

3. METODOLOGI

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Desa Rembang, Kecamatan Rembang, Kabupaten Pasuruan. Analisis kadar rendemen dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas MIPA UMM. Analisis indeks bias, bobot jenis, dan kromatografi gas dan spektrometri massa (GC-MS) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA UGM. Penelitian berlangsung pada bulan Januari sampai dengan Mei 2012.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah refluks, rotary evaporator, refraktometer Abbe, piknometer, GCMS-QP2010S SHIMADZU, timbangan analitik, gelas ukur, loyang, kain saring, aluminium foil, kuas, gunting, dan kamera digital.

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian adalah bunga sedap malam kultivar tunggal (Roro Anteng) dan kultivar ganda (Dian Arum) dengan tingkat kemekaran 75 – 100 % yang di peroleh dari petani di daerah tersebut. Sedangkan bahan lemak yang digunakan sebagai absorbent ialah snow white (mentega putih), lemak sapi, lemak kambing dan alkohol 95 %. Jenis varietas bunga sedap malam, tingkat kemekaran dan jenis lemak dapat dilihat pada Lampiran 2 dan Lampiran 3.

3.3 Metode penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), terdiri dari 6 perlakuan yang diulang sebanyak 3 kali. Perlakuan tersebut adalah:

1. Varietas roro anteng + snow white
2. Varietas roro anteng + lemak sapi
3. Varietas roro anteng + lemak kambing
4. Varietas dian arum + snow white
5. Varietas dian arum + lemak sapi
6. Varietas dian arum + lemak kambing

3.3.2 Pelaksanaan penelitian

Prosedur ekstraksi sedap malam menggunakan metode *enfleurasi* (Suryani, 1999) adalah sebagai berikut:

- a. Menyiapkan bunga yang telah disortasi.
- b. Menyediakan loyang yang digunakan untuk proses *enfleurasi*.
- c. Menyiapkan absorben sebanyak 600 gram, kemudian dioleskan merata diatas permukaan loyang setebal 0.5 cm. Supaya penyerapan minyak optimal, lapisan lemak dingin dibuat goresan.
- d. Menaburkan bunga sedap malam sebanyak 500 gram secara merata di atas permukaan lemak secara terbalik dan diatur hingga seluruh permukaan lemak tertutup bunga.
- e. Loyang kemudian ditutup rapat dan dibiarkan selama 24 jam pada suhu ruang.
- f. Setelah 24 jam bunga layu dikeluarkan dari loyang. Bunga layu kemudian diganti dengan yang baru, penggantian bunga harus dikerjakan dengan hati – hati agar tidak merusak lemak.
- g. Lemak yang mengandung aroma bunga atau disebut dengan *pomade* kemudian diambil dari loyang menggunakan spatula dan dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup.
- h. *Pomade* dilarutkan dalam alkohol 95% dengan menggunakan perbandingan 1:2, dipanaskan pada suhu 30°C dengan menggunakan alat refluks sambil diaduk hingga minyak atsiri larut dalam alkohol dan terpisah antara lemak dan minyaknya selama 3 jam.
- i. Untuk memisahkan lemaknya, wadah disimpan dalam lemari pendingin bersuhu 15°C. Filtrat yang sudah terpisah kemudian dilakukan penyaringan, filtrat hasil penyaringan disebut ekstrak.
- j. Larutan jernih yang mengandung minyak dievaporasi dengan evaporator vakum pada suhu rendah sampai diperoleh larutan kental (absolute).

Adapun proses pembuatan minyak atsiri bunga sedap malam dengan menggunakan metode lemak dingin atau *enfleurasi* dapat dilihat pada Lampiran

4.

3.4 Pengamatan

3.4.1 Rendemen

Perbandingan antara volume minyak atsiri yang diperoleh dengan berat bahan yang di ekstraksi.

Perhitungan:

$$\text{Rendemen \%} : \frac{\text{Bobot absolute (gram)}}{\text{Bobot bahan (gram)}} \times 100$$

3.4.2 Indeks bias

Indeks bias pada minyak digunakan sebagai parameter mutu, karena mempunyai nilai yang tetap pada sampel minyak yang murni pada kondisi suhu dan tekanan yang tetap. Indeks bias menggambarkan sifat fisik dan kimia yang berhubungan dengan struktur dan komposisi senyawa organik penyusunnya. Alat yang digunakan untuk memeriksa indeks bias suatu senyawa disebut refraktometer abbe.

Langkah – langkah dalam menggunakan refraktometer Abbe adalah sebagai berikut:

1. Membersihkan permukaan prisma refraktometer dengan aquades dan tissue.
2. Meneteskan senyawa cair pada permukaan prisma. Menutupnya dan membiarkan berkas cahaya memasuki dan melewati senyawa cair.
3. Mengatur pisma agar warna cahaya pada layar dalam alat tersebut menjadi dua warna dengan batas yang jelas.
4. Menggeser tanda batas dengan menggunakan knop pengatur pada refraktometer sampai memotong titik perpotongan dua garis diagonal yang saling berpotongan.
5. Mengamati dan membaca skala indeks bias yang terlihat pada refraktometer. Skala dibaca pada ketelitian 0.0002. Pengukuran diatas atau di bawah suhu 20°C menggunakan faktor koreksi sebesar 0.0004.

3.4.3 Bobot Jenis

Bobot jenis merupakan salah satu kriteria penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Nilai bobot jenis minyak atsiri didefinisikan sebagai perbandingan antara berat minyak dengan berat air pada volume air yang sama dengan volume minyak pada yang sama pula. Bobot jenis sering dihubungkan

dengan fraksi berat komponen-komponen yang terkandung didalamnya. Semakin besar fraksi berat yang terkandung dalam minyak, maka semakin besar pula nilai densitasnya.

Bobot jenis suatu zat dapat ditentukan dengan menggunakan alat piknometer. Terdapat beberapa macam ukuran dari piknometer, tetapi biasanya volume piknometer yang banyak digunakan adalah 10 ml, dimana nilai volume ini valid pada temperatur yang tertera pada piknometer tersebut.

Tata cara menggunakan alat piknometer untuk menentukan massa jenis suatu zat :

1. Menimbang piknometer dalam keadaan kosong.
2. Memasukkan fluida yang akan diukur massa jenisnya ke dalam piknometer tersebut.
3. Menutup piknometer apabila volume yang diisi sudah tepat.
4. Menimbang massa piknometer yang berisi fluida tersebut.
5. Menghitung massa fluida yang dimasukkan dengan cara mengurangkan massa pikno berisi fluida dengan massa pikno kosong.
6. Setelah mendapatkan data massa dan volume fluidanya, kita dapat menentukan nilai rho/massa jenis (ρ) fluida dengan persamaan: $\rho = m/v$
7. Membersihkan dan mengeringkan piknometer.

3.4.4 Analisis Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC-MS)

Prinsip :

Kromatografi gas adalah suatu teknik pemisahan berdasarkan perbedaan laju gerak dari komponen yang akan dipisahkan dalam kolom yang berisi fase diam. Perbedaan laju gerak ini terjadi akibat perbedaan berat molekul dan polaritas komponen tersebut. Analisa kromatografi gas dapat menunjukkan suatu komponen secara kuantitatif dan kualitatif.

Cara kerja alat :

Senyawa disuntikkan pada injektor, senyawa diubah terlebih dahulu menjadi gas, yang kemudian dibawa oleh fase gerak melalui fase diam dalam suatu kolom. Fase diam menahan sebagian komponen, sedangkan komponen yang dilepas

kemudian menguap karena proses pemanasan. Komponen yang berat molekulnya rendah dan titik didih rendah terlebih dahulu dibawa sehingga lebih dahulu sampai ke detektor. Kemudian detektor lalu mengirim sinyal yang berupa arus listrik dan diteruskan ke alat pencatat recorder yang akan menggerakkan jarum. Semakin kuat arus listrik maka jarum akan bergerak semakin cepat.

3.4.4 Uji Organoleptik

Uji organoleptik adalah uji berdasarkan respon yang diterima oleh panca indera. Uji organoleptik yang dilakukan pada penelitian ini meliputi aroma, dan warna minyak atsiri sedap malam.

Penilaian uji organoleptik dilakukan oleh 25 orang penalis dengan cara mengisi kuisioner yang telah disediakan. Pemberian skor dilakukan dengan memberikan nilai terhadap minyak sedap malam yang diamati pada jenjang mutu (Soekarto,1985). Skala penelitian yang digunakan dalam uji organoleptik terdapat pada Tabel 3. Sedangkan kuisioner pada uji organoleptik dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 4. Skala Penilaian (Soekarto, 1985)

Skala Mutu	Skor
Sangat suka	6
Suka	5
Agak suka	4
Netral / biasa	3
Tidak suka	2
Sangat tidak suka	1

3.5 Analisis data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji F (analisis ragam) dengan taraf 5%. Apabila terjadi perbedaan yang nyata dari perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf kesalahan 5%.