

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari Bulan April sampai Bulan Agustus 2013. Penelitian pengaruh penambahan *edible coat* kitosan sebagai anti jamur pada tepung kentang dilakukan di Laboratorium Riset Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, batang pengaduk, botol semprot, cawan petri, corong kaca, desikator, gelas kimia, gelas ukur, kaca arloji, kawat ose, laminer, labu ukur, neraca analitik, oven, pipet tetes, pembakar bunsen, spatula, tabung reaksi.

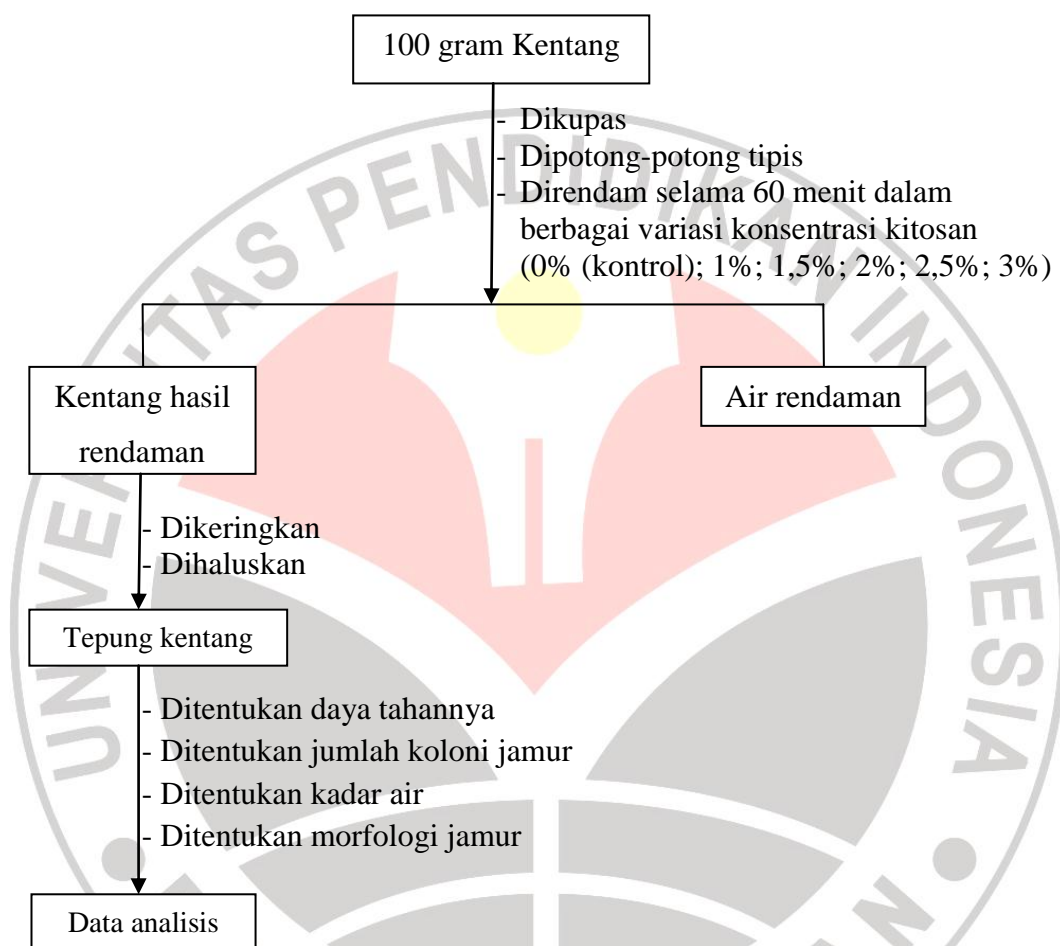
3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah agar batang, asamasetat, akuades, bariumpklorida, glukosa, kaliumiodida, kaliumklorida, kentang dieng, kitosan, kloramfenikol, magnesiumklorida, natriumklorida.

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Bagan Alir Penelitian

Bagan Alir penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1 berikut ini :



Gambar 3.1. Bagan alir penelitian

3.3.2 Preparasi Sampel

Ditimbang 100 g kentang, dikupas dan dipotong tipis-tipis. Disiapkan enam wadah. Wadah pertama berisi kentang, wadah kedua berisi kentang + kitosan 1%, wadah ketiga berisi kentang + kitosan 1,5%, wadah ke empat berisi kentang + kitosan 2%, wadah kelima berisi kentang + kitosan 2,5%, dan wadah ke enam berisi kentang + kitosan 3%.

3.3.3 Pembuatan *Edible Coating*

Edible coating dari kitosan 1% dibuat dengan cara 1 g kitosan dilarutkan dalam 100 mL asam asetat 1%, larutan diaduk sampai homogen. Kemudian larutan disimpan pada suhu kamar. Perlakuan ini dilakukan juga pada pembuatan *edible coating* dari kitosan 1,5%; 2 %; 2,5%; 3,0%.

3.3.4 Proses *Coating* Pada Kentang

Kitosan dengan konsentrasi 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; 3% ditempatkan dalam gelas kimia. kentang dikupas dan dipotong-potong. Potongan kentang langsung dicelupkan kedalam larutan kitosan (1%; 1,5%; 2%; 2,5%; 3%), lalu direndam selama 60 menit. Kemudian dikeringkan pada suhu 30°C di dalam oven.

3.3.5 Pembuatan Tepung Kentang

Kentang yang sudah di *coating* ditumbuk dengan menggunakan lumpang dan alu sampai halus. Setelah itu kentang di ayak menggunakan ayakan tepung untuk mendapatkan tepung yang lebih halus.

3.3.6 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dibungkus dengan menggunakan kertas roti, kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan dipanaskan hingga tekanan 1 atm selama kurang lebih 15 sampai 20 menit.

3.3.7 Sterilisasi Medium

Seluruh medium yang telah dibuat dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan disumbat dengan menggunakan sumbat kapas. Tetapi, sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf, sumbat kapas harus dibungkus terlebih dahulu dengan menggunakan aluminium foil. Sterilisasi medium dilakukan selama 10-15 menit dengan suhu autoklaf 110°C. Setelah 15 menit, medium dikeluarkan dari autoklaf dan didinginkan terlebih dahulu sampai suhunya turun hingga suhu kamar untuk siap digunakan.

3.3.8 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Pembuatan media agar untuk jamur dilakukan dengan merebus kentang sebanyak 100 g dalam air sebanyak 500 mL. Kemudian, hasil rebusan kentang tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring. Setelah itu, air rebusan tersebut diberi agar batang sebanyak 10 g dan 10 g dekstrosa, lalu dididihkan. Medium yang sudah mendidih tersebut ditambahkan antibiotik Kloramfenikol sebanyak 125 mg dalam 500 mL untuk mencegah kontaminasi dari bakteri. Botol medium yang digunakan kemudian ditutup dengan sumbat kapas dan aluminium foil serta disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.3.9 Pembuatan NaCl Fisiologis

Untuk mendapatkan NaCl dengan konsentrasi 0,9% maka NaCl di timbang sebanyak 0,9 g kemudian dilarutkan dalam 1 liter akuades dan disterilisasi dengan menggunakan autoklaf. Untuk NaCl fisiologis sterilisasi dilakukan pada suhu 120°C selama 20 menit.

3.3.10 Pengenceran Sampel

Sampel tepung kentang dan tepung kentang hasil *coating* dengan kitosan diambil sebanyak 1 g untuk diencerkan oleh NaCl fisiologis sebanyak 9 mL dan dihomogenkan. Kemudian, dengan menggunakan pipet, suspensi sampel diambil sebanyak 1 mL untuk selanjutnya diencerkan kembali dalam 9 mL NaCl fisiologis. Prosedur tersebut dilakukan kembali hingga pengenceran sampel kelima (10^{-5}).

3.3.11 Tahap Inokulasi

Sampel hasil pengenceran terakhir masing-masing ditanamkan pada cawan petri steril yang berbeda. Kemudian, medium PDA yang telah dibuat sebelumnya dituangkan ke dalam cawan petri tersebut dan dihomogenkan dengan cara memutar-mutar cawan secara perlahan hingga seluruh permukaan cawan tertutup oleh media. Selanjutnya sampel yang sudah ditanam tersebut dibungkus dengan

menggunakan kertas roti untuk kemudian disimpan di dalam inkubator dan diinkubasi selama 72 jam. Setelah itu dilakukan penghitungan jumlah koloni jamur yang tumbuh pada media dengan *colony counter*.

3.3.12 Pemurnian Jamur

Jamur yang tumbuh pada cawan petri, kemudian dikultur murni pada medium agar miring di dalam tabung reaksi. Kultur murni dibuat dengan cara mengambil hifa atau spora dari koloni jamur yang dipilih dengan menggunakan öse bulat yang sebelumnya telah dipanaskan terlebih dahulu hingga pijar. Hifa jamur tersebut selanjutnya ditanamkan dengan menitikkan öse pada medium PDA yang telah mengeras dalam tabung reaksi. Kemudian tabung reaksi dibungkus dengan menggunakan kertas roti dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 72 jam.

3.3.13 Morfologi Jamur

Diambil sampel jamur yang sudah dimurnikan, Kemudian dioleskan pada kaca objek dan disuspensikan dalam sedikit akuades steril. Setelah itu sampel dapat langsung dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan 1000x. Digambar hasil yang tampak pada mikroskop dan diidentifikasi. Seluruh prosedur tersebut dilakukan secara aseptis.

3.3.14 Penentuan Kadar Air Metode Oven (AOAC, 1994)

Contoh sebanyak 2 gram ditimbang dan ditempatkan dalam cawan yang telah diketahui bobotnya. Contoh tersebut dikeringkan dalam oven bersuhu 105°C selama 5 sampai 6 jam, kemudian didinginkan dalam desikator, setelah itu ditimbang. Kadar air contoh dapat dihitung dengan rumus kadar air basis kering sebagai berikut :

$$m = \frac{X_o - X_i}{X_i} \times 100\%$$

Keterangan :

m = Kadar air

X_o = berat contoh awal

X_i = berat contoh akhir

Tony Pratama, 2013

Pengaruh Penambahan Edible Coat Kitosan Sebagai Antijamur Pada Tepung Kentang
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.3.15 Penentuan Waktu *Caking*

Sebanyak 15 gram produk diletakkan pada cawan kering kosong yang telah diketahui beratnya. Kemudian cawan yang berisi produk tersebut diletakkan dalam desikator yang berisi larutan garam jenuh $MgCl_2$, KI, NaCl, KCl, dan $BaCl_2$ dengan suhu konstan $25^\circ C$. Masing-masing larutan garam jenuh tersebut memberikan nilai a_w berturut-turut 0,33; 0,69; 0,75; 0,84; dan 0,90. Produk dalam cawan kemudian ditimbang beratnya sampai diperoleh berat yang konstan. Setelah diperoleh berat yang konstan, lalu diukur kadar airnya setiap minggu dan diamati kondisinya sampai sampel terlihat sudah rusak.