

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Alat dan Bahan**

##### **4.1.1 Alat yang digunakan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, neraca analitik, seperangkat alat ekstraksi sokletasi, propipet, kaca arloji, seperangkat alat evaporasi, sendok sungsung, kertas saring biasa, loyang, oven, blender, saringan, benang, botol sampel, batu didih, stirer, magnetic stirer, pisau, spektrofotometer UV-Visible, seperangkat alat refluks, penangas air, kompor listrik, dan pH universal.

##### **4.1.2 Bahan yang digunakan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ubi jalar putih, starter bakteri *Lactobacillus plantarum* (diperoleh dari LIPI Yogyakarta), n-heksana teknis, akuades, asam sulfat pekat (Merck), fenol (Merck), natrium hidroksida (Merck), alkohol 96% (Merck), kalium sulfat (Merck), dan glukosa (Merck).

#### **4.2 Prosedur Penelitian**

##### **4.2.1 Aktivasi Bakteri**

Pengaktifan starter bakteri *Lactobacillus plantarum* dapat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

Ditimbang  $\pm 2$  gram *Lactobacillus plantarum* kemudian ditambah akuades sebanyak 200 mL. Dilarutkan dengan menggunakan stirrer hingga larut, selanjutnya didiamkan selama 12 jam. Diulangi tahap tersebut sebanyak 3 kali.

#### 4.2.2 Persiapan Sampel Tepung Ubi Jalar Putih

Persiapan sampel ubi jalar putih dapat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

Dikupas dan dibersihkan ubi jalar putih yang akan difermentasi, kemudian ubi jalar putih dipotong dengan bentuk dadu. Ditimbang dan dicatat hasil yang diperoleh, selanjutnya ubi jalar putih siap untuk difermentasi. Ubi jalar putih direndam dengan larutan bakteri hingga ubi jalar putih terendam secara sempurna. Proses fermentasi dilakukan berdasarkan variasi waktu yang telah ditentukan, yaitu 0, 6, 12 dan 24 jam. Setelah proses fermentasi selesai, selanjutnya ubi jalar putih ditiriskan. Ubi jalar putih dikeringkan dengan cara dioven pada temperatur 50 °C hingga kering. Ubi jalar putih yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan blender. Setelah halus, tepung ubi jalar putih diayak dengan ayakan atau saringan.

#### 4.2.3 Persiapan Pereaksi

a. Pembuatan larutan glukosa standar (500 ppm)

Ditimbang 0,5 gram glukosa dan dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 mL, kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas. Selanjutnya diguncang hingga homogen.

b. Pembuatan larutan glukosa standar (20, 40, 60 dan 80 ppm)

Dipipet masing-masing larutan glukosa standar 500 ppm sebanyak 1, 2, 3, dan 4 mL, dimasukkan dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas dan diguncang larutan hingga homogen.

c. Pembuatan larutan Fenol 5%

Ditimbang 5 gram fenol dan dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan diguncang hingga homogen.

d. Pembuatan larutan Asam sulfat 1,25%

Dipipet sebanyak 1,38 mL asam sulfat pekat dan dimasukkan ke dalam gelas beker 200 mL yang sebelumnya telah diisi akuades, kemudian ditera sampai tanda batas, dan diaduk hingga homogen.

e. Pembuatan larutan Natrium hidroksida 1,25%

Ditimbang 2,5 gram NaOH dan dimasukkan kedalam gelas beker 200 mL, kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas, dan diaduk hingga homogen.

f. Pembuatan larutan Kalium sulfat

Ditimbang 10 gram kalium sulfat dan dimasukkan ke dalam gelas beker 100 mL, kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas, dan diaduk hingga homogen.

#### 4.2.4 Analisis Kadar Serat Kasar

Pengukuran kadar serat kasar dengan metode *crude fiber* berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tanjung dan Kusnadi (2015) dengan judul Biskuit Bebas Gluten dan Bebas Kasein Bagi Penderita Autis. Analisis kadar serat kasar pada tepung ubi jalar putih dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

Ditimbang 2 gram tepung ubi jalar putih variasi 0, 6, 12 dan 24 jam dan diekstraksi lemaknya dengan soklet selama 5 jam. Tepung ubi jalar putih dipindahkan ke dalam labu alas bulat 500 mL. Ditambahkan 200 mL larutan  $H_2SO_4$  1,25% dan ditutup dengan pendingin balik. Selanjutnya direfluks sampai mendidih, dan ditunggu sampai 30 menit. Setelah 30 menit mendidih, ditunggu sampai larutan dingin. Tepung ubi jalar putih disaring menggunakan kertas saring dan residu yang tertinggal dalam labu alas bulat dicuci dengan akuades. Dicuci residu dalam kertas saring sampai pH netral kisaran 6-7 menggunakan pH universal. Dipindahkan residu dari kertas saring kedalam labu alas bulat kembali dengan spatula, dan sisanya dicuci dengan larutan NaOH 1,25% sebanyak 200 mL sampai semua residu masuk kedalam labu alas bulat. Dididihkan dengan pendingin balik, ditunggu 30 menit dari awal mendidih. Setelah mendidih, didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring yang telah dioven pada temperatur 110 °C dan diketahui beratnya. Dicuci residu dalam kertas saring sampai pH netral kisaran 6-7 menggunakan pH universal. Setelah netral, residu dicuci dengan larutan kalium sulfat 10%, air panas, dan kemudian dengan alkohol 96% sebanyak 20 mL. Kertas saring

dengan residu dioven pada temperatur 110 °C, didinginkan dalam desikator, dan ditimbang sampai berat konstan.

#### 4.2.5 Analisis Kadar Total Karbohidrat

Pengukuran kadar total karbohidrat dengan metode fenol sulfat berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Marlida *et al.* (2014) dengan judul penelitian Produksi Glukosa dari Batang Kelapa Sawit Melalui Proses Hidrolisis Secara Enzimatis Menggunakan Amilase Termotabil. Analisis kadar total karbohidrat pada tepung ubi jalar putih dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

a. Penentuan panjang gelombang ( $\lambda$ ) maksimum

Dipipet larutan glukosa standar masing-masing 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi terpisah kemudian direndam air di dalam penangas. Ditambahkan 1 mL fenol 5% dan 3 mL asam sulfat pekat kedalam larutan standar glukosa. Dibiarkan selama 10 menit kemudian divorteks atau dikocok, dan didiamkan kembali selama 20 menit. Selanjutnya diukur serapan panjang gelombang pada 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel.

b. Persiapan kurva kalibrasi larutan glukosa standar

Dibuat larutan glukosa standar 20, 40, 60 dan 80 ppm dalam labu ukur 25 mL. Masing-masing larutan standar dipipet 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian direndam air dalam penangas. Ditambahkan 1 mL fenol 5% dan 3 mL asam sulfat pekat kedalam larutan.

Dibiarkan selama 10 menit kemudian divorteks atau dikocok, dan didiamkan kembali selama 20 menit. Selanjutnya diukur serapan pada panjang gelombang 490,5 nm dengan menggunakan blanko akuades. Hasil pengukuran absorbansi dibuat dalam bentuk kurva kalibrasi.

c. Penentuan kadar karbohidrat dalam sampel

Pengukuran sampel dilakukan dengan cara menimbang 0,5 gram tepung ubi jalar kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, selanjutnya direndam dengan air dalam penangas dan ditambahkan 1 mL fenol 5% dan 3 mL asam sulfat pekat secara hati-hati. Dibiarkan 10 menit, lalu divorteks dan dibiarkan kembali selama 20 menit. Selanjutnya dilakukan pengenceran pada sampel sebanyak 250 mL. Dapat dilakukan dengan memipet larutan sampel sebanyak 0,5 mL kemudian diencerkan dengan akuades hingga tanda batas, dan digojog hingga homogen. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 490,5 nm.

#### **4.2.6 Analisis Kadar Lemak**

Pengukuran kadar lemak menggunakan metode sokletasi mengacu pada metode AOAC tahun 2005. Analisis kadar lemak pada tepung ubi jalar putih dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

Dalam analisis kadar lemak ditentukan dengan metode sokletasi. Prinsip analisis ini adalah melarutkan lemak dengan pelarut n-heksana. Tepung ubi jalar putih sebanyak 25 gram dibungkus dengan kertas saring kemudian diikat dengan benang. Bungkus tepung ubi jalar putih diletakkan di dalam

ekstraktor dan diektrak dengan solvent n-heksana teknis sebanyak 250 mL pada suhu  $\pm 65$  °C selama 2 jam. Selanjutnya filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental tepung ubi jalar putih. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dengan teliti.

