

III. BAHAN DAN METODOLOGI

A. BAHAN DAN ALAT

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tempe kacang kedelai dari produsen M (dengan perlakuan tercantum pada B.1.1.), akuades, aluminium foil, amil alkohol (Merck), kertas saring (Whatman No. 1), HNO_3 0,5 M (Merck), FeCl_3 (Merck), Amonium tiosianat (Merck), dan standar asam fitat (P5681 K_2 -fitat-Sigma).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu termometer, *refrigerator*, sentrifuse (Eppendorf Centrifuge 5810 R), *waterbath shaker*, *thermocouple* (tipe T), *thermorecorder* (OMEGA® R130), pipet tetes, erlenmeyer, pipet volumetrik, mikropipet (Eppendorf), gelas ukur, blender, *waterbath*, labu takar, spektrofotometer (spectronic 20D+), tabung reaksi, dan *vortex*.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui profil penetrasi panas tempe sedangkan penelitian utama dilakukan untuk mengukur pengaruh proses termal terhadap kandungan senyawa asam fitat pada tempe.

1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui profil penetrasi panas tempe. Penentuan profil penetrasi panas dimulai dengan tahap persiapan sampel tempe kemudian dilanjutkan dengan tahap penentuan profil penetrasi panas ke dalam sampel. Tahap persiapan sampel dilakukan untuk menyeragamkan sampel tempe yang akan dianalisis. Tahap penentuan profil penetrasi panas dilakukan untuk mengukur waktu yang diperlukan agar sampel yang telah dikemas dalam kantong aluminium foil benar-benar telah mencapai suhu yang diinginkan.

1.1. Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tempe kacang kedelai yang diperoleh dari produsen M yang beralamat di kawasan perumahan IPB Sindang Barang II. Untuk menjamin keseragaman sampel, maka tempe diberi perlakuan sebagai berikut: tempe yang digunakan merupakan tempe segar. Sampel tempe dipotong dengan pisau agar ukurannya menjadi lebih kecil kemudian ditambah air dengan perbandingan air : sampel = 1:1 (v/w). Sampel kemudian dihancurkan menggunakan blender lalu dikemas dengan kantong aluminium foil yang telah diberi kerangka aluminium setebal 1 cm di pinggir dalam kantong. Kerangka aluminium berfungsi untuk menjaga agar ketebalan kantong sampel seragam sehingga penetrasi panas ke dalam sampel seragam.

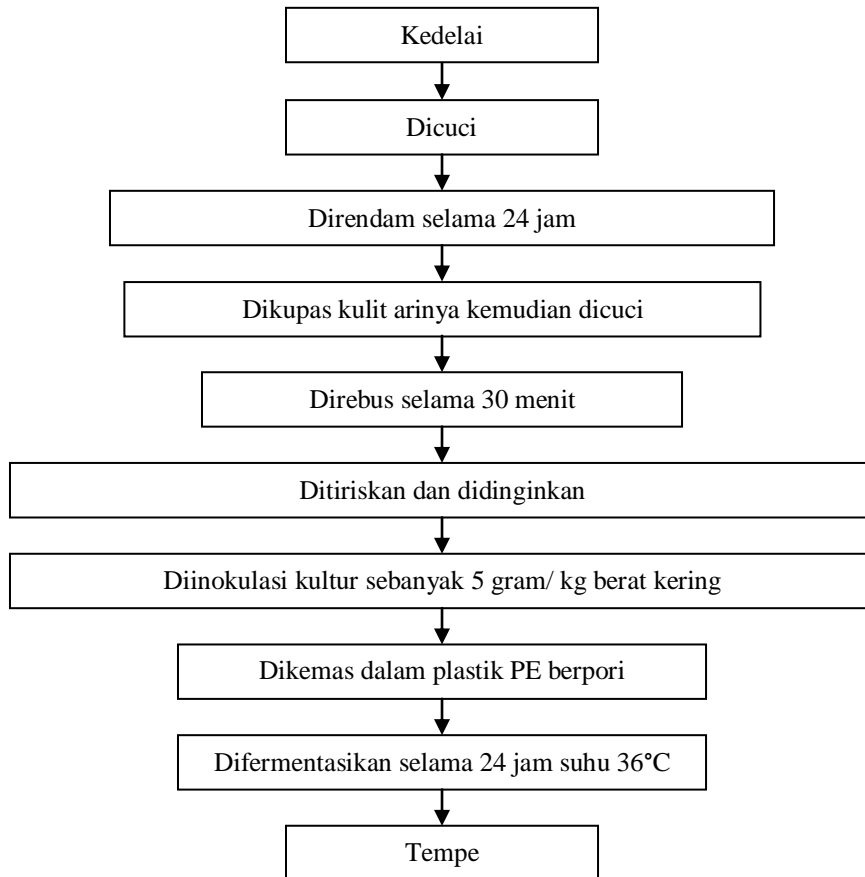
1.2. Penentuan Profil Penetrasi Panas Tempe

Penempatan probe dalam kemasan dilakukan secara berbeda-beda, tergantung bagian terdingin dari produk yang akan dipanaskan. Menurut Kusnandar dkk. (2006) letak titik terdingin dalam kemasan tergantung pada jenis perambatan panasnya, apakah secara konduksi atau konveksi. Produk yang berbentuk padat atau sangat sedikit mengandung air bebas, perambatan panasnya terjadi secara konduksi. Dalam proses pindah panas konduksi, panas akan merambat dari dinding kemasan ke pusat kemasan dari segala arah, dengan demikian pusat terdinginnya akan berada di pusat kemasan. Produk yang berbentuk cair, perambatan panasnya terjadi secara konveksi. Proses pindah panas secara konveksi dimulai dari pindah panas secara konduksi saat menembus dinding kemasan dan mengenai cairan di bagian dinding kemasan. Hal ini menyebabkan suhu cairan pada dinding kemasan meningkat dan densitasnya menurun sehingga cairan akan bergerak ke atas. Pada saat cairan ini menyentuh bagian atas di bagian *headspace*, cairan ini akan bergerak ke bagian pusat kemasan. Sementara itu cairan yang lebih dingin akan bergerak mengganti daerah di bagian dinding kemasan. Selama proses

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

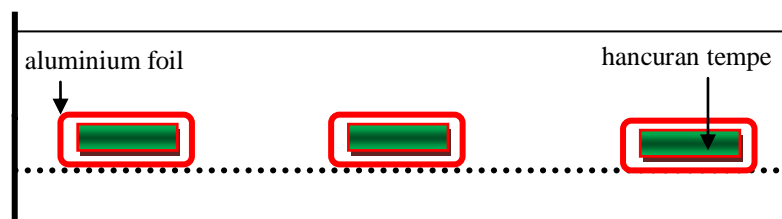
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

pindah panas ini, suhu cairan akan semakin seragam dan menyebabkan *driving force* akan semakin kecil, sehingga kecepatan pergerakan fluida akan semakin menurun. Titik terdingin untuk produk pangan berberntuk cair yang mengalami pindah panas secara konveksi akan berada di titik tengah di 1/3 ketinggian kemasan bagian bawah.



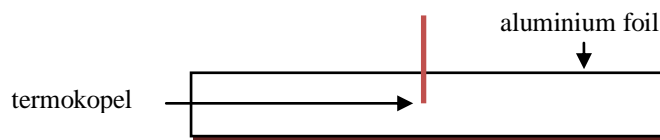
Gambar 5. Bagan alir proses pembuatan tempe yang digunakan sebagai sampel penelitian

Sampel tempe pada penelitian ini berbentuk semi padat sehingga perambatan panas terjadi secara konduksi dan konveksi. Karena kandungan padatan dalam sampel tinggi, maka perambatan panas dalam sampel terutama terjadi secara konduksi. Hal ini menyebabkan titik terdingin sampel berada di tengah-tengah kemasan sehingga sensor *thermocouple* diletakkan di bagian tengah kantung sampel. Sensor *thermocouple* juga diletakkan pada *waterbath* untuk mengukur suhu dalam *waterbath*. Sensor *thermocouple* dihubungkan dengan *thermorecorder* sehingga suhu sampel tiap menit bisa diketahui. Sampel dipanaskan pada suhu 90, 80, dan 70 °C sampai suhu sampel dan dalam *waterbath* sama. Suhu sampel yang diperoleh dihubungkan dengan suhu dalam *waterbath* untuk memperoleh waktu penetrasi panas sampel.

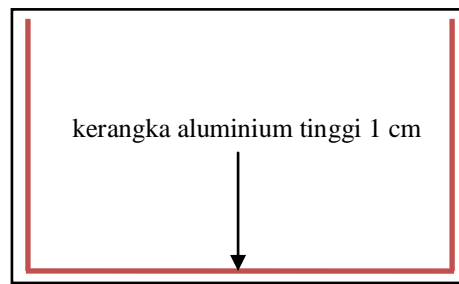


Gambar 6. Pemanasan sampel tempe

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Gambar 7. Posisi termokopel



Gambar 8. Posisi rangka aluminium pada kemasan sampel

2. Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan untuk mengukur pengaruh proses termal terhadap kandungan asam fitat pada tempe. Penentuan profil kinetika penurunan kandungan asam fitat pada tempe terdiri dari beberapa tahap, yaitu tahap persiapan sampel tempe, tahap pemanasan sampel tempe, tahap analisis asam fitat, dan tahap penentuan profil kinetika asam fitat. Tahap persiapan sampel dilakukan untuk menyeragamkan sampel tempe yang akan dianalisis. Tahap pemanasan sampel dilakukan untuk memberikan perlakuan termal terhadap sampel. Tahap analisis asam fitat dilakukan untuk mengukur kadar asam fitat dalam sampel setelah perlakuan pemanasan. Tahap penentuan profil kinetika asam fitat dilakukan untuk menentukan profil kinetika penurunan kandungan asam fitat pada tempe berdasarkan data yang diperoleh dari tahap analisis asam fitat.

2.1. Persiapan Sampel

Di bab B.1.1.

2.2. Pemanasan Sampel

Aluminium foil yang berisi sampel tempe dimasukkan ke dalam *waterbath* yang diatur pada suhu pemanasan 90, 80, dan 70°C selama 0, 25, 50, 75, dan 100 menit. Waktu pemanasan sampel dihitung setelah sampel mencapai suhu yang diinginkan dengan berdasar kepada data penetrasi panas sampel yang diperoleh pada penelitian pendahuluan.

2.3. Analisis Kandungan Asam Fitat (Davies dan Reid, 1979)

Pereaksi

Larutan HNO_3 0,5 M, larutan FeCl_3 (mengandung 50 mg Fe per ml) dalam larutan HNO_3 0,5 M, larutan amonium tiosianat 100 g/ liter, amil alkohol, larutan standar Na-fitat 0,2 mM dalam HNO_3 0,5 M.

Penetapan Kadar Asam Fitat

Satu gram sampel disuspensikan dalam 50 ml larutan HNO_3 0,5 M. Suspensi diaduk menggunakan *magnetic stirrer / shaker* selama 2 jam pada suhu ruang. 0,5 ml filtrat kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,9 ml HNO_3 0,5 M dan 1 ml FeCl_3 . Tabung reaksi ditutup kemudian direndam dalam air mendidih selama 20 menit. Setelah didinginkan ditambahkan 1 ml amil alkohol dan 1 ml larutan ammonium tiosianat. Selanjutnya disentrifus dalam waktu singkat dan kecepatan rendah. Absorbansi larutan amil alkohol diukur dengan spektrofotometer pada panjang

gelombang 465 nm dengan blanko amil alkohol, 15 menit setelah penambahan ammonium tiosianat. Hasil yang diperoleh dibandingkan pada kurva standar Na-fitat 0,04 mM.

Standar Kadar Asam Fitat

Standar asam fitat (P5681 K₂-fitat-Sigma) ditimbang sebanyak 0,8 gram dan dilarutkan dalam 50 ml HNO₃ 0,5 M. 0,5 ml standar kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,9 ml HNO₃ 0,5 M dan 1 ml FeCl₃. Tabung reaksi ditutup kemudian direndam dalam air mendidih selama 20 menit. Setelah didinginkan ditambah 5 ml amil alkohol dan 1 ml larutan ammonium tiosianat. Selanjutnya disentrifus dalam waktu singkat dan kecepatan rendah. Absorbansi larutan amil alkohol diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 465 nm dengan blanko amil alkohol, 15 menit setelah penambahan ammonium tiosianat. Nilai absorbansi pada pengukuran kurva standar kemudian diplot pada kertas grafik dengan sumbu x konsentrasi standar fitat dan sumbu y nilai absorbansi untuk memperoleh kurva standar asam fitat.

Cara Perhitungan

Persamaan kurva standar : $y = 0.212x + 0.693$
 Absorbansi sampel : 0,717
 Standar asam fitat : $x = (0,717 - 0.693) / 0,212 = 0,1$ ml standar fitat
 Kadar asam fitat : $0,1 \times 0.032$ mg = 0,0032 mg asam fitat

2.4. Penentuan Kinetika Penurunan Asam Fitat pada Tempe

Metode yang digunakan dalam penentuan kinetika penurunan asam fitat pada tempe adalah metode Arrhenius ($k = k_0 \cdot e^{-E_a/RT}$). Reaksi kehilangan mutu pada makanan dapat dijelaskan oleh ordo nol dan satu, dan hanya sedikit yang dijelaskan oleh ordo lain (Labuza, 1982). Perhitungan kinetika dilakukan dengan memplotkan rata-rata hasil analisis asam fitat terhadap waktu pemanasan per suhu pemanasan. Plot nilai di atas dilakukan pada ordo nol dan ordo satu, dan ordo dua. Pada ordo nol, plot dilakukan antara rata-rata hasil analisis asam fitat (sumbu y) dengan waktu pemanasan (sumbu x); ordo satu plot dilakukan antara log hasil analisis asam fitat (sumbu y) dengan waktu pemanasan (sumbu x), sedangkan ordo dua plot dilakukan antara 1/hasil analisis asam fitat (sumbu y) dengan waktu pemanasan (sumbu x).

Hasil plot di atas akan memberikan nilai k, intersep dan koefisien korelasi masing-masing suhu pemanasan. Untuk melihat dan menentukan ordo reaksi kerusakan asam fitat yang dipanaskan dapat ditentukan dari nilai koefisien korelasi yang lebih besar (r^2).

Ketika jenis ordo reaksi kerusakan asam fitat telah didapatkan, maka langkah selanjutnya dibuat plot Arrhenius, dengan sumbu x menyatakan nilai $1/T$ (K^{-1}) dan sumbu y menyatakan nilai $\ln k$ pada masing-masing suhu pemanasan yang digunakan. Hasil plot tersebut akan memberikan nilai k dan intersep. Nilai k merupakan gradien dari regresi linier yang didapat dari ketiga suhu pemanasan.

$$k = k_0 \cdot e^{-E_a/RT}$$

Dimana : k = konstanta penurunan mutu
 k_0 = konstanta (tidak tergantung suhu)
 E_a = Energi aktivasi
 T = suhu mutlak (K)
 R = konstanta Planck (1.987 kal/mol K)

Persamaan garis linear hasil *plotting* akan mengikuti persamaan Arrhenius, dapat dilihat di bawah ini :

$$\ln k = \ln k_0 + (-E_a/R) \cdot 1/T$$

E_a/R = gradien dari plot grafik Arrhenius