

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap berkesinambungan agar tujuan dari penelitian ini dapat tercapai. Penelitian dilakukan di laboratorium yang terdiri dari 3 tahap :

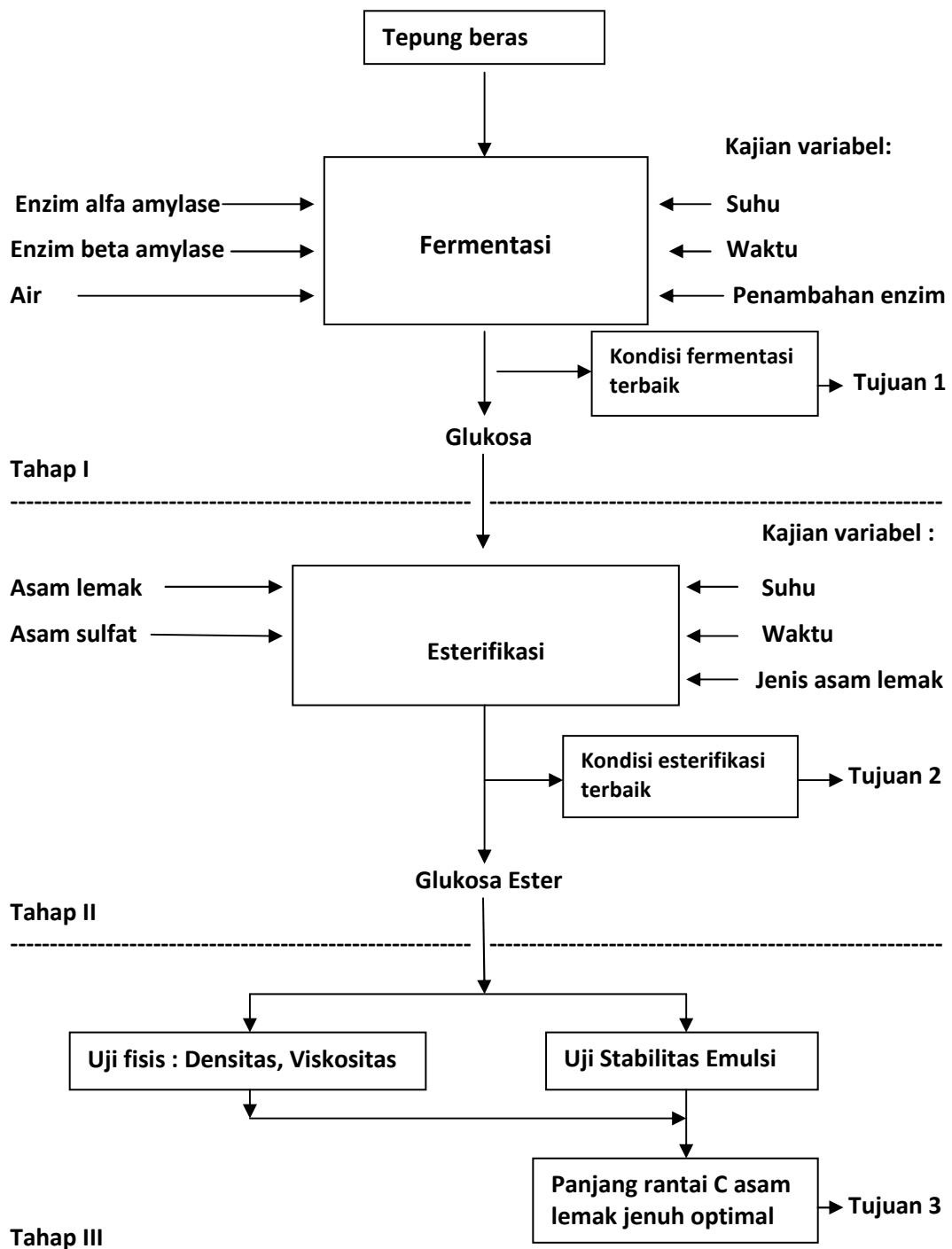
Tahap I : Fermentasi tepung beras dengan menggunakan enzim alfa dan beta amilase. Glukosa cair yang dihasilkan dianalisis densitas, viskositas dan kadarnya.

Tahap II : Esterifikasi glukosa cair pada kadar tertinggi dengan asam lemak jenuh (*fatty acid*) menjadi glukosa ester dengan menggunakan katalisator asam sulfat. Asam lemak jenuh yang digunakan mempunyai panjang rantai atom C yang berbeda.

Tahap III : Uji hasil glukosa ester meliputi : uji fisis yaitu densitas, viskositas, dan uji stabilitas emulsi.

Tahap I, II dan III pengolahan data dengan analisis diskriptif.

Rancangan percobaan ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Rancangan Percobaan

3.2 Rancangan Variabel

Tahap I : Fermentasi tepung beras menjadi glukosa

Variabel tetap : kecepatan pengadukan 400 rpm, penambahan tepung beras 125 g/ 1 liter larutan, tekanan 1 atm.

Variabel berubah : suhu 60 – 80°C, waktu 16 – 20 jam, penambahan enzim 0,5 – 2,5 mL

Tahap II : Esterifikasi

Variabel tetap : tekanan 1 atm, kecepatan pengadukan 400 rpm, ratio : massa glukosa : massa asam lemak jenuh = 1 : 1, katalisator : asam sulfat 98%, pemakaian katalisator 5% dari massa glukosa, perbandingan massa alkohol : asam lemak jenuh = 1:1.

Variabel berubah : suhu 65 – 85°C, waktu 60 - 100 menit.

3.3 Bahan Penelitian

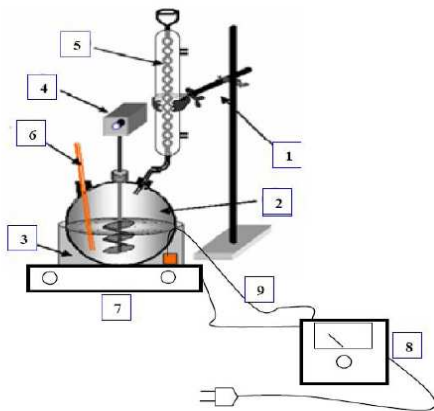
Semua bahan kimia yang dipakai dalam penelitian ini diperoleh dari pabrik pembuatannya tanpa pemurnian lebih lanjut. Bahan-bahan yang digunakan tersebut terdaftar pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Daftar bahan penelitian.

Kegunaan	Bahan	Kemurnian (%)	Sumber
Bahan baku	Beras		
Bahan	<i>Aquades</i>		
	Enzim α amilase		
	Enzim β amilase		
	Enzim Isomerase		
Bahan pelarut	Asam stearat		Merck
	Asam palmitat		Merck
	Asam laurat		Merck
Katalis esterifikasi	Alkohol		Merck
Vico	H ₂ SO ₄	98	Merck
Minyak kelapa			
Minyak goreng			

3.4 Alat Penelitian

Peralatan pada proses esterifikasi adalah labu leher tiga yang dilengkapi dengan pendingin balik, pemanas, pengatur suhu dan pengatur kecepatan pengadukan yang dapat diatur secara otomatis.



Keterangan

1. Statif
2. Labu leher tiga
3. Penangas
4. Pengaduk motor
5. Pendingin balik
6. Termometer
7. Pemanas
8. Pengendali suhu
9. Termokopel

Gambar 3.2 Rangkaian alat penelitian

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Bahan baku beras digiling kemudian difermentasi dengan enzim alfa dan beta amylase menghasilkan glukosa. Glukosa diesterifikasi reaksi menggunakan asam lemak jenuh dengan panjang rantai carbon yang berbeda (asam stearat, asam palmitat dan asam) laurat menghasilkan produk emulsifier jenis glukosa ester.

3.5.1 Pembuatan Glukosa dari Tepung Beras

Proses pembuatan glukosa menggunakan bahan baku : tepung beras, air, enzim alfa dan beta amilase, proses ini dilakukan 15 run. Rancangan percobaan pembuatan glukosa dilihat pada Tabel 3.2. Hasil : Glukosa dengan kadar tertinggi pada suhu (T) optimum, waktu (t) optimum, dan pemakaian enzim (m) optimum digunakan sebagai bahan baku pembuatan glukosa ester.

Tabel 3.2 Rancangan percobaan pembuatan glukosa.

Run	Variabel			Analisa Hasil	
	Suhu (°C)	Waktu (jam)	Pemakaian Enzim (mL)	Kadar glukosa (%)	Fermentasi terbaik
1	60,0	16,0	0,5	v	
2	65,0	16,0	0,5	v	suhu
3	70,0	16,0	0,5	v	optimum
4	75,0	16,0	0,5	v	(T_{opt})
5	80,0	16,0	0,5	v	
6	T_{opt}	16,0	0,5	v	
7	T_{opt}	17,0	0,5	v	waktu
8	T_{opt}	18,0	0,5	v	optimum
9	T_{opt}	19,0	0,5	v	(t_{opt})
10	T_{opt}	20,0	0,5	v	
11	T_{opt}	t_{opt}	0,5	v	pemakaian
12	T_{opt}	t_{opt}	1,0	v	enzim
13	T_{opt}	t_{opt}	1,5	v	optimum (m
14	T_{opt}	t_{opt}	2,0	v	opt)
15	T_{opt}	t_{opt}	2,5	v	
16	T_{opt}	t_{opt}	m_{opt}	v	Hasil terbaik

Kondisi tetap :

Tekanan = 1 atm

Kecepatan pengaduk = 400 rpm

Ratio : 125 gram tepung beras per 1 liter larutan

Percobaan (*run*) 1 tepung beras dilarutkan dalam air dengan ratio 125 gram tepung beras per 1 liter larutan dalam fermentor/reaktor fermentasi. Fermentasi dilakukan pada suhu 60°C selama 16 jam dengan penambahan enzim alfa amilase dan beta amilase 0,5 ml. Glukosa yang dihasilkan dianalisa kadarnya, fermentasi diulangi pada *run* selanjutnya (*run* 2 – 5) pada suhu yang berbeda yaitu 65°C, 70°C, 75°C, 80°C tetapi pada waktu tetap 16 jam dan penambahan enzim tetap 0,5 ml, sampai didapatkan kadar glukosa tertinggi pada suhu optimum (T_{opt}).

Percobaan (*run*) 6 tepung beras dilarutkan dalam air dengan ratio 125 gram tepung beras per 1 liter larutan dalam fermentor/reaktor fermentasi. Fermentasi dilakukan pada suhu optimum(T_{opt}) selama 16 jam dengan penambahan enzim alfa dan beta amilase 0,5 ml. Glukosa yang dihasilkan dianalisa kadarnya, fermentasi diulangi pada *run* selanjutnya (*run* 7 – 10) pada

suhu optimum, waktu berbeda yaitu 17 jam, 18 jam, 19 jam, 20 jam dan penambahan enzim tetap 0,5 ml, sampai didapatkan kadar glukosa tertinggi pada suhu optimum dan waktu optimum.

Percobaan (*run*) 11 tepung beras dilarutkan dalam air dengan ratio 125 gram tepung beras per 1 liter larutan dalam fermentor/reaktor fermentasi. Fermentasi dilakukan pada suhu dan waktu optimum dengan penambahan enzim alfa dan beta amilase 0,5 ml. Glukosa yang dihasilkan dianalisa kadarnya, fermentasi diulangi pada *run* selanjutnya (*run* 12 – 15) pada suhu dan waktu optimum dengan penambahan enzim berbeda yaitu 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml; 2,5 ml sampai didapatkan kadar glukosa tertinggi pada suhu, wakt dan penambahan enzim optimum.

Percobaan (*run*) 16 tepung beras dilarutkan dalam air dengan ratio 125 gram tepung beras per 1 liter larutan dalam fermentor/reaktor fermentasi. Fermentasi dilakukan pada suhu, waktu optimum, penambahan enzim alfa dan beta amilase optimum, sehingga didapatkan glukosa dengan kadar terbaik.

3.5.2 Pembuatan Glukosa Ester

Proses pembuatan glukosa ester menggunakan bahan baku : glukosa hasil fermentasi pada kondisi terbaik, asam lemak jenuh dengan panjang rantai C yang berbeda (asam stearat, asam palmitat, asam laurat), etanol sebagai pelarut asam lemak jenuh.

Proses ini dilakukan 10 run untuk mendapatkan glukosa mono ester terbaik untuk masing-masing asam lemak jenuh yang digunakan, dengan variabel berubah : suhu, waktu, jenis asam lemak jenuh dan variabel tetap : tekanan, kecepatan pengadukan, perbandingan massa glukosa : asam lemak, perbandingan massa etanol dan asam lemak, jumlah katalisator asam sulfat yang digunakan. Rancangan percobaan pembuatan glukosa ester dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Rancangan percobaan pembuatan glukosa ester

Run	Variabel		Asam lemak	Analisa hasil	
	Suhu (°C)	Waktu (menit)		Yield glukosa ester(% w/w)	Esterifikasi terbaik
1	65	60	Asam lemak jenuh	v	
2	70	60	Asam lemak jenuh	v	suhu
3	75	60	Asam lemak jenuh	v	optimum
4	80	60	Asam lemak jenuh	v	(80°C)
5	85	60	Asam lemak jenuh	v	
6	80	60	Asam lemak jenuh	v	
7	80	70	Asam lemak jenuh	v	waktu
8	80	80	Asam lemak jenuh	v	optimum
9	80	90	Asam lemak jenuh	v	(90 menit)
10	80	100	Asam lemak jenuh	v	
11	80	90	Asam lemak jenuh	v	Hasil terbaik

Kondisi tetap :

Tekanan = 1 atm

Kecepatan pengaduk = 400 rpm

Ratio : massa glukosa : massa asam lemak jenuh = 1 : 1

Katalisator : asam sulfat 98 %, pemakaian 5 % dari massa glukosa

Perbandingan massa etanol : asam lemak jenuh = 1 : 1

Percobaan (*run*) 1 asam lemak jenuh jenis tertentu (misal : asam stearat) dilarutkan dengan etanol, dimasukkan kedalam labu distilasi bersama glukosa dan asam sulfat. Esterifikasi pada suhu 65°C dan waktu 60 menit, menghasilkan glukosa ester yang dianalisa kadarnya. Esterifikasi diulangi pada run selanjutnya (*run* 2 -5) pada suhu (T) yang berbeda yaitu 70°C, 75°C, 80°C, 85°C, waktu tetap 60 menit, dengan jenis asam lemak jenuh tetap (asam stearat) sampai didapat yield glukosa ester tertinggi pada suhu optimum (T_{opt}).

Percobaan (*run*) 6 asam lemak jenuh yang sama (asam stearat) dilarutkan dengan etanol, dimasukkan kedalam labu distilasi bersama glukosa dan asam sulfat. Esterifikasi pada suhu optimum (T_{opt}) dan waktu 60 menit menghasilkan glukosa ester yang dianalisa kadarnya. Esterifikasi diulangi pada run selanjutnya (*run* 7 -10) pada suhu optimum (T_{opt}), waktu (t) berubah yaitu 60, 70, 80, 90, 100 menit dengan jenis asam lemak jenuh tetap (asam stearat) sampai didapat kadar glukosa ester tertinggi pada suhu optimum (T_{opt}) dan waktu optimum (t_{opt})

Percobaan (*run*) 11 asam lemak jenuh yang sama (asam stearat) dilarutkan dengan etanol, dimasukkan kedalam labu distilasi bersama glukosa dan asam

sulfat. Esterifikasi pada suhu optimum (T_{opt}) dan waktu optimum (t_{opt}), sehingga didapat glukosa ester dengan kadar terbaik.

Percobaan (*run*) 1-11 diulang dengan cara yang sama menggunakan asam lemak jenuh berbeda, yaitu asam palmitat dan asam laurat.

3.5.3 Uji Stabilitas Emulsifier Glukosa Ester

Uji hasil glukosa ester meliputi : uji fisis dan stabilitas emulsi dari glukosa ester hasil penelitian pada kondisi esterifikasi terbaik berdasarkan panjang rantai ester asam lemak jenuh yang digunakan. Rancangan pengujian seperti ditunjukkan pada Tabel 3.4.

Tabel 3.4 Rancangan pengujian glukosa ester hasil penelitian.

Run	Bahan Glukosa Ester	Uji fisis		Uji Stabilitas Emulsi
		Densitas	Viskositas	
1	Glukosa mono stearat terbaik	v	v	v
2	Glukosa mono palmitat terbaik	v	v	v
3	Glukosa mono laurat terbaik	v	v	v

3.5.4 Langkah Kerja

1 Uji blanko

Air dan minyak dicampur dengan volume yang sama, diaduk dengan kecepatan tertentu ditunggu beberapa waktu sampai terbentuk dua lapisan. Volume lapisan minyak dan volume lapisan air diukur.

2 Uji stabilitas produk emulsifier.

Air dan minyak dicampur dengan volume yang sama kemudian ditambahkan emulsifier jenis tertentu (glukosa mono stearat, glukosa mono palmitat, dan glukosa mono laurat) sebanyak 100 ppm, 500 ppm, 900 ppm dan 1300 ppm. Diaduk, ditunggu sehingga terbentuk tiga lapisan, yaitu lapisan atas (minyak), lapisan tengah (larutan teremulsi), lapisan bawah (air).

3. Uji stabilitas produk emulsifier untuk campuran air dan n-hexana.

3.6 Metoda Analisis.

Analisa glukosa hasil fermentasi meliputi : densitas, viskositas, kadar glukosa, seperti terlihat pada Tabel 3.5.

Tabel 3.5 Pengujian glukosa cair hasil fermentasi.

Run	Variabel			Analisa Hasil		
	Suhu (°C)	Waktu (jam)	Pemakaian Enzim (mL)	Kadar glukosa (% w/w)	Densitas (g/mL)	Viskositas (cp)
1	60,0	16,0	0,5	v	v	v
2	65,0	16,0	0,5	v	v	v
3	70,0	16,0	0,5	v	v	v
4	75,0	16,0	0,5	v	v	v
5	80,0	16,0	0,5	v	v	v
6	T _{opt}	16,0	0,5	v	v	v
7	T _{opt}	17,0	0,5	v	v	v
8	T _{opt}	19,0	0,5	v	v	v
9	T _{opt}	19,0	0,5	v	v	v
10	T _{opt}	20,0	0,5	v	v	v
11	T _{opt}	t _{opt}	0,5	v	v	v
12	T _{opt}	t _{opt}	1,0	v	v	v
13	T _{opt}	t _{opt}	1,5	v	v	v
14	T _{opt}	t _{opt}	2,0	v	v	v
15	T _{opt}	t _{opt}	2,5	v	v	v
16	T _{opt}	t _{opt}	m _{opt}	v	v	v

Pengujian glukosa ester yang dihasilkan meliputi : densitas, viskositas, dan stabilitas emulsi, seperti terlihat pada Tabel 3.6.

Tabel 3.6 Pengujian glukosa ester hasil penelitian.

Run	Variabel		Asam lemak	Uji fisis		Uji stabilitas Emulsi
	Suhu	Waktu		Densitas	Viskositas	
1	65	60	Asam lemak jenuh	v	v	v
2	70	60	Asam lemak jenuh	v	v	v
3	75	60	Asam lemak jenuh	v	v	v
4	80	60	Asam lemak jenuh	v	v	v
5	85	60	Asam lemak jenuh	v	v	v
6	T _{opt}	60	Asam lemak jenuh	v	v	v
7	T _{opt}	70	Asam lemak jenuh	v	v	v
8	T _{opt}	80	Asam lemak jenuh	v	v	v
9	T _{opt}	90	Asam lemak jenuh	v	v	v
10	T _{opt}	100	Asam lemak jenuh	v	v	v
11	T _{opt}	t _{opt}	Asam lemak jenuh	v	v	v

Asam lemak jenuh yang digunakan adalah asam stearat, asam palmitat, asam laurat.

3.7 Analisis Data Percobaan

Pengolahan data hasil penelitian pada tahap I, II, dan III menggunakan metode diskriptif. Penelitian pada tahap I untuk mengetahui kondisi fermentasi terbaik dari tepung beras menjadi glukosa, tahap II untuk mengetahui kondisi terbaik esterifikasi glukosa dengan berbagai asam lemak jenuh menjadi glukosa ester. Tahap III uji stabilitas emulsi dari glukosa ester terbaik hasil penelitian. asam lemak jenuh yang digunakan untuk penelitian.