

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Persiapan Sampel

Sampel berupa jenis kelapa lokal diambil dari desa Sruworejo kecamatan Butuh Kabupaten Purworejo yang mempunyai ketinggian tanah dari permukaan laut 16 M. Umur buah kelapa yang diambil sebagai sampel kira-kira 8 bulan pada pohon yang berumur 24 tahun.

3.2. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini akan dicari hubungan prosentase protein dengan perubahan suhu pada pembuatan minyak dan perbedaan bahan yang digunakan sebagai air bibit. Jadi variabel berubah penelitian adalah:

1. Suhu
2. Bahan untuk air bibit

Sedangkan variabel tetap dalam penelitian ini adalah jenis kelapa dan kondisi dalam analisa protein.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat yang digunakan

- | | |
|----------------|-----------------|
| - erlenmeyer | - buret |
| - inkubator | - beaker glass |
| - corong gelas | - corong pisah |
| - gelas ukur | - kertas saring |
| - oven | - labu takar |

- perangkat destilasi - labu Kjeldahl
- pemanas - pompa vakum

3.3.2. Bahan-bahan yang digunakan

- santan kelapa - aquades
- metil merah pa - alkohol pa
- metil biru pa - natrium hidroksida pa
- ninhidrin pa - reagen millon
- asam asetat pa - kloroform pa
- kalium iodida pa - tembaga sulfat pa
- natrium tiosulfat pa - asam sulfat pa
- amilum pa - asam oksalat pa
- fenolftalein pa - kalium hidrogen sulfat pa

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Preparasi Larutan

3.4.1.1 Pembuatan NaOH 33%

Ditimbang 33 g NaOH dan dilarutkan dalam 100 ml aquades.

3.4.1.2 Pembuatan 100 ml H_2SO_4 0,3 N

H_2SO_4 pekat 98%, BJ=1,84, valensi=2, BM = 98,08

$$N H_2SO_4 = 98/100 \times 1,84 \text{ kg/liter}$$

$$= \frac{98 \times 18,4}{98,08} \text{ grol/liter}$$

$$= \frac{98 \times 18,4 \times 2}{98,08} \text{ grek/liter}$$

$$= 36,8 \text{ N}$$

$$\text{Rumus : } V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \times 0,3 = V_2 \times 36,8$$

Volume H_2SO_4 yang dipakai = 0,82 ml

Aquades yang dipakai = 100 - 0,82
= 99,18 ml

3.4.1.3 Pembuatan 600 ml NaOH 0,3 N

$$\begin{aligned} \text{NaOH} &= 0,3 \text{ grek/liter} \\ &= 0,3 \text{ grol/liter} \\ &= 0,3 \times 40 \text{ g/liter} \\ &= 12 \text{ g/liter} \\ &= 7,2 \text{ g/600 ml} \end{aligned}$$

3.4.1.4 Pembuatan asam oksalat 150 ml 0,3 N

$$\begin{aligned} \text{BM} &= 126 \text{ valensi} = 2 \\ \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= 0,3 \text{ grek/liter} \\ &= 0,3/2 \text{ grol/liter} \\ &= 0,15 \times 126 \text{ g/liter} \\ &= 18,9 \text{ g/liter} \\ &= 2,835 \text{ g/150 ml} \end{aligned}$$

3.4.1.5 Indikator campuran metil merah dan metil biru

212,5 mg metil merah + 250 mg metil biru
dilarutkan dalam 50 ml alkohol 70%

3.4.1.6 Pembuatan 500 ml NaOH 0,1 N

$$\begin{aligned} \text{NaOH} &= 0,1 \text{ grek/liter} \\ &= 0,1 \text{ grol/liter} \\ &= 0,1 \times 40 \text{ g/liter} \\ &= 2 \text{ g/500 ml} \end{aligned}$$

3.4.1.7 Pembuatan 100 ml NaOH 2,5 N

$$\begin{aligned}\text{NaOH} &= 2,5 \text{ grek/liter} \\ &= 2,5 \text{ grol/liter} \\ &= 2,5 \times 40 \text{ g/liter} \\ &= 100 \text{ g/liter} \\ &= 10 \text{ g/100 ml}\end{aligned}$$

3.4.1.8 Pembuatan 500 ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N

$$\begin{aligned}\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 &= 0,01 \text{ grek/liter} \\ &= 0,005 \text{ grol/liter} \\ &= 0,005 \times 158 \text{ g/liter} \\ &= 0,79 \text{ g/liter} \\ &= 0,395 \text{ g/500 ml}\end{aligned}$$

3.4.1.9 Pembuatan 100 ml CuSO_4 0,01 M

$$\begin{aligned}\text{CuSO}_4 &= 0,01 \text{ grol/liter} \\ &= 0,01 \times 159,63 \text{ g/liter} \\ &= 1,5963 \text{ g/liter} \\ &= 0,159 \text{ g/100 ml}\end{aligned}$$

3.4.1.10 Pembuatan Indikator pp 1% 100 ml

Dilarutkan 1 g pp dalam 100 ml alkohol 70%

3.4.1.11 Pembuatan Indikator Amilum 1% 100ml

Dilarutkan 1 g amilum dalam 100 ml air kemudian dipanaskan dan ditambah HgI sebagai pengawet secukupnya.

3.4.1.12 Pembuatan Ninhidrin 0,1 m 100 ml

$$\begin{aligned}\text{Ninhidrin} &= 0,1 \times 178 \text{ groll/liter} \\ &= 1,78 \text{ g/liter} \\ &= 0,178 \text{ g/100 ml}\end{aligned}$$

3.4.2. Pembuatan Minyak Kelapa Dengan-Cara Fermentasi

Kelapa dikupas dan daging kelapanya diparut untuk diambil santannya dengan menambahkan 0,5 liter air pada 1 kg kelapa parut. Ekstraksi dilakukan dua kali dan hasil dicampur jadi satu.

Santan dimasukkan dalam corong pisah dan didiamkan beberapa saat, sehingga lapisan atas (krim) dan lapisan bawah (skim) terpisah. Lalu kedua lapisan tersebut dipisahkan, Krim (santan kental) digunakan untuk pembuatan minyak kelapa dan skim (santan encer) digunakan untuk pembuatan air bibit.

1. Cara pembuatan air bibit

Santan encer ditambahkan air kelapa (9:1) atau air kelapa ditambah air (9:1) dimasukkan dalam erlenmeyer. Kedalam campuran tersebut ditambahkan ragi tape dengan prosen berat 1,2%. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada 30°C, 40°C dan 50°C.

2. Cara pembuatan minyak kelapa

Santan kental (krim) ditambah air bibit (5:1) dimasukkan dalam botol dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C, 40°C, 50°C. Setelah inkubasi selesai akan terlihat beberapa lapisan yaitu lapisan atas berupa minyak kelapa, lapisan tengah berupa protein dan lapisan bawah yang berupa air bibit. Air bibit dapat dipisahkan dengan corong pisah atau dengan slang plastik, minyak kelapa dapat dipisahkan dari protein (bungkil) dengan pompa vakum. Minyak kelapa lalu

dipanaskan pada suhu 105°C selama 15 menit dan bungkil dioven hingga beratnya konstan.

3.5. Pengujian Terhadap Minyak Kelapa

3.5.1. Angka Asam

- Cara : - 14 gram cuplikan dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambah 25 ml alkohol panas serta indikator pp 2 ml.
- Campuran dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah jambu yang tidak hilang dalam waktu 30 detik.
 - % asam lemak bebas dinyatakan sebagai oleat pada kebanyakan minyak dan lemak.

$$\% \text{FFA} = \frac{\text{ml NaOH} \cdot \text{N NaOH} \cdot \text{BM asam lemak}}{\text{berat cuplikan} \cdot 1000} \cdot 100\%$$

$$\text{Angka asam} = \frac{\text{BM NaOH}}{\text{BM asam lemak bebas}/10} \cdot \% \text{ FFA}$$

3.5.2. Angka Peroksida

- Cara : - Menimbang 5 g cuplikan dalam 250 ml erlenmeyer bertutup dan ditambah 25 ml larutan jenuh asam asetat-kloroform (3:2) dan digoyang sampai cuplikan larut, kemudian ditambah 0,5 ml larutan jenuh KI.
- Larutan didiamkan selama satu menit sambil sekali-sekali digoyang, lalu ditambah dengan 30 ml aquades.

- Campuran dititrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N sampai warna kuning hampir hilang kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan amilum dan dititrasi kembali sampai warna biru hilang. Perlakuan yang sama dilakukan terhadap blangko.
- Angka peroksida dinyatakan dalam mili equivalen dari peroksida dalam 100 g contoh.

$$\text{Angka peroksida} = \frac{(\text{ts}-\text{tb}) \cdot \text{N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot \text{BE Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 20}{\text{Berat sampel (g)} \cdot 1000}$$

Dimana ts = ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ untuk titrasi sampel

tb = ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ untuk titrasi blangko

3.6. Pengujian Terhadap Bungkil Minyak Kelapa

3.6.1. Reaksi Ninhidrin

Cara : Ditambahkan 1 ml reagen ninhidrin dalam 3 ml larutan protein, kemudian dipanaskan. Hasil positif jika ada warna biru.

3.6.2. Reaksi Biuret

Cara : Ditambahkan 1 ml NaOH 2,5 N dalam 3 ml larutan protein larutan diaduk dan ditambah setetes CuSO_4 0,01 M, hasil positif jika terbentuk warna ungu atau merah muda.

3.6.3. Metode Kjeldahl

Cara : - Pencucian labu Kjeldahl, kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 105°C - 110°C selama satu jam. Sesudah itu dimasukkan dalam eksikator selama 15 menit, kemudian ditimbang misal beratnya a g.

- Sampel dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl dan ditimbang, misal berat b g, sehingga didapatkan berat sampel $(b - a) = x$ g.
- Kemudian ke dalam labu Kjeldahl dimasukkan 3 g KHSO_4 + 1 g CuSO_4 serta ditambahkan 25 ml H_2SO_4 pekat dan dicampur.
- Kemudian semua bahan yang ada dalam labu Kjeldahl dipanaskan secara perlahan-lahan dalam lemari asam dimana mula-mula dengan nyala kecil sampai tidak berasap atau berbuih lagi, baru kemudian nyala diperbesar.
- Pendidihan atau destruksi bahan dalam labu Kjeldahl terus dilakukan hingga terjadi perubahan warna larutan menjadi hijau jernih (destruksi selesai).
- Setelah itu labu didinginkan, baru kemudian hasil destruksi dimasukkan ke dalam labu destilasi yang telah dipasang pada rangkaian alat destilasi. Labu digojok dengan 100 ml air panas, kemudian ditambahkan 100 ml NaOH 33%.
- Destilat ditampung dalam erlenmeyer yang telah berisi H_2SO_4 0,3 N 50 ml dan ditambah indikator campuran MR + MB sebanyak 2 tetes.
- Destilasi terus dilakukan hingga diharapkan semua N dari larutan dapat ditangkap oleh H_2SO_4 dan berakhir jika air dalam labu dididih tinggal $\frac{1}{3}$ bagian.

- Destilat tersebut diambil dan dititrasi dengan NaOH 0,3 N sampai terjadi perubahan warna. Jumlah titar untuk titrasi destilat misal z ml.
- Membuat larutan untuk blangko dari H_2SO_4 0,3 N 50 ml + indikator campuran metil merah dan metil biru sebanyak 2 tetes. Jumlah titar untuk pelaksanaan titrasi blangko misalnya y ml.
- Perhitungan kadar protein:

$$\text{Kadar protein} = \frac{(y-z) \cdot N \text{ NaOH} \cdot 0,0145 \cdot 30 \cdot 100\%}{x}$$

