

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

Percobaan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu membuat nata dari limbah cair tapioka dengan menggunakan sumber nitrogen alami dari ekstrak kacang hijau. Nata yang dihasilkan kemudian di uji ketebalan, diukur persen massa produk, dan produk nata yang terbaik di uji kandungan gizinya.

#### **3.1 Alat dan Bahan**

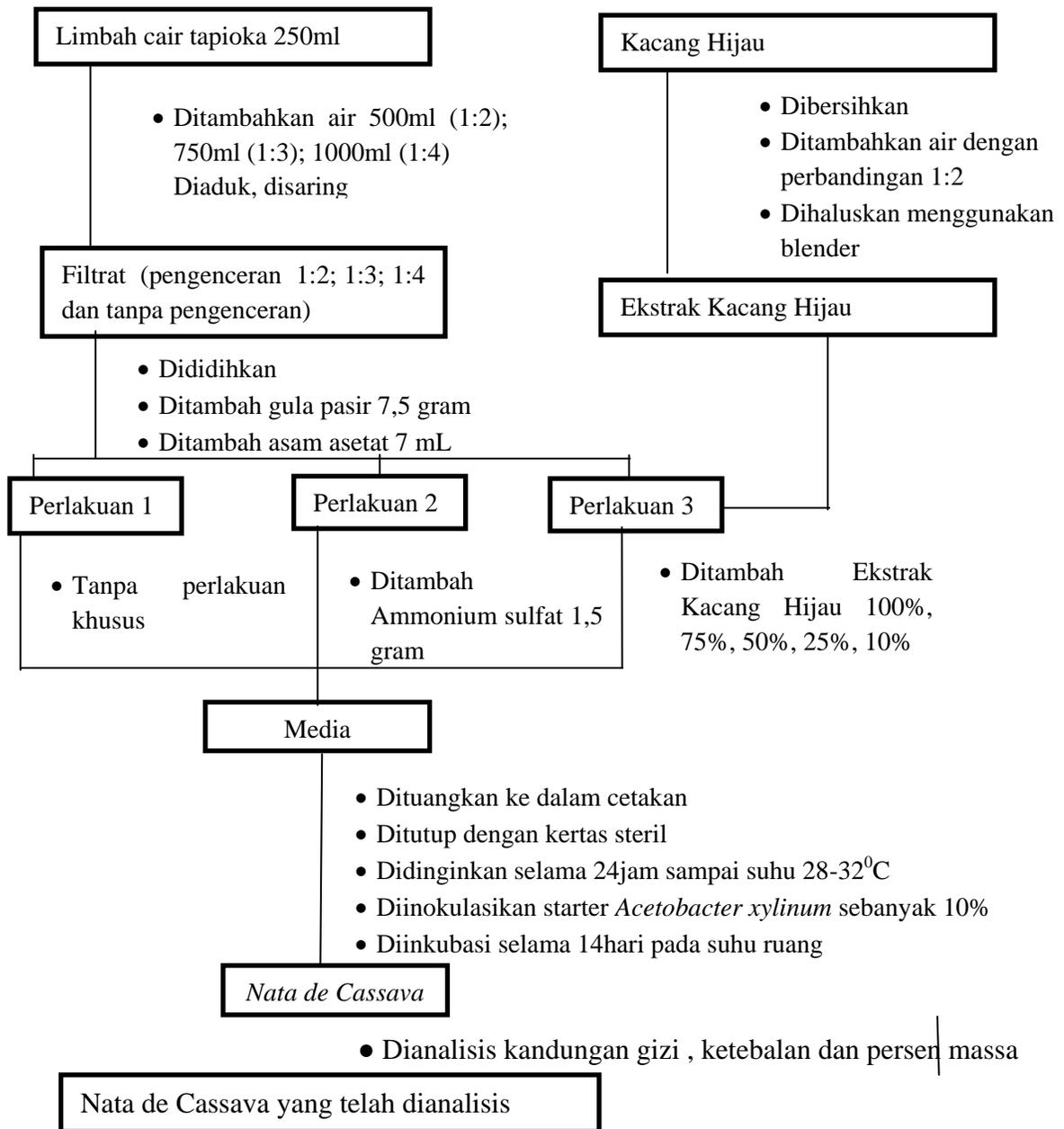
##### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan untuk membuat nata, yaitu panci, kompor gas, kain kassa, gelas ukur, loyang plastik, pengaduk kayu, kertas penutup steril, karet gelang, pisau, dan thermometer. Untuk uji karakteristik fisik alat-alat yang digunakan, yaitu jangka sorong dan timbangan. Alat-alat yang digunakan untuk uji kandungan gizi, yaitu blender, corong Buchner, timbangan, buret, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas kimia, dan statif.

##### **2. Bahan**

Bahan-bahan yang diperlukan untuk membuat nata, yaitu limbah cair tapioka, starter *Acetobacter xylinium*, gula pasir, asam asetat glasial, Ammonium sulfat, dan ekstrak kacang hijau. Bahan-bahan yang diperlukan untuk analisis, yaitu selen, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, aquades, NaOH 30%, indikator phenoftalin, asam borat 2%, bromocresol green, methylred, HCl 0,01N, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,25%, NaOH 3,25%, etanol 96%, kertas indicator pH, HCl 3%, CH<sub>3</sub>COOH 3%, larutan *Luff Schrool*, KI 20%, natrium tiosulfat 0,1N, larutan kanji 0,5%, dan kertas saring.

### 3.2 Bagan Alir Percobaan



Gambar 3.1 Bagan alir proses pembuatan nata

Gilang Purnama Muharam, 2014

*Pembuatan nata de cassava dari limbah cair tapioca menggunakan sumber nitrogen ekstrak kacang hijau*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Pembuatan Nata

Tahap awal dalam penelitian ini yaitu membuat filtrat limbah tapioka dengan pengenceran 1:2, 1:3, 1:4 dan tanpa pengenceran. Kemudian dilakukan 3 perlakuan, pertama adalah tanpa menggunakan sumber nitrogen. Perlakuan kedua yaitu penggunaan sumber nitrogen organik yaitu ammonium sulfat. Setelah diketahui pengenceran ekstrak optimum maka dilakukan perlakuan ketiga yaitu penambahan ekstrak kacang hijau sebagai sumber nitrogen organik (100%, 75%, 50%, 25%, dan 10%).

Proses pembuatan nata yang dilakukan untuk perlakuan pertama adalah 250 mL limbah tapioka disaring dengan kain kasa, dipanaskan hingga mendidih, kemudian ditambahkan gula pasir 7,5 gram untuk masing-masing pengenceran (1:2, 1:3, dan 1:4).

Campuran dikondisikan pada pH 4 dengan penambahan asam asetat sebanyak 7 mL. Semua bahan tersebut diaduk hingga merata, lalu dituangkan ke dalam wadah fermentasi dan dilakukan pendinginan selama  $\pm$  24 jam pada suhu ruang hingga didapatkan suhu antara 28-32<sup>0</sup>C. Starter sebanyak 10% dari volume awal media diinokulasikan ke dalam media fermentasi dan langsung ditutup dengan kertas yang steril. Inkubasi dilakukan selama 14 hari pada suhu ruang. Lembaran nata yang telah dipanen, selanjutnya diproses untuk pengujian selanjutnya. Nata dalam lembaran dicuci dengan air bersih, selaput tipis dikerok hingga bersih, setelah bersih dari selaput tipisnya nata dicuci dan dibilas menggunakan air bersih sebanyak tiga kali hingga tawar. Nata siap di uji ketebalan, persen massa produk, dan kandungan gizi.

Proses pembuatan nata pada perlakuan 2 dan 3 sama dengan perlakuan pertama yang membedakan yaitu pada perlakuan kedua sumber nitrogen yang digunakan adalah Ammonium sulfat sebagai sumber nitrogen organik. Sedangkan pada perlakuan ketiga, sumber nitrogen yang digunakan adalah sumber nitrogen organik dari ekstrak kacang hijau sebanyak 100%, 75%, 50%, 25%, dan 10%. Pada

Gilang Purnama Muharam, 2014

*Pembuatan nata de cassava dari limbah cair tapioca menggunakan sumber nitrogen ekstrak kacang hijau*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

setiap perlakuan, nata yang dihasilkan akan diuji ketebalan dan diukur persen massa produk.

Setelah didapat hasil optimum, nata yang dihasilkan kemudian diuji ketebalan, persen massa produk, dan uji kandungan gizi.

### 3.3.2 Analisis Persen Massa Produk

Persen massa produk ditentukan melalui perhitungan perbandingan antara berat yang dihasilkan yaitu nata dengan volume atau berat bahan baku yang digunakan. Persen massa produk dihitung dengan rumus:

$$\text{Persen massa produk} = \frac{\text{massa produk nata}}{\text{massa bahan baku}} \times 100\%$$

### 3.3.3 Analisis Ketebalan

Pengukuran dilakukan dengan jangka sorong dengan ketelitian 0,05mm, nilai ketebalan yang didapat merupakan rata-rata dari pengukuran pada dua tempat yang berbeda yang memiliki nilai ketebalan tertinggi.

### 3.3.4 Analisis Kadar Air

Sampel ditimbang sebanyak 1-2 gram pada sebuah botol timbang bertutup yang sudah diketahui bobotnya. Sampel dan wadah dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105<sup>0</sup>C selama 3jam. Kemudian sampel dikeluarkan dari oven dan didinginkan di dalam desikator. Setelah dingin lalu ditimbang. Hal ini dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh bobot tetap. Kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Bobot sampel sebelum dikeringkan}}{\text{Kehilangan bobot setelah dikeringkan}} \times 100\%$$

### 3.3.5 Analisis Kadar Protein

Gilang Purnama Muharam, 2014

*Pembuatan nata de cassava dari limbah cair tapioca menggunakan sumber nitrogen ekstrak kacang hijau*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Sampel sebanyak 0,51 gram dimasukkan ke dalam tabung kjedahl 100mL, ditambahkan 2 gram selen dan 25mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Sampel dipanaskan diatas pemanas listrik sampai mendidih dan larutan menjadi jernih kehijau-hijauan yang memerlukan waktu sekitar 2jam. Setelah dingin, sampel diencerkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100mL dan ditetapkan sampai tanda batas. Larutan dipipet sebanyak 5mL dan dimasukkan ke dalam labu destilasi. Larutan NaOH 30% sebanyak 5mL dan beberapa tetes indicator fenolftalein dimasukkan ke dalam labu destilasi. Larutan didestilasi selama lebih kurang 10 menit, sebagai bahan penampung digunakan 10mL larutan asam borat 2% yang telah dicampur dengan indikator yang berupa campuran 10mL bromocresol green dengan 2mL methyl red. Selanjutnya ujung pendingin dibilas dengan air suling dan dilakukan titrasi dengan larutan HCl 0,01N. blanko dipersiapkan dengan cara yang sama tetapi tanpa penambahan sampel yang diuji.

Kadar protein dihitung dengan rumus:

$$\%N = \frac{(v1-v2) \times N \times 14,008 \times fp}{W} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Protein} = \%N \times fk$$

Ket: W = bobot sampel (gram)

v1 = volume HCl 0,01N yang digunakan sampel

v2 = volume HCl yang digunakan blanko

N = normalitas HCl

fk = faktor konversi untuk protein (6,250)

fp = faktor pengenceran

### 3.3.6 Analisis Kadar Serat Kasar

Sampel ditimbang sebanyak 2-4gram dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 500mL, ditambahkan 50mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,25% lalu dipanaskan hingga mendidih.

Gilang Purnama Muharam, 2014

*Pembuatan nata de cassava dari limbah cair tapioca menggunakan sumber nitrogen ekstrak kacang hijau*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Campuran tersebut ditambahkan 50mL larutan NaOH 3,25% kemudian dipanaskan lagi selama 30menit. Campuran dalam keadaan panas disaring dengan corong Buchner yang berisi kertas saring yang telah dikeringkan dan diketahui bobotnya. Endapan yang terdapat pada kertas saring dicuci berturut-turut dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,25% panas, air panas, dan etanol 96%. Kemudian kertas saring beserta isinya diangkat dan ditimbang. Kertas saring beserta isi selanjutnya dikeringkan pada suhu 105<sup>0</sup>C lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang sampai bobotnya tetap.

Kadar serat kasar dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar serat kasar} = \frac{\text{Bobot sampel (gram)} - \text{bobot abu (gram)}}{\text{Bobot endapan pada kertas saring (gram)}} \times 100\%$$

### 3.3.7 Analisis Kadar Karbohidrat

Sampel ditimbang lebih kurang 5gram kedalam Erlenmeyer 500mL, tambahkan 200mL larutan HCl 3% lalu di-refluks selama 3jam. Kemudian didinginkan dan dinetralkan dengan larutan NaOH 30% (dengan lakmus atau fenolftalin) dan ditambahkan sedikit CH<sub>3</sub>COOH 3% agar suasana larutan agak sedikit asam. Pindahkan isinya ke dalam labu ukur 500mL dan ditambah air hingga tanda batas, lalu disaring. Pipet 10mL filtrate ke dalam Erlenmeyer 500mL, lalu ditambahkan 25mL larutan *Luff Schrool* (menggunakan pipet) dan beberapa butir batu didih serta 15mL air suling. Campuran dipanaskan dengan nyala api tetap. Usahakan agar larutan dapat mendidih dalam waktu 3menit (dapat menggunakan *stop watch*), biarkan dalam keadaan didih selama 10menit kemudian cepat dinginkan dalam bak berisi es. Setelah dingin tambahkan 15mL larutan KI 20% dan 25mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% perlahan-lahan. Titrasi secepatnya dengan larutan natrium tiosulfat 0,1N (gunakan indikator larutan kanji 0,5%. Dikerjakan juga untuk larutan blanko.

$$\text{Kadar glukosa} = \frac{W1 \times fp}{w} \times 100 \%$$

Kadar karbohidrat =  $0,90 \times$  kadar glukosa

Keterangan

W adalah bobot cuplikan dalam mg

W1 adalah glukosa yang terkandung untuk ml tio yang dipergunakan (mg), dari daftar

fp adalah faktor pengenceran