

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

Penentuan pengaruh protein terhadap kestabilan emulsi air dalam minyak dengan fosfolipid sebagai surfaktan, melalui lima tahap proses yaitu isolasi fosfolipid dari santan kelapa, identifikasi fosfolipid hasil isolasi, penentuan diagram tiga fasa, penentuan waktu pecah emulsi dengan variasi konsentrasi protein, penentuan perubahan pH emulsi sampai saat pecahnya emulsi.

3.1. Alat Dan Bahan

3.1.1 Alat

Penelitian ini menggunakan peralatan gelas, sentrifuge, pompa vakum, corong buchner, kertas saring, pengaduk magnet, hot plate, rotary evaporator buchi R-114, seperangkat alat refluks. Analisis fosfolipid hasil isolasi dilakukan dengan lampu UV, FTIR Hewlet Packard, GC-MS Shimadzu QP 5000. Penentuan diagram tiga fasa dilakukan dengan seperangkat alat titrasi. Penentuan waktu pecah emulsi dan perubahan pH dilakukan dengan stopwatch dan pH meter.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah santan kelapa, aseton (teknis), heksana (teknis), isopropanol (teknis), butylated hidrositoluena (BHT), Na_2SO_4 anhidrat (p.a), kloroform (p.a), metanol (p.a), asam asetat (p.a), aquadest, aquabidest, plat kromatografi, kasein (p.a), albumin (p.a).

3.2. Cara Kerja

3.2.1 Isolasi Zat Pengemulsi pada Santan Kelapa

Santan kelapa dari 4 buah kelapa disentrifuge selama 10 menit untuk memisahkan krim dengan skim. Sebanyak 100 g krim yang diperoleh digunakan untuk isolasi zat pengemulsi dengan ditambah 200 mL aseton dingin lalu dihomogenisasi dengan pengaduk magnet selama 15 menit. Homogenat yang diperoleh disaring dengan pompa vakum menggunakan corong buchner. Residu yang diperoleh ditambah dengan 100 mL campuran isopropanol-heksana (2:3) dan 0,1 % BHT, kemudian diaduk di atas hotplate pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit. Setelah didinginkan kemudian disaring dengan pompa vakum. Residu pada kertas disiram dengan 30 ml campuran isopropanol-heksana (2:3). Filtrat yang diperoleh dicuci dengan Na_2SO_4 jenuh dan dipisahkan dengan ekstraksi kemudian dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat dan disaring. Pelarutnya diuapkan dengan rotary evaporator.

3.2.2 Identifikasi Fosfolipid Hasil Isolasi

Isolat yang diperoleh dianalisa awal dengan kromatografi lapis tipis (KLT) silika. Noda yang diperoleh diidentifikasi dengan lampu UV. Kemudian dianalisa lebih lanjut dengan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi-gugus fungsinya.

3.2.3 Penentuan pengaruh protein dalam suatu sistem emulsi minyak dalam air

Membuat campuran aquadest-fosfolipid dengan sembilan variasi perbandingan volume,

Tabel 2 variasi volume diagram tiga fasa

V_{air} (mL)	9	8	7	6	5	4	3	2	1
$V_{\text{fosfolipid}}$ (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

masing-masing campuran dititrasi dengan minyak hingga terbentuk dua fasa dalam campuran. Menentukan komposisi masing-masing komponen pada diagram tiga fasa dalam fraksi berat, dan membuat kurvanya yang menyatakan batas antara daerah dua fasa dengan daerah satu fasa.

Melakukan langkah di atas untuk campuran larutan protein-fosfolipid, dengan konsentrasi kasein atau albumin; 0 %; 1 %; 1,5 %; 2 %; lalu ditentukan perubahan komposisi fraksi beratnya dalam diagram tiga fasa.

3.2.4 Penentuan Pengaruh Protein dengan Konsentrasi tertentu Terhadap Waktu Pecahnya emulsi

Penentuan pengaruh protein terhadap kestabilan emulsi adalah dengan membuat sistem emulsi minyak-fosfolipid-larutan protein, lalu menentukan waktu pecahnya emulsi dari keadaan stabil sampai emulsi pecah. Sistem emulsi dibuat dengan volume minyak, fosfolipid, larutan kasein/albumin adalah 8; 0,5; 10 mL dan memvariasikannya pada konsentrasi larutan kasein dan albumin. Membuat grafik waktu pecah emulsi yang diplotkan dengan konsentrasi protein.