

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian modifikasi talas dengan metode ikatan silang menggunakan STPP dilakukan selama kurang lebih 4 bulan pada Bulan Maret sampai dengan Bulan Juni 2019. Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Makanan dan Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

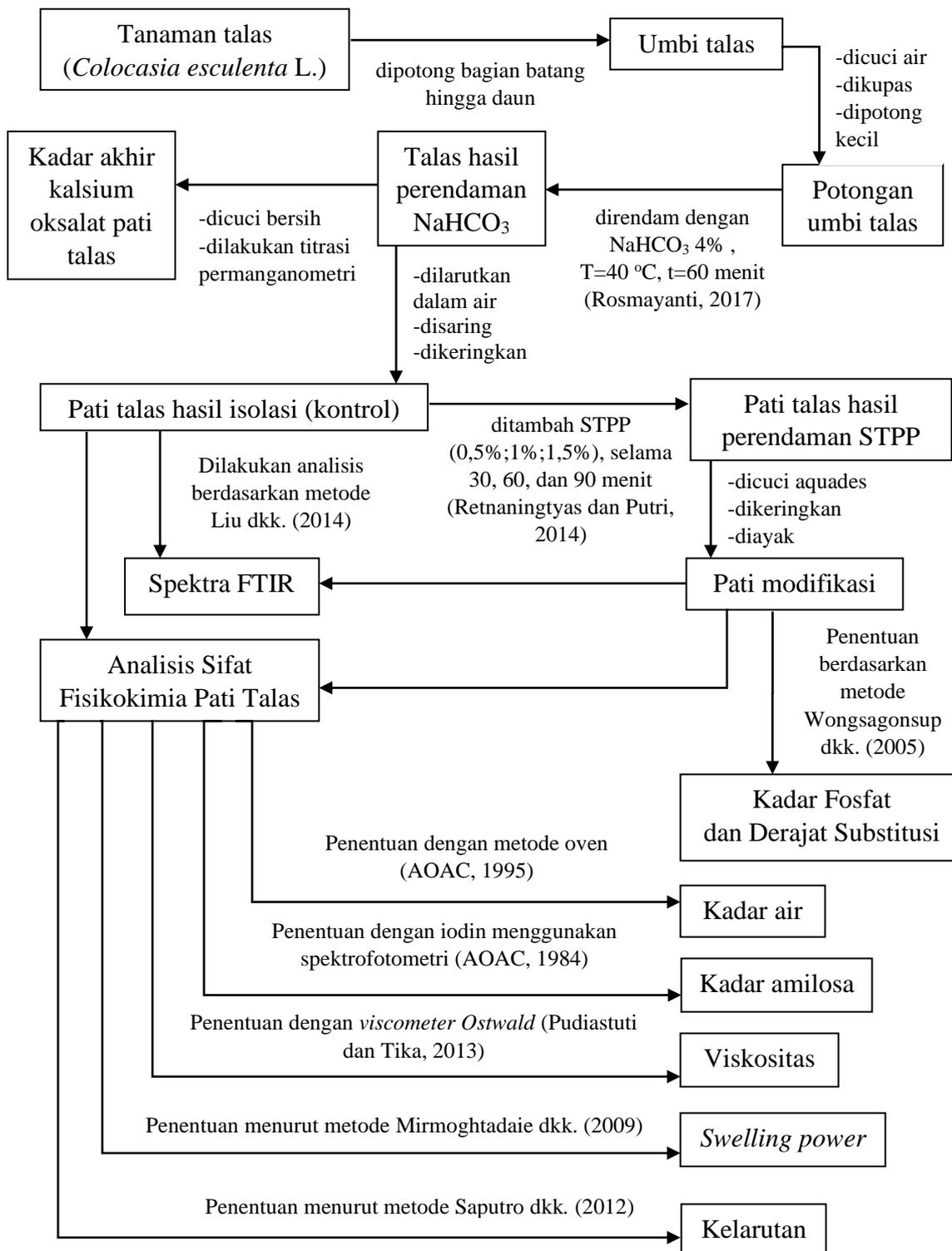
3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pisau, baskom, pemanas listrik, statif, klem, spatula, batang pengaduk, botol semprot, oven listrik, labu erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, neraca analitik, timbangan bahan, ayakan, corong kaca, tang krus, botol timbang, botol vial, desikator, pipet tetes, pipet ukur, buret, cawan krus, cawan penguapan, tabung sentrifus, sentrifugator, termometer, piknometer, saringan kain *cotton*, *blender*, *stirrer*, *magnetic stirrer*, *shaker*, *ball-pipette*, *furnace*, *waterbath*, *viscometer Ostwald*, *homogenizer*, *Fourier Transform Infrared* (FTIR), spektrofotometer UV Vis.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain umbi talas, natrium bikarbonat (NaHCO_3), aquades, natrium tripolifosfat ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, *food grade*), natrium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), asam asetat (CH_3COOH), larutan iodin (I_2), natrium sulfat (Na_2SO_4), kalium iodida (KI), asam sulfat (H_2SO_4), kalsium klorida (CaCl_2), kalium permanganat (KMnO_4), natrium dihidrogen fosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), vanadat molibdat, pati kentang, indikator metil merah, aluminium foil, kertas saring.

3.3 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.7. Bagan Alir Penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dengan melalui tiga tahap, yaitu pengolahan pati talas, modifikasi pati talas, serta karakterisasi dan analisis sifat fisikokimia pati talas. Pada tahap pengolahan pati talas, dilakukan pengurangan kadar kalsium oksalat yang diikuti dengan isolasi pati talas dari umbi talas. Tahap selanjutnya yaitu modifikasi pati talas dengan metode ikatan silang menggunakan natrium tripolifosfat. Kemudian dilakukan karakterisasi dan analisis sifat fisikokimia pati talas termodifikasi ikatan silang menggunakan natrium tripolifosfat untuk selanjutnya dibandingkan dengan pati talas alami.

3.4.1 Pengolahan Pati Talas

Umbi talas yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari perkebunan di daerah Pandeglang, Banten. Talas yang telah diambil bagian umbinya dan dipisahkan dari batang dan daunnya diolah dengan melakukan pengurangan kadar kalsium oksalat pada umbi talas menggunakan teknik perendaman. Umbi talas yang telah berkurang kadar kalsium oksalatnya kemudian diisolasi untuk mendapatkan pati talas alami sebagai kontrol. Isolasi pati talas dilakukan dengan serangkaian proses pelarutan dengan air, dekantasi, penyaringan, serta pengeringan.

3.4.1.1 Pengurangan Kadar Kalsium Oksalat

Pengurangan kalsium oksalat dilakukan menggunakan teknik perendaman dengan larutan natrium bikarbonat pada kondisi optimum menurut Rosmayanti (2017), yaitu suhu perendaman 40 °C dan waktu perendaman 60 menit dengan konsentrasi natrium bikarbonat yang digunakan sebesar 4%. Penentuan kadar kalsium oksalat dilakukan dengan tiga tahap, yaitu *digestion*, pada tahap ini potongan talas yang telah direndam menggunakan larutan natrium bikarbonat dibilas menggunakan aquades, kemudian ditimbang sebanyak 2 gram, diblender hingga halus menggunakan aquades sebanyak 190 mL, ditambahkan 10 mL HCl 6 M, kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam hingga dihasilkan suatu suspensi.

Tahap kedua yaitu presipitasi senyawa kalsium oksalat dari sampel. Suspensi didinginkan dan diencerkan hingga 250 mL, kemudian disaring, filtrat diambil masing-masing sebanyak 125 mL, kemudian ditambahkan 4 tetes *methyl red indicator* dan dititrasi menggunakan larutan NH_4OH . Setelah di titrasi, larutan dipanaskan pada suhu $60\text{-}70^\circ\text{C}$ selama 30 menit, didinginkan, kemudian disaring hingga diperoleh filtrat.

Tahap ketiga yaitu titrasi, filtrat tersebut dipanaskan kembali pada suhu $60\text{-}70^\circ\text{C}$ selama 30 menit, ditambahkan 5% larutan CaCl_2 sebanyak 10 mL, dan disonikasi selama 5 menit. Campuran tersebut dipanaskan kembali pada suhu $60\text{-}70^\circ\text{C}$ selama 20 menit, kemudian didiamkan selama semalaman pada suhu 4°C . Larutan yang telah didiamkan semalaman, disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit untuk memperoleh residu dan supernatan. Residu yang dihasilkan ditambahkan 10 mL H_2SO_4 20%, diencerkan hingga 300 mL, kemudian diambil 125 mL ke dalam labu erlemeyer. Kemudian dipanaskan dan dititrasi menggunakan larutan standar KMnO_4 0,05 M hingga dicapai titik akhir titrasi (warna merah muda). Kadar oksalat dalam talas dapat diketahui dengan rumus sebagai berikut :

$$C = \frac{\left[\frac{T \times Vme \times DF \times 10^5}{ME \times mf} \right]}{As}$$

Keterangan:

T : Volume KMnO_4 (mL)

Vme : Volume – massa ekuivalen (1 cm^3 $0,05 \text{ KMnO}_4 \sim 0,00225$ gram oksalat anhidrat)

DF : Faktor dilusi VTA (2,4 dimana $VT = 300 \text{ mL}$)

As : Volume titrat (125 mL)

ME : Molar ekuivalen KMnO_4 dalam oksalat (5)

mf : Massa analit

C : mmol

(Rosmayanti, 2017)

3.4.1.2 Isolasi Pati Talas

Isolasi pati talas dilakukan dengan prinsip dekantasi campuran talas yang telah dihaluskan dengan air hingga didapat endapan pati. Umbi talas yang telah direndam menggunakan natrium bikarbonat pada kondisi optimum, diblender selama 5 menit hingga dihasilkan *pulp* talas, kemudian ditambahkan aquades sebanyak 5 kali volumenya, dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 5 menit. Selanjutnya larutan disaring menggunakan kain katun dua lapis, filtrat yang dihasilkan didekantasi selama 2 jam, bagian atas larutan hasil dekantasi dibuang, kemudian pada bagian residu ditambahkan aquades kembali dan dilakukan proses pengadukan serta dekantasi ulang. Residu yang diperoleh pada tahapan dekantasi kedua dikeringkan dalam oven suhu 60 °C hingga kering (Rosmayanti, 2017).

3.4.2 Modifikasi Pati Talas

Pati talas direndam dengan STPP pada konsentrasi 0,5%, 1,0%, dan 1,5% dengan lama perendaman 30 menit, 60 menit, dan 90 menit. Setelah perendaman, pati disaring dan dilakukan pencucian pada residu yang dihasilkan dengan aquades 100 mL sebanyak 3 kali. Pati hasil modifikasi kemudian dikeringkan pada suhu 50-60 °C selama 6 jam, selanjutnya diayak halus (Retnaningtyas dan Putri, 2014). **Tabel 3.2.** menunjukkan variasi perlakuan dengan penambahan konsentrasi STPP dan waktu perendaman:

Tabel 3.2.

Variasi Perlakuan Konsentrasi STPP dan Waktu Perendaman

Perlakuan	Konsentrasi STPP (%)	Waktu Perendaman (menit)
P0	0	0
P1	0,5	30
P2	0,5	60
P3	0,5	90
P4	1	30
P5	1	60
P6	1	90
P7	1,5	30
P8	1,5	60
P9	1,5	90

3.4.3 Karakterisasi Pati Talas Termodifikasi Ikatan Silang

Pada karakterisasi pati talas termodifikasi ikatan silang dilakukan analisis dengan menggunakan instrumentasi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan dilakukan analisis kadar fosfat serta derajat substitusi dari pati talas.

3.4.3.1 Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

Spektra FTIR dari pati modifikasi dianalisis dengan menggunakan spektrometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) pada rentang bilangan gelombang 4000 hingga 400 cm^{-1} . Sebelum dilakukan pengujian, sampel disimpan terlebih dahulu pada suhu 40 °C selama 48 jam untuk menghilangkan air yang terabsorpsi (Liu dkk., 2014).

3.4.3.2 Penentuan Kadar Fosfat dan Derajat Substitusi

Penentuan kadar fosfat dan derajat substitusi dilakukan berdasarkan metode Wongsagonsup dkk. (2005) dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis dan reagen vanadat-molibdat.

3.4.3.2.1 Penentuan Kadar Fosfat

Natrium sulfat sebanyak 1,5 g dilarutkan dengan 5 mL aquades dalam cawan. Setelah itu 2,5 g sampel pati yang terikat silang ditambahkan dan dilarutkan dalam larutan natrium sulfat tersebut. Campuran kemudian dipanaskan hingga kering dan tidak dihasilkan asap. Sampel kemudian dimasukkan dalam *furnace* dan dipanaskan pada suhu 550°C selama 12 jam untuk diabukan. Sampel yang sudah diabukan didinginkan pada suhu kamar. Selanjutnya, sampel dilarutkan dengan 2 mL larutan HCl 25% dalam 10 mL aquades. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam gelas kimia yang berisi 20 mL aquades. Ke dalam larutan tadi ditambahkan kembali aquades hingga volumenya mencapai 50 mL. Selanjutnya, campuran yang telah teraduk disaring menggunakan corong kaca dengan kertas saring Whatman. Filtrat yang dihasilkan kembali dilarutkan dengan aquades hingga mencapai 250 mL. Dari larutan tadi diambil 10 mL dan ditambahkan dengan 2 mL pereaksi vanadat-molibdat, lalu didiamkan pada suhu ruang selama ± 45 menit. Setelah itu sampel diamati absorbansinya dengan

menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm. Persentase fosfat dihitung dari kurva standar (Wongsagonsup dkk., 2005).

3.4.3.2.2 Preparasi Kurva Standar pada Penentuan Kadar Fosfat

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ digunakan sebagai standar dalam penelitian. Sebanyak 2,2275 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam aquades. Larutan ditetapkan menjadi 100 mL dengan aquades yang setara dengan 0,5% kadar fosfat, yang selanjutnya dibuat menjadi deret larutan standar. HCl (2 mL dari 25% b/v) ditambahkan ke dalam larutan dan volume ditetapkan menjadi 10 mL dengan aquades. Selanjutnya, 10 mL dari setiap deret larutan diambil dan ditambahkan 2 mL pereaksi vanadat-molibdat dan disimpan dalam suhu ruang selama 45 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 400 nm (Wongsagonsup dkk., 2005).

3.4.3.2.3 Penentuan Derajat Substitusi

Penentuan derajat substitusi pati talas dilakukan untuk mengetahui berapa banyak gugus fosfat yang tersubstitusi ke dalam pati talas yang telah dimodifikasi ikatan silang. Derajat substitusi pati talas ditentukan berdasarkan perhitungan menggunakan persen fosfat yang diuraikan dalam rumus berikut:

$$DS = \frac{162P}{3100 - 97P}$$

Keterangan:

- DS : Derajat substitusi
 P : Persen fosfat pati termodifikasi
 162 : Massa molar unit anhidrat-glukosa
 3100 : Hasil kali massa atom P dengan 100
 97 : Massa molar substituen gugus fosfat

(Wongsagonsup dkk., 2005)

3.4.4 Analisis Sifat Fisikokimia Pati Talas Termodifikasi

Analisis sifat fisikokimia yang dilakukan pada pati talas termodifikasi ikatan silang menggunakan STPP dengan berbagai variasi konsentrasi dan lama

perendaman meliputi analisis kadar air, kadar amilosa, viskositas, *swelling power*, dan kelarutan.

3.4.4.1 Kadar Air

Penentuan kadar air dilakukan dengan metode oven. Cawan krus kosong dikeringkan dalam oven lalu didinginkan di dalam desikator. Setelah itu cawan ditimbang sampai berat konstan. Dimasukkan sampel (sebanyak 1-5 gram) lalu ditimbang kembali cawan yang telah diketahui beratnya bersama sampel. Setelah ditimbang, cawan beserta isinya dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 100-105 °C selama 3 jam atau sampai beratnya konstan. Selanjutnya cawan beserta isinya didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Perhitungan kadar air dilakukan dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

m_0 : massa cawan kosong (g)

m_1 : massa cawan dan sampel awal (g)

m_2 : massa cawan dan sampel akhir (g)

(AOAC, 1995)

3.4.4.2 Kadar Amilosa

Larutan standar amilosa dibuat dengan mengambil 40 mg pati kentang murni dalam 100 mL labu takar dan ditambahkan 1 mL etanol 95% dan 9 mL NaOH 1N. Larutan dikocok dan dipanaskan dalam *waterbath* selama 10 menit kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL lainnya dan ditepatkan dengan aquades sampai tanda batas. Deret larutan standar dibuat dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 620 nm.

Pada pembuatan larutan sampel, sebanyak 100 mg sampel ditambah 1 mL etanol 95% dan 9 mL NaOH 1 N, kemudian dipanaskan selama 10 menit dalam *waterbath* hingga terjadi gelatinisasi pati kemudian didinginkan, campuran tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 mL dan tepatkan dengan aquades

sampai tanda batas. Sebanyak 5 mL dari larutan tersebut dipipet dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL lainnya dan ditambah 1 mL asam asetat 1 N, lalu ditambah 2 mL larutan iodin dan ditepatkan dengan aquades sampai tanda batas. Setelah didiamkan selama 20 menit, larutan tersebut diukur absorbansi dari intensitas warna biru yang terbentuk dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 620 nm. Kadar amilosa dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar amilosa (\%)} = \frac{C_{\text{sampel}} \times FP}{C_{\text{induk}}} \times 100\%$$

Keterangan:

C_{sampel} : konsentrasi larutan sampel

C_{induk} : konsentrasi larutan induk

FP : Faktor pengenceran

(AOAC, 1984)

3.4.4.3 Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan menggunakan *viscometer Ostwald*. Langkah pertama yaitu dengan pembuatan larutan sampel dengan konsentrasi 3%, kemudian diukur densitas larutan dengan menggunakan piknometer. Pengukuran dilanjutkan dengan memasukkan 10 mL larutan sampel ke dalam pipa Ostwald. Larutan kemudian disedot dengan *ball pipette* sampai melewati tanda batas atas pipa. Dihitung waktu yang diperlukan larutan untuk bergerak dari tanda batas atas hingga tepat pada tanda batas bawah. Viskositas larutan pati dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\mu_{\text{sampel}} = \left(\frac{t_{\text{sampel}} \times \rho_{\text{sampel}}}{t_{\text{air}} \times \rho_{\text{air}}} \right) \times \mu_{\text{air}}$$

Keterangan:

μ_{air} : viskositas air

μ_{sampel} : viskositas sampel

t_{air} : waktu yang diperlukan air bergerak dari batas atas ke batas bawah

t_{sampel} : waktu yang diperlukan sampel bergerak dari batas atas ke batas bawah

ρ_{air} : massa jenis air

ρ_{sampel} : massa jenis sampel

(Pudiastuti dan Tika, 2013)

3.4.4.4 Swelling Power

Karakterisasi *swelling power* dilakukan dengan melarutkan 0,1 gram pati termodifikasi dalam 10 mL aquades dan dipanaskan dalam penangas dengan temperatur 70°C selama 30 menit. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan supernatan dan pasta yang terbentuk. *Swelling power* dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{swelling power} = \frac{\text{massa pasta}}{\text{massa sampel kering}}$$

(Mirmoghtadaie dkk., 2009)

3.4.4.5 Kelarutan

Karakterisasi kelarutan dilakukan dengan melarutkan 0,1 gram pati termodifikasi dalam 10 mL aquades dan dipanaskan dalam penangas dengan temperatur 70°C selama 30 menit. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan supernatant dan pasta yang terbentuk. Kelarutan diambil sebanyak 10 mL lalu dikeringkan dalam oven dan dicatat berat endapan keringnya. Kelarutan dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{kelarutan (\%)} = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

(Saputro, dkk., 2012)