

BAB III

METODE PENELITIAN

Prinsip dari metode penelitian ini adalah menentukan pengaruh pemanasan fosfolipid hasil isolasi dari santan kelapa terhadap aktivitas antarmuka air-udara. Aktivitas tersebut ditentukan melalui pengukuran tegangan permukaan air dengan penambahan fosfolipid. Penelitian ini terbagi dalam tiga tahap, yaitu isolasi fosfolipid dari santan kelapa menggunakan ekstraksi pelarut, proses pemanasan fosfolipid hasil isolasi, dan pengukuran tegangan permukaan air dengan penambahan fosfolipid.

3.1. Variabel Penelitian

3.1.1. Variabel Tetap

- Perbandingan pelarut n-heksana-isopropanol.
- Waktu pemanasan fosfolipid.
- Temperatur sistem dalam pengukuran tegangan permukaan air.

3.1.2 Variabel Berubah

- Temperatur pemanasan fosfolipid.
- Konsentrasi fosfolipid pada pengukuran tegangan permukaan.

3.1.3 Parameter yang Dinilai

- Tegangan permukaan air

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Penelitian menggunakan peralatan gelas, blender, corong buchner, corong pisah, pompa vakum, kertas saring, pengaduk magnet, hot plate, rotary evaporator (Buchi R-114), aluminium foil. Analisis fosfolipid hasil isolasi dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dan FT-IR (Hewlett Packard). Pipa kapiler yang dilengkapi alat pengukur panjang digunakan untuk mengukur tegangan permukaan air.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah, buah kelapa, aseton (teknis), n-heksana (teknis), isopropanol (teknis), kloroform (p.a), asam asetat (p.a), metanol (p.a), butylated hidroksitoluena (BHT), Na_2SO_4 anhidrat (p.a), Plat Kromatografi Lapis Tipis silika gel GF254, akuades

3.3 Metode Kerja

3.3.1 Preparasi Santan Kelapa

Preparasi dilakukan melalui pembuatan santan kelapa dari 12 buah kelapa. Buah kelapa yang telah diparut diperas tanpa penambahan air. Santan kelapa didiamkan sehingga terbentuk dua lapisan yaitu krim dan skim. Krim yang diperoleh digunakan untuk isolasi zat pengemulsi.

3.3.2 Isolasi Zat Pengemulsi pada Santan Kelapa

Setiap 70 g krim yang diperoleh dilarutkan dalam 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 gelas beaker, kemudian ditambah dengan 75 mL campuran isopropanol-heksana (2 : 3) dan 0,1% BHT, campuran dipanaskan pada suhu 40 °C disertai pengadukan menggunakan pengaduk magnet selama 15 menit. Setelah didinginkan campuran disaring dengan pompa vakum menggunakan corong Buchner dan kertas saring. Residu yang tertinggal di kertas saring dibilas dengan 25 mL campuran isopropanol-heksana (2 : 3). Filtrat ditambahkan dengan Na₂SO₄ anhidrat dan disaring. Lapisan yang terbentuk dipisahkan menggunakan corong pisah. Isolat dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan pompa vakum pada 45 °C.

3.3.3 Analisa Fosfolipid

Isolat yang diperoleh dari tahap isolasi dianalisa awal dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan campuran pelarut kloroform, metanol, asam asetat, dan akuades dengan perbandingan 25 : 15 : 4 : 2 (v/v) ^[19]. Kemudian dianalisa lebih lanjut dengan Spektrofotometer Infra Merah Transformasi Forier (FTIR) untuk mengetahui gugus fungsinya.

3.3.4 Pemanasan Fosfolipid

Sejumlah fosfolipid hasil isolasi dari santan kelapa ditempatkan dalam cawan porselin. Pemanasan dilakukan pada variasi temperatur 40 – 200 °C dengan interval 20 °C selama 40 menit di dalam oven. Umumnya pemanasan terhadap senyawa organik menyebabkan perubahan yang dapat diamati secara fisik.

3.3.5 Pengukuran Tegangan Permukaan dengan Metode Pipa Kapiler

Pengukuran tegangan permukaan menggunakan metode pengukuran kapiler Gibbs. Akuades sebanyak 30 mL dimasukkan ke dalam gelas beaker, pipa kapiler yang dilengkapi skala panjang dimasukkan ke dalam gelas beaker berisi akuades, pipa kapiler dipasang hingga sebagian terendam dalam akuades. Perendaman dilakukan beberapa lama hingga tinggi permukaan akuades dalam pipa kapiler tetap. Selanjutnya diukur tinggi permukaan akuades dalam tabung dan di dalam pipa kapiler. Perbedaan tinggi kedua permukaan dicatat untuk menghitung tegangan permukaan air.

Fosfolipid tanpa pemanasan dan dengan pemanasan dilarutkan dalam akuades dengan perbandingan volume yang bervariasi yaitu pada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 % (v/v). Pengukuran tegangan permukaan dilakukan dengan perlakuan yang sama. Penentuan tegangan permukaan air dengan penambahan fosfolipid dilakukan dengan metode perbandingan terhadap tegangan permukaan air murni menggunakan persamaan 6. Data yang diperoleh diplotkan ke dalam grafik dengan sumbu absis merupakan konsentrasi fosfolipid dengan berbagai perbandingan volume dan sumbu ordinat merupakan tegangan permukaan air. Pengolahan data dilakukan menggunakan program Mathcad 2000 Profesional. Melalui pengukuran akan dilihat kecenderungan pengaruh pemanasan fosfolipid pada temperatur tertentu terhadap tegangan permukaan pada konsentrasi fosfolipid tertentu.