

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kakao (*Theobroma cacao* L.) dari jenis mulia dan jenis lindak yang diambil dari PT. Perkebunan XXIII di Renteng, Jember, Jawa Timur.

3.1.2 Bahan-bahan kimia

- Akuades
- Kloroform p.a
- Natrium Sulfat Anhidrat
- Gas Nitrogen.

3.1.3 Alat-alat

- Seperangkat alat distilasi uap-semimikrodistilasi (lampiran 1)
- Seperangkat alat kromatografi gas tipe HP 5890
- Seperangkat alat kromatografi gas-spektrometri massa tipe SHIMADZU QP-5000
- Oven
- Kotak-kotak fermentasi
- Blender
- Pisau
- Tabung reaksi + tutup
- Corong gelas

- Gelas Beaker
- Erlenmeyer
- Pipet volume
- Pipet tetes
- Gelas ukur
- Timbangan
- Neraca analitik
- Termometer
- Pemanas listrik
- Desikator
- Pompa air
- dan lain-lain

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Perlakuan terhadap bahan penelitian

Biji kakao diperoleh dari buah kakao masak yang telah dipecah kulit buahnya. Sebelum dikeringkan pada suhu 55° C selama ± 20 jam, biji diberi perlakuan pendahuluan dengan beberapa cara yaitu :

1. Biji kakao dihilangkan daging buahnya (pulp), kemudian dicuci. Selanjutnya disebut sebagai berikut :
 - a. Biji kakao mulia tanpa fermentasi
 - b. Biji kakao lindak tanpa fermentasi
2. Biji kakao yang belum dihilangkan pulpnya, selanjutnya difermentasi di PT. Perkebunan XXIII Renteng, Jember. Fermentasi dilakukan dalam kotak-kotak fermentasi dengan waktu yang berbeda-beda antara lain sebagai berikut :

a. Jenis Mulia

a.1. Fermentasi selama 2 hari atau 36 jam

a.2. Fermentasi selama 4 hari atau 81 jam

b. Jenis Lindak

b.1. Fermentasi selama 2,5 hari atau 48 jam

b.2. Fermentasi selama 5 hari atau 105 jam

Kemudian biji kakao yang telah difermentasi tersebut dicuci.

3.2.2 Persiapan sampel

Biji kakao yang telah diberi perlakuan seperti di atas, selanjutnya disangrai dengan alat oven pada suhu 140° C selama \pm 20 menit, dan dilakukan uji pendahuluan dengan berdasarkan pada indera penciuman untuk menentukan aroma yang terbaik.

Biji kakao yang telah disangrai tersebut, kulit bijinya dikupas dan keping bijinya dihancurkan sampai halus dengan alat blender. Serbuk yang dihasilkan ditimbang sebanyak 40 gram dan kemudian dibungkus dengan kertas saring. Sampel ini dipakai dalam percobaan selanjutnya.

3.2.3 Isolasi senyawa aroma dalam biji kakao

Sampel yang telah disiapkan seperti di atas, kemudian dilakukan distilasi dengan teknik gabungan distilasi uap-semi mikrodistilasi, yang diikuti proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut kloroform sebanyak 20 ml. Proses distilasi dan ekstraksi berkesinambungan ini dilakukan selama \pm 4 jam.

Ekstrak kloroform hasil distilasi dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrous berlebih, kemudian dipekatkan dengan gas Nitrogen sampai 0,1 ml.

3.2.4 Penisahan komponen penyusun aroma dalam biji kakao

Diambil 0,3 μl ekstrak aroma dan diinjeksikan dalam alat kromatografi gas tipe HP 5890 dan kondisi alat sebagai berikut :

Kolom :

- Jenis : Carbowax 20 M
- Panjang : 50 m
- Diameter : 0,32 mm
- Suhu : $50^\circ\text{C} - 200^\circ\text{C}$ ($5^\circ\text{C}/\text{menit}$)

Gas pembawa

- Jenis : gas Nitrogen
- Total kec. alir : 11,7 ml/menit

Detektor

- Jenis : FID
- Suhu : 260°C
- Gas pembakar : H_2 , udara

Suhu injektor : 250°C

Kec. kertas : 1 cm/menit

3.2.5 Karakteristik senyawa aroma dalam biji kakao

Diambil 0,3 μl ekstrak aroma terbaik dan diinjeksikan dalam alat kromatografi gas - spektrometri massa tipe SHIMADZU QP-5000 dan kondisi alat sebagai berikut :

Kolom

- Jenis : Carbowax 20 M
- Panjang : 50 m
- Diameter : 0,32 mm
- Suhu : 50° C - 200° C (5° C/menit)

Gas pembawa

- Jenis : gas Helium
 - Kec. alir : 0,2 ml/menit
- Suhu detektor : 260° C
- Suhu injektor : 250° C
- Energi ionisasi : 70 eV

