

III METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan dan Reayasa Proses Pangan, Laboratorium Biokimia dan Analisa Pangan, dan Laboratorium Bioteknologi Industri Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Januari 2014 – April 2014.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan pati ubi jalar putih : pengering kabinet otomatis, blender, loyang, dan ayakan retsch 100 mesh.

Alat yang digunakan untuk pembuatan pati *thermoreversible* : ayakan retsch 60 mesh, blender, neraca analitik, *beaker glass* 100mL merk ashahi pirex, *beaker glass* 500mL merk ashahi pirex, gelas ukur 100mL merk ashahi pirex, corong kaca merk herma, spatula kaca, gelas arloji, *shiringe*, *shaker waterbath* merk memmert, loyang, oven kering merk memmert, labu ukur 100mL merk ashahi pirex, dan erlenmeyer 250mL merk herma.

Alat yang digunakan untuk analisa : labu ukur 25mL merk ashahi pirex, labu ukur 100 mL merk ashahi pirex, beaker glass 100mL merk ashahi pirex, erlenmeyer 250mL merk ashahi pirex, spatula kaca, vortex, pipet tetes, oven kering merk memmert, corong kaca, pipet ukur merk ashahi pirex, gelas arloji, cawan petri, desikator, *refluks*, corong plastik, *shaker*, lemari asam, spektrofotometer, tube, sentrifuse, tabung reaksi merk ashahi pirex, penangas listrik, dan *tensile strenght*.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan pati ubi jalar putih : ubi jalar putih yang berumur 5-6 bulan diperoleh dari petani didusun Jambon Desa Pakis, kain saring, dan air.

Bahan yang digunakan untuk pembuatan pati *thermoreversible* : pati ubi jalar putih, enzim amylo maltase dari *Pyrobaculum aerophilum* diperoleh dari

AVEBE dengan aktivitas enzim sebesar 940 Unit/gram enzim, CaCl_2 teknis, aluminium foil, kertas saring, etanol teknis 96%, dan aquades.

Bahan yang dibutuhkan untuk analisa : aquades, aluminium foil, kertas saring, Petroleum ether, larutan iod, nelson A, nelson B, arseno molibdat, asam asetat 1N, alkohol PA 95%, alkohol PA 80%, alkohol PA 10%, NaOH 45%, NaOH 1N, HCl 25% dan etenia (pati *thermoreversible* dari pati kentang) sebagai kontrol.

3.3. Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak kelompok dengan dua faktor yaitu lama inkubasi (L) dan konsentrasi enzim (K). Faktor I terdiri dari 2 level dan faktor II terdiri dari 3 level, sehingga diperoleh 6 kombinasi perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 18 satuan percobaan.

Faktor I. Lama Inkubasi

L1 = 10 jam

L2 = 20 jam

Faktor II. Konsentrasi Enzim Amylomaltase

K1 = 1,5 Unit AM/gram pati

K2 = 3,5 Unit AM/gram pati

K3 = 5,5 Unit AM/gram pati

Masing-masing konsentrasi enzim digunakan pada 10 gram pati yang dilarutkan dalam aquades 100mL. Berikut perhitungan untuk setiap konsentrasi enzim :

$$\text{Konsentrasi K1} = \frac{1,5 \text{ Unit/gram pati}}{940 \text{ Unit/gram enzim}} \times 10 \text{ gram pati} = 0,0160 \text{ gram enzim}$$

$$\text{Konsentrasi K2} = \frac{3,5 \text{ Unit/gram pati}}{940 \text{ Unit/gram enzim}} \times 10 \text{ gram pati} = 0,0372 \text{ gram enzim}$$

$$\text{Konsentrasi K1} = \frac{5,5 \text{ Unit/gram pati}}{940 \text{ Unit/gram enzim}} \times 10 \text{ gram pati} = 0,0585 \text{ gram enzim}$$

Dari kedua faktor tersebut diperoleh kombinasi yang dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Rasio Lama Inkubasi dan Konsentrasi Enzim Amylomaltase

Lama Inkubasi	Konsentrasi Enzim		
	K1	K2	K3
L1	L1K1	L1K2	L1K3
L2	L2K1	L2K2	L2K3

Keterangan:

L1K1 = Lama inkubasi 10 jam dan konsentrasi enzim amyломaltase 1,5Unit AM/gram pati

L1K2 = Lama inkubasi 10 jam dan konsentrasi enzim amyломaltase 3,5Unit AM/gram pati

L1K3 = Lama inkubasi 10 jam dan konsentrasi enzim amyломaltase 5,5Unit AM/gram pati

L2K1 = Lama inkubasi 20 jam dan konsentrasi enzim amyломaltase 1,5Unit AM/gram pati

L2K2 = Lama inkubasi 20 jam dan konsentrasi enzim amyломaltase 3,5Unit AM/gram pati

L2K3 = Lama inkubasi 20 jam dan konsentrasi enzim amyломaltase 5,5Unit AM/gram pati

3.4. Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan Pati Ubi Jalar Putih

- Ubi jalar putih disortasi, dikupas, dicuci, diblender kemudian di saring menggunakan kain saring.
- Ampas ditambah air (1:2) kemudian diaduk, disaring dan ampas dibuang.
- Filtrat diendapkan selama \pm 3-5 jam.
- Air dibuang dan endapan ditambah air dengan perbandingan 1kg endapan : 2 air, dihomogenkan.
- Diendapkan lagi selama \pm 3-5 jam.
- Air dibuang dan endapan dikeringkan menggunakan mesin pengering kabinet otomatis pada suhu \pm 60°C selama 5-7 jam.
- Setelah kering, pati dihaluskan dengan blender kemudian diayak menggunakan ayakan restch 100 mesh.
- Dihasilkan Pati ubi jalar putih.

2. Tahap Pembuatan Pati *Thermoreversible*

- a. Pati ubi jalar putih ditimbang sebanyak 10 gram.
- b. Dilarutkan dalam 100mL aquadest, sehingga diperoleh larutan 10% (bb/bv).
- c. Penambahan CaCl_2 sebanyak 0,0271 gram sebagai kofaktor enzim, kemudian di vortex.
- d. Penambahan enzim amyloamylase sebanyak 1,5 ; 3,5 ; dan 5,5 Unit/gram pati (Unit aktivitas enzim adalah 940U per gram meltamase solution) kemudian di vortex.
- e. Digelatinisasi pada suhu 95°C selama 1jam, dengan diaduk beberapa kali.
- f. Tahap selanjutnya adalah inkubasi pada *shaker waterbath* dengan suhu $80^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ selama 10 dan 20 jam.
- g. Setelah tahap inkubasi selesai, dilakukan inaktivasi enzim di oven listrik pada suhu $\pm 121^\circ\text{C}$ selama ± 30 menit.
- h. Didinginkan selama $1\frac{1}{2}$ jam hingga mencapai suhu ruang.
- i. Selanjutnya presipitasi alkohol dengan alkohol teknis 96% sebanyak 250mL dengan pengadukan.
- j. Presipitat disaring dengan kertas saring halus.
- k. Dikeringkan menggunakan oven kering pada suhu $\pm 32^\circ\text{C}$ selama ± 72 jam.
- l. Dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan ayakan restch 60 mesh.
- m. Dihasilkan Pati *thermoreversible*.

3.5. Pengamatan dan Analisis

3.5.1 Pengamatan

Pengamatan dan analisis dilakukan pada pati ubi jalar putih, pati *thermoreversible* dan kontrol (Etenia). Pada pati ubi jalar putih dilakukan analisa kimia dan fisik, yaitu analisis kadar pati (Sudarmadji dkk, 1997), kadar amilosa (Apriyantono dkk, 1989), kadar amilopektin by difference (Apriyantono dkk, 1989), kadar air (Sudarmadji dkk, 1997), kelarutan (Abera *et al.*, 2003) dan *swelling power* (Abera *et al.*, 2003).

Pada pati *thermoreversible* dan kontrol dilakukan analisa fisik dan kimia. Analisa kimia adalah kadar air (Sudarmadji dkk., 1997). Sedangkan analisa fisik

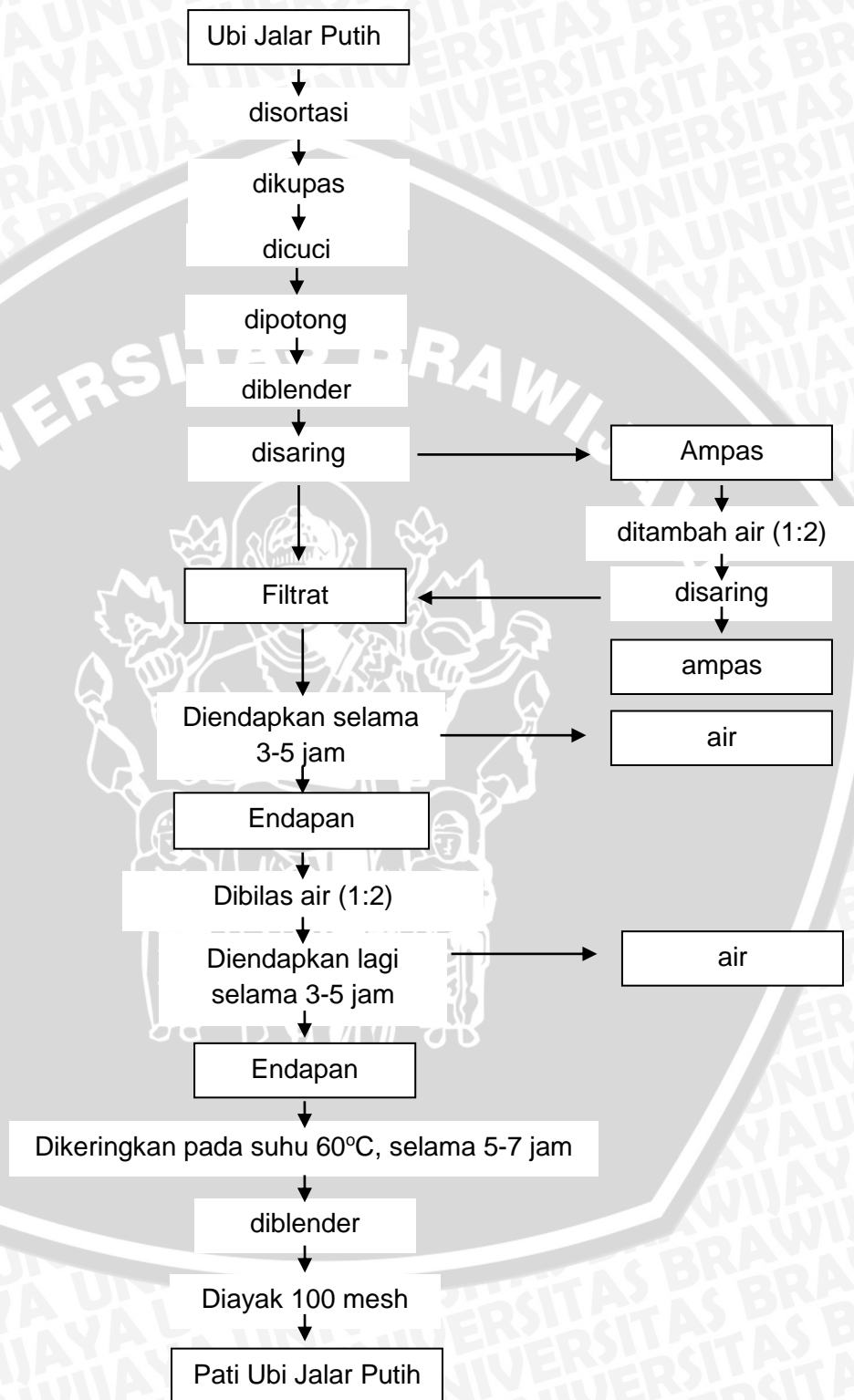
berupa kekuatan gel (*tensile strenght*) (Cuq *et al.*, 1996), kelarutan (Abera *et al.*, 2003), dan *swelling power* (Abera *et al.*, 2003) dan rendemen (Hartanti dkk., 2003).

3.5.2 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode analisis ragam/ANOVA. Apabila terdapat beda nyata pada interaksi kedua perlakuan dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dan bila tidak terdapat interaksi namun disalah satu perlakuan atau keduanya terdapat beda nyata, maka dilakukan uji beda BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan taraf nyata 5%. Pemilihan perlakuan terbaik dianalisis dengan menggunakan metode Indeks Efektivitas (De Garmo).

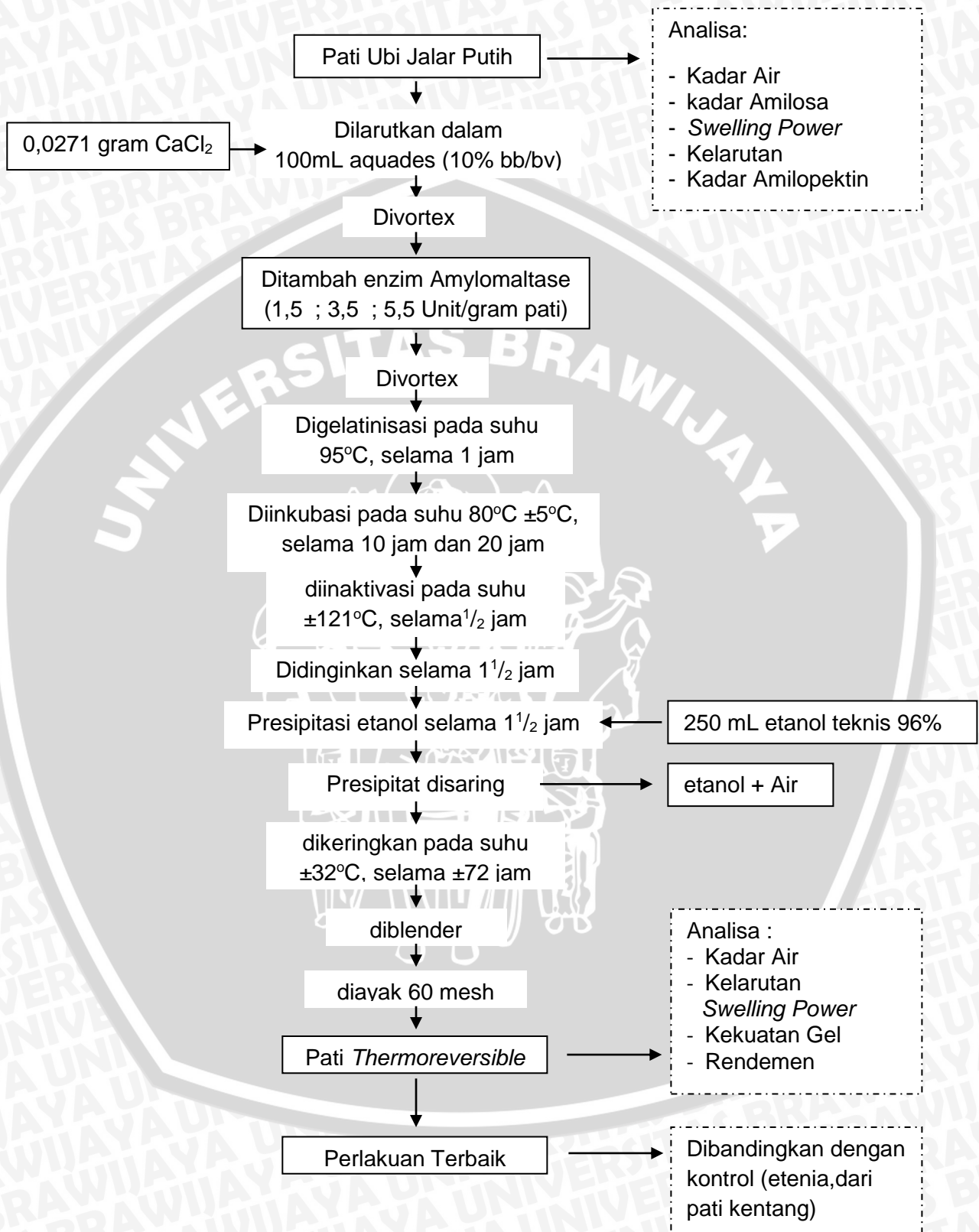


3.6. Diagram Alir
3.6.1 Pembuatan Pati Ubi Jalar Putih



Gambar 3.1. Diagram Alir Pembuatan Pati Ubi Jalar Putih
(Modifikasi Ginting dkk., 2005)

3.6.2 Pembuatan Pati *Thermoreversible*



Gambar 3.2. Diagram Alir Pembuatan Pati *Thermoreversible* (Modifikasi Kaper *et al.*, 2005)