

BAB III

METODE PENELITIAN

Pada prinsipnya reaksi transesterifikasi dilakukan dengan merefluks lemak dengan metanol dan NaOH selama 45 menit. Jumlah NaOH yang ditambahkan divariasi dengan rasio berat terhadap lemak sebesar 0,05 %, 0,075 %, 0,1 %, 0,3 %, dan 0,5 %. Metil ester yang dihasilkan dipisahkan dari gliserol dengan corong pisah. Untuk mengetahui banyaknya metil ester yang dihasilkan dilakukan dengan menimbang metil ester. Lemak biji rambutan yang digunakan pada transesterifikasi diperoleh melalui ekstraksi berkesinambungan menggunakan ekstraktor sokslet dengan pelarut n-heksana.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro Semarang. Sedangkan analisis GC-MS untuk mengetahui komponen asam lemak penyusun lemak biji rambutan dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

Biji rambutan (*Nephelium Lappaceum*) yang digunakan berasal dari desa Candirejo, Tuntang. Pereaksi yang digunakan untuk penapisan fitokimia, yaitu : pereaksi

Meyer, FeCl_3 1 %, anhidrida asetat, asam sulfat pekat, NaOH 1 N. Sedangkan Bahan yang digunakan sebagai pelarut untuk mengekstrak lemak adalah n-heksana dan aquades. Sebagai agen pengering dalam pemurnian lemak digunakan Na_2SO_4 anhidrat. Ekstrak lemak dihilangkan asam lemak bebasnya menggunakan etanol 96 %. Untuk analisis komposisi asam lemak terlebih dahulu dilakukan transesterifikasi menggunakan pereaksi BF_3 -metanolat. Proses transesterifikasi lemak untuk menghasilkan metil ester menggunakan pereaksi metanol dan katalis NaOH .

3.1.2 Alat

Penelitian ini menggunakan peralatan laboratorium yang umum, satu set alat sokset untuk mengekstrak lemak, evaporator putar merk Buchii untuk menguapkan n-heksana, satu set alat titrasi digunakan untuk menentukan bilangan asam, satu set alat refluks untuk proses transesterifikasi, corong pisah untuk memisahkan fasa ester dan gliserol, GC-MS untuk menentukan komponen asam lemak penyusun lemak biji rambutan, dan neraca analitis untuk menimbang metil ester hasil.

3.2 Cara Kerja

3.2.1 Preparasi Awal Sampel

Biji rambutan yang telah dibersihkan diiris halus kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Biji yang telah kering dihaluskan, sehingga didapat serbuk biji rambutan.

3.2.2 Pembuatan Reagen Penapisan Fitokimia

Pereaksi yang dibuat untuk identifikasi golongan senyawa adalah sebagai berikut :

a. Pereaksi Liebermann-Burchad

Terdiri dari anhidrida asetat dan asam sulfat pekat.

b. Pereaksi Meyer

Merkuri klorida sebanyak 1,36 g ditambah pada larutan 5 g iodida (KI) dalam 10 mL aquades. Campuran keduanya diencerkan menjadi 100 mL dengan aquades. Disimpan dalam botol gelap.

c. Larutan 1 % FeCl_3

Ditimbang 1g FeCl_3 dan ditempatkan dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan aquades sampai dengan tanda batas.

3.2.3 Penapisan Fitokimia

Terhadap serbuk biji rambutan dilakukan penapisan fitokimia terhadap golongan alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, kuinon dan saponin.

a. Alkaloid

Sampel dimasukkan tabung reaksi kemudian ditambah pereaksi Meyer. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih.

b. Flavonoid

Sampel ditambah aquades kemudian dipanaskan hingga mendidih. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah serbuk Mg, 1 mL HCl

pekat, dan 2 mL amilalkohol. Larutan dikocok kuat Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah.

c. Tanin

Sampel ditambah dengan larutan 1 % FeCl_3 . Adanya tanin ditandai dengan timbulnya warna hijau violet.

d. Triterpenoid / Steroid

Sampel dimasukkan dalam cawan porselin dan ditambah 10 tetes anhidrida asetat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Adanya triterpenoid ditandai dengan perubahan warna merah ungu sedangkan warna biru menunjukkan adanya steroid.

e. Kuinon

Sampel ditambah beberapa tetes larutan 1 N NaOH. Adanya kuinon ditandai dengan terbentuknya warna merah.

f. Saponin

Sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air dan dididihkan. Kemudian tabung dikocok kuat-kuat. Adanya saponin ditunjukkan dengan adanya busa tetap selama 10 menit.

3.2.4 Ekstraksi Lemak dari Biji Rambutan

Seratus gram sampel yang telah dibungkus kertas saring dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi sokslet. Setelah itu, ekstraksi dilakukan dengan pelarut n heksan selama 8 jam pada suhu 70 - 80°C. Ekstrak dalam n heksan diambil dan dikeringkan

dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ anhidrat, sedangkan pelarutnya diuapkan dengan evaporator putar sehingga didapatkan lemak.

3.2.5 Preparasi Lemak

3.2.5.1 Penentuan Bilangan Asam

Empat gram lemak ditambah 10 mL etanol p.a dimasukkan ke dalam labu leher tiga yang dilengkapi dengan pengaduk magnetik, kondensor, dan tabung konektor yang berisi silika gel biru. Campuran dipanaskan selama 30 menit pada suhu $80\text{ }^\circ\text{C}$. Larutan yang sudah dingin dititrasi dengan NaOH 0,105 M dengan indikator pp.

$$\text{Bilangan asam} = \frac{b \times M \text{ NaOH} \times 40}{a}$$

b = volume NaOH yang dibutuhkan

a = berat cuplikan

3.2.5.2 Penghilangan FFA

Lemak diekstraksi dengan etanol 96 % dengan perbandingan volume 1 : 1. Fasa lemak dan fasa etanol dipisahkan. Terhadap lemak hasil ekstraksi dilakukan penentuan bilangan asam akhir.

3.2.5.3 Analisa Komponen Asam Lemak Penyusun Lemak

Lemak diubah menjadi metil ester asam lemak dengan pereaksi BF_3 -metanolat. Metil ester asam lemak dianalisis menggunakan GC-MS untuk mengetahui komposisi asam lemak penyusun lemak biji rambutan. Komposisi metil ester lemak ditentukan menggunakan GC-MS dengan kondisi operasi sebagai berikut: kolom CP-Sil 5CB, panjang 25 m, suhu kolom 100 - 270 °C, suhu injektor 280 °C, suhu detektor 280 °C, dan gas pembawa adalah Helium.

3.2.6 Proses Transesterifikasi

Sepuluh gram lemak murni dipanaskan sampai suhu refluks. Pada waktu yang bersamaan sejumlah tertentu NaOH, 0,05 %, 0,075 %, 0,1 %, 0,3 %, dan 0,5 % (persen berat terhadap berat lemak) dilarutkan dalam metanol dengan perbandingan mol metanol terhadap lemak 6 : 1. Campuran metanol dan NaOH dimasukkan ke dalam labu leher tiga yang berisi lemak. Waktu reaksi dihitung saat mulai pencampuran. Proses dihentikan setelah 45 menit. Setelah dingin, gliserol yang terbentuk di lapisan bawah dipisahkan.

3.2.7 Analisa Hasil

Randemen (*yield*) metil ester yang dihasilkan dalam reaksi transesterifikasi ini dapat diketahui dengan cara menimbang ester yang terbentuk. Ester diperoleh dengan memisahkan fasa ester dan fasa gliserol.