

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian meliputi isolasi menggunakan metoda ekstraksi, analisis sifat yang terdiri dari kadar air dan kadar abu dengan menggunakan metoda gravimetri serta kadar metoksil, kadar asam anhidrogalakturonat, dan derajat esterifikasi menggunakan metoda asidi-alkalimetri. Selain itu, dilakukan analisis monosakarida penyusun pektin dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, setelah terlebih dahulu dilakukan hidrolisis asam.

3.1. Bahan dan Alat

3.1.1. Sampel

Sampel berupa buah labu siam (*Sechium edule* SW) yang diambil dari Desa Sumowono, Bandungan, Kab. Semarang, Jawa Tengah, dengan umur petik 30 hari.

3.1.2. Bahan-bahan kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Etanol p.a.(95 %)
2. Asam klorida p.a.
3. Natrium hidroksida 0,1 N
4. Natrium hidroksida 0,25 N
5. Asam klorida 0,1 N
6. Asam klorida 0,25 N

7. Aquadest
8. Perak nitrat encer
9. Fenolftalein
10. Merah fenol
11. Natrium klorida
12. Asam sulfat 0,1 N
13. Etil asetat p.a.
14. Piridin p.a.
15. Asam asetat p.a.
16. Anilin p.a.
17. Difenil amin
18. Asam fosfat p.a.
19. Aseton
20. Etanol teknis (80 %)
21. Glukosa
22. Galaktosa
23. Xilosa
24. Maltosa



25. Fruktosa

3.1.3. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan :

1. Erlenmeyer
2. Gelas ukur

3. Pengaduk
4. Timbangan
5. Botol gelas
6. Blender
7. Oven listrik
8. Rotary evaporator
9. Corong gelas
10. Pipet
11. Kompiler listrik
12. Plat silika gel GF₂₅₄
13. Kertas saring
14. Kain saring
15. Mortal
16. Furnace
17. Buret dan statif



3.2. Cara Kerja

3.2.1. Persiapan sampel

Buah labu siam dikupas, diambil bagian dagingnya, dipotong kecil-kecil dan diblender sehingga menjadi bubur.

3.2.2. Ekstraksi pektin

Labu siam yang telah menjadi bubur ditambah dengan 2,5 L akuadest dan ditetesi dengan asam klorida pekat sehingga dicapai pH 2, kemudian diekstraksi pada temperatur 100 °C selama 60 menit. Hasil ekstraksi disaring, filtratnya

diendapkan dengan menggunakan etanol p.a. sebanyak 1,5 kali volume filtrat yang telah ditambah asam klorida 2 mL / L etanol, selanjutnya dibiarkan selama 24 jam sampai seluruh pektin mengendap. Endapan ini disaring dan dicuci dengan etanol teknis (80 %) sampai asam klorida hilang dan terakhir kali dilakukan pencucian dengan etanol p.a. (95 %). Pektin basah ini kemudian dikeringudarkan di dalam desikator dan setelah kering ditumbuk sampai halus.

3.2.3. Identifikasi sifat pektin

A. Kadar air

Satu gram pektin dikeringkan dalam oven pada temperatur 105°C sampai diperoleh berat yang tetap.

B. Kadar abu

Setengah gram pektin dibakar dalam furnace pada temperatur 600°C sampai diperoleh abu berwarna putih dan ditimbang sampai diperoleh berat yang tetap.

C. Kadar metoksil

Setengah gram pektin ditambah dengan 25 mL NaOH 0,25 N dikocok, dibiarkan selama 30 menit dalam keadaan tertutup, kemudian ditambah 25 mL HCl 0,25 N. HCl yang berlebih dititrasi dengan NaOH 0,1 N memakai indikator fenolftalein.

D. Berat ekivalen

Setengah gram pektin dibasahi dengan 5 mL etanol, ditambah dengan air bebas karbonat yang mengandung 1 gram NaCl kemudian ditirasi dengan NaOH 0,1 N memakai indikator merah fenol

E. Alkalinitas karbonat

Abu dari pektin ditambah dengan 25 mL HCl 0,1 N dan dididihkan, setelah dingin dititrasi dengan NaOH 0,1 N memakai indikator fenolftalein.

F. Kadar asam anhidro galakturonat (AAG) dan derajat esterifikasi (DE)

Kadar AAG dan DE didapatkan melalui rumus dengan menggunakan data miliekivalen dari kadar metoksil, berat ekivalen dan alkalinitas karbonat.

3.2.4. Identifikasi monosakarida

1 gram pektin ditambah dengan 50 mL asam sulfat 0,1 N kemudian direfluks selama 6 jam. Selanjutnya larutan dinetralkan dengan NaOH 0,1 N, disaring, diuapkan dari pelarutnya dan residu yang tersisa dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a. kemudian disaring dan diambil filtratnya. Monosakarida yang terlarut dalam etanol kemudian dianalisis dengan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan eluen etil asetat, asam asetat, piridin air dengan perbandingan 5 : 1 : 5 : 3. Noda KLT dapat terlihat setelah plat KLT disemprot dengan larutan campuran dari difenil amin-anilin-asam fosfat dalam aseton, dan dipanaskan pada temperatur 85 °C selama 10 menit. Hal yang sama dilakukan pada larutan monosakarida standar yaitu glukosa, galaktosa, xilosa, maltosa dan fruktosa.