

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat-alat

- Juicer
- Blender
- Pompa vakum
- Corong buchner
- Pengaduk magnet
- Seperangkat alat refluks
- Sentrifuge (Centrif-228)
- Kertas whatman no.42
- Rotary evaporator (Buchi R - 114)
- GC-MS (Shimadzu QP 5000)

3.1.2 Bahan-bahan

- Buah Kelapa
- Aseton (Merck p.a)
- Heksana (Merck p.a)
- Isopropanol (Merck p.a)
- Kloroform (Merck p.a)
- Asam asetat (p.a)
- Ninhidrin (Merck p.a)
- Na₂SO₄ anhidrat (Merck p.a)

- Reagen esterifikasi (NH_4Cl 2 g + Metanol 60 ml + H_2SO_4 3 ml)
- NaOH (Merck p.a)
- Butylated hidroksitoluena (BHT)
- TLC silika gel GF₂₅₄
- Aquades

3.2 Cara Kerja

3.2.1 Preparasi Sampel Santan Kelapa.

Pada tahap ini dilakukan pembuatan sampel santan kelapa dari 3 buah kelapa dengan menggunakan alat juicer. Sampel kelapa yang diperoleh kemudian disentrifuge selama 10 menit untuk memisahkan krim dengan skim. Krim yang diperoleh digunakan untuk isolasi zat pengemulsi.

3.2.2 Isolasi Zat Pengemulsi pada Santan.

Sebanyak 70 g krim ditambah dengan 150 mL aseton dingin lalu dihomogenisasi dalam blender selama 1 menit. Homogenat yang diperoleh disaring dengan pompa vakum menggunakan corong buchner dan kertas whatman no. 42. Residu yang diperoleh dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambah dengan 75 mL campuran isopropanol-heksana (2:3) dan 0,1% BHT, lalu diaduk di atas hot plate pada suhu $\pm 38^\circ\text{C}$ selama 15 menit. Setelah didinginkan kemudian disaring dengan pompa vakum. Residu pada kertas saring disiram dengan 25 mL campuran isopropanol-heksana (2:3). Filtrat yang diperoleh dihilangkan airnya dengan 7-10% Na_2SO_4 anhidrat dan disaring. Kemudian pelarutnya diuapkan dengan rotary evaporator. Hasil yang diperoleh kemudian dianalisis dengan kromatografi lapis

tipis (TLC). Spot yang diperoleh diidentifikasi dengan menggunakan ninhidrin dalam aseton dan H_2SO_4 pekat yang disemprotkan pada permukaan TLC dan dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 2-3 menit.

3.2.3 Identifikasi Asam Lemak Penyusun Fosfolipid.

Sebanyak ± 100 mg sampel ditambah dengan 5 mL 0,5 M NaOH-metanolik setelah itu direfluks sampai mendidih selama 3-5 menit. Kemudian ditambah reagen esterifikasi sebanyak 15 mL dan dididihkan kembali selama ± 15 menit. Setelah didinginkan hasil yang diperoleh dimasukkan ke dalam corong ekstraksi lalu ditambah dengan 50 mL air dan 25 mL heksana dan digojog secara perlahan-lahan setelah itu dibiarkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (heksana) dipisahkan secara hati-hati kemudian dikeringkan dengan 7-10% Na_2SO_4 anhidrat. Selanjutnya lapisan heksana dipekatkan dengan rotary evaporator sampai volumenya $\pm 0,5$ mL. Hasil yang diperoleh kemudian dianalisis dengan alat GC-MS dengan kondisi operasi sebagai berikut;

Jenis Pengionan : EI (elektron Impact) 70 eV

Suhu detektor : 280°C , gain: 1,5 Kva

Injeksi : Split (40:1), 1 μl ; inlet 270°C

Jenis kolom : DB-1 (100% Dimethylpolysiloxane) 30 m x 0,25 mm, 0,33 μm

Oven : 100°C (5 menit) s/d 260°C kenaikan $10^\circ\text{C}/\text{menit}$

Gas pembawa : Helium 15 Kpa, 0,5 ml/menit, constan flow

3.2.4 Penentuan Bilangan HLB

Penentuan bilangan HLB dilakukan dengan metode Davies. Dalam metode ini bilangan HLB ditentukan dari bilangan HLB komponen-komponen penyusun zat pengemulsi dan dihitung dengan persamaan Davies:

$$\text{HLB} = 7 + \Sigma (\text{bilangan HLB gugus hidrofilik}) - \Sigma (\text{bilangan HLB gugus hidrofobik})$$

