BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

Percobaan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu membuat nata dari bonggol nanas dengan menggunakan sumber nitrogen alami dari ekstrak kacang hijau. Nata yang dihasilkan kemudian diuji ketebalan, diukur persen masa produk, dan produk nata yang dihasilkan diuji kandungan gizinya.

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan nata adalah pisau stainless steel, timbangan, baskom, loyang plastik, gelas ukur, plastik, kain saring, pH meter, autoclave, neraca analitik, kompor, dan alat-alat analisa.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat nata yaitu daging nanas, starter *Acetobacter xylinum*, gula pasir, asam asetat glasial, ammonium posfat, dan ekstrak kacang hijau. Bahan-bahan yang diperlukan untuk analisis yaitu H_2SO_4 pekat, akuades, NaOH 30%, indikator fenoftalein, asam borat 2%, bromocresl green, metil merah, HCl 0.01 N, H_2SO_4 1.25%, NaOH 3.25%, etanol 96%, kertas indikator pH, HCl 3%, CH_3COOH 3%, larutan LS, KI 20%, natrium tiosulfat 0.1 N, larutan kanji 0.5%, dan kertas saring.

3.2 Bagan Alir Penelitian

3.2.1 Pembuatan Ekstrak Bonggol Nanas

Bonggol Nanas

- Dibersihkan

Siti Nur Lathifah, 2013
Pembuatan Nata De Phina Dari Limbah Bonggol Buah Nanas Menggunakan Sumber Nitrogen Ekstrak Kacang Hijau
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

- Dipotong kecil-kecil
- Dihaluskan menggunakan blender dengan variasi perbandingan 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5

Ekstrak Bonggol Nanas

Siti Nur Lathifah, 2013
Pembuatan Nata De Phina Dari Limbah Bonggol Buah Nanas Menggunakan Sumber Nitrogen Ekstrak Kacang Hijau
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.2.2 Pembuatan Ekstrak Kacang Hijau

Kacang Hijau

- Dibersihkan
- Dihaluskan menggunakan blender dengan perbandingan 1:2

Ekstrak Kacang Hijau

3.2.3 Pembuatan *Nata de Phina*

Ekstrak Bonggol Nanas

- Disaring menggunkan kain kasa
- Diambil 250 mL kemudian dipanaskan hingga mendidih

Ekstrak Bonggol Nanas Steril

- Ditambah gula 10%
- Diberikan perlakuan khusus*
- Ditambah asam asetat

*Perlakuan:

1. Jenis sumber nitrogen (sumber nitrogen $(NH_4)_2SO_4$, tanpa sumber nitrogen dan sumber nitrogen dari ekstrak kacang hijau.
2. pH optimum (pH 4)
3. Volume ekstrak kacang hijau yang ditambahkan (100%, 75%, 50%, 25%, dan 10%)

Media yang telah ditambahkan

- Dimasukkan dalam wadah fermentasi
- Ditutup dengan kertas steril
- Didinginkan selama 24 jam sampai suhu 28-32^{0}C
- Diinokulasi dengan starter *Acetobacter xylinum* 10%
- Diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruang

Lempeng Nata

- Selaput tipis dikerok dan dicuci hingga bersih

Nata de Phina

- Diuji karakteristik fisik (ketebalan dan persen massa produk)

- Diuji Kandungan gizi yang terkandung pada nata de phina

Nata de phina yang telah diuji

Gambar 3.1 Diagram Pembuatan Nata de Phina

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pembuatan Nata

Terdapat empat macam perlakuan di dalam penelitian ini. Perlakuan pertama adalah variasi pengenceran optimum antara filtrat bonggol nanas dengan air pada perbandingan 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5. Perlakuan ke dua adalah penggunaan jenis sumber nitrogen (tanpa sumber nitrogen, sumber nitrogen anorganik berupa ammonium sulfat, dan sumber nitrogen anorganik dengan ekstrak kacang hijau). Perlakuan ke tiga adalah ekstrak kacang hijau yang ditambahkan (100%, 75%, 50%, 25%, dan 10%). Perlakuan ke empat adalah membandingkan kandungan logam yang dihasilkan pada kondisi optimum ekstrak kacang hijau yang digunakan dari sumber penutup nata yaitu kertas roti dan kertas koran.

Proses pembuatan nata yang dilakukan pertama dan ke dua adalah menimbang bonggol nanas seberat 250 gram kemudian dicampurkan dengan perbandingan 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5 menggunakan blender. Kemudian ekstrak bonggol nanas disaring dengan kain kassa, dipanaskan hingga mendidih, kemudian ditambahkan gula pasir 10% dan sumber nitrogen masing-masing untuk loyang 1 sumber nitrogen anorganik, loyang 2 tanpa sumber nitrogen, dan loyang 3 dengan sumber nitrogen yang berasal dari ekstrak kacang hijau 250 mL dibuat dengan pengenceran 1:2 (150 gram kacang hijau ditambah dengan 300 mL air).

Campuran dikondisikan pada pH 4 dengan penambahan asam asetat. Semua bahan diaduk secara merata, lalu dituangkan dalam wadah fermentasi dan dilakukan pendinginan selama ± 24 jam pada suhu ruangan (28-32°C). Starter sebanyak 10% dari volume awal media diinokulasikan ke dalam media fermentasi

dan langsung ditutup menggunakan kertas roti. Inkubasi dilakukan selama 14 hari pada suhu ruang. Lembaran nata yang telah dipanen, selanjutnya diproses untuk proses pengujian. Nata dalam bentuk lembaran dicuci dengan air bersih, selaput tipis dikerok hingga bersih. Setelah bersih dari selaput tipisnya, nata dicuci dengan larutan natrium hidroksida 1%, asam asetat 1%, dan dibilas menggunakan air bersih sebanyak tiga kali cucian hingga tawar. Nata siap diuji ketebalan, persen massa produk, dan kandungan gizi.

Proses pembuatan nata pada perlakuan 3 dan 4 hampir sama dengan perlakuan pertama, yang membedakannya pada perlakuan ke tiga sumber nitrogen yang digunakan merupakan sumber nitrogen optimum sebanyak 100%, 75%, 50%, 25%, dan 10%. Ekstrak bonggol nanas yang digunakan yaitu perbandingan 1:4. pH yang digunakan adalah pH optimum yaitu pH 4. Pada perlakuan ini nata yang dihasilkan diuji ketebalannya dan diukur persen massa produk. Perlakuan ke empat penutup wadah nata yang digunakan berasal dari kertas roti dan kertas koran. Pada perlakuan ini nata yang dihasilkan diuji kadar logam yang terkandung di dalamnya yaitu kadar Pb dan Mg. Kemudian dibandingkan kadar logamnya.

Setelah didapatkan hasil optimum dari masing-masing perlakuan kemudian dibuat nata dengan sumber nitrogen organik optimum, volume penambahan ekstrak optimum, dan penutup dalam pembuatan nata. Nata yang dihasilkan kemudian diuji ketebalan, persen massa produk, dan diuji kandungan gizi yang dibandingkan dengan *nata de coco.*

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.

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

3.3.3 Analisis Ketebalan

Pengukuran dilakukan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0.05 mm, nilai ketebalan yang didapat merupakan rataan dari pengukuran pada dua tempat yang berbeda memiliki nilai ketebalan tertinggi.

3.3.4 Analisis Kadar Air

Sampel ditimbang sebanyak 1-2 gram pada sebuah botol timbang bertutup yang telah diketahui bobotnya. Sampel dan wadah dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam, kemudian sampel dikeluarkan dari oven dan didinginkan dalam desikator. Setelah sampel dingin kemudian ditimbang. Hal ini dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{bobot sampel sebelum dikeringkan}}{\text{kehilangan bobot setelah dikeringkan}} \text{ x } 100\%$$

3.3.5 Analisis Kadar Protein

Sampel sebanyak 0.51 gram dimasukan ke dalam tabung Kjehdal 100 mL, ditambahkan 2 gram selen dan 25 mL H_2SO_4 pekat. Sampel dipanaskan di atas pemanas listrik hingga mendidih dan larutan menjadi jernih kehijau-hijauan yang memerlukan waktu sekitar 2 jam. setelah dingin sampel diencerkan dan dimasukkan dalm labu ukur 100 mL dan ditetapkan hingga tanda batas. Larutan dipipet sebanyak 5 mL dan beberapa tetes indikator fenoftalein dimasukan ke dalam alat destilasi. Larutan didestilasi kurang lebih selama 10 menit, sebagai bahan penampung digunakan 10 mL larutan asam borat 2% yang telah dicampur dengan indikator yang berupa campuran 10 mL *bromocresol green* dengan 2 mL *methyl red*. Selanjutnya ujung pendingin dibilas dengan akuades dan dilakukan

titrasi dengan larutan HCl 0.01N. Blanko dipersiapkan dengan cara yang sama tanpa penambahan sampel yang diuji.

Kadar protein dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar protein} = \frac{V1 - V2xNx0.014xfkxfp}{W} x\ 100\%$$

Keterangan : W : bobot sampel

V1 : volume HCl 0.01 N

V2 : volume HCl yang digunakan

N : normalitas HCl

Fk : Faktor konversi untuk protein (6.250)

Fp : Faktor Pengenceran

3.3.6 Analisis Kadar Serat Kasar

Sampel ditimbang sebanyak 2-4 gram, dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 500 mL, ditambahkan 50 mL H_2SO_4 1.25% dididihkan selama 30 menit. Campuran tersebut ditambahkan 50 mL larutan NaOH 3.25% kemudian dididihkan lagi selama 30 menit. 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_2SO_4 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°C, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga bobotnya tetap. Kadar serat kasar dihitung dengan rumus:

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

3.3.7 Analisis Kadar Karbohidrat dengan Metode LS

Sampel ditimbang kurang lebih sebanyak 5 gram ke dalam labu erlenmeyer 500 mL, kemudian ditambahkan 200 mL larutan HCl 3% dan dididihkan selama 3 jam dengan pendingin tegak. didinginkan dan dinetralkan dengan larutan NaOH 30% (dengan lakmus atau fenoftalein) dan ditambahkan sedikit larutan CH_3COOH 3% agar suasana larutan agak sedikit asam. Dipindahlkan isinya ke dalam labu ukur 500 mL dan ditambahkan akuadest hingga tanda batas, kemudian disaring. Dipipet 10 mL saringan ke dalam erlenmeyer 500 mL, ditambahkan 25 mL larutan luff (dengan menggunakan pipet) dan beberapa butir batu didih serta 15 mL akuadest. Dipanaskan campuran tersebut dengan nyala yang tetap. Diusahakan agar larutan dapat mendidih dalam waktu 3 menit (dengan menggunakan *stop watch)*, dididihkan terus selama tepat 10 menit kemudian cepat didinginkan dalam bak berisi es. Setelah dingin ditambahkan 15 mL larutan KI 20% dan 25 ml H_2SO_4 25% secara perlahan- lahan. Dititrasi secepatnya dengan larutan tio 0.1 N dengan menggunakan indikator kanji 0.5%. Dikerjakan juga untuk pembuatan larutan blanko.

3.3.8 Analisis Kadar Logam Pb dan Mg Metode Spektrometri Serapan Atom

1. Destruksi Sampel untuk Analisis Logam Timbal dan Magnesium

Destruksi dilakukan dengan destruksi basah menggunakan alat Microwave Digestion. Tahapan destruksi dimulai dengan menimbang sample sebanyak 2,5 gram lalu dimasukkan ke dalam wadah destruksi. Kemudian ditambahkan larutan asam nitrat pekat ke dalam wadah destruksi. Wadah tersebut dimasukkan ke dalam *protection shield,* lalu ditutup dengan penutupnya dan dikencangkan. Wadah dimasukkan ke dalam *Microwave Digestion* lalu disambungkan dengan sensor suhu dan dipasang *rotor top plate*. *Microwave* dinyalakan dengan suhu

180° selama 25 menit. Setelah proses destruksi selesai, wadah dikeluarkan dan didinginkan pada suhu kamar. Kemudian wadah dibuka. Larutan hasil destruksi disaring menggunakan kertas saring *Whatman* no 41, lalu ditampung ke dalam labu ukur 10,0 mLdan dicukupkan dengan larutan asam nitrat 0,1 N sampai garis batas.

2. Penentuan Kadar Timbal dan Magnesium dalam Sampel

Pengukuran sampel dibuat setelah pembuatan kurva kalibrasi dari larutan standar timbal dan magnesium dengan konsentrasi 0,05 ppm, 0,1ppm, 0,2 ppm, 0,5 ppm, 8 ppm, dan 1 ppm. Serapan sampel yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam kurva kalibrasi sehingga didapatkan konsentrasi timbal dalam sampel kemudian dikonversi ke dalam kadarnya.