

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2016 – April 2017 di Laboratorium Makromolekul dan Laboratorium Polimer, Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Kawasan Puspiptek, Tangerang serta Laboratorium Olympus Bio-Imaging Center Universitas Indonesia, Depok.

3.1. Materi

Bahan yang digunakan dalam pembuatan emulsi ganda W/O/W adalah aquademineral yang diperoleh dari Laboratorium NPPC Pusat Penelitian Kimia LIPI, gelatin (Brataco Chemical, Indonesia), NaCl (Merck, Jerman), minyak kedelai (Indofood, Indonesia), gum arabik (Merck, Jerman), isolat protein kedelai dengan tingkat kemurnian 92% (Cipta Kimia, Indonesia), *Span* 80 (Merck, Jerman) dan *Tween* 80 (Merck, Jerman). Bahan yang digunakan dalam pembuatan bumbu instan adalah bubuk bawang putih (Jay's, Indonesia), bubuk bawang Bombay (Jay's, Indonesia), parsley kering (Jay's, Indonesia), gula cair (Rosebrand, Indonesia), kaldu ayam bubuk (Jay's, Indonesia), bubuk lada putih (Koepoe-Koepoe, Indonesia), kecap (Bango, Indonesia). Bahan yang digunakan untuk pengujian adalah aquades dari Laboratorium Polimer Pusat Penelitian Kimia LIPI.

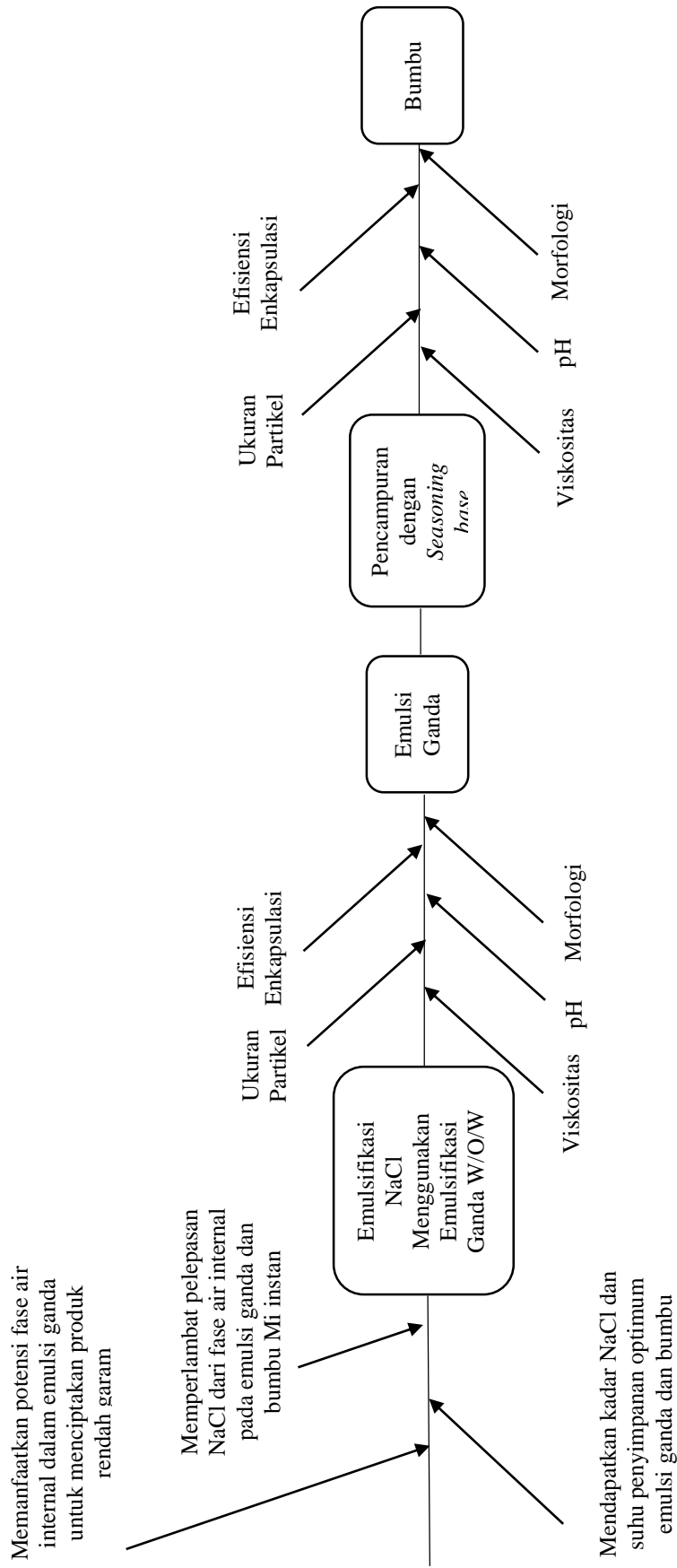
Alat yang digunakan meliputi *homogenizer* Yellow Line DI 25 (IKA, Jerman), *magnetic stirrer* C-MAG HS 7 (IKA, Jerman), *magnetic stirrer* (Thermoscientific, USA), *magnetic stirrer* HP-3000 (Lab Companion, USA), timbangan digital

SB24001 (Mettler Toledo, USA), timbangan analitik ABJ-NM/ABS-N (Kern, Jerman), *refrigerator* (Bosch, Jerman), oven XMT-152A (Autcomp, China), viskometer DV-E (Brookfield, USA), pH meter S20 SevenEasy™ (Mettler Toledo, USA), konduktometer CD-303 (EC Tester, China), *particle size analyzer* (PSA) LS 100Q (Beckman Coulter, USA), mikroskop optikal CKX41 (Olympus, Jepang), video kamera (Meiji Techno, Jepang), mikroskop optikal IX73 (Olympus, Jepang), video kamera DP73 (Olympus, Jepang), tabung reaksi, tutup ulir tabung reaksi, kaca preparat, kaca penutup (*cover slip*), botol plastik, labu ukur, gelas ukur, gelas beker, *stopwatch*, pengaduk, pipets tetes, spatula.

3.2. Metode

Metode penelitian terdiri dari rancangan percobaan, langkah penelitian, pengujian karakteristik dan analisis data yang diperoleh dari hasil percobaan.

Alur proses penelitian ini dinyatakan dalam bentuk diagram tulang ikan yang dapat dilihat pada Ilustrasi 5. Diagram ini bertujuan untuk menjelaskan rangkaian kegiatan penelitian dari awal hingga akhir secara singkat. Diagram tulang ikan dalam penelitian ini terdiri dari pemetaan latar belakang penelitian, metode dan parameter pengujian sampel emulsi ganda serta bumbu. Latar belakang berada pada cabang bagian kiri dan berfungsi untuk menjelaskan permasalahan yang perlu diselesaikan melalui penelitian ini sedangkan parameter pengujian berada pada cabang bagian kanan dan berfungsi sebagai standar untuk mengukur kualitas karakteristik fisikokimia emulsi ganda dan bumbu.



Ilustrasi 5. Diagram Tulang Ikan Emulsi Ganda dan Bumbu

3.2.1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini terdiri dari 2 faktor yaitu kadar NaCl dan suhu penyimpanan. Kadar NaCl terdiri dari 6 level yaitu 0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% dan 1% sedangkan suhu penyimpanan terdiri dari 3 level yaitu suhu rendah (4°C), suhu ruang (25°C) dan suhu tinggi (40°C). Percobaan ini dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok sampel emulsi ganda dan bumbu. Sampel diuji secara duplo.

3.2.2. Langkah Penelitian

Skema pembuatan emulsi ganda NaCl dapat dilihat pada Lampiran 1. Emulsi ganda dibuat melalui 2 tahapan yaitu mengemulsikan fase air internal (40%) ke dalam fase minyak (60%), dilanjutkan dengan mengemulsikan kembali W/O ke dalam fase air eksternal (W_2). Komposisi emulsi ganda W/O/W dapat dilihat pada Tabel 10. Fase air internal diperoleh dengan menghidrasi sodium klorida (NaCl) dalam aquademin selama 30 menit, lalu gelatin ditambahkan dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 25 menit pada suhu 65°C. Perhitungan NaCl yang dibutuhkan dalam emulsi ditunjukkan pada Lampiran 2. Fase minyak diperoleh dengan menambahkan emulsifier lipofilik ke dalam minyak kedelai lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 25 menit pada suhu 65°C. Fase air internal diemulsikan ke dalam fase minyak dan diperoleh W/O. W/O diemulsikan kembali ke dalam fase air eksternal hingga terbentuk W/O/W. Emulsi disimpan pada 3 suhu penyimpanan yang berbeda selama 3 minggu dan diuji karakteristik fisikokimia meliputi ukuran partikel, pH, viskositas, morfologi dan efisiensi enkapsulasi.

Tabel 10. Formula Emulsi Ganda W/O/W

Fase	Bahan	Perlakuan (% b/b)					
		T0	T1	T2	T3	T4	T5
W ₁	Aquademin	6,00	5,80	5,60	5,40	5,20	5,00
	Gelatin	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	NaCl	0,00	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00
O	Minyak kedelai	11,80	11,80	11,80	11,80	11,80	11,80
	<i>Span</i> 80	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
W ₂	Aquademin	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
	<i>Tween</i> 80	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
	Gum Arabik	2,00	2,0	2,00	2,00	2,00	2,00
	Isolat protein kedelai	71,20	71,20	71,20	71,20	71,20	71,20

Skema pembuatan bumbu mi instan mengandung emulsi ganda NaCl dapat dilihat pada Lampiran 3. Bumbu mi instan yang mengandung emulsi ganda dihasilkan melalui 2 tahapan yaitu membuat emulsi ganda W/O/W terlebih dahulu, dilanjutkan dengan mencampurkan emulsi ke dalam bumbu dasar (*seasoning base*). Perhitungan NaCl yang ditambahkan dalam bumbu terdapat pada Lampiran 4. Tahapan pembuatan emulsi ganda untuk bumbu serupa dengan tahapan pembuatan emulsi yang dijelaskan telah diatas. Sebanyak 50% emulsi dicampurkan dengan 50% bumbu dasar, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit hingga diperoleh bumbu mi instan yang homogen. Formulasi emulsi ganda yang digunakan dalam bumbu mi instan dapat dilihat pada Tabel 11. Formulasi bumbu mi instan ditampilkan pada Tabel 12. Bumbu disimpan pada 3 suhu penyimpanan berbeda selama 3 minggu dan diuji karakteristik fisikokimia meliputi ukuran partikel, pH, viskositas, morfologi dan efisiensi enkapsulasi.

Tabel 11. Formulasi Emulsi Ganda W/O/W untuk Campuran Bumbu

Fase	Bahan	Perlakuan (% b/b)					
		T0	T1	T2	T3	T4	T5
W ₁	Aquademin	3,00	2,80	2,60	2,40	2,20	2,00
	Gelatin	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	NaCl	0,00	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00
O	Minyak kedelai	5,90	5,90	5,90	5,90	5,90	5,90
	Span 80	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
W ₂	Aquademin	35,60	35,60	35,60	35,60	35,60	35,60
	Tween 80	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
	Gum Arabik	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	Isolat protein kedelai	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00

Tabel 12. Formulasi Bumbu Mi Instan

Bahan	Perlakuan (% b/b)					
	T0	T1	T2	T3	T4	T5
Gula cair	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Emulsi ganda	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Bubuk bawang putih	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Bubuk bawang Bombay	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Maltodekstrin	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Parsley kering	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Perisa ayam	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Bubuk lada putih	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Kecap	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00

3.2.3. Parameter Uji Karakteristik

Parameter uji yang dilakukan pada emulsi ganda W/O/W dan bumbu adalah pH, viskositas, ukuran partikel, morfologi, dan efisiensi enkapsulasi.

3.2.3.1. Uji Ukuran Partikel (Lad *et al.*, 2012 dengan modifikasi), Ukuran partikel emulsi ganda dan bumbu diukur menggunakan *laser diffraction particle size analyzer* (LS-PSA) (Beckman Coulter, USA) dengan rentang pengukuran 0,4

- 900 μm . LS-PSA dihubungkan dengan komputer yang dilengkapi software LS Coulter 100. Dispersan yang digunakan adalah aquades. Aquades dituangkan pada lubang sampel hingga memenuhi seluruh lubang, lalu sampel diteteskan hingga mencapai rentang pembacaan 8-12%. Seluruh sampel dianalisa berdasarkan model Fraunhofer pada software LS Coulter 100. Satuan ukuran partikel dari instrumen yang digunakan adalah μm . Pengukuran ukuran partikel dilakukan sebelum penyimpanan dan penyimpanan satu hingga tiga minggu.

3.2.3.2. Nilai pH, Nilai pH sampel diukur menggunakan pH meter SevenEasy™ (Mettler Toledo, USA). Sampel emulsi ganda dan bumbu di botol sampel diuji pada suhu ruang. Elektroda dicelupkan pada sampel dan ditunggu hingga terbaca nilai pH dan suhu yang stabil. Elektroda dibersihkan menggunakan aquades. Rentang pH normal adalah 0-14. Pengukuran pH dilakukan sebelum penyimpanan dan penyimpanan satu hingga tiga minggu.

3.2.3.3. Uji Viskositas (Choudhury *et al.*, 2013 dengan modifikasi), Viskositas emulsi ganda dan bumbu diukur menggunakan viskometer DV-E (Brookfield, USA) pada suhu $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Spindel dipasang pada bagian ulir viskometer. Emulsi ganda diukur menggunakan spindel no. 2 (H02) sedangkan bumbu diukur menggunakan spindel no. 4 (S04). Kecepatan (rpm) spindel diatur hingga 100%. Pengukuran viskositas sampel dilakukan hingga angka viskositas dan torsi di layar stabil. Satuan viskositas dari instrumen yang digunakan adalah cP. Viskositas diuji sebelum penyimpanan dan penyimpanan satu hingga tiga minggu.

3.2.3.4. Uji Morfologi (Sapei *et al.*, 2012 dengan modifikasi), Morfologi emulsi ganda dan bumbu dilihat menggunakan mikroskop optik (Olympus, Jepang) pada temperatur ruangan (25°C). Sampel ditetaskan di atas kaca preparat sebanyak 1 tetes dan secara perlahan tanpa menimbulkan adanya gelembung udara, ditutup menggunakan kaca penutup (*cover slip*). Sampel diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 4x dan 20x. Mikroskop dihubungkan dengan video kamera (Meiji Techno, Jepang dan Olympus, Jepang) dan komputer. Hasil gambar yang nampak di komputer difoto menggunakan bantuan software (T-Capture dan Cellsens Dimensions) yang terhubung dengan video kamera. Diameter droplet emulsi dan bumbu diukur langsung menggunakan software tersebut. Penentuan distribusi dan kualitas partikel dilakukan menggunakan data ukuran partikel yaitu D_{90} dan D_{10} . Distribusi partikel merupakan rasio D_{90}/D_{10} , sedangkan kualitas partikel ditentukan berdasarkan nilai D_{10} . Pengujian morfologi sampel dilakukan sebelum penyimpanan dan penyimpanan dua minggu.

3.2.3.5. Uji Efisiensi Enkapsulasi (Kim *et al.*, 2017 dengan modifikasi), Konduktivitas emulsi ganda dan bumbu diuji menggunakan konduktometer (EC Tester, China) dan dikonversi menjadi persentase efisiensi enkapsulasi. Blanko yang digunakan untuk sampel emulsi ganda adalah fase air eksternal (W_2) yang dicampur dengan NaCl. Blanko yang digunakan untuk sampel bumbu adalah fase air eksternal (W_2) yang dicampur dengan bumbu dasar dan NaCl. Grafik standar yang digunakan dalam penelitian ini memiliki rentang konsentrasi 0-600 ppm. Sampel dicuplik sebanyak 0,1 gram dan ditambahkan aquademineral sebanyak 100 ml hingga konsentrasi 1000 ppm. Sampel diaduk menggunakan *magnetic stirrer*

dan diukur konduktivitasnya selama 5 menit hingga pembacaan konstan. Satuan konduktivitas dari instrumen yang digunakan adalah $\mu\text{S}/\text{cm}$ dan kemudian dikonversi menjadi S/cm . Grafik standar untuk menghitung jumlah NaCl lepas pada emulsi ganda dapat dilihat pada Lampiran 5. Grafik standar untuk menghitung jumlah NaCl lepas pada sampel bumbu dapat dilihat pada Lampiran 6. Efisiensi enkapsulasi diperoleh berdasarkan rumus :

$$EE (\%) = \frac{(M_i - M_e)}{M_e} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

M_i adalah massa NaCl yang awal ditambahkan dalam W_1 dan M_e adalah massa NaCl yang rilis ke fase W_2 selama 3 minggu penyimpanan. Perhitungan EE dilakukan dengan memasukkan nilai konduktivitas sampel ke dalam persamaan linier untuk mendapatkan konsentrasi NaCl. Konsentrasi NaCl diubah menjadi massa NaCl yang berada pada fase W_2 atau M_e . Setelah nilai M_e diketahui maka EE dapat dihitung. Pengujian efisiensi enkapsulasi sampel hanya dilakukan pada penyimpanan tiga minggu.

3.2.4. Analisa Data

Data penelitian ini diinterpretasikan secara deskriptif. Statistik deskriptif digunakan untuk memberi gambaran atau karakteristik data, seperti jumlah, rata-rata, penyebaran dan distribusi data (Hidayat dan Istiadah, 2011).