten dapat dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\text{Glukosa (mg)} = \frac{\text{mg/mL glukosa dari kurva standar} \times \text{V sampel (mL)} \times \text{fpx}}{\text{1mg}} \times \text{Berat sampel (mg)}$$

Banyaknya glukosa(mg) x 0,9 meruakan jumlah pati resisten
Fakor penencer = 20 kali

3.5.2 Analisis Total Antosianin

Konsentrasi antosianin dinyatakan sebagai sianidin-3-glukosida ditentukan dengan metode perbedaan pH pada Spektrofotometer (Guisti dan Worlstad, 2001). Sebanyak 2,4 g tepung ubi jalar ungu diekstraksi dengan etanol-HCl 1% (ethanol 95% *J.T. Beker*) sebanyak 100 mL. Sampel yang telah diekstrak dikocok dengan agitasi selama 2 jam dengan kecepatan 250 rpm pada suhu ruang (30°), kemudian dipisahkan filtratnya. Setelah itu diambil masing-masing 0,5 mL ekstrak yang telah dihasilkan dan dilakukan pengenceran hingga 3 mL terhadap ekstrak tersebut (faktor pengenceran 6) pengenceran dilakukan dengan penambahan masing-masing ekstrak dengan larutan *buffer* HCl pH 1 dan Na-asetat pH 4,5. Masing-masing sampel diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada λ 510 nm dan 700 nm dengan blanko aquades (Hayati *et al.*, 2012). Konsentrasi antosianin dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$A = (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{510})_{\text{pH}1,0} - (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700})_{\text{pH}4,5}$$

$$\text{Total Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times DF \times MW \times 1000}{26.900 \times 1}$$

Keterangan :

DF = *Dilution Faktor* atau faktor pengenceran

MW Sianidin 3-glukosida = 449,2 g/mol

Konstanta absorptivitas molar = 26.900 Lmol⁻¹cm⁻¹

3.5.3 Total Pati Tepung Ubi Jalar Ungu Termodifikasi

Penetapan kadar pati dilakukan berdasarkan metode AOAC (1995). Sampel (tepung ubi jalar ungu) dimasukkan kedalam tabung sentrifuse sebanyak 2 gr, lalu ditambahkan aquades hingga 50 mL dikocok hingga merata. Larutan disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Suspensi disaring dengan kertas saring kedalam Erlenmeyer 250 mL dengan pencucian menggunakan 200 mL aquades kemudian ditambahkan HCl 25% sebanyak 20 mL dihidrolisis dengan soxhlet (*Toshnival*) selama 1.5 jam pada angka 5 (dihitung setelah mendidih). Hasil yang didapatkan didinginkan dan ditambahkan NaOH 45% hingga netral, diencerkan hingga volume 500 mL. Hasil dari campuran tersebut disaring hingga 50 ml untuk dilakukan pengukuran glukosa. Penentuan glukosa dilakukan menggunakan spektrofotometri dengan menghubungkan kurva standar glukosa dan glukosa yang telah didapat.

Sebelum penentuan kadar glukosa sampel, terlebih dahulu dibuat kurva standar dengan membuat larutan glukosa standar (10 mg glukosa anhidrat/ 100 ml

aquades). Dari larutan tersebut dilakukan pengenceran dengan masing-masing menambahkan 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 mL larutan glukosa kedalam labu ukur, kemudian ditambahkan aquades hingga 100 mL sampai tanda tera, sehingga diperoleh konsentrasi 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/ 100 mL. Sebanyak 6 buah tabung reaksi bersih, masing-masing diisi dengan 1 mL larutan glukosa standar tersebut. Kemudian kedalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL fenol 5% dan asam sulfat pekat 5 mL, setelah selesai dipanaskan dengan penangas air pada suhu 30°C selama 20 menit kemudian diukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer. Kurva standar dibuat dengan cara menghubungkan antara konsentrasi glukosa dengan absorbansinya. Absorbansi masing-masing larutan tersebut dibaca dengan panjang gelombang 490 nm. Penentuan kadar pati resisten sampel dilakukan sama seperti mengukur kurva standar glukosa, perbedaan hanya terletak pada jumlah sampel yaitu 3 mL. Jumlah kadar pati resisten dapat dihitung berdasarkan rumusa berikut:

$$\text{Kadar pati (\%)} = \frac{A \times B \times C \times 0,9 \times 100\%}{D}$$

Keterangan :

A = Glukosa yang diperoleh dari kurva estándar mg/100 mL

B = volume sampel akhir (mL)

C = Pengenceran larutan

D = Berat sampel (mg)

0,9= faktor penentu kadar pati