

IV. METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Percobaan

Penelitian utama dilaksanakan pada bulan April hingga Oktober 2018, di Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan, Laboratorium Keteknikan Pengolahan Pangan, Laboratorium Kimia Pangan, Laboratorium Pilot Plan, dan Laboratorium Pendidikan 2 Fakultas Teknologi Industri Pertanian serta Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Molekuler Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran.

4.2 Alat dan Bahan Percobaan

4.2.1 Bahan Percobaan

Bahan baku yang digunakan adalah pisang kapas yang diperoleh dari pedagang pisang di pasar Astana Anyar dan pasar Gede Bage Bandung. Derajat kematangan pisang adalah tua dengan indeks kematangan 1, masih mentah (belum matang), dengan ciri kulit buah masih berwarna hijau, mengandung banyak getah, kulit sulit dilepas dari daging buah, dan bagian daging buahnya masih keras. Perkiraan umur pisang adalah 80 hari setelah tanaman pisang berbunga. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah Natrium Metabisulfit, akuades, HCl 0,1N, NaOH 0,01N, *deionized water*, *Phosphaate Buffer Saline* (PBS) pH 7,4, KCN, Na₂CO₃, K₃FeC₆N₆, NH₄Fe(SO₄)₂.12H₂O, *Sodium Deodesyl Sulfate* (SDS), H₂SO₄, dan *Bovin Serum Albumin* (BSA).

4.2.2 Alat Percobaan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *oven cabinet*, grinder, blender, ayakan 100 mesh, *slicer*, loyang, pisau, spektrofotometer, vakum filter, pH meter, kuvet, autoklaf, mikropipet, inkubator, *rotary mixer*, *waterbath*, *microfuge tube*, tabung *stainless steel* dan peralatan penunjang lainnya.

4.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif. Adapun rincian perlakuan yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

- A = Pati pisang kapas alami (tanpa ozonasi)
- B = Pati pisang kapas dengan 10 siklus ozonasi
- C = Pati pisang kapas dengan 20 siklus ozonasi

4.4 Pelaksanaan Penelitian

Percobaan utama yang dilakukan dibagi menjadi 3 tahap yaitu penyiapan sampel pati pisang kapas, proses modifikasi oksidasi pati pisang kapas, dan analisis daya cerna pati, pengujian gugus karboksil serta pengamatan sifat termal menggunakan DSC.

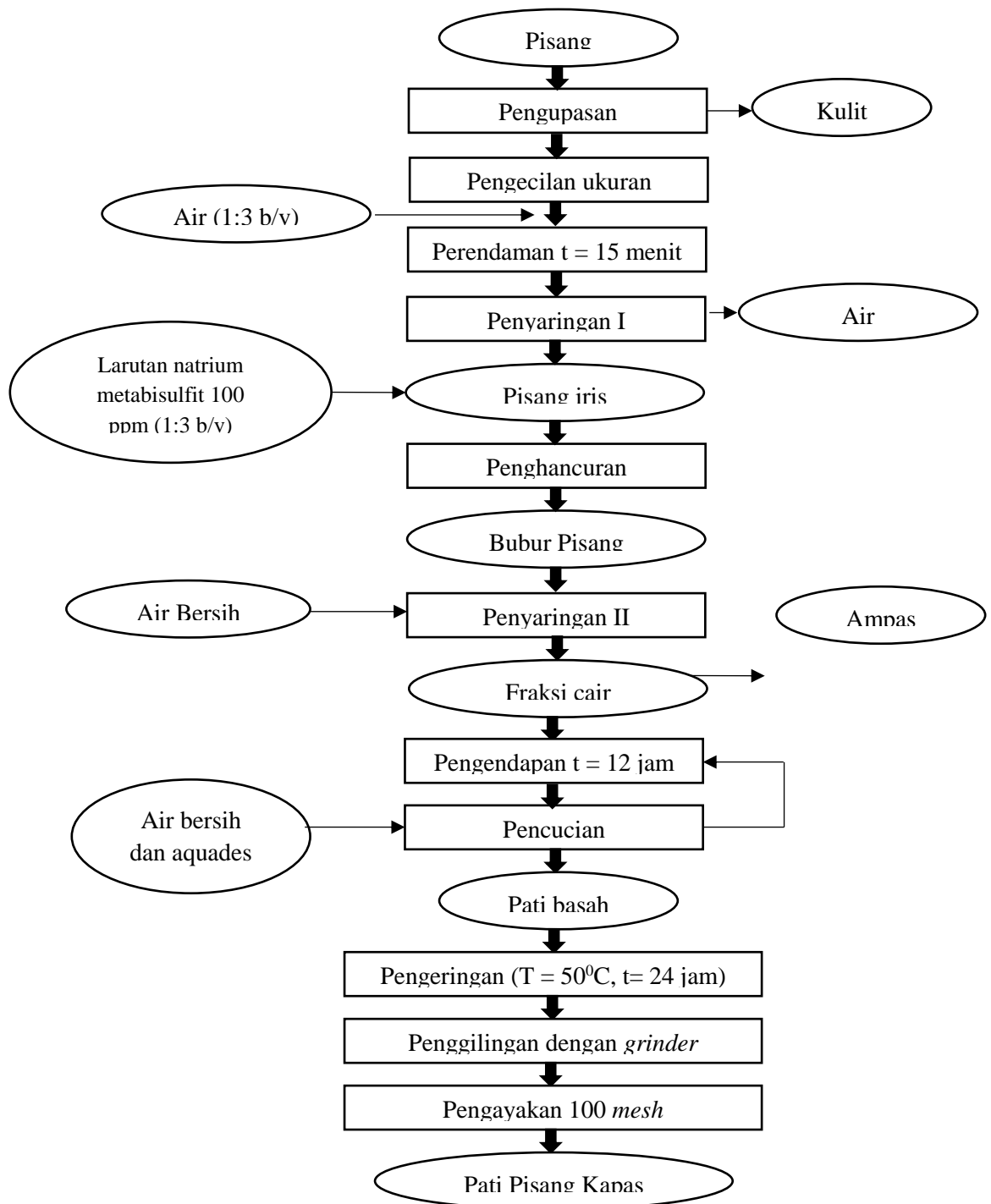
A. Persiapan Sampel

a. Pati Pisang Kapas Alami (Tanpa Modifikasi)

Proses pembuatan pati pisang kapas mengacu pada metode modifikasi Rafida (2017). Proses pembuatan yang dilakukan meliputi:

- 1) Pengupasan dilakukan untuk membuang bagian-bagian yang tidak terpakai seperti kulit dan kotoran yang melekat pada daging buah pisang kapas.
- 2) Pengecilan ukuran untuk mempermudah proses penghancuran pisang kapas.
- 3) Perendaman pisang kapas yang telah berukuran kecil dilakukan dengan menggunakan air untuk menghilangkan getah yang melekat pada pisang kapas. Perbandingan air dengan pisang kapas untuk perendaman adalah 1:3.
- 4) Penyaringan I untuk memisahkan hasil irisan pisang dengan air rendaman menggunakan saringan biasa.
- 5) Penghancuran dilakukan dengan menggunakan blender untuk merusak jaringan pisang sehingga mempermudah pengeluaran pati. Penghancuran dilakukan dengan menambahkan larutan natrium metabisulfit 100 ppm (1:3 b/v) agar didapatkan pati yang lebih cerah.
- 6) Penyaringan II yang bertujuan untuk memisahkan fraksi pati dengan ampas menggunakan kain saring.
- 7) Pengendapan selama 12 jam secara periodik untuk memisahkan fraksi pati dengan komponen lain yang tidak diinginkan.
- 8) Pencucian yang dilakukan setelah pengendapan bertujuan untuk memisahkan komponen pati dengan kotoran lain yang masih menempel sehingga pati yang didapat akan lebih cerah. Pencucian dilakukan sebanyak 5 kali dengan bantuan air bersih dan akuades.
- 9) Pengeringan pati basah menggunakan *oven cabinet* pada suhu 50°C selama 24 jam untuk mengeluarkan air yang masih terdapat pada bahan sehingga dihasilkan pati dengan kadar air tertentu.

- 10) Penggilingan menggunakan grinder untuk menghancurkan pati pisang kapas yang telah dikeringkan sehingga berubah bentuk menjadi partikel-partikel halus.
- 11) Pengayakan pati yang sudah halus menggunakan ayakan 100 mesh untuk memisahkan bagian-bagian yang tidak diinginkan dan untuk menghasilkan pati yang berukuran seragam.
- 12) Sebelum ozonasi, pati dipurifikasi menggunakan etanol untuk menghilangkan komponen lemak dan protein sehingga didapatkan pati pisang murni. Perendaman dilakukan menggunakan etanol 80% (1:3 b/v) dan mengalami pengadukan menggunakan *stirer* selama 10 menit lalu di sentrifugasi dalam 3000 g x 10 menit. Padatan pati yang terbentuk dilarutkan dalam etanol 96% (1:2 b/v) dan dikeringkan dalam suhu ruang (Modifikasi Edwards, 2018).



Gambar 12. Diagram Proses Pembuatan Pati Pisang Kapas
(Sumber: Modifikasi Rafida, 2017)

B. Pembuatan Pati Pisang Termodifikasi Ozon

Prosedur modifikasi pati pisang kapas mengacu pada penelitian Sandhu (2012). Proses Ozonisasi pada fase gas dilakukan selama 5 menit sebanyak 10 siklus dan 20 siklus menggunakan alat LUSO (Model OZ-5G) dengan pengaturan *flow rate* 10L/menit dimana masing-masing siklus mengandung konsentrasi ozon sebesar 13 ppm. Tahapan pembuatan pati pisang termodifikasi ozon adalah sebagai berikut (Gambar 12).

- 1) Pemasukkan sampel pati kedalam tabung yang bertujuan untuk menampung sampel selama proses ozonisasi berlangsung. Tabung yang digunakan yaitu tabung *stainless steel* berkapasitas 1 L yang dilengkapi dengan penutup berbahan plastik. Selama proses ozonisasi, tutup tabung direkatkan dengan alumunium foil, *cling wrap*, dan perekat.
- 2) Proses *flushing* bertujuan untuk mengeluarkan gas yang tidak diinginkan seperti oksigen (O_2) sehingga tidak mengganggu proses ozonasi. *Flushing* dilakukan selama 1 menit menggunakan gas ozon (O_3) dengan *flow rate* sebesar 10L/menit.
- 3) Proses ozonasi bertujuan untuk memodifikasi pati pisang kapas alami. Proses ozonasi dilakukan selama 5 menit sebanyak 10 siklus dan 20 siklus dimana masing-masing siklus mengandung konsentrasi ozon sebesar 13 ppm.
- 4) Penyimpanan sampel bertujuan untuk memaksimalkan reaksi ozon dengan sampel.

- 5) Pemutar balikan sampel pada tabung *stainless steel* bertujuan untuk mereaksikan ozon dengan sampel sehingga ozon akan bereaksi dengan keseluruhan bagian bahan. Pemutarbalikan dilakukan per 2 menit selama 10 menit penyimpanan.
- 6) Pengemasan bertujuan untuk menjaga sampel modifikasi dari cemaran lingkungan. Penyimpanan dilakukan menggunakan kemasan aluminium foil dan menggunakan silika gel serta disimpan tanpa adanya gas oksigen (O₂).
- 7) Penyimpanan pada suhu 4°C dilakukan untuk mengondisikan sampel hasil ozonasi untuk dianalisis lebih lanjut.

C. Analisis Daya Cerna Pati Secara *In Vitro*, Gugus Karbonil-Karboksil, dan Sifat Termal

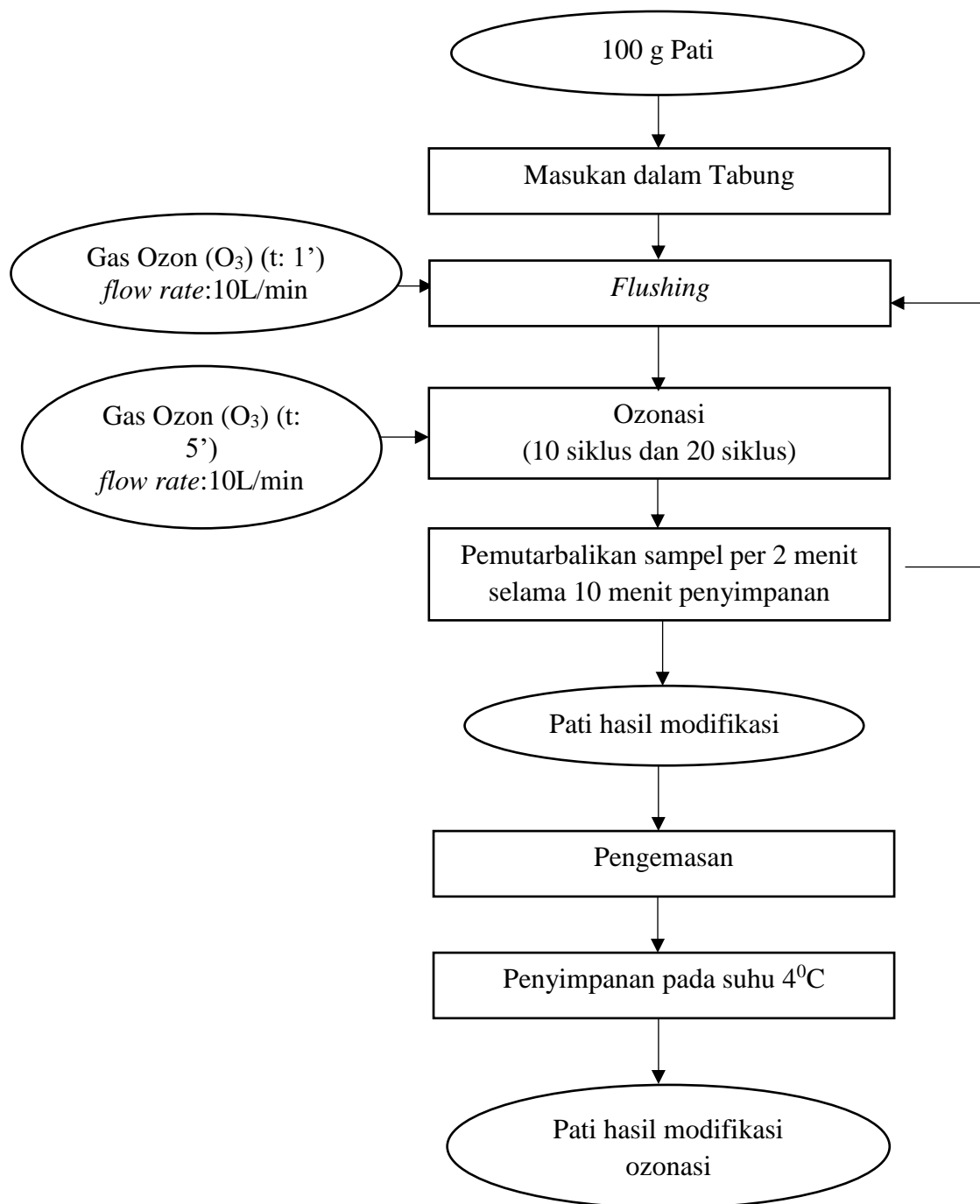
Prosedur analisis daya cerna pati secara *In Vitro*, pengujian gugus karbonil-karboksil, dan pengujian sifat termal menggunakan DSC dilampirkan dalam Lampiran 1.

4.5 Kriteria Pengamatan

Pengamatan utama dari pati pisang kapas alami dan termodifikasi ozon meliputi:

- 1) Pengujian daya cerna pati (Butterworth *et al.*, 2012)
- 2) Uji Gugus Karboksil (Chattopadhyay, Singhal, dan Kulkarni, 1997)
- 3) Pengujian sifat termal menggunakan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) (Oladebeye *et al.*, 2013)

- 4) Pengujian sifat kristalinitas menggunakan *X-ray Diffraction* (Kawabata *et al.*, 1994)



Gambar 13. Diagram Proses Pembuatan Pati Termodifikasi Ozon
(Sumber: Modifikasi Titipanillah, 2017)