

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian optimalisasi kandungan amilosa pada pati talas dengan ragi roti dan ragi tempe dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Makanan dan Laboratorium Instrumen Kimia Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia (FPMIPA UPI). Penelitian ini dilakukan selama 6 bulan terhitung sejak bulan Februari hingga Juli 2018.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

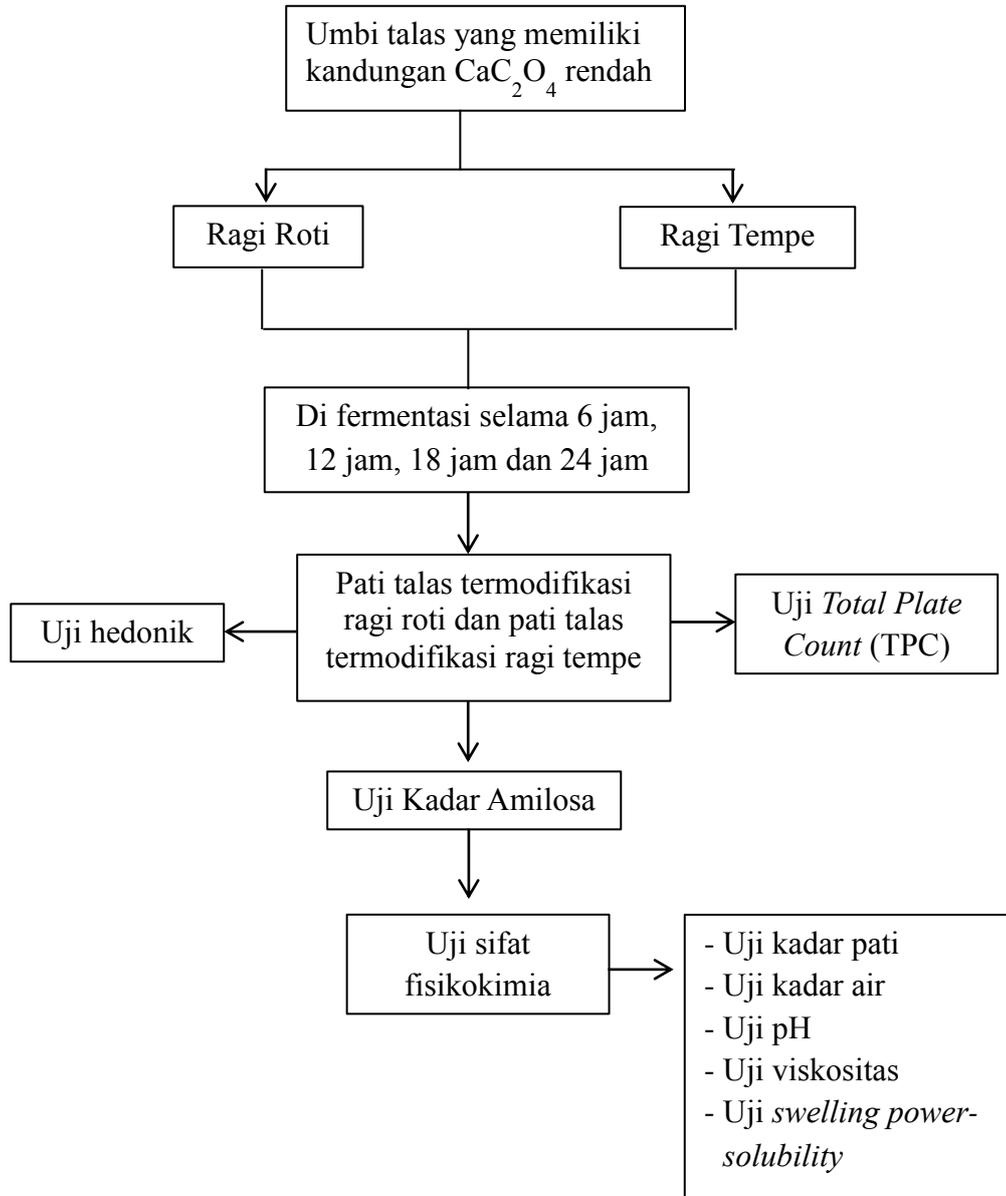
Alat yang digunakan dalam proses analisis pengurangan kalsium oksalat dalam sampel talas adalah peralatan gelas, set alat *waterbath*, set alat *sentrifuse*, set alat titrasi, *refrigerator*, *hotplate*, set alat *ultrasonic*, *fume hood*, dan neraca analitik. Pada proses pembuatan pati talas digunakan alat-alat diantaranya timbangan, wadah plastik, blender, saringan kain *cotton*, loyang dan oven listrik.

Analisis kandungan amilosa pati talas dilakukan menggunakan instrumentasi spektrofotometri UV-Vis. Adapun untuk analisis sifat fisikokimia, alat yang digunakan diantaranya peralatan gelas, sentrifugasi, sonikator, set alat timbangan analitik, *hotplate*, magnetik stirer, oven listrik, desikator, piknometer dan viskometer *oswald*. Selain sifat fisikokimia, sampel pati talas termodifikasi di uji dengan analisis *Total Plate Count* (TPC), alat yang digunakannya adalah tabung reaksi, rak tabung, gelas kimia, *hotplate*, magnetik stirer, autoclaf, mikropipet dan spirtus.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam rangkaian penelitian ini adalah umbi talas yang diambil dari daerah perkebunan Cisompet, Garut; aquades; natrium bikarbonat; CaCl_2 5%; HCl 6 M; NH_4OH 6 M; indikator metil merah; H_2SO_4 20%; KMnO_4 0,05 M; kertas saring; media PDA; NaCl 0,4%; dan larutan iodin.

3.3 Metode Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian pati termodifikasi secara enzimatik dengan ragi roti dan ragi tempe dilakukan melalui 6 tahap, yaitu proses pengurangan kadar kalsium oksalat, pembuatan tepung talas termodifikasi, uji hedonik, uji mikrobiologi, analisis kadar amilosa untuk mengetahui waktu optimum ragi dalam menghidrolisis pati menjadi amilosa yang selanjutnya diuji sifat fisikokimia pada pati termodifikasi dengan waktu optimum dalam peningkatan kadar amilosa. Penjelasan lebih lengkap untuk tiap tahapan penelitian tersebut dijelaskan pada uraian-uraian berikut :

3.4.1 Pengurangan Kalsium Oksalat dalam Umbi Talas

Pengurangan kalsium oksalat dilakukan dengan mencuci umbi talas menggunakan air bersih dan dikupas. Sampel yang dikupas kemudian dicuci ulang dengan air bersih dan potong-potong ($2 \times 2 \times 0,2$ cm). Umbi talas masing-masing ditimbang 12,5 gr dan direndam dalam larutan natrium bikarbonat 10% pada suhu 40°C selama 60 menit. Irisan talas talas kemudian dihaluskan dan mengalami analisis konten kalsium oksalat. Prosedur pengurangan kalsium oksalat melibatkan tiga langkah: *digestion*/perendaman dengan larutan natrium karbonat, presipitasi senyawa kalsium oksalat/ dititrasi dengan NH_4OH filtrat hasil perendaman dan terakhir titrasi permanganat. Setiap sampel dianalisis dalam rangkap dua dan semua data disajikan sebagai mg oksalat / 12,5 gr berat segar (Kumoro, dkk., 2014).

Setelah diketahui volume KMnO_4 yang terpakai, kadar kalsium oksalat dapat

dihitung dengan rumus :
$$c = \frac{[T \times V_{me} \times DF \times 10^5]}{ME \times mf}$$
$$As$$

Keterangan :

T = Volume KMnO_4 (mL)

Vme = Volume – massa ekuivalen (1cm^3 $0,05 \text{ KMnO}_4 \sim 0,00225$ gr oksalat anhidrat)

DF = Faktor dilusi VTA (2,4 dimana VT = 300 mL)

A = Volume titrat (125 mL)

ME = Molar ekuivalen KMnO_4 dalam oksalat (5)

Mf = massa analit

C = mmol

Hilma Siti Lathifatunnisa, 2019

OPTIMALISASI KANDUNGAN AMILOSA PADA PATI TALAS (*Colocasia esculenta* L. Schott) MENGGUNAKAN RAGI ROTI (*Saccharomyces cerevisiae*) DAN RAGI TEMPE (*Rhizopus oryzae*) Universitas Pendidikan Indonesia | reporsitoyy.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.4.2 Pembuatan pati talas termodifikasi

Umbi talas dikupas, ditimbang, dan dicuci sampai bersih. Direndam \pm 1 jam dalam larutan NaHCO_3 10%. Kemudian ditambahkan starter *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oryzae*. Perbandingan starter dengan kultur media (umbi talas) adalah 1:100 dengan waktu fermentasi yang berbeda-beda diantaranya 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam. Dibuat menjadi bubur kasar, ditambahkan aquadest $\frac{1}{3}$ bobotnya, diaduk 3 kali, disaring dengan kain flanel, diperas sampai semua airnya habis. Ampasnya dicampur kembali dengan aquadest kira-kira $\frac{1}{3}$ nya, diaduk kemudian diperas lagi sampai airnya habis. Diulangi sampai didapat hasil perasan yang jernih, lalu cairan tersebut diendapkan selama 24 jam, setelah mengendap sempurna, cairan di atasnya yang jernih didekantasi sehingga diperoleh endapan pati. Kemudian dikeringkan dalam lemari pengering dengan suhu 100°C . Pati kering yang berbentuk berupa gumpalan dihaluskan dan diayak dengan pengayak (Suhery, dkk., 2015).

3.4.3 Penetapan Kadar Amilosa

3.4.3.1 Pembuatan kurva standar amilosa

Sebanyak 40 mg amilosa murni dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1 mL etanol 95% dan 1 mL NaOH 1 M. Campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit. Selanjutnya dipindahkan dalam labu takar 100 mL dan tambahkan aquades hingga batas tera. Setelah itu, dikocok hingga homogen. Dibuat larutan standar amilosa dengan variasi konsentrasi: 40; 80; 120; 160; dan 200 ppm dengan cara dipipet larutan induk amilosa 4000 ppm masing-masing sebanyak 1; 2; 3; 4; dan 5 mL lalu dimasukkan ke dalam 5 buah labu takar 100 mL. Kemudian masing-masing labu takar ditambahkan kalibrasi sebagai larutan pembanding dalam analisis fotometri. Masing-masing labu takar ditambahkan 2 mL larutan iod 0,1 N. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga batas tera dan dikocok hingga homogen. Setelah didiamkan selama 20 menit, masing-masing larutan di pindahkan ke tabung reaksi dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 620 nm. Dibuat kurva hubungan antara kadar amilosa dengan serapannya untuk diperoleh persamaan :

$$y = ax + b$$

dimana :

y = absorbansi sampel

a = kemiringan (*slope*)

x = konsentrasi sampel (mg/L)

b = konstanta

Dari persamaan tersebut, akan didapat nilai konsentrasi sampel. Kemudian dimasukkan ke dalam rumus kadar amilosa (Ardiansyah, dkk. 2018).

3.4.3.2 Analisis Kadar Amilosa

Sebanyak 100 mg sampel pati dimasukan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1 mL etanol 95% dan 9 mL NaOH 1 M. Campuran dipanaskan dalam air mendidih (100°C) selama 10 menit hingga terbentuk gel. Selanjutnya gel dilarutkan dengan aquades secukupnya dan dipindahkan dalam labu takar 100 mL. Ditambahkan aquades hingga batas tera dan dikocok hingga homogen. Dipipet sebanyak 5 mL dari larutan sampel lalu dimasukan ke dalam labu takar 100 mL. Ditambahkan dengan CH₃COOH 1 M sebanyak 1 mL dan 2 mL larutan iod 0,1 N (berangsur-angsur). Kemudian ditambahkan aquades hingga batas tera dan dikocok hingga homogen. Selanjutnya dipanaskan dalam penangas air pada suhu 30°C selama 20 menit, lalu di pindahkan kedalam tabung reaksi dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 620 nm. Serapan yang diperoleh diplotkan pada kurva standar untuk memperoleh konsentrasi amilosa pada sampel (mg/L) (Ardiansyah, dkk. 2018).

$$\text{Kadar amilosa (\%)} = \frac{C \times V \times Fp}{W} \times 100\%$$

dimana :

C = konsentrasi sampel (mg/L)

V = volume akhir sampel (mL)

W = berat sampel (mg)

Fp = faktor pengenceran

$$\text{Kadar Amilopektin (\%)} = \text{Kadar Pati (\%)} - \text{Kadar Amilosa (\%)}$$

3.4.4 Uji Sifat Fisikokimia

3.4.4.1 Uji *Swelling power-solubility*

Tepung 0,1 gr dimasukkan air 9 mL dan dipanaskan pada suhu 70-80°C. Kemudian sampel didinginkan hingga suhu 25°C dan disentrifugasi pada 2000 rpm selama 15 menit. Volume terpisah dikeringkan dalam oven di 100°C selama 2 jam. Supernatan yang disentrifugasi dipisahkan dari residu. Persamaan. (1):

$$\%S = \left[\frac{m_{SS}}{m_{DS}} \right] \times 100\%$$

di mana m_{SS} adalah massa pati di supernatan, dihitung sebagai produk dari konsentrasi total gula di supernatan, dan m_{DS} adalah massa pati kering.

Swelling power dihitung menurut Persamaan. (2):

$$G = \frac{m_R}{m_{RH}}$$

dimana m_R adalah massa residu basah dan m_{RH} adalah massa residu kering. Yang terakhir dihitung sebagai perbedaan antara m_{DS} dan m_{SS} : nilai yang dilaporkan adalah mean dari pengukuran rangkap empat (Nunez-Santiago, dkk., 2004).

3.4.4.2 Uji viskositas

Pengukuran viskositas dengan metode Leach dilakukan pada larutan sampel konsentrasi 20%, kemudian diukur data densitas larutan sampel tersebut menggunakan picnometer. Pengukuran dilanjutkan dengan pengukuran viskositas menggunakan *viscometer oswald*. 15 mL larutan sampel dimasukkan dalam pipa *oswald*. Larutan disedot dengan respirator hingga melewati batas atas. *Stopwach* dihidupkan saat larutan tepat berada pada batas atas dan dihentikan ketika larutan tepat berada pada batas bawah. Viskositas larutan sampel dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\mu_{slury} = \left(\frac{t_{slury} \times \rho_{slury}}{t_{air} \times \rho_{air}} \right) \times \mu_{air}$$

(Pudiastuti & Tika., 2013)

3.4.4.3 Uji Kadar Air

Pengujian kadar air dilakukan dengan mengeringkan cawan kosong dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam dan simpan ke desikator. Timbang cawan kosong. Ulangi sampai bobotnya konstan. Kemudian timbang sekitar ± 1 g sampel

Hilma Siti Lathifatunnisa, 2019

OPTIMALISASI KANDUNGAN AMILOSA PADA PATI TALAS (*Colocasia esculenta* L. Schott) MENGGUNAKAN RAGI ROTI (*Saccharomyces cerevisiae*) DAN RAGI TEMPE (*Rhizopus oryzae*)
Universitas Pendidikan Indonesia | reporsitoyy.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

ke dalam cawan. Dikeringkan selama 2 jam pada 105°C dan simpan kembali ke dalam desikator selama 10 menit. Diulangi sampai bobotnya konstan. Lakukan pekerjaan duplo (AOAC, 1995).

$$\text{Kadar air (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

W_0 adalah bobot cawan kosong, dinyatakan dalam gr;

W_1 adalah bobot cawan dan sampel sebelum dikeringkan, dinyatakan dalam gr;

W_2 adalah bobot cawan dan sampel setelah dikeringkan, dinyatakan dalam gr;

3.4.4.4 Uji Kadar Pati

Sampel sebanyak 0,1 gr ditimbang dalam erlenmeyer 250 mL, dan ditambahkan 50 mL aquadest, dan 5 mL HCl 25%, kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam. Setelah didinginkan, suspensi dinetralkan dengan NaOH 25% sampai pH 7. Pindahkan secara kuantitatif dalam labu takar 100 mL, kemudian tepatkan sampai tanda tera dengan air destilat. Larutan ini kemudian disaring kembali dengan kertas saring. Sebanyak 25 mL filtrat dari persiapan sampel ditambah 25 mL larutan *Luff Schoorl* dalam erlenmeyer dibuat pula perlakuan blanko yaitu 25 mL larutan *Luff Schoorl* dengan 25 mL aquadest. *Erlenmeyer* dihubungkan dengan pendingin balik, kemudian dididihkan. Pendidihan larutan dipertahankan selama 10 menit. Selanjutnya cepat-cepat didinginkan dan ditambahkan 15 mL KI 20% dan dengan hati-hati ditambahkan 25 mL H₂SO₄ 25%. Lalu ditutup dan diletakkan di tempat gelap selama 30 menit. Iodium yang dibebaskan dititrasi dengan larutan Na₂S₂O₃ 0,1 N memakai indikator pati sebanyak 2-3 mL. Untuk memperjelas perubahan warna pada akhir titrasi maka sebaiknya pati diberikan pada saat titrasi hampir berakhir (Ifmaily, 2018). Ditentukan kadar gula yang dinyatakan sebagai glukosa dari filtrat yang diperoleh dengan rumus :

$$\text{Larutan Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ yang digunakan (Z)} = \frac{(\text{mL blanko} - \text{mL sampel})}{0,1 \text{ N}} \times N(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$$

Hilma Siti Lathifatunnisa, 2019

OPTIMALISASI KANDUNGAN AMILOSA PADA PATI TALAS (*Colocasia esculenta* L. Schott) MENGGUNAKAN RAGI ROTI (*Saccharomyces cerevisiae*) DAN RAGI TEMPE (*Rhizopus oryzae*) Universitas Pendidikan Indonesia | reporsitoyy.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Dimana :

mL blanko = volume $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang digunakan untuk titrasi blanko

mL sampel = volume $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang digunakan untuk titrasi sampel

0,1 = konsentrasi larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

N tio = konsentrasi larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang telah distandarisasi

$$\text{Kadar pati (\%)} = \frac{\text{bobot glukosa} \times 0,9}{W} \times 100\%$$

Dimana :

0,9 = Faktor konversi

W = berat sampel (mg)

3.4.5 Uji *Total Plate Count* (TPC)

Perhitungan populasi *S. cerevisiae* menggunakan media PDA pada cawan petri. Sebanyak 7.8 g PDA dilarutkan dalam 200 mL air destilasi dan dipanaskan dengan *hot plate* setelah itu di sterilisasi dengan autoclave. Stok *S. cerevisiae* cair diencerkan menggunakan larutan pengencer NaCl fisiologis 0.4%. Satu tabung stok cair divortex dan diambil 1 mL dan dimasukkan pada 9 mL media pengencer dan dihomogenkan dengan vortex. Tabung pengencer pertama diencerkan kembali dengan proses yang sama hingga tabung ke-5. Perhitungan populasi *S. cerevisiae* yang digunakan adalah seri pengenceran ke-2 sampai ke-5. Sebanyak 1 mL tiap seri pengenceran dimasukkan dalam cawan petri. Larutan PDA yang telah disterilisasi pada kondisi hangat dituang sebanyak 15 mL kedalam cawan petri berisi 1 mL *S. cerevisiae* yang telah diencerkan. Proses ini dilakukan secara duplo. Cawan petri berisi *S. cerevisiae* diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Koloni putih yang terdapat pada media PDA dihitung dengan metode *bacteriological analytical manual* (BAM) pada jumlah koloni 25-250 dengan rumus:

$$\text{Populasi (cfu mL}^{-1}\text{)} = C / [(1 \times n_1)(0,1 \times n_2) \times d]$$

Keterangan :

C = jumlah koloni pada seluruh seri pengenceran

n_1 = urutan cawan pada seri pengencer pertama

n_2 = urutan cawan pada seri pengencer kedua

d = pengenceran pertama yang dihitung

Hilma Siti Lathifatunnisa, 2019

OPTIMALISASI KANDUNGAN AMILOSA PADA PATI TALAS (*Colocasia esculenta* L. Schott) MENGGUNAKAN RAGI ROTI (*Saccharomyces cerevisiae*) DAN RAGI TEMPE (*Rhizopus oryzae*)
Universitas Pendidikan Indonesia | reporsitoyy.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

(Risyanti, Lilis., 2015)

3.4.6 Uji Hedonik

Penelitian ini dilakukan di Lab Penelitian, FPMIPA, pada tanggal 12 April 2019. Pengujian sensori melibatkan mahasiswa Kimia UPI sebanyak 35 orang sebagai panelis. Sebelum melakukan uji sensori, terlebih dahulu mempersiapkan kusioner kepada panelis untuk memberikan penilaian pada produk talas tersebut. Penilaian yang diuji diantaranya warna, aroma dan tekstur. Masing-masing panelis diberikan sekitar 25 gr untuk dilakukan pengamatan.