

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret sampai Mei 2015 di Laboratorium Riset Jurusan Pendidikan Kimia Universitas Pendidikan Indonesia. Pengujian dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia Universitas Pendidikan Indonesia.

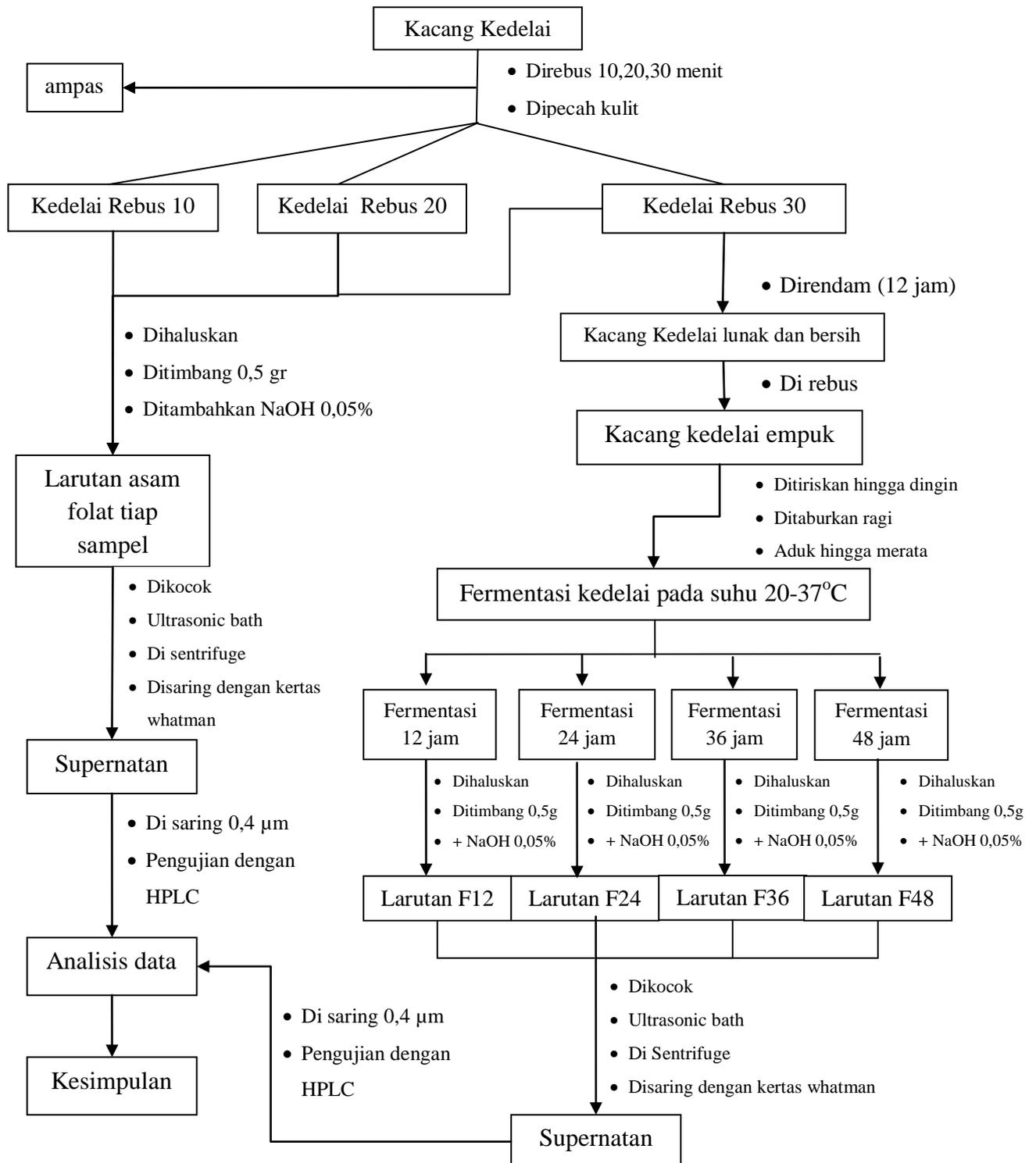
3.2 Desain Penelitian

Tahapan kegiatan dalam penelitian ini meliputi:

1. Tahap preparasi yaitu pembuatan Tempe
2. Tahap analisis kandungan asam folat

Analisis dilakukan menggunakan HPLC dengan tujuan untuk mengetahui senyawa asam folat pada kedelai dan fermentasi tempe.

Secara keseluruhan tahapan penelitian digambarkan pada bagan alir penelitian di bawah ini.



Gambar 3.2. Bagan Alir Penelitian

Fanny S. Permadi, 2015

PENGARUH KONDISI PENGOLAHAN TERHADAP KANDUNGAN ASAM FOLAT PADA KACANG KEDELAI (*Glycine Max L Meriil*) SEBAGAI BAHAN PANGAN FUNGSIONAL

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Peralatan yang digunakan meliputi *Centrifuge* tipe H-103 N Kokusan, neraca analitis, peralatan filtrasi vakum, membrane cellulose nitrat dan peralatan gelas. Untuk keperluan analisis digunakan HPLC.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kacang Kedelai putih yang di beli di pasar, Ragi tempe, NaOH 0,05% M, Natrium asetat (CH_3COONa) p.a, asam asetat (CH_3COOH) 99%, Aseton Nitril, aquabides dan aquades.

3.4 Langkah Kerja

3.4.1 Tahap Preparasi

Tahap ini meliputi pembuatan tempe dari kacang kedelai putih yang direbus dan difermentasi dengan variasi waktu.

3.4.1.1 Pembuatan Tempe

Kacang kedelai sebanyak 100 gr ditambahkan 200 ml air, dipanaskan selama 5 menit hingga cukup lunak, kemudian rendam kacang kedelai dalam 200 ml air selama kurang lebih 12-18 jam, hingga volume dan ukuran kacang kedelai menjadi 2 kali dari ukuran semula. Setelah direndam kacang kedelai yang lunak kemudian di lepas kulitnya dan di cuci hingga bersih tanpa ada kulit yang tersisa. Rebus kacang kedelai pada variasi waktu perebusan 10, 20 dan 30 menit hingga kedelai lunak. Tiriskan kacang kedelai tersebut pada tampah dan dinginkan menggunakan kipas sambil di aduk agar kedelai dingin dengan merata. Taburkan ragi sebanyak 0,5 gr secara merata dan kemudian di aduk, kemudian masukan kedalam wadah plastik dan di beri sedikit lubang udara, untuk mempermudah panas dan uap air yang keluar pada saat proses fermentasi. Fermentasi membutuhkan waktu selama 48 jam dalam suhu kamar.

3.4.1.2 Pembuatan larutan standar

Sebanyak 0,5 mg folavit (supplement asam folat) dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge dan ditambahkan 10 mL NaOH 0,05% M dikocok selama 1 menit hingga larut, kemudian didiamkan pada ultrasonic bath selama 30 menit hingga homogen dan setelah itu disentrifugasi pada 3500 rpm selama 1 jam Hasilnya di saring dengan kertas whattman untuk menyaring padatan, kemudian filtrat yang diperoleh disimpan untuk dianalisis dengan HPLC.

3.4.1.3 Pembuatan sampel

Sebanyak 0,5 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge dan ditambahkan 10 mL NaOH 0,05% M dikocok selama 1 menit hingga larut, kemudian didiamkan pada ultrasonic bath selama 30 menit hingga larutan homogen dan setelah itu disentrifugasi pada 3500 rpm selama 1 jam Hasilnya di saring dengan kertas whattman untuk menyaring padatan dan membrane cellulose untuk menghilangkan koloid, kemudian filtrat yang diperoleh disimpan di dalam freezer (menghentikan proses fermentasi) untuk dianalisis dengan HPLC.

3.4.2 Tahap Analisis

Tahap analisis dilakukan dengan menggunakan HPLC untuk mengetahui asam folat yang terdapat pada kedelai dan fermentasi tempe. Data yang diperoleh dari pengukuran berupa kromatogram yang menunjukkan waktu retensi dan puncak yang menunjukkan asam folat.

Tabel 3.4.2 Kondisi HPLC

Kolom	Hitachi column oven L-7100
Suhu Kolom	30°C
Fasa Gerak	Buffer asetat pH 4,1 dan acetonitril dengan perbandingan volume 95:5
Laju Alir	1.0 mL/min
Volume Injeksi	10µL

Fanny S. Permadi, 2015

PENGARUH KONDISI PENGOLAHAN TERHADAP KANDUNGAN ASAM FOLAT PADA KACANG KEDELAI (*Glycine Max L Meriil*) SEBAGAI BAHAN PANGAN FUNGSIONAL

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

UV	Absorbansi 254 nm
----	-------------------