

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Untuk mengetahui kinerja adsorpsi arang aktif-bentonit pada aroma susu kedelai, dilakukan penelitian di Laboratorium Riset Kimia Makanan dan Material FPMIPA UPI selama kurang lebih 3 bulan yaitu sejak tanggal 23 Maret 2009 hingga Juni 2009.

Dalam penelitian ini digunakan sampel susu kedelai yang diperoleh dari pabrik “Susu Kacang Kedelai SEHAT Ibu Mul” yang ada di Jalan Pagarsih Barat Gg. Madrasah 29/193B Bandung. Susu kedelai merupakan hasil saringan dari proses penggilingan kacang kedelai yang dicampur dengan air. Sedangkan bentonit yang digunakan adalah Ca-bentonit alami yang sebelumnya telah diaktivasi melalui pemanasan pada suhu 400°C. Dan arang aktif yang digunakan diperoleh dari toko kimia yang ada di Jalan Soekarno Hatta, arang aktif terlebih dahulu dihaluskan dan dicuci bersih kemudian dikeringkan melalui pemanasan pada suhu 70°C sebelum digunakan sebagai adsorban.

Pada penelitian ini diharapkan dapat mengetahui kondisi optimum adsorban dalam mengurangi bau langu yang terdapat dalam susu kedelai. Adapun cara untuk menentukan kondisi optimum dari kerja bentonit dan/atau arang aktif sebagai adsorban, maka diujicobakan pengontakkan

bentonit dan/atau arang aktif pada susu kedelai ini dalam berbagai variasi waktu, konsentrasi, dan suhu.

Untuk penentuan konsentrasi optimum, terlebih dahulu diujikan adsorban bentonit pada susu kedelai dalam berbagai variasi konsentrasi (dari 1% hingga 6%). Kemudian diujikan adsorban arang aktif terhadap susu kedelai dalam berbagai variasi konsentrasi (dari 1% hingga 6%) untuk menentukan konsentrasi optimum arang aktifnya. Setelah diketahui konsentrasi optimum dari masing-masing adsorban maka diujikan penggabungan dari bentonit dan arang aktif dalam berbagai variasi perbandingan dan konsentrasi pada susu kedelai.

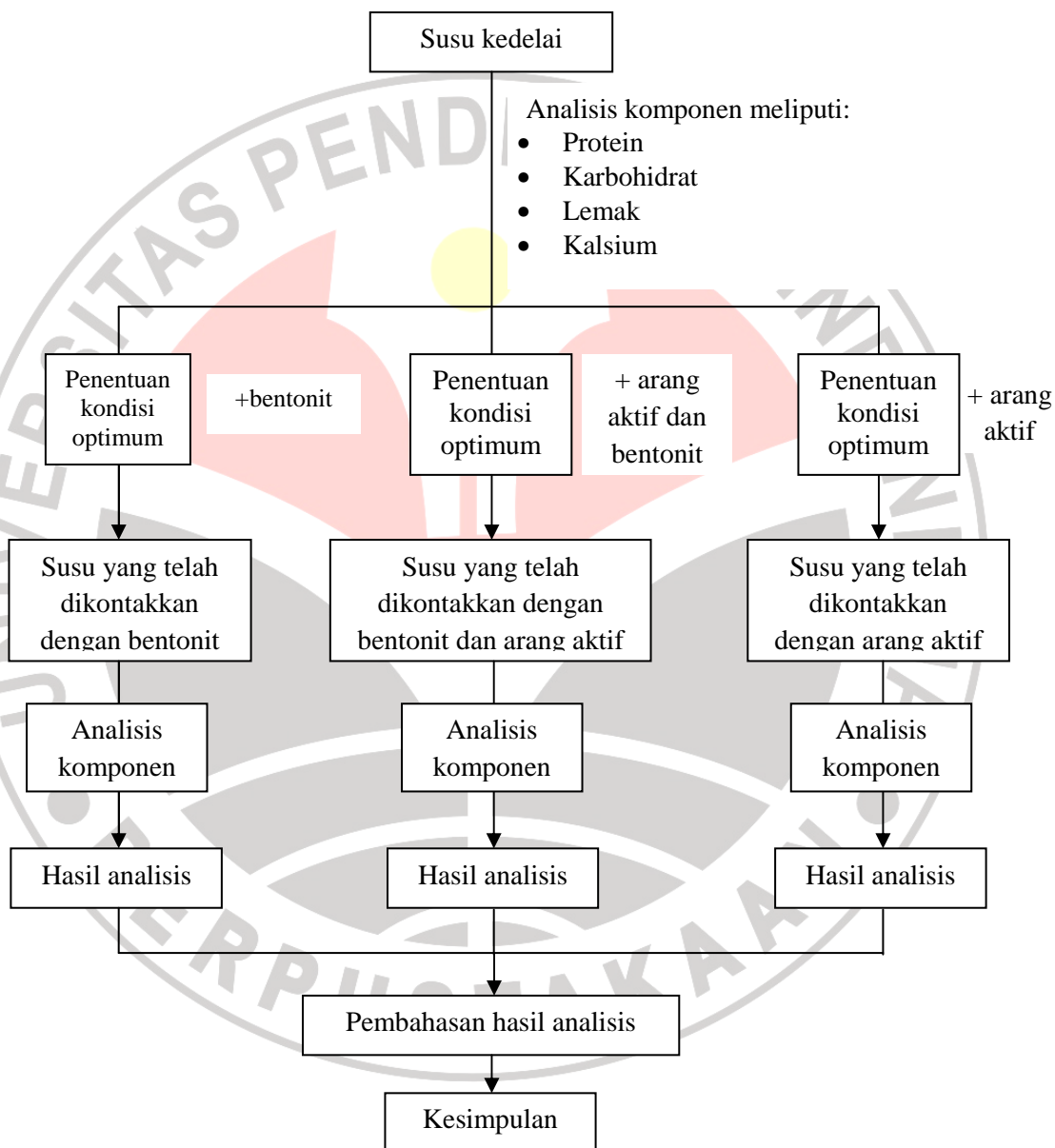
Selain pengaruhnya terhadap adsorpsi bau pada susu kedelai, perlu diketahui pula pengaruh penggunaan bentonit dan/atau arang aktif terhadap kandungan susu kedelai, sehingga perlu dilakukan analisis komponen susu kedelai baik sebelum ataupun setelah kontak dengan bentonit dan/atau arang aktif, yang meliputi analisis protein menggunakan Metode Khjedahl, analisis karbohidrat menggunakan metode Luff Shcroot, analisis lemak melalui Metode Gerber , dan analisis kadar kalsium dengan menggunakan alat *Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) Perkin Elmer Analyst 100*.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu dengan melakukan uji coba mengontakkan adsorban pada susu kedelai cair dalam berbagai variasi waktu, perbandingan massa dan suhu sehingga akan

diperoleh kondisi optimal penggunaan bentonit dan/atau arang aktif untuk mengurangi bau langu pada susu kedelai tersebut.

Untuk lebih jelasnya metode penelitian di atas disajikan dalam alur penelitian sebagai berikut :



Gambar 3.1. diagram alir penelitian

Dalam rangka untuk mengetahui adsorpsi arang aktif-bentonit terhadap aroma susu kedelai, penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Alat dan bahan yang digunakan dalam analisis komponen susu kedelai.
 - a. Analisis kuantitatif protein menggunakan cara Kjeldahl.

Pada analisis kuantitatif protein digunakan metode Kjeldahl yang merupakan metode sederhana untuk penetapan nitrogen total pada asan amino, protein dan senyawa yang mengandung nitrogen. Pada dasarnya sampel didestruksi dengan asam sulfat dan dikatalisis dengan katalisator yang sesuai sehingga akan menghasilkan ammonium sulfat, setelah pembebasan alkali dengan kuat, ammonia yang terbentuk disuling secara kuantitatif ke dalam larutan penyerap dan ditetapkan secara titrasi.

Untuk analisis kuantitatif protein ini dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bandung.

- Alat yang digunakan, antara lain:
 - 1) Labu Kjeldhal 100 mL
 - 2) Alat destilasi
 - 3) Pemanas listrik
 - 4) Neraca analitik
- Sedangkan bahan yang dibutuhkan, antara lain :

- 1) Campuran selen

Campuran 2,5 g serbuk SeO_2 , 100 g kalium sulfat (K_2SO_4) dan 20 g tembaga sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

2) Indikator campuran

Siapkan larutan *bromocresol green* 0,1 % dan larutan merah metil 0,1% dalam alkohol 95% secara terpisah. Campur 10 mL *bromocresol green* dengan 2 mL merah metil.

3) Larutan asam borat, H_3BO_3 2%.

Larutkan 10 g asam borat, dalam 500 mL akuades. Setelah dingin pindahkan ke dalam botol bertutup gelas. Campur 500 mL asam borat dengan 5 mL indikator.

4) Larutan asam klorida, HCl 0,01 N

5) Larutan natrium hidroksida, NaOH

Larutkan 150 g natrium hidroksida ke dalam 350 mL air, simpan dalam botol bertutup karet.

- Prosedur kerja :

- 1) 0,51 g cuplikan di masukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL.
- 2) ditambahkan 2 g campuran selen dan 25 mL H_2SO_4 pekat.
- 3) dipanaskan di atas pemanas listrik atau api pembakar sampai mendidih dan larutan menjadi jernih kehijau-hijauan (sekitar 2 jam).
- 4) Biarkan dingin, kemudian diencerkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, tepatkan sampai tanda garis.
- 5) dipipet 5 mL larutan dan masukkan ke dalam alat penyuling, ditambahkan 5 mL NaOH 30% dan beberapa tetes indikator PP.

- 6) Didestilasi selama lebih kurang 10 menit, sebagai penampung gunakan 10 mL larutan asam borat 2% yang telah dicampur indikator.
- 7) ujung pendingin dibilas dengan air suling
- 8) dititrasi dengan larutan HCl 0,01 N
- 9) dilakukan penetapan blanko.
- 10) Perhitungan:

$$\text{Kadar Protein} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot N \cdot 0,014 \cdot f_k \cdot f_p}{w}$$

dimana :

w = bobot cuplikan.

V_1 = volume HCl 0,01 N yang dipergunakan penitaran contoh

V_2 = volume HCl yang dipergunakan penitaran hlanko.

N = normalitas HCl

f_k = faktor konversi untuk protein susu: 6,25

f_p = faktor pengenceran

b. Analisis kuantitatif lemak menggunakan Metoda Gerber

Untuk penetapan kadar lemak susu kedelai, digunakan metoda Gerber yang prinsipnya, susu dicampur dengan H_2SO_4 dan amil alkohol dalam tabung Gerber khusus lalu disentrifuge sehingga lemak susu terpisah dan menempati bagian atas tabung. Lemak yang terpisah dapat ditentukan kadarnya dengan melihat panjang kolom lemak yang terbentuk.

- Alat yang digunakan, antara lain:

- 1) Butirometer Gerber standar dengan penutup karet.
susu tipe 10%
- 2) *Sentrifuge* Gerber (1100 rpm)
- 3) Pipet 10,75 mL
- 4) Penangas air pada 65 - 70⁰ C.

- Sedangkan bahan yang dibutuhkan, antara lain :

- 1) 10mL Asam sulfat 91%, H₂SO₄ bj 1,815
- 2) 1mL Amyl alkohol
- 3) Sampel susu kedelai

- Prosedur kerja :

- 1) 10 mL H₂SO₄ dimasukkan ke dalam butirometer.
- 2) 10,75 mL sampel susu dimasukkan ke dalam butirometer:
- 3) ditambahkan 1 mL amil alkohol, ditutup dan dibalikkan butirometer Ialu kocok dengan sempurna hingga semua gumpalan larut.
- 4) Panaskan di dalam penangas air pada suhu 65 – 70⁰C selama 5 menit, butirometer dipusingkan selama 3 menit
- 5) butirometer disimpan dalam penangas air pada suhu 65 - 70⁰ C dengan tutupnya dibawah(terbalik) selama 2 - 3 menit.
- 6) Atur lapisan sehingga ada di dalam garis butirometer dan persen lemaknya dibaca.
- 7) Perhitungan :

Kadar lemak = mL lemak dalam alat Gerber.

c. Analisis kuantitatif karbohidrat menggunakan Metoda Luff Scrhoorl

Pada analisis kuantitatif karbohidrat susu kedelai, digunakan Metode Luff Schrool. Yang prinsipnya hidrolisis karbohidrat menjadi monosakarida yang dapat mereduksikan Cu^{2+} menjadi Cu^{1+} . Kelebihan Cu^{2+} dapat dititrasi secara iodometri.

Untuk analisis kuantitatif karbohidrat ini dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bandung.

- Alat yang digunakan, antara lain:

Alat gelas biasa.

- Sedangkan bahan yang dibutuhkan, antara lain :

- 1) Asam klorida 3%
- 2) Natrium hidroksida, NaOH 30%.
- 3) Indikator fenolftalein (PP)
- 4) Larutan luff
- 5) Pembuatan pereaksi Luff Scrhoorl

- Dilarutkan 143,8 g Na_2CO_3 anhidrat dalam 300 mL akuades sambil aduk,
- Ditambahkan 50 g asam sitrat yang telah dilarutkan dengan 50 mL air suling.
- Ditambahkan 25 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ yang telah dilarutkan dengan 100 mL akuades.
- Larutan tersebut dipindahkan ke dalam labu 1 liter, tepatkan sampai tanda garis dengan akuades dan dikocok. Dibiarkan semalam dan saring bila perlu.

Larutan ini mempunyai kepekatan Cu^{2+} 0,1 N, dan Na_2CO_3 .

- 6) Larutan Kalium Iodida KI 20%
 - 7) Larutan Asam sulfat, H_2SO_4 25%
 - 8) Larutan Natrium tiosulfat, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0,1 N
 - 9) Penunjuk larutan kanji, 0,5%.
- Prosedur kerja :
 - 1) Ditimbang seksama lebih kurang 5 g cuplikan ke dalam erlenmeyer 500 mL
 - 2) Tambahkan 200 ml larutan HCl 3%, didihkan selama 3 jam dengan pendingin tegak.
 - 3) Kemudian didinginkan dan dinetralkan dengan larutan NaOH 30% (dengan lakmus atau fenolftalin), dan ditambahkan sedikit CH_3COOH 3% agar suasana larutan agar sedikit asam.
 - 4) Kemudian isinya dipindahkan ke dalam labu ukur 500 mL dan impitkan hingga tanda garis kemudian disaring.
 - 5) Dipipet 10 mL saringan ke dalam Erlenmeyer 500 mL, tambahkan 25 mL larutan luff (dengan pipet) dan beberapa butir batu didih serta 15 mL akuades.
 - 6) Campuran tersebut dipanaskan dengan nyala yang tetap. Usahakan agar larutan dapat mendidih dalam waktu 3 menit (gunakan *stop watch*), didihkan terus selama tepat 10 menit

(dihitung dari saat mulai mendidih dan gunakan *stop watch*)

kemudian dengan cepat didinginkan dalam bak berisi es.

- 7) Setelah dingin lalu ditambahkan 15 mL larutan KI 20% dan 25 mL H₂SO₄ 25% perlahan- lahan.
- 8) Dititrasi secepatnya dengan larutan tio 0,1 N (gunakan penunjuk larutan kanji 0,5 %)
- 9) Untuk blanko pengerjaannya sama dengan cara diatas.

Perhitungan :

(Blanko-penitar) x N tio x 1,0 N. Kemudian lihat dalam daftar Luff Schoorl berapa mg gula yang terkandung untuk mL tio yang dipergunakan.

$$\text{kadar glukosa} = \frac{w1 \times fp}{w} \times 100\%$$

dimana :

$$\text{Kadar karbohidrat} = 0,90 \times \text{kadar glukosa}$$

w1 = bobot cuplikan, dalam mg

w = glukosa yang terkandung untuk mL tio yang dipergunakan, dalam mg, dari daftar

fp = faktor pengenceran

d. Analisis kuantitatif kalsium menggunakan AAS

Untuk mengetahui kadar kalsium dari susu kedelai, digunakan alat *Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) Perkin Elmer Analyst 100*. Metode AAS berprinsip pada absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom menyerap cahaya tersebut pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Dengan absorpsi energi, berarti memperoleh lebih banyak energi, suatu atom pada keadaan dasar dinaikan tingkat energinya ke tingkat eksitasi. Keberhasilan analisis ini tergantung pada proses eksitasi dan memperoleh garis resonansi yang tepat.

- Alat-alat yang digunakan, antara lain :

- 1) Alat Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)

- Sedangkan bahan yang dibutuhkan, antara lain :

- 1) Aquaregia ($\text{HCl} : \text{HNO}_3 = 3:1$)

- 2) Sampel susu kedelai

- Prosedur kerja :

- 1) Diambil 5 mL sampel susu kedelai

- 2) Ditambah 10 mL aquaregia ($\text{HCl} : \text{HNO}_3 = 3:1$)

- 3) Kemudian dikisatkan hingga diperoleh kurang lebih 1 mL larutan.

- 4) Larutan yang diperoleh dimasukkan dalam labu ukur 25 mL, lalu ditambahkan aquades hingga tanda batas kemudian disaring.

- 5) Larutan siap diukur dengan menggunakan alat

- 6) Kadar kalsium dari hasil pengukuran akan memiliki satuan mg/L, maka kadar kalsium sesungguhnya dari sampel dapat diketahui melalui perhitungan. Karena larutan sampel siap diukur merupakan pengenceran sebanyak 5 kali dari sampel awal maka :

$$\begin{aligned} A \text{ mg/L} \times 5 &= B \text{ mg/L} \\ \text{atau} &= B \text{ mg/1000 gram} \end{aligned}$$

Keterangan, A : konsentrasi kalsium hasil pengukuran
B : konsentrasi sampel sesungguhnya

2. Aktivasi bentonit

Dalam penelitian ini digunakan Ca-bentonit yang terlebih dahulu diaktivasi melalui proses pemanasan pada suhu 400°C selama 3 jam menggunakan oven.

3. Aktivasi arang aktif

Arang aktif yang akan digunakan dalam penelitian ini sebelumnya ditumbuk halus, diayak kemudian dicuci bersih, dan selanjutnya dipanaskan dalam oven pada suhu 70°C selama 10 menit.

4. Karakterisasi bentonit dan arang aktif.

Penentuan gugus fungsi yang terdapat pada bentonit dan arang aktif yang telah diaktivasi (pra kontak dengan susu kedelai) menggunakan metoda pellet KBr dengan alat FTIR-8400 SHIMADZU.

5. Penentuan waktu optimum pengadukan

Perbandingan kinerja masing-masing adsorban terhadap susu kedelai dalam berbagai variasi waktu pengadukan, yaitu 1 menit hingga 60 menit. Campuran yang diuji berisi 100 gram susu kedelai dan 5 gram adsorban, diaduk menggunakan *Magnetic Stirrer* dengan kecepatan 100rpm. Pengamatan terhadap kondisi campuran dilihat dari tampilan permukaan campuran dan suspensi campuran itu sendiri.

6. Penentuan suhu optimum

Perbandingan kinerja masing-masing adsorban terhadap susu kedelai dalam berbagai variasi suhu, yaitu digunakan suhu 25°C, 40°C, 50°C, dan 60°C. Campuran yang diuji berisi 100 gram susu kedelai dan 5 gram adsorban, diaduk menggunakan *Magnetic Stirrer* dengan kecepatan 100rpm selama 3 menit (waktu optimum).

Pengamatan terhadap kondisi campuran dilihat dari kondisi fisik campuran dan uji organoleptik aroma.

7. Uji organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan terhadap 6-8 orang panelis tetap (digunakan panelis terlatih) yang memiliki kemampuan untuk membedakan. Panelis akan memberikan nilai mutu dalam besaran numerik (1-5) terhadap satu seri bahan uji yaitu susu kedelai yang telah disaring dari campurannya dan telah melalui perlakuan tertentu, antara lain variasi suhu pengadukan, dan variasi konsentrasi adsorban. Nilai

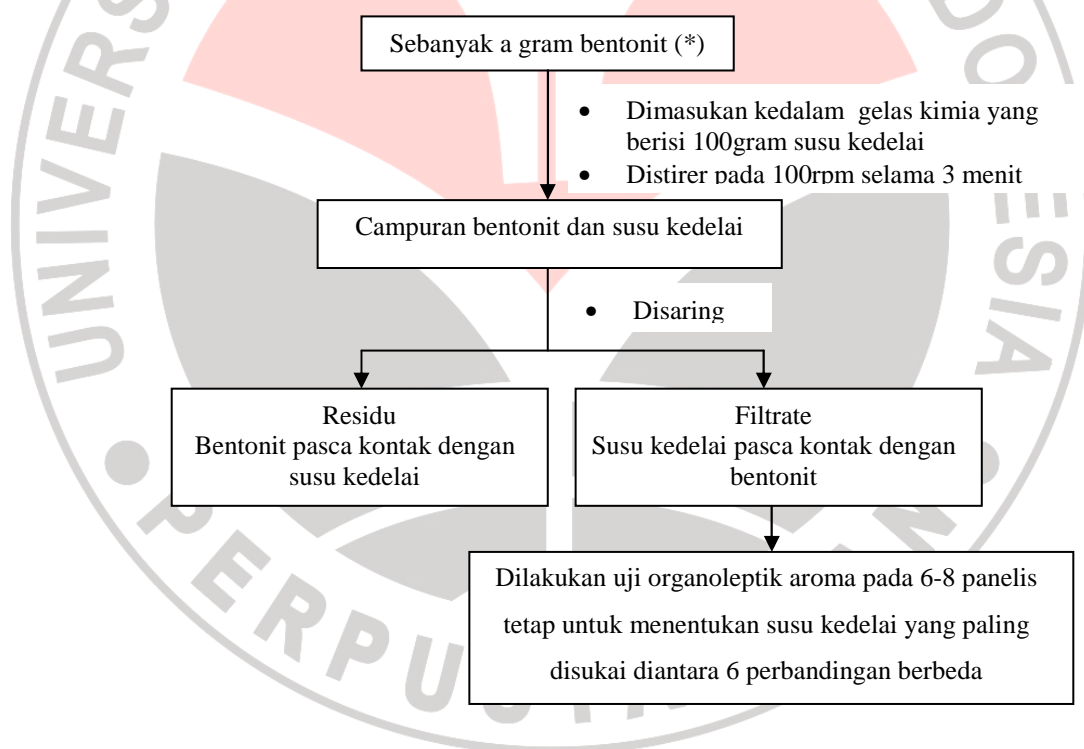
yang semakin besar menunjukkan bahwa sampel lebih disukai oleh panelis.

8. Penentuan konsentrasi optimum bentonit.

Memvariasikan perbandingan massa bentonit pada susu kedelai yaitu:

1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%.

Kemudian dilakukan uji organoleptik aroma pada 6-8 panelis tetap untuk menentukan susu kedelai yang paling disukai diantara 6 perbandingan berbeda.



Gambar. 3.2. diagram alir penentuan konsentrasi optimum bentonit

Keterangan (*): merupakan massa bentonit yang dikontakan pada susu kedelai yaitu sebanyak 1, 2, 3, 4, 5, dan 6gram. Sehingga akan

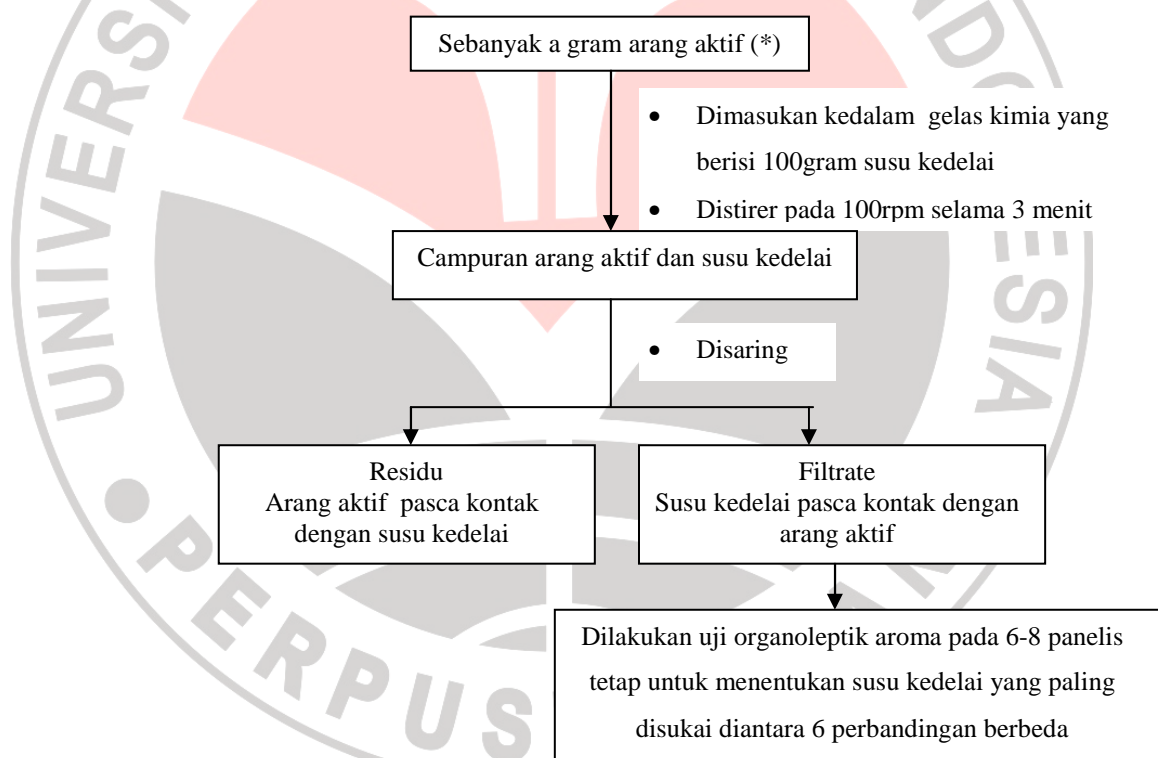
diperoleh 6 seri rangkaian campuran bentonit dan susu kedelai yang masing-masing memiliki perbandingan 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%.

8. Penentuan konsentrasi optimum arang aktif

Memvariasikan perbandingan massa arang aktif pada susu kedelai yaitu:

1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%.

Kemudian dilakukan uji organoleptik aroma pada 6-8 panelis tetap untuk menentukan susu kedelai yang paling disukai diantara 6 perbandingan berbeda.

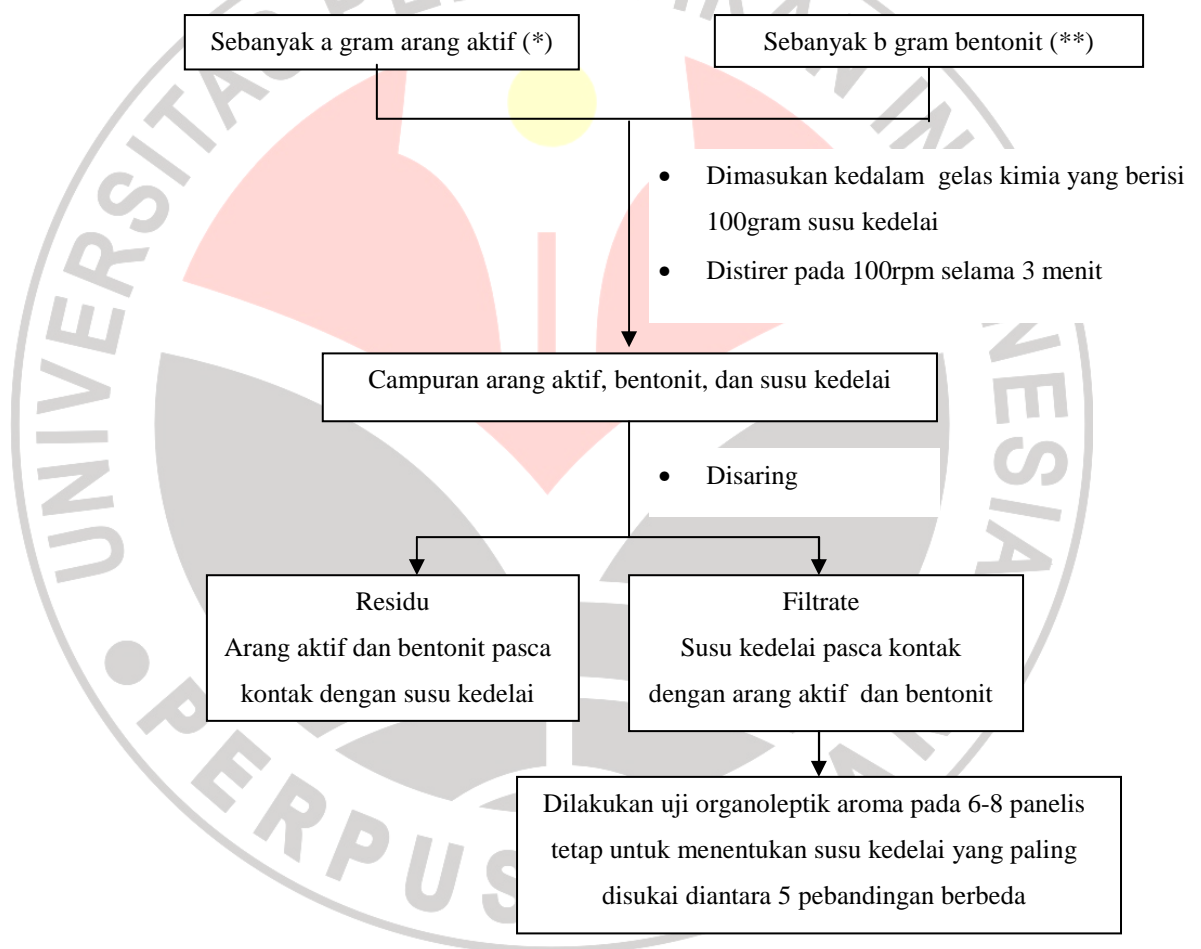


Gambar. 3.3. diagram alir penentuan konsentrasi optimum arang aktif

Keterangan (*): merupakan massa arang aktif yang dikontakan pada susu kedelai yaitu sebanyak 1, 2, 3, 4, 5, dan 6gram. Sehingga akan

diperoleh 6 seri rangkaian campuran arang aktif dan susu kedelai yang masing-masing memiliki perbandingan 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%.

9. Penentuan konsentrasi optimum gabungan bentonit dan arang aktif terhadap susu kedelai dalam mereduksi bau langu (suhu uji : digunakan suhu optimal) dengan memvariasikan konsentrasi adsorban terhadap susu kedelai.



Gambar 3.4. bagan alir penentuan konsentrasi optimum penggabungan adsorban

- Perbandingan arang aktif : bentonit = $(A : B) = 1 : 1$
- Perbandingan arang aktif : bentonit = $(A : B) = 1 : 2$
- Perbandingan arang aktif : bentonit = $(A : B) = 2 : 1$

d) Perbandingan arang aktif : bentonit = (A : B) = 1 : 3

e) Perbandingan arang aktif : bentonit = (A : B) = 3 : 1

10. Penentuan perbandingan optimum penggabungan bentonit dan arang aktif untuk mereduksi bau langu pada susu kedelai (suhu uji : digunakan suhu optimal)

Semua konsentrasi optimum yang diperoleh dari setiap perbandingan berbeda pada percobaan sebelumnya, diujikan kembali nilai aromanya pada panelis untuk menentukan perbandingan optimum penggabungan arang aktif-bentonit dalam mereduksi bau langu terhadap susu kedelai.

11. Analisis komponen susu kedelai setelah pengujian

a. Analisis kadar kalsium menggunakan Alat AAS

b. Analisis kuantitatif lemak menggunakan Metoda Gerber

c. Analisis kuantitatif protein menggunakan cara Kjeldahl

d. Analisis kuantitatif karbohidrat menggunakan metoda Luff Schrool

12. Penentuan gugus fungsi yang terdapat pada bentonit dan arang aktif yang telah diaktivasi (pasca kontak dengan susu kedelai) menggunakan metoda pellet KBr dengan alat FTIR-8400 SHIMADZU.