

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Alat-alat

- Blender
- Alat-alat gelas standar laboratorium
- Pompa vakum
- Corong Buchner
- Pengaduk magnet
- Hot plate
- Seperangkat alat refluks
- Rotary evaporator (Buchi R-114)
- FT-IR (Hewlett Packard)
- GC-MS (Shimadzu QP 5000)

3.1.2. Bahan-bahan

- Buah Kelapa
- Aseton (Merck p.a dan teknis)
- Heksana (Merck p.a dan teknis)
- Isopropanol (teknis)
- Kloroform (Merck p.a)
- Asam asetat (Merck p.a)
- Logam Na (Merck p.a)

- Reagen esterifikasi (NH_4Cl 2 gr + metanol 60 ml + H_2SO_4 3 ml)
- NaOH (Merck p.a)
- Butylated hidroksitoluena (BHT)
- Plat TLC silika gel GF₂₅₄
- Aquadest

3.2. Cara Kerja

3.2.1. Preparasi Sampel Santan Kelapa

Pada tahap ini dilakukan pembuatan sampel santan kelapa dari 10 buah kelapa. Santan kelapa yang diperoleh kemudian didiamkan sehingga terbentuk dua lapisan yaitu krim dan skimnya. Krim yang diperoleh digunakan untuk isolasi zat pengemulsi.

3.2.2. Isolasi Zat Pengemulsi pada Santan Kelapa

Setiap 70 g krim yang diperoleh dilarutkan dengan 150 ml aseton dingin lalu dihomogenasi dalam blender selama 1 menit. Homogenat yang diperoleh disaring dengan pompa vakum menggunakan corong Buchner dan kertas saring. Residu yang diperoleh dimasukkan ke dalam erlenmeyer untuk kemudian ditambah dengan 75 ml campuran isopropanol-heksana (2 : 3) dan 0,1% BHT, lalu diaduk selama 15 menit. Setelah didinginkan kemudian disaring dengan corong Buchner. Residu yang tertinggal di kertas saring disiram dengan 25 ml campuran isopropanol-heksana (2 : 3). Filtrat gabungan yang diperoleh dicuci dengan larutan 7-10% Na_2SO_4 anhidrat dan disaring. Kemudian filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator^[1,2,14].

3.2.3. Identifikasi Fosfolipid

Hasil yang diperoleh dari tahap isolasi dianalisa dengan kromatografi lapis tipis (TLC), FTIR dan GC-MS dengan kondisi operasi alat yang tertentu.

3.2.3.1. Preparasi identifikasi asam lemak

Sebanyak 1 g sampel ditambah 0,5 M Na-metanolik setelah itu direfluks sampai mendidih selama 3-5 menit. Kemudian ditambah reagen esterifikasi sebanyak 15 mL dan didihkan lagi selama 15 menit. Setelah didinginkan hasil yang diperoleh diekstraksi dengan pelarut 50 mL air dan 25 mL heksana. Lapisan heksana dipisahkan, kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotary evaporator. Hasil yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan GC-MS.

3.2.3.2. Kondisi GC-MS

Jenis pengionan EI (Electron Impact) 70 eV; suhu detektornya 290 °C; gain 1,5 Kva; injeksi split (1 : 80) 1 µL inlet 270 °C; jenis kolom DB-1 (100 % Dimethylpolysiloxane); oven 70 °C (5 menit) sampai 260 °C kenaikan 10 °C/menit dan gas pembawa Helium 115 Kpa dengan laju 0,5 mL/menit.

3.2.4. Pembuatan Sistem Misel

Sejumlah fosfolipid diencerkan dengan air didalam labu ukur 1000 mL dengan konsentrasi fosfolipid sebesar 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0; 1,1; 1,2; 1,3; 1,4; dan 1,5 g/L. Kemudian larutan dihomogenkan dengan menggunakan mixer selama kurang lebih 1 menit.

3.2.5. Penentuan Pengaruh Temperatur terhadap c.m.c Fosfolipid

Tiap set larutan dibuat sebanyak 8 set replikat, lalu dipanaskan dengan temperatur yang berlainan, yakni 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 dan 90 °C sambil diaduk/dihomogenkan. Pada tiap-tiap set replikat konduktivitas larutan diukur dan diamati.

3.2.6. Penentuan Pengaruh Garam (NaCl) terhadap c.m.c Fosfolipid

Tiap set larutan dibuat sebanyak 5 set replikat, lalu ditambahkan garam NaCl dengan berat yang bervariasi, yaitu 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 mg. Setelah dihomogenkan dengan menggunakan mixer selama kurang lebih 1 menit, konduktivitas larutan pada tiap-tiap set replikat diukur dan diamati.

3.2.7. Penentuan Pengaruh Senyawa Organik terhadap c.m.c Fosfolipid

Tiap set larutan dibuat sebanyak 5 set replikat, lalu ditambahkan sukrosa dengan berat yang berlainan, yakni 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 mg. Setelah dihomogenkan dengan menggunakan mixer selama kurang lebih 1 menit, konduktivitas larutan pada tiap-tiap set replikat diamati.

3.2.8. Penentuan c.m.c. dengan Konduktometri

Dari hasil pengukuran konduktivitas larutan untuk tiap set larutan diplotkan pada grafik yaitu antara konduktivitas larutan terhadap konsentrasi larutan fosfolipid. Konsentrasi miselisasi kritis fosfolipid ditentukan dengan melihat konsentrasi dimana terjadi perubahan konduktivitas yang relatif drastis atau mencolok^[12].