

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI ZAT PENGEMULSI PADA EMULSI SANTAN KELAPA

(An Isolation and Identification of Emulsifier in Coconut Milk Emulsion)

Dwi Hudiyanti, Nies Suci Mulyani, Enny Fachriyah

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi zat pengemulsi yang terdapat dalam sistem emulsi santan kelapa. Isolasi phospholipida dilakukan dengan metode ekstraksi solven menggunakan campuran heksana-isopropanol (3:2) pada $T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ekstrak yang diperoleh lalu diuji dengan TLC. Identifikasi komponen-komponen zat pengemulsi, phospholipida (phosphogliserida), dilakukan dengan memisahkan komponen-komponen asam lemaknya dengan cara penyabunan dengan NaOH metanolik 0,5 M. Setelah itu asam-asam lemak yang diperoleh diesterifikasi sehingga terbentuk metil esternya. Senyawa metil ester dari asam lemak ini yang kemudian diidentifikasi dengan GC-MS. Dari hasil analisa dapat disimpulkan bahwa zat pengemulsi pada santan kelapa kemungkinan terdiri dari lebih dari satu senyawa phospholipida yang bersifat amphiphilik. Senyawa tersebut pada bagian polarnya memiliki gugus amina dan pada bagian non polarnya (R_1 dan R_2) merupakan residu asam lemak : asam kaprilat (oktanoat, C_8), asam kaprat (dekanat, C_{10}), asam laurat (dodekanoat, C_{12}), asam miristat (tetradekanoat, C_{14}), dan asam palmitat (heksadekanoat, C_{16}).

ABSTRACT

The purpose of this research is to isolate and identify emulsifier agent in coconut milk emulsion system. Isolation of phospholipid was done by solven extration using hexane-isopropanol mixture (3 : 2) at $T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$. The extract then was investigated by TLC. Identification of its components was done by breaking its fatty acids with NaOH methanolic 0,5 M, by saponification process. After that they were esterified so they would form their methyl ester. These methyl ester compounds from the fatty acids then were analysed by GC-MS. It was concluded that emulsifier agent in coconut milk emulsion might be consist of more than one phospholipid compound which were amphiphilic. The polar part had amine group and the non polar part were residu of fatty acids : caprylic acid (octanoic, C_8), capric acid (decanoic, C_{10}), Lauric acid (dodecanoic, C_{12}), myristic acid (tetradecanoic, C_{14}) and palmitic (hexadecanoic, C_{16}).

Key words : emulsifier, coconut milk

I. PENDAHULUAN

Peranan zat pengemulsi pada industri pangan sangatlah penting karena substansi tersebut menentukan kestabilan dari suatu produk pangan yang dihasilkan. Misalnya pada susu, margarin, es krim dan lain-lainnya, zat pengemulsi berfungsi untuk menjaga agar sistim emulsi pada produk tersebut tidak cepat rusak (pecah).

Santan Kelapa yang merupakan emulsi minyak dalam air merupakan suatu emulsi alam yang relatif stabil⁽⁴⁾. Hal ini dapat diartikan bahwa zat

pengemulsi dalam sistem tersebut mempunyai kemampuan untuk mengemulsikan dengan baik, oleh karena itu maka zat pengemulsi dalam sistem tersebut merupakan zat pengemulsi yang potensial untuk dimanfaatkan dalam industri pangan. Hal-hal diatas menunjukkan perlunya dilakukan isolasi dan identifikasi dari zat pengemulsi dalam emulsi santan kelapa sehingga dengan perlakuan lebih lanjut nantinya substansi tersebut dapat dipergunakan sebagai zat pengemulsi alternatif pada industri

pangan. Berbagai zat pengemulsi digunakan dalam industri makanan untuk mendapatkan kestabilan, baik jangka pendek (pada saat pembuatan) maupun jangka panjang (pada saat penyimpanan produk). Secara komersial, zat pengemulsi seringkali digunakan berdasarkan pada kemampuannya untuk menurunkan tegangan antarmuka dari dua fasa sehingga memudahkan terbentuknya emulsi. Terdapat tiga tipe umum surfaktan yang digunakan pada makanan: protein, polisakarida ter-substitusi dan poliol derivatif dari asam lemak. Protein biasanya ada pada hampir semua koloida makanan, dan menjadi kelas terpenting pada surfaktan makanan, karena pada banyak kasus merupakan zat penstabil yang utama. Cara protein teradsorpsi dan susunan pada antar muka berperan penting pada sifat-sifat koloida makanan. Efek surfaktan bermolekul kecil adalah untuk mengubah sifat-sifat surfaktan polimerik^(6,7) (baik protein maupun polisakarida).

Birose et al⁽¹⁾ menyatakan bahwa zat pengemulsi dalam santan kelapa adalah kompleks garam phospholipida yang memberikan sifat khas warna putih. Mereka juga menyatakan bahwa zat pengemulsi tersebut mempunyai sifat sebagai pembentuk emulsi dengan tipe air dalam minyak dengan kenampakan dan sifat yang sama seperti santan kelapa.

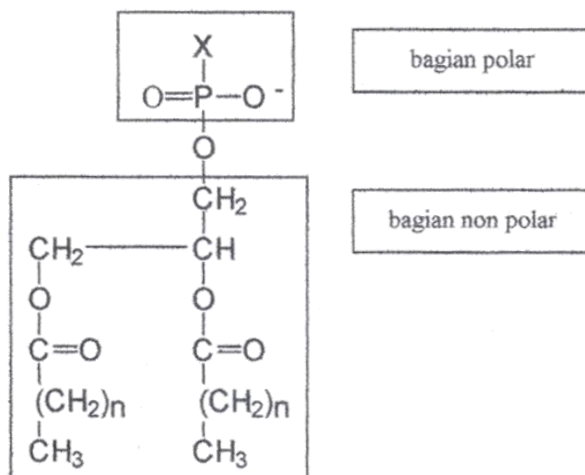
Sistem emulsifer-stabiliser dari emulsi santan kelapa telah dipelajari oleh Birose et. al.⁽²⁾. Telah diketahui bahwa globula minyak dalam santan kelapa tertutupi oleh cairan yang terdiri dari phospholipid cepalin sebagai emulsifier, sodium klorida dan suatu protein yang belum diketahui yang tidak mengandung asam amino sulfurat. Struktur emulsi santan kelapa dapat digambarkan sebagai berikut⁽²⁾ : molekul-molekul phospholipida cepalin menempati lapisan pertama pada permukaan minyak dengan bagian hidrofobnya pada air. Ion-ion klorida adalah ion counter dan protein hidrat yang belum diketahui membentuk lapisan terluar. Phospholipida adalah lipida yang mengandung gugus phosphat. Phospholipida yang gugus phosphat dan asam lemaknya teresterifikasi dengan gliserol disebut phosphoglisericida sedangkan jika alkoholnya adalah sphibgosine disebut sebagai sphingophospholipida. Phosphoglisericida adalah kelas yang paling umum dari lipida majemuk dan mengandung residu asam phosphat (gugus phosphat) dan dua asam lemak yang teresterifikasi pada gliserol. Pada gugus phosphat terikat alkohol amina yang sering disebut basa nitrogen berupa serine, cholin atau ethanolamin atau kadang-kadang monometil atau dimetil derivatif dari ethanolamin, tabel 1.

Tabel 1. Phosphoglisericida yang mengandung N⁽³⁾

Nama	Basa nitrogen	Keterangan
Phosphatidyl cholines	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	Umumnya disebut lesitin
Phosphatidyl ethanolamines	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+\text{H}_3$	Nama trivialnya adalah cephalin. Terdapat juga derivatif dari methyl dan dimethyl ethanolamin
Phosphatidyl serines (atau threonine)	$-\text{CH}_2\text{CHN}^+\text{H}_3\text{COOH}$	Biasanya terisolasi sebagai garam-garam dengan K^+ , Ca^{2+} , Na^+ , atau Mg^{2+}

Phosphogliserida adalah agen pengemulsi yang baik karena gugus polar phosphatnya dan adanya gugus yang terikat pada gugus tersebut yang

kemungkinan juga bermuatan, membuat salah satu ujung molekul sangat hidrofil sedang lainnya tersusun dari gugus hidrofob yang besar, gbr 1.



Gambar 1. Struktur phosphogliserida, x = basa nitrogen

Atas dasar hal-hal diatas maka pada makalah ini akan dibahas tentang isolasi zat pengemulsi pada santan kelapa, dalam hal ini adalah senyawa phospholipidanya, serta identifikasi gugus fungsi yang menyusun bagian polar dan non polar dari senyawa tersebut.

seperangkat GC-MS untuk analisa hasil reaksi.

II. METODE PENELITIAN

II.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sbb : juicer dan blender untuk membuat santan kelapa dari buah kelapa segar, centrifuge untuk memekatkan santan sehingga diperoleh krim santan, corong buchner dan pompa vakum untuk penyaringan, pemanas listrik untuk memanaskan campuran, corong pisah untuk ekstraksi, rotary evaporator untuk menguapkan solven sehingga diperoleh larutan yang lebih pekat, seperangkat alat refluks untuk proses penyabunan dan esterifikasi serta

II.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sbb : sampel buah kelapa segar, aseton, heksana, isopropanol, kloroform, dietil eter, metanol, BHT, kertas saring whatman no. 42, Na₂SO₄ anhidrat, TLC jenis silika gel, ninhidrin, NaOH, NH₄Cl, H₂SO₄, es dan aquadest.

II.3 Cara Kerja

II.3.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan membuat santan kelapa menggunakan juicer dari dua buah kelapa segar seberat 2,2 kg. Kemudian santan kelapa yang diperoleh dipekatkan dengan cara memisahkan fasa airnya menggunakan centrifuge. Hasil yang diperoleh merupakan santan kelapa dengan jumlah fasa air yang lebih kecil dan umumnya disebut krim santan.

Selanjutnya krim inilah yang digunakan sebagai sampel pada prosedur kerja selanjutnya. Preparasi ini dilakukan pada suhu dan tekanan ruang.

II.3.2 Isolasi Zat Pengemulsi

Isolasi zat pengemulsi dari krim santan dilakukan dengan metode ekstraksi solven menggunakan campuran heksana-isopropanol⁽⁵⁾. Langkah-langkah yang dilakukan dapat dijabarkan dalam uraian berikut : 20 g krim dimasukkan ke dalam blender kemudian ditambah aseton dingin dengan suhu 10,5 °C sebanyak 100 ml. Campuran dihomogenisasi selama lebih kurang 1 menit sampai diperoleh campuran yang homogen. Homogenat kemudian disaring dengan pompa vakum menggunakan corong buchner dan kertas saring whatman no. 42. Residu yang diperoleh, sebanyak 1,4 g, ditambah 0,1 % berat BHT dan campuran heksana-isopropanol (3:2) sebanyak 25 ml. Campuran lalu diaduk dengan pengaduk magnet pada suhu 40 °C. Hasil yang diperoleh kemudian disaring dengan pompa vakum menggunakan corong buchner dan kertas saring whatman no. 42. Residu dari penyaringan tersebut diatas dicuci dengan campuran heksana-isopropanol sebanyak 10 ml. Ekstrak yang didapat, 18 ml, dicuci dengan 7-10 % Na₂SO₄ sehingga diperoleh dua lapisan yaitu lapisan air dan lapisan heksana. Lapisan heksana sebanyak 14 ml dikeringkan dengan Na₂SO₄ anhidrat. Larutan kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator dengan vakum pada suhu 45 °C sehingga diperoleh cairan dengan volume 8 ml. Cairan bening tidak berwarna yang diperoleh diperkirakan merupakan zat pengemulsi dalam hal ini adalah phosphogliserida yang ada pada santan

kelapa. Cairan ini kemudian diuji dengan TLC.

Pengujian dengan TLC jenis silica gel GF₂₅₄ menggunakan beberapa pelarut yaitu : heksana, kloroform, dan dietil eter. Kemudian identifikasi spotnya menggunakan larutan ninhidrin dengan cara disemprotkan pada plat yang telah diberi noda dan dilusi dengan pelarut-pelarut diatas lalu plat dipanaskan pada suhu 100 °C selama 2-3 menit sehingga terlihat adanya noda ungu.

II.3.3 Identifikasi Zat Pengemulsi

Pada prosedur ini zat pengemulsi yang diasumsikan sebagai phospholipida (phosphogliserida) dipisahkan komponen-komponen asam lemaknya dengan cara penyabunan. Setelah itu asam-asam lemak yang diperoleh diesterifikasi sehingga terbentuk metil esternya. Senyawa metil ester dari asam lemak ini yang kemudian diidentifikasi dengan GC-MS.

Secara lengkap langkah-langkah yang dilakukan adalah : 100 mg phosphogliserida hasil isolasi ditambah dengan 5 ml 0,5 M NaOH metanolik. Kemudian campuran direfluks sampai mendidih selama lebih kurang 5 menit. Setelah itu campuran ditambah dengan reagen esterifikasi sebanyak 15 ml dan dididihkan kembali selama 15 menit. Setelah dingin campuran ditambah 50 ml air dan 25 ml heksana dan dimasukkan ke dalam corong pisah lalu dikocok. Lapisan heksana yang diperoleh dikeringkan dengan dengan Na₂SO₄ anhidrat. Larutan yang diperoleh dipekatkan dengan rotory evaporator sehingga volumenya menjadi 0,5 ml. Larutan ini, merupakan senyawa metil ester dari asam lemak hasil pemecahan phosphogliserida dari santan kelapa, kemudian dianalisa dengan GC-MS.

Kondisi operasi GC yang digunakan adalah :

Jenis Pengionan: EI (Electron Impact) 70 eV; Suhu Ditektor: 280 °C; Gain: 1,5 Kva; Injeksi: Split (40 : 1), 1 µL; inlet 270 °C; Jenis Kolom: DB-1 (100 % Dimethylpolysiloxane) 30 m x 0,25 mm x 0,33 µm; Oven: 100 °C (5 menit) s/d 260 °C kenaikan 10 °C/menit; Gas Pembawa: Helium 15 Kpa. 0,5 ml/menit, constan flow
Reagen esterifikasi dibuat dengan mencampurkan NH₄Cl sebanyak 2 g dengan 60 ml metanol dan 3 ml H₂SO₄ pekat sampai terbentuk larutan homogen

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian noda pada TLC hasil ekstraksi dengan beberapa solven memberikan hasil sbb:

- heksana : noda relatif tidak bergerak, identifikasi dengan ninhidrin memberikan warna ungu
- kloroform : noda relatif tidak bergerak, identifikasi dengan ninhidrin memberikan warna ungu
- dietil eter : tidak terlihat adanya noda, pemeriksaan dengan UV (250 nm) menunjukkan bahwa seluruh sampel telah terbawa naik
- kloroform-metanol-air (5:5:1) : tidak terlihat adanya noda, seluruh sampel telah terbawa naik

Dari pengujian tersebut terlihat bahwa hasil yang diperoleh merupakan satu senyawa, karena hanya diperoleh satu noda, yang relatif polar terhadap heksana dan kloroform namun polaritasnya tidak terlalu besar sehingga dengan mudah dapat terbawa oleh pelarut dietil eter yang sebenarnya mempunyai kepolaran sedikit lebih besar dari kloroform. Selain itu identifikasi dengan ninhidrin

menunjukkan bahwa senyawa tersebut mengandung gugus amina.

Kemungkinan lain dari hasil diatas adalah bahwa diperoleh lebih dari satu senyawa, jadi merupakan suatu campuran, namun demikian senyawa-senyawa tersebut mempunyai polaritas yang sangat berdekatan sehingga diperlukan solven yang lebih kompleks untuk memisahkannya. Kemungkinan ini didukung oleh hasil analisa dengan GC.

Analisa GC memberikan 5 puncak pada kromatogram yang berarti bahwa terdapat 5 ester asam lemak yang dihasilkan dari reaksi esterifikasinya. Sedangkan setiap satu molekul phospholipida maksimal hanya memiliki 2 residu asam lemak, jika R₁ ≠ R₂. Dengan demikian maka diperkirakan phospholipida yang diperoleh pada ekstraksi ada lebih dari satu senyawa namun mempunyai polaritas yang berdekatan. Untuk memisahkannya maka diperlukan cara yang lebih kompleks misalnya dengan kromatografi kolom menggunakan campuran solven dengan perbandingan yang diatur sedemikian rupa sehingga mempunyai polaritas yang sesuai.

Hasil analisis spektrokopi massa terhadap masing-masing puncak tersebut menunjukkan pola fragmentasi dari : asam kaprilat (oktanoat, C₈), asam kaprat (dekanoat, C₁₀), asam laurat (dodekanoat, C₁₂), asam miristat (tetradekanoat, C₁₄), dan asam palmitat (heksadekanoat, C₁₆). Dari hasil ini terlihat bahwa residu asam lemak dari phospholipida, R₁ dan R₂, hasil isolasi bersesuaian dengan komponen asam lemak yang ada dalam minyak kelapa. Dengan demikian berarti bahwa phospholipida hasil isolasi dari santan kelapa tersebut mempunyai bagian yang polar serta bagian non polar. Bagian yang polar merupakan suatu

gugus amina yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan air karena adanya pasangan elektron bebas pada atom N. Sedangkan bagian non polarnya mempunyai komponen yang sesuai dengan komponen penyusun minyak kelapa sehingga bagian ini dapat larut pada minyak tersebut. Hal-hal di atas menyebabkan phospholipida tersebut dapat dengan mudah berada pada antar muka minyak kelapa dan air. Sehingga emulsi yang terbentukpun relatif stabil.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil analisa dapat disimpulkan bahwa zat pengemulsi pada santan kelapa kemungkinan terdiri dari lebih dari satu senyawa phospholipida yang pada bagian polarnya memiliki gugus amina dan pada bagian non polarnya (R_1 dan R_2) merupakan residu asam lemak laurat, miristat, kaprilat, kaprat, dan palmitat.

Untuk mendapatkan hasil yang lebih representatif terdapat beberapa hal yang perlu ditindaklanjuti diantaranya adalah : penggunaan kolom kromatografi setelah ekstraksi sehingga dapat diperoleh senyawa murni bukan merupakan campuran, serta penggunaan enzim phospholipase untuk pemecahan asam lemaknya sehingga dapat ditentukan strukturnya dengan baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Proyek Penelitian Dosen Muda yang telah memberikan bantuan dana untuk penelitian ini (No.Kontrak:051/P2IPT/DPPM/98/LITM UD/V/98) serta kepada sdr. Basuki Ariadi yang telah membantu pengambilan data pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Birosel, D.M., and Ferro, V.O. (1977) An. Farm. Quim. S. Paulo, 17 : 2, pp. 9
2. Birosel, D.M., Gonzales, A.L. and Santos, M.P. (1963) Philip. J. Scie., 92 : 1, pp.1
3. Holme, D.J. and Peck, H. (1994) Analytical Biochemistry, Longman Scientific & Technical, Essex, pp. 432-434
4. Hudyanti, D (1994) *A Study of Coconut Milk Emulsion*, Thesis, University of Bristol, Bristol, UK
5. Radin, N. (1981) in Methods in Enzymology, vol. 72, ed. by M. Lowenstein, Academic Press, New York, pp. 5-7
6. Walstra, P. and Oortwijn, H. (1975) Neth. Milk Dairy J., 29, pp. 263
7. Zadow, J.G. and Kiesecker, F.G., (1975) Aust. J. Dairy Technol., 30, pp. 114.