

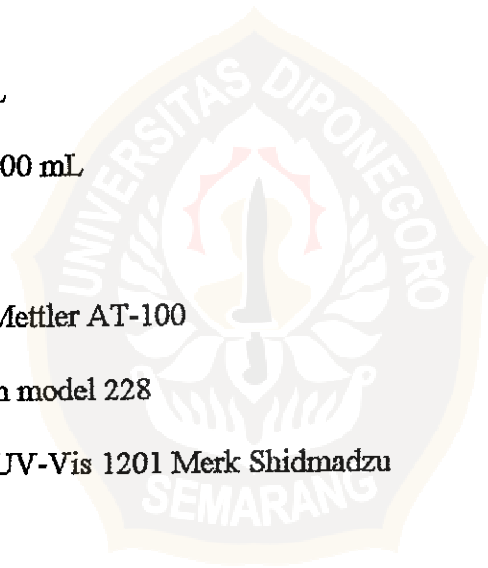
BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Peralatan Yang Digunakan

- a) Pisau
- b) Blender
- c) Termometer
- d) Tabung reaksi
- e) Gelas ukur 20 mL
- f) Gelas beker 100 mL
- g) Labu takar 10 mL, 100 mL
- h) Pengaduk
- i) Timbangan listrik Mettler AT-100
- j) Sentrifuse 3400 rpm model 228
- k) Spektrofotometer UV-Vis 1201 Merk Shimadzu
- l) Botol semprot
- m) Sduit 1 mL
- n) Penangas
- o) Gelas arloji
- p) Botol kecil
- q) Orbital shaker TS-330A
- r) Corong gelas



3.1.2 Bahan Yang Digunakan

- a) Hati sapi
- b) Beta siklodekstrin p.a dari Sigma
- c) Asam asetat anhidrat p.a
- d) H_2SO_4 pekat p.a
- e) Kloroform p.a
- f) KOH p.a
- g) $NaHCO_3$ p.a
- h) Phenolphtalein p.a
- i) Aseton teknis
- j) metanol teknis
- k) Aquades

3.2 Cara Kerja

3.2.1. Sumber Sampel

Hati sapi yang diambil dari Pasar Jatingaleh Semarang

3.2.2. Variabel yang digunakan

- a. Variabel yang dikonstantkan
 - berat hati sapi.
 - jenis hati sapi
- b. Variabel berubah
 - konsentrasi β -Siklodekstrin

c. Variabel yang diukur

- absorbansi sampel

3.2.3 Preparasi Larutan

3.2.3.1. Pembuatan Larutan Pereaksi Liebermann-Burchard

Dicampur 40 mL asam asetat anhidrat dengan 2 mL H_2SO_4 pekat, campuran dikondisikan dalam keadaan dingin.

3.2.3.2. Pembuatan Larutan Phenolptalein

- a) Dilarutkan 19,1 mg phenolptalein ke dalam metanol sampai 10 mL menggunakan labu takar.
- b) Dilarutkan 8,4 g $NaHCO_3$ ke dalam aquadest sampai 100 mL menggunakan labu takar.
- c) Dicampur 0,5 mL larutan phenolptalein dengan larutan $NaHCO_3$ sampai 100 mL.
- d) Larutan dikondisikan pada pH 10 dengan penambahan KOH 1 N

3.2.3.3. Pembuatan Larutan KOH 1 N

Dilarutkan 5,6 g ke dalam aquades sampai 100 mL menggunakan labu takar

3.2.4. Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan standar Kolesterol

Larutan standar kolesterol (2,5 mg kolesterol/10 mL kloroform) diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550-700 nm hingga diperoleh panjang gelombang optimum dengan absorbansi terbesar.

3.2.5. Pembuatan Kurva Standar Kolesterol

Lautan kolesterol dengan konsentrasi 0, 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum, kemudian dibuat kurva standar dan persamaan kurvanya.

3.2.6. Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan Standar β -Siklodekstrin.

Larutan standar β -siklodekstrin (0,25%) diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500-600 nm hingga diperoleh hingga diperoleh panjang gelombang optimum dengan absorbansi terbesar.

3.2.7. Pembuatan Kurva Standar β -siklodekstrin

Larutan standar β -siklodekstrin dengan konsentrasi 0, 0,25, 0,50, 0,75, dan 1% diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum, kemudian dibuat kurva standar dan persamaan kurvanya.

3.2.8. Perlakuan Awal

- a) Hati sapi diblender sampai homogen
- b) Diambil 0,5 g hati sapi dikondisikan pada pH 10 dengan KOH, lalu ditambah 3 ml aquades
- c) Sampel dipanaskan sekitar 50°C dalam penangas kemudian ditambahkan β -Siklodekstrin sebanyak 10, 20, 30, 40 dan 50 mg.
- d) Campuran dikocok selama 9 jam, dan didinginkan pada suhu 4°C.

- e) Campuran dipindah dalam tabung reaksi , selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada 3400 rpm selama 3 menit.
- f) Didekantir sehingga diperoleh supernatan homogenatnya.

3.2.9. Penentuan Kolesterol

- a) Supernatan (dari perlakuan awal) ditambah metanol-Aseton (1:1), dipanaskan dengan penangas, kemudian dikocok selama 5 menit selanjutnya didinginkan pada suhu kamar.
- b) Campuran yang terjadi disentrifugasi pada 3400 rpm selama 10 menit sehingga didapatkan homogenat dan supernatan.
- c) Supernatan diuapkan pelarutnya, dan ditambah 1 mL kloroform.
- d) Diambil 0,7 mL sampel ditambah 3,5 mL pereaksi Liebermann-Burchard, kocok sampai tercampur.
- e) Biarkan di tempat gelap selama 15 menit.
- f) Masing-masing diukur serapannya pada panjang gelombang optimum

3.2.10. Penentuan β -Siklodekstrin

- a) Supernatan (dari perlakuan awal) disentrifugasi pada 3400 rpm selama 1 jam dalam keadaan dingin.
- b) Diambil 0,1 mL supernatan ditambah 19,9 mL larutan phenolptalein, dicampur dan diukur absorbansinya pada λ optimum.