

BAB III

METODE PENELITIAN

Untuk mengetahui kinerja bentonit alami terhadap kualitas dan kuantitas minyak belut yang dihasilkan dari ekstraksi belut, dilakukan penelitian di Laboratorium Riset Kimia Makanan dan Material Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI selama kurang lebih 5 bulan yaitu sejak tanggal 3 November 2009 hingga Mei 2010.

Dalam penelitian ini digunakan belut sawah yang berasal dari Pasar Swamandiri Dimensi – Margaasih. Sedangkan bentonit yang digunakan adalah Ca-bentonit alami yang dikondisikan seperti aslinya (hanya dihilangkan uap air dengan pemanasan). Pada penelitian ini diharapkan dapat mengetahui kondisi optimum metode ekstraksi minyak ikan belut yang digunakan (gabungan metoda perebusan dan penambahan pelarut) dan cara pengontakan bentonit pada proses ekstraksi, sehingga diperoleh minyak belut yang lebih baik dari segi kualitas maupun kuantitas.

3.1. Alat dan Bahan

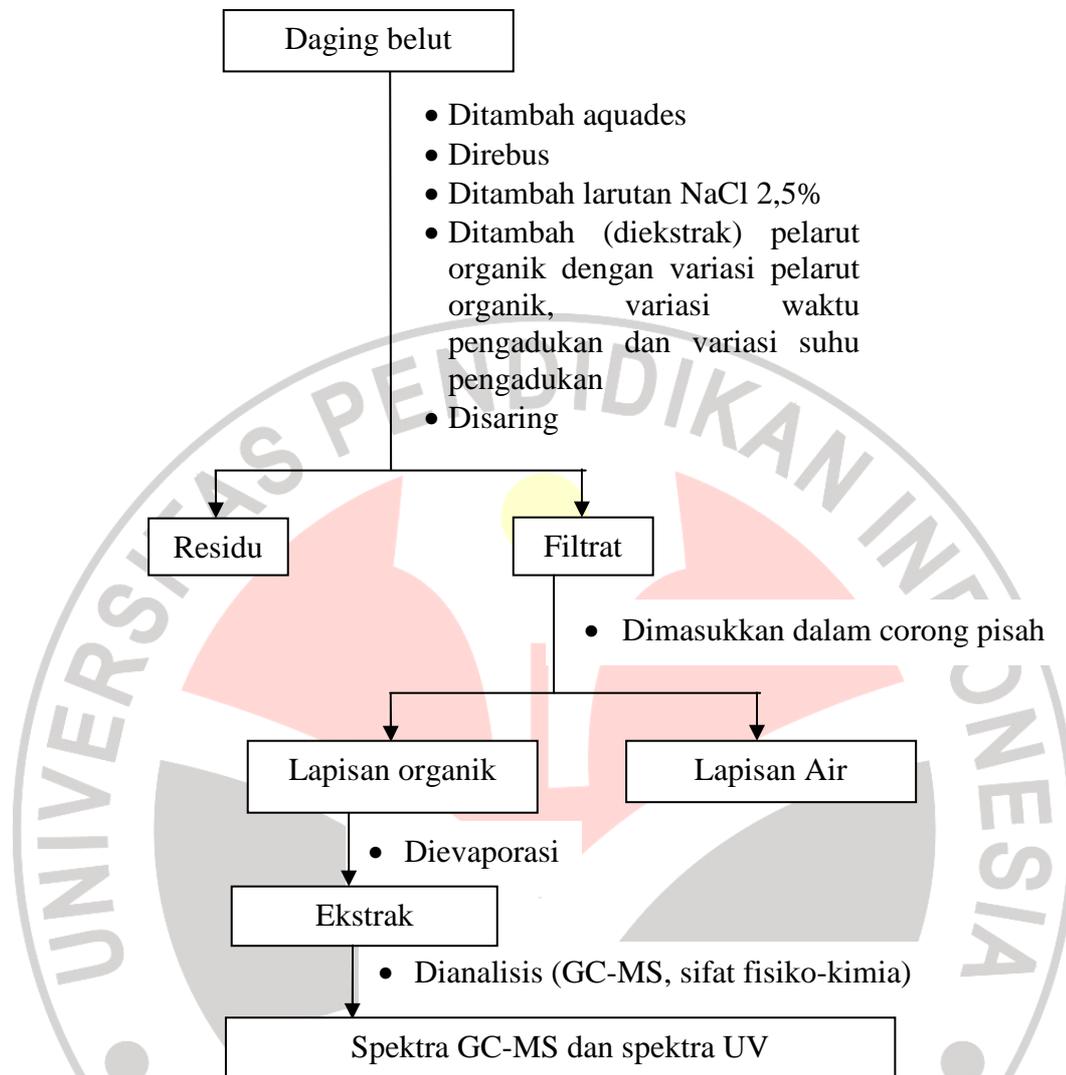
Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, talenan, sendok makan, neraca analitik, cawan porselen, desikator, pipet tetes, gelas ukur 10 mL; 50 mL; 100 mL, spatula, batang pengaduk, pemanas listrik, batang strirer, labu ukur 25 ml, corong kaca, pipet gondok 5 ml dan 2 ml, stop watch, buret 50 mL,

gelas kimia 50; 100; 250; 500 mL, labu Erlenmeyer 250 ml, evaporatory, instrument FTIR-8400 SHIMADZU dan Instrument GC - MS.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah belut, Ca-bentonit, akuades, kertas saring Whatmant no.1, kertas saring biasa, kloroform, metanol, etanol, HCl p.a, Na₂SO₄ anhidous, I₂ (butiran), CH₃COOH p.a, larutan standard Na₂S₂O₃ 0,01 N, larutan KI jenuh, amilum (serbuk), phenolptalien, K₂Cr₂O₇ 0,05 M, n-heksan, Na₂CO₃, KOH p.a (butiran), indikator MO, larutan standard HCl 0,5 M, BF₃ dalam methanol.

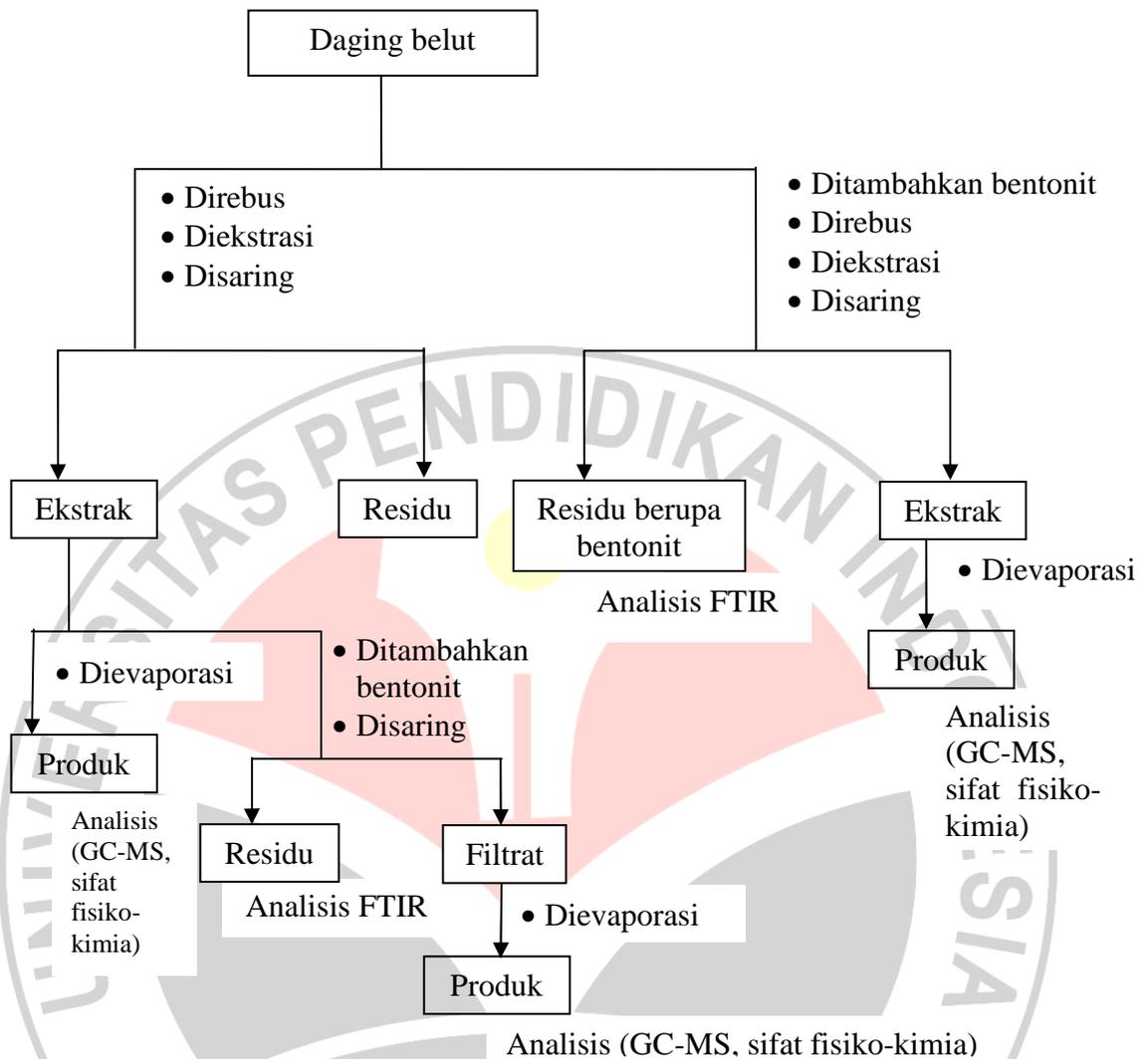
3.2. Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini dilakukan mencari kondisi optimum pengestraksi, kemudian metode pengontakan bentonit pada proses ekstraksi (perebusan dan *solvent extraction*), selanjutnya menganalisis hasil produk dan struktur bentonit. Untuk lebih jelasnya, penelitian ini melalui tahapan-tahapan yang secara garis besar digambarkan dalam bagan alir penelitian sebagai berikut.



Gambar 3.1 Bagan Alir Proses Optimasi Ekstraksi

Untuk mengetahui bagaimana pengaruh dari modifikasi pengontakan bentonit, maka dilakukan metode sesuai dengan bagan alir berikut;



Gambar 3.2 Bagan Alir Pengontakan Bentonit

3.3. Tahapan Penelitian

3.3.1. Preparasi Bentonit

Pada tahap ini, sekitar 70 gram Ca-bentonit yang tersedia, hanya dikeringkan agar bebas uap air, kemudian dimasukkan dalam wadah bersih dan kering serta ditutup rapat dan bentonit siap digunakan. Bentonit tersebut sebelum dan sesudah dikontakkan dalam minyak, diuji karakterisasinya dengan instrument FTIR-8400 SHIMADZU.

3.3.2. Preparasi Ikan Belut

Dalam penelitian ini, bagian dari ikan belut yang digunakan adalah bagian tubuh belut yang berupa daging. Sedangkan bagian kepala dan ekor belut tidak digunakan (dibuang). Untuk memudahkan dalam perebusan dan ekstraksi, maka daging belut dipotong dan dicincang kasar.

3.3.3. Ekstraksi Minyak dari Ikan Belut

Hal yang perlu diperhatikan dalam proses ekstraksi tersebut, yaitu:

- a. Penentuan pelarut yang paling baik dalam menghasilkan minyak,
- b. penentuan kondisi optimum ekstraksi (volume atau konsentrasi pelarut organik, suhu dan waktu pengadukan)

Dua hal tersebut diketahui berdasarkan kuantitas dan kualitas minyak yang diperoleh hasil ekstraksi.

A. Penentuan Larutan Pengekstrak Terbaik

Daging belut yang sudah bersih dan dicincang kasar sebanyak 5 gram dimasukkan dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambah 50 mL aquades, direbus selama 30 menit. Hasil rebusan yang telah dingin ditambahkan 10 mL larutan NaCl 2,5%, diaduk. Kemudian ditambahkan (diekstraksi) dengan berbagai jenis pelarut yang cocok seperti kloroform-metanol (1:2), eter, kloroform, dan heksan dengan volume yang digunakan sebanyak 30 mL untuk masing-masing pelarut. Residu berupa daging belut (ampas) dibuang, sehingga diperoleh filtratnya. Ekstrak distirer dalam penangas air pada suhu ruangan (25°C) selama 15 menit. Ekstrak kemudian dimasukkan dalam corong pisah, lapisan bawah yang diambil kemudian di evaporasi dengan menggunakan evaporator pada suhu 50°C .

Penggunaan pelarut yang baik dalam mengekstraksi minyak dari daging belut, dilihat dari randemen dan warna minyak yang diperoleh.

B. Penentuan Kondisi Optimum Ekstraksi

Setelah diperoleh pelarut yang cocok dalam mengekstraksi minyak belut, selanjutnya ditentukan kondisi optimum ekstraksi minyak seperti volume atau konsentrasi pelarut yang digunakan, suhu pengadukkan dan waktu pengadukan filtrat. Hasil optimasi ketiga penentuan tersebut berdasarkan randemen minyak yang diperoleh.

Penentuan Volume Pelarut

Sebanyak 5 gram daging belut bersih dan sudah dicincang, dimasukkan dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambahkan 50 mL (50 gram) aquades, direbus selama 30 menit. Hasil rebusan yang telah dingin ditambahkan 10 mL larutan NaCl 2,5% dan diaduk. Kemudian ditambahkan (diekstraksi) dengan variasi volume pelarut yang digunakan, yaitu 2 , 4 , 6 , 10 , 13 , 15 , 16 , dan 17 kali massa belut. Residu berupa daging belut (ampas) dibuang, sehingga diperoleh filtratnya. Ekstrak distirer dalam penangas air pada suhu ruangan (25 °C) selama 15 menit. Ekstrak kemudian dimasukkan dalam corong pisah, lapisan bawah yang diambil kemudian di evaporasi dengan menggunakan evaporator pada suhu 50 °C.

Penentuan Suhu Pengadukan Pelarut

Sebanyak 5 gram daging belut bersih dan sudah dicincang, dimasukkan dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambahkan 50 mL (50 gram) aquades, direbus selama 30 menit. Hasil rebusan yang telah dingin ditambahkan 10 mL larutan NaCl 2,5% dan diaduk. Kemudian ditambahkan (diekstrak) dengan pelarut

koloroform sebanyak sebesar volume pelarut pengestrak yang telah ditentukan (hasil optimasi). Residu berupa daging belut (ampas) dibuang, sehingga diperoleh filtratnya. Ekstrak distirer dalam penangas air dengan variasi suhu penangas sebesar 7, 25, 34, 43 dan 55 °C selama 15 menit. Ekstrak kemudian dimasukkan dalam corong pisah, lapisan bawah yang diambil kemudian di evaporasi dengan menggunakan evaporator pada suhu 50 °C.

Penentuan Waktu Pengadukan Pelarut

Sebanyak 5 gram daging belut bersih dan sudah dicincang, dimasukkan dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambahkan 50 mL (50 gram) aquades, direbus selama 30 menit. Hasil rebusan yang telah dingin ditambahkan 10 mL larutan NaCl 2,5% dan diaduk. Kemudian ditambahkan (diekstrak) dengan pelarut koloroform sebesar volume pelarut pengestrak yang telah ditentukan (hasil optimasi). Residu berupa daging belut (ampas) dibuang, sehingga diperoleh filtratnya. Ekstrak distirer dalam penangas air dengan suhu penangas sebesar suhu yang telah ditentukan (hasil optimasi) selama variasi waktu 5, 15, 30, 45, dan 60 menit. Ekstrak kemudian dimasukkan dalam corong pisah, lapisan bawah yang diambil kemudian di evaporasi dengan menggunakan evaporator pada suhu 50 °C.

3.3.4. Penentuan Kondisi Optimum Bentonit

Penentuan kondisi optimum bentonit diketahui berdasarkan warna, bau, dan bilangan peroksida, serta bilangan penyabunan (sebagai pelengkap) minyak ikan yang telah dikontakkan dengan bentonit. Tahap penentuan kondisi optimum ini sebagai tahap pendahuluan dimana data hasil optimasi yang diperoleh diaplikasikan pada tahap selanjutnya.

Penentuan Waktu Pengadukan

Sebanyak 30 gram minyak ikan dimasukkan dalam gelas kimia 100 mL, dan ditambahkan bentonit sebanyak 5% dari massa minyak ikan. Kemudian distirer dalam penangas air pada suhu penangas 26 °C, dengan variasi waktu pengadukan selama 5 menit, 15 menit, 30 menit, dan 60 menit. Setelah pengadukan, minyak disaring dengan menggunakan kertas saring biasa untuk memisahkan bentonitnya. Kemudian filtrat yang diperoleh, dianalisis warna, bau serta bilangan peroksidanya.

Penentuan Konsentrasi Penambahan Bentonit

Sebanyak 30 gram minyak ikan dimasukkan dalam gelas kimia 100 mL, dan ditambahkan bentonit dengan variasi konsentrasi 1%, 5%, 10%, 12%, 15% dari massa minyak ikan. Kemudian distirer dalam penangas air pada suhu penangas 26 °C, dengan waktu pengadukan yang telah ditentukan (hasil optimasi). Setelah pengadukan, minyak disaring dengan menggunakan kertas saring biasa untuk memisahkan bentonitnya. Kemudian filtrat yang diperoleh, dianalisis warna, bau serta bilangan peroksidanya.

Penentuan Suhu Pengadukan

Sebanyak 30 gram minyak ikan dimasukkan dalam gelas kimia 100 mL, dan ditambahkan bentonit dengan konsentrasi yang sudah ditentukan (hasil optimasi). Kemudian distirer dalam penangas air pada variasi suhu penangas 2 °C, 26 °C, 50 °C, dan 75 °C, dengan waktu pengadukan yang telah ditentukan (hasil optimasi). Setelah pengadukan, minyak disaring dengan menggunakan kertas

saring biasa untuk memisahkan bentonitnya. Kemudian filtrat yang diperoleh, dianalisis warna, bau serta bilangan peroksidanya.

Penentuan Bilangan Peroksida Minyak

Sebanyak 5 gram minyak, dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 mL, ditambahkan 30 mL pelarut (asam asetat : kloroform = 3:2) lalu digoyang sampai larut. Kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan jenuh KI, diamkan selama 1 menit. Lalu ditambahkan 30 mL aquades. Lalu dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N, sampai warna kuning hilang. Kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan kanji 1%, dan dititrasi sampai warna biru hilang.

Bilangan peroksida dalam minyak dapat ditentukan dari persamaan berikut :

$$\text{Milekivalen per 1000 gram} = \frac{A \times N \times 1000}{G}$$

Keterangan: A_1 = volume larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (natrium tiosulfat)
 N = normalitas larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (natrium tiosulfat)
 G = berat sampel minyak (gram)

Penentuan Bilangan Penyabunan Minyak

Sebanyak 5 gram minyak, dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 mL, ditambah 50 mL larutan KOH dalam etanol (40 gram KOH dalam 1 liter etanol). Dihubungkan dengan pendingin Liebig dan direfluks selama 30 menit (sampai tidak terdapat butir-butir lemak). Hasil refluks ditambah indikator fenolptalien, dititrasi dengan larutan standar HCl 0,5 N sampai warna merah muda menghilang. Bilangan penyabunan dalam minyak dapat ditentukan dari persamaan berikut :

$$\text{Bilangan penyabunan (milligram KOH/gram)} = \frac{(V_0 - V_1) \times N \text{ HCl} \times \text{Mr KOH}}{m}$$

Keterangan: V_0 = volume HCl yang digunakan untuk menitar blanko
 V_1 = volume HCl yang digunakan untuk menitar sampel
 N = normalitas HCl yang digunakan
 Mr KOH = 56,1 gram/ mol
 m = bobot sampel

3.3.5. Pengontakan dengan Bentonit

Dalam penelitian ini pengontakan bentonit dilakukan dalam proses ekstraksi, yaitu ketika perebusan daging belut

Pengontakan Bentonit Dalam Tahap Perebusan

Sebanyak 5 gram daging belut bersih dan sudah dicincang, dimasukkan dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambahkan 50 mL (50 gram) aquades dan bentonit sebanyak 10% dari massa belut, direbus sampai mendidih selama 30 menit. Hasil rebusan yang telah dingin ditambahkan 10 mL larutan NaCl 2,5% dan diaduk. Kemudian diekstraksi dengan pelarut organik (kloroform) dengan kondisi yang telah optimum. Setelah disaring, Ekstrak dimasukkan dalam corong pisah, lapisan bawah yang diambil kemudian di evaporasi dengan menggunakan evaporator pada suhu 50 °C. Sedangkan residu yang ada, dipisahkan antara bentonit dan daging belut yang telah direbus.

Pengontakkan Bentonit setelah Tahap Penambahan Pelarut (dalam Fasa Organik)

Sebanyak 5 gram daging belut bersih dan sudah dicincang, dimasukkan dalam gelas kimia 250 mL lalu ditambahkan 50 mL (50 gram) aquades, direbus sampai mendidih selama 30 menit. Hasil rebusan yang telah dingin ditambahkan 10 mL larutan NaCl 2,5% dan diaduk. Kemudian diekstraksi dengan pelarut

organik (kloroform) dengan kondisi yang telah optimum. Setelah disaring, ekstrak terlebih dahulu ditambahkan bentonit dengan kondisi yang telah ditentukan. Sebelum dimasukkan dalam corong pisah, ekstrak disaring sehingga bentonit terpisah. Lapisan organik yang diperoleh, lalu dievaporasi pada suhu 50 °C dengan menggunakan evaporasi.

3.3.6. Analisis Karakterisasi Minyak

Analisis karakterisasi minyak ini meliputi pengujian sifat fisiko-kimia minyak (warna, bau, dan bilangan peroksida), serta Instrumentasi GC-MS terhadap minyak yang diperoleh. Analisis dengan GC-MS dilakukan selain dapat mengetahui kandungan asam lemak dalam minyak belut, juga dapat mengetahui ada tidaknya pengaruh bentonit terhadap minyak belut.

Pengujian warna dan bau

Warna dan bau minyak belut yang diperoleh, hanya dengan membandingkan saja antara minyak yang dikontakkan bentonit dengan minyak tanpa dikontakkan bentonit.

Penentuan Bilangan Peroksida

Cara kerja penentuan bilangan peroksida pada tahap ini sama dengan penentuan bilangan peroksida minyak pada subbab 3.3.4, yaitu sebanyak 5 gram masing-masing minyak belut, dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 mL, ditambahkan 30 mL pelarut (asam asetat : kloroform = 3:2) lalu digoyang sampai larut. Kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan jenuh KI, diamkan selama 1 menit. Lalu ditambahkan 30 mL aquades. Lalu dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N,

sampai warna kuning hialang. Kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan kanji 1%, dan dititrasi sampai warna biru hilang.

Bilangan peroksida dalam minyak dapat ditentukan dari persamaan berikut :

$$\text{Miliiekivalen per 1000 gram} = \frac{A \times N \times 1000}{G}$$

Keterangan: A_1 = volume larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (natrium tiosulfat)
 N = normalitas larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (natrium tiosulfat)
 G = berat sampel minyak (gran)

Pengukuran warna dengan absorbansi UV-VIS

Minyak belut yang diperoleh (non kontak dan kontak dengan bentonit) dimasukkan dalam labu ukur sebanyak 0,2 gram. Kemudian dilarutkan menggunakan kloroform sampai tanda batas dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS mini Shimadzu.

Analisis dengan instrument GC-MS

Minyak yang diperoleh kemudian ditambahkan BF_3 dalam methanol dengan perbandingan 1:3. kemudian di stirrer dan dipanaskan pada suhu 50^0 selama kurang lebih 1 jam. Setelah itu, baru diinjeksikan atau diuji dengan menggunakan instrument GC-MS.

3.3.7. Analisis Karakterisasi Bentonit

Penentuan gugus fungsi yang terdapat pada bentonit alami yang tidak dikontakkan dan yang dikontakkan dalam tahap ekstraksi menggunakan metoda pellet KBr dengan alat FTIR-8400 SHIMADZU.