

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang dilakukan secara eksperimental laboratorium.

B. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dengan waktu yang telah ditetapkan dari bulan September 2016 sampai bulan Desember 2016.

C. Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah banyaknya volume pemberian perasan buah nanas muda pada krim santan untuk membuat *Virgin Coconut Oil (VCO)* yaitu 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL, dan 30 mL.

b. Variabel terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kualitas dari hasil rendemen VCO terbanyak (kadar air, bilangan asam lemak bebas dan bilangan penyabunan).

2. Definisi Operasional

- a. Rendemen adalah banyaknya jumlah produk VCO yang dihasilkan dibandingkan dengan bahan baku awal yaitu krim santan.
- b. Kadar air adalah jumlah bahan dalam satuan % yang menguap pada proses pemanasan menggunakan oven dengan suhu dan waktu tertentu.
- c. Bilangan asam lemak bebas adalah banyaknya milligram basa (KOH/NaOH) yang dibutuhkan untuk menetralkan suatu asam lemak bebas yang terdapat dalam satu gram minyak atau lemak.
- d. Bilangan penyabunan adalah banyaknya mg basa (KOH) yang dibutuhkan untuk menyabunkan satu gram minyak atau lemak.

D. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dibedakan menjadi dua, yaitu alat-alat pada proses pembuatan VCO dan alat-alat pada proses analisis kualitas rendemen VCO terbanyak. Untuk peralatan pada proses pembuatan VCO adalah pisau, mesin blender, baskom, kain saring, toples disertai tutup, selang kecil diameter 1 cm, sendok, corong, gelas, plastik, gelas ukur. Untuk peralatan yang digunakan dalam analisis kualitas VCO adalah oven, neraca analitik, cawan porselin, gelas ukur, buret dan statif, erlenmeyer, pipet volume, labu takar, pipet tetes, kompor listrik, pendingin balik, corong gelas, wadah gelas hitam bertutup, pengaduk kaca, kertas perkamen, botol timbang, beaker glass.

2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan pada penelitian ini dibedakan menjadi 2 macam, yaitu bahan utama dan bahan tambahan untuk analisis kualitas VCO. Bahan utama yang digunakan adalah buah kelapa tua dan buah nanas muda yang di petik pada bulan September 2016. Kondisi kelapa yang digunakan adalah kelapa tua, kondisi tidak rusak, berumur ± 12 bulan, 3/5 bagian kulit kelapa kering, berwarna coklat, bila digoyang-goyangkan berbunyi nyaring. Kriteria buah nanas yang digunakan adalah nanas muda dengan kondisi tidak rusak, warna kulit hijau, dan buah tidak lembek (masih keras). Buah kelapa dan buah nanas didapat dari daerah Desa Kalimeneng, Kecamatan Kemiri, Kabupaten Purworejo, Provinsi Jawa Tengah.

Bahan penelitian yang digunakan pada analisis kualitas VCO adalah NaOH 0,1 N, asam oksalat, alkohol 95% netral, KOH 0,1 N, KOH 0,5 N, HCl 4 N (untuk pembuatan HCl 0,5 N), NaOH 0,5 N, Fenolptalein, Aquades bahan-bahan ini diperoleh dari Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

E. Cara Kerja

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman buah kelapa tua dan buah nanas muda dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

2. Pembuatan VCO

Untuk membuat VCO langkah awal yang harus dilakukan adalah sebagai berikut:

a. Pembuatan perasan buah nanas muda.

Satu buah nanas muda dikupas kulitnya kemudian dicuci bersih. Selanjutnya nanas dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 500 gram. Hasil timbangan nanas kemudian dimasukkan ke dalam mesin blender. Setelah itu nanas yang telah diblender di saring dengan kain saring kemudian ditampung ke dalam wadah bersih.

b. Pembuatan krim santan

Disiapkan buah kelapa tua. Kemudian daging buah kelapa dipisahkan dari sabut dan tempurung kelapa. Daging buah dicuci hingga bersih, dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan mesin blender. Hasil parutan kelapa ditimbang sebanyak 1 kg dan dimasukkan ke dalam baskom. Parutan kelapa ditambah dengan 3 liter air bersih, selanjutnya diekstraksi dan disaring dengan kain saring hingga diperoleh santan kelapa. Santan kelapa ditempatkan di dalam toples besar dan didiamkan selama 6 jam sampai terbentuk dua lapisan endapan yaitu krim santan dan skim santan. Setelah 6 jam, diambil lapisan krim pada bagian atas dengan menggunakan selang berdiameter 1 cm yang di letakkan sampai dasar toples dan bagian bawah berisi lapisan skim santan dapat dibuang.

- c. Pembuatan VCO dengan pencampuran krim santan dan perasan buah nanas muda.

Disiapkan tujuh wadah plastik bersih, selanjutnya masing-masing wadah plastik diberi krim santan sebanyak 100 mL. Tambahkan perasan buah nanas muda dengan konsentrasi yang berbeda. Ketujuh kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 6. Kelompok perlakuan pada pembuatan VCO

Kelompok Perlakuan	Konsentrasi Krim Santan	Konsentrasi Perasan Buah Nanas Muda
1	100 mL	0 mL
2	100 mL	5 mL
3	100 mL	10 mL
4	100 mL	15 mL
5	100 mL	20 mL
6	100 mL	25 mL
7	100 mL	30 mL

Krim santan dicampur dengan perasan buah nanas muda pada masing-masing kelompok perlakuan dimasukkan ke dalam wadah plastik tertutup, selanjutnya didiamkan selama 24 jam. Keesokan harinya terbentuk tiga lapisan yaitu 'blondo' yang terletak pada bagian atas, minyak VCO terletak pada bagian tengah, dan air terletak pada bagian bawah. Selanjutnya dilakukan pemisahan antara 'blondo', VCO, dan air dengan cara melubangi bagian plastik sehingga bagian air terbuang. Saat air telah habis fase VCO ditampung dalam wadah baru.

3. Analisis Hasil Rendemen VCO

a. Rendemen

Perhitungan rendemen minyak yang dihasilkan dalam penelitian ini dilakukan dengan menentukan kuantitas perbandingan antara berat minyak yang dihasilkan (produk) dengan berat awal bahan baku yang digunakan (krim santan) dikalikan seratus persen (Sudarmadji, 1997). Perhitungan rendemen dapat dilihat pada persamaan 1 BAB II.

b. Penentuan konsentrasi optimum perasan buah nanas muda pada pembuatan VCO.

Konsentrasi perasan buah nanas yang optimum untuk mendapatkan rendemen VCO optimum dapat dilakukan dengan cara membuat grafik hubungan antara rata-rata volume VCO yang diperoleh dengan volume perasan buah nanas muda yang ditambahkan. Langkah selanjutnya adalah melakukan obserbasi pada grafik yang diperoleh untuk menentukan konsentrasi optimum perasan buah nanas muda agar diperoleh volume VCO optimum.

c. Penentuan kecepatan pembentukan VCO

Penentuan kecepatan pembentukan VCO dapat dilakukan dengan melakukan analisis regresi linear pada grafik hubungan antara rata-rata volume VCO yang diperoleh dengan volume perasan buah nanas muda yang ditambahkan. Berdasarkan hasil analisis akan bisa ditentukan profil dan dihitung kecepatan pembentukan VCO

pada penelitian ini. Kecepatan pembentukan VCO dapat dihitung dengan persamaan 5 berikut.

$$\text{Kecepatan pembentukan VCO} = \frac{\text{perolehan volume VCO pada setiap perlakuan}}{24 \text{ jam} \times 60 \text{ menit}}$$

Keterangan : Kecepatan pembentukan VCO (mL).

Perolehan volume VCO pada masing-masing perlakuan (mL).

4. Analisis Kualitas Rendemen VCO

a. Kadar air

Kadar air dalam VCO menyatakan banyaknya air yang terkandung di dalam VCO (Sudarmadji dkk, 1984). Alat yang digunakan untuk penentuan kadar air adalah oven. Langkah yang dilakukan yaitu oven diatur pada suhu 105°C (suhu pada oven diatur terlebih dahulu karena kenaikan suhu pada oven membutuhkan waktu yang cukup lama untuk mencapai suhu hingga 105°C). Selanjutnya cawan porselin kosong ditimbang, kemudian ditimbang 5 gram VCO dalam wadah cawan porselin. Selanjutnya cawan porselin dimasukan ke dalam oven bersuhu 105°C selama 3 jam, setelah dingin dilakukan penimbangan kurang baku. Langkah berikutnya cawan porselin berisi VCO dipanaskan lagi ke dalam oven selama 30 menit, lalu dilakukan penimbangan ulang setelah melewati waktu pendinginan diulang sampai berat berturut-turut konstan. Dianggap konstan bila penimbangan tidak melebihi 0,2 mg.

Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar air dengan menggunakan Persamaan 2.

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100\% \quad (2)$$

b. Bilangan asam lemak bebas (Sudarmadji, 1997)

Sebelum melakukan analisis bilangan asam lemak bebas, terlebih dahulu dibuat larutan NaOH 0,1 N dan alkohol netral 95% dengan cara berikut.

1) Pembuatan larutan NaOH 0,1 N

Pembuatan NaOH 0,1 N dilakukan dengan terlebih dahulu membuat larutan asam oksalat yang digunakan untuk standarisasi. Langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

a) Larutan asam oksalat 0,1 N dalam 100 mL aquadest

Asam oksalat ditimbang dengan botol timbang sebanyak 0,63 gram. Banyaknya asam oksalat yang digunakan diperoleh dari perhitungan menggunakan persamaan 5. Selanjutnya asam oksalat yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam beaker glass dan dilarutkan ke dalam 40 mL aquadest. Kemudian botol timbang dibilas sebanyak tiga kali aquadest dan hasil bilasan dimasukkan ke dalam beaker glass. Larutan asam oksalat kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL. Selanjutnya diberi aquades sebanyak 100 mL ke dalam labu ukur sampai batas

100 mL, setelah itu labu takar ditutup dan digojog hingga larutan homogen.

$$N = \frac{\text{massa asam oksalat}}{BM \text{ asam oksalat} \times \text{Volume Larutan}} \times n \quad (6)$$

$$0,1 N = \frac{\text{massa asam oksalat}}{126,07 \frac{\text{gr}}{\text{mol}} \times 0,1 L} \times 2$$

b) Pembuatan larutan NaOH 0,1 N dalam 100 mL aquadest.

Langkah awal yang harus dilakukan adalah aquades sebanyak 150 mL dipanaskan menggunakan kompor listrik sampai mendidih. Kemudian NaOH ditimbang sebanyak 0,410 gram dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL . NaOH diberi air mendidih sedikit demi sedikit, kemudian sisa aquades ditambahkan sampai batas 100 mL dan digojog hingga homogen. Selanjutnya larutan NaOH 0,1 N dimasukkan ke dalam wadah gelap dibantu dengan menggunakan pengaduk untuk dapat dimasukkan ke dalam botol.

Perhitungan perolehan massa NaOH yang dibutuhkan dilakukan dengan persamaan 7 berikut:

$$N = \frac{\text{massa NaOH}}{BM \text{ NaOH} \times \text{Volume Larutan}} \times n \quad (7)$$

$$0,1 N = \frac{\text{massa NaOH}}{40 \frac{\text{gr}}{\text{mol}} \times 0,1 L} \times 1$$

Massa NaOH = 0,4 gram

c) Standarisasi larutan NaOH 0,1 N dengan asam oksalat.

25 mL larutan asam oksalat diukur, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL (digunakan 2 buah Erlenmeyer @25 mL). Selanjutnya diberi 3 tetes fenolftalein ke dalam erlenmeyer, kemudian asam oksalat dititrasi dengan NaOH 0,1 N yang akan dibakukan. Proses titrasi dihentikan sampai larutan berwarna sedikit merah muda. Volume hasil titrasi yang dihasilkan dicatat dalam mL. Hasil titrasi dimasukkan ke dalam persamaan 8 untuk mengetahui konsentrasi NaOH apakah sudah sesuai dengan NaOH 0,1 N yang diinginkan.

$$V_1(\text{NaOH}) \times N_1(\text{NaOH}) = V_2(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) \times N_2(\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) \quad (8)$$

2) Pembuatan alkohol 95% netral

Disiapkan 50 mL alkohol 95%, selanjutnya ditetesi 4 tetes indikator fenolftalein dan larutan alkohol 95% dititrasi dengan KOH 0,1 N. Titrasi dihentikan jika warna larutan berubah warna menjadi merah muda.

Dalam pembuatan KOH 0,1 N dalam 250 mL aquadest dilakukan dengan perhitungan pada persamaan 9 berikut.

$$N = \frac{\text{massa KOH}}{\text{BM KOH} \times V} \times n \quad (9)$$

$$0,1 N = \frac{\text{massa KOH}}{56,11 \frac{\text{gram}}{\text{mol}} \times 0,25 L} \times 1$$

Maka massa KOH = 1,40 gram

Pembuatan KOH 0,1 dilakukan dengan cara sebanyak 1,40 gram KOH ditimbang kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam labu takar 250 mL.

3) Analisis kadar asam lemak bebas (FFA)

Setelah larutan pendukung pada analisis FFA telah dibuat. Selanjutnya ditimbang VCO sebanyak 10 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan 50 mL alkohol netral 95% dan selanjutnya dipanaskan dengan menggunakan kompor listrik selama 10 menit. Setelah itu ditunggu hingga dingin kemudian ditambah dengan indikator fenolftalein ke dalam Erlenmeyer. Selanjutnya dititrasi dengan menggunakan larutan NaOH 0,1 N yang sebelumnya telah distandarisasi. Titrasi dihentikan jika timbul warna merah muda dan tidak hilang selama 30 detik. Kemudian dicatat hasil perolehan persen asam lemak bebas yang didapat dinyatakan dalam asam laurat. Kemudian langkah terakhir dihitung % asam lemak bebas dengan menggunakan rumus persamaan 3 pada BAB II.

c. Analisis bilangan penyabunan (Sudarmadji, dkk., 1997).

Dalam menentukan bilangan penyabunan terlebih dahulu harus ditentukan KOH alkoholis 0,5 N dan HCL 0,5 N yang telah distandarisasi terlebih dahulu. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan persamaan 10 berikut.

1) Pembuatan KOH alkoholis 0,5 N

KOH 0,5 N dalam 250 mL alkoholis:

BM KOH = 56,11

$$N = \frac{\text{massa KOH}(\text{gram})}{\text{BM KOH} \left(\frac{\text{gram}}{\text{mol}}\right) \times \text{volume larutan}(\text{L})} \times \quad (10)$$

$$0,5 N = \frac{\text{massa KOH}(\text{gram})}{56,11 \left(\frac{\text{gram}}{\text{mol}}\right) \times 0,25 L} \times 1$$

Massa KOH adalah 7,01 gram.

Langkah awal yang dilakukan KOH ditimbang sebanyak 7,01 gram. KOH kemudian dilarutkan dengan alkohol 95% di dalam labu takar 250 mL sampai garis batas volume. Larutan KOH didiamkan dengan alkohol netral 95% dalam botol tertutup rapat selama 24 jam. Selanjutnya beningan dienaptuangkan secara cepat ke dalam botol yang sesuai dan bertutup rapat. Pada keesokan harinya dilakukan pembakuan (standarisasi) dengan *asam klorida* 0,5 N.

10 mL larutan KOH alkoholis 0,5 N diambil kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Dilakukan penambahan 2 tetes indikator *Fenolftalein* ke dalamnya. Kemudian dilakukan titrasi dengan larutan HCl 0,5 sebanyak tiga kali (triplo).

2) Pembuatan larutan HCL 0,5 N

Langkah awal dilakukan pengenceran HCl 4 N menjadi HCl 0,5 N. HCl yang dibutuhkan dapat memakai persamaan 11 berikut.

Tersedia HCL 4 N, maka:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2 \quad (11)$$

$$0,5 \text{ N} \times 250 \text{ mL} = 4 \text{ N} \times V_2$$

$$V_2 = 31,25 \text{ mL}$$

31,25 mL HCl 4 N diambil dan dimasukkan ke dalam labu takar, setelah itu ditambah aquadest sampai tanda batas 250 mL pada labu takar.

Larutan HCL yang telah dibuat kemudian di standarisasi dengan menggunakan NaOH yang telah distandarisasi juga sebelumnya. Langkah yang dilakukan dengan cara 10 mL HCl 0,5 N dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 mL kemudian ditambahkan 3 tetes fenolftalein di dalamnya. Selanjutnya dilakukan titrasi dengan larutan NaOH 0,5 N (telah distandarisasi dengan asam oksalat), jika tercapai titik akhir titrasi maka akan terlihat perubahan warna menjadi merah muda pada Erlenmeyer. Titrasi di hentikan jika muncul warna merah muda pada titrasi. Selanjutnya dilakukan perhitungan konsentrasi

$$V \times N (\text{KOH}) = V \times N (\text{HCl})$$

Keterangan: V = volume (mL)

N= normalitas (konsentrasi)

3) Standarisasi NaOH 0,5 N dengan asam oksalat

3,15 gram asam oksalat diambil dan dimasukkan ke dalam beaker glass. Untuk perhitungan asam oksalat dapat dilihat pada persamaan 12 berikut.

$$N = \frac{\text{massa } H_2C_2O_4}{BM \ H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O \times \text{Volume Larutan}} \times n \quad (12)$$

$$0,5 \ N = \frac{\text{massa } H_2C_2O_4}{126,07 \frac{gr}{mol} \times 0,1 \ L} \times 2$$

Massa asam oksalat ($H_2C_2O_4$) = 3,15 gram.

Asam oksalat dilarutkan dalam 40 mL aquadest. Selanjutnya larutan asam oksalat dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Menambahkan kembali aquadest ke dalam labu ukur sampai tanda batas labu ukur. Labu ukur kemudian ditutup dan digojog untuk menghomogenkan larutan asam oksalat.

Setelah larutan asam oksalat dibuat kemudian dibuat larutan NaOH 0,5 N dalam 100 mL aquadest untuk distandarisasi dengan asam oksalat yang telah dibuat sebelumnya. Untuk perhitungan NaOH yang dibutuhkan dapat dilihat pada persamaan 13 berikut.

$$N = \frac{\text{massa } NaOH}{BM \ NaOH \times \text{Volume Larutan}} \times n \quad (13)$$

$$0,5 N = \frac{\text{massa NaOH}}{40 \frac{\text{gr}}{\text{mol}} \times 0,1 L} \times 1$$

Massa NaOH = 2 gram

Langkah yang dilakukan adalah didihkan aquadest di dalam Erlenmeyer menggunakan kompor listrik. Setelah itu 2 gram NaOH 0,5 N yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam beaker glass. Untuk melarutkan NaOH ditambahkan sedikit aquadest ke dalam beaker glass yang telah didihkan, sisa aquades ditambahkan kembali sampai batas 100 mL. Kemudian larutan digojog hingga larutan menjadi homogen. Berikutnya larutan NaOH 0,5 N dimasukkan ke dalam botol gelap dengan menggunakan pengaduk agar mudah untuk dialirkan ke dalam botol.

Larutan NaOH 0,5 N yang telah dibuat kemudian distandarisasi dengan asam oksalat. 30 mL larutan asam oksalat dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL (menggunakan 2 buah Erlenmeyer @25 mL). Pada masing-masing Erlenmeyer diberi 3 tetes indikator Fenolftalein. Kemudian larutan dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga terlihat perubahan warna dari tak berwarna menjadi warna merah muda tipis. Hasil titrasi dalam mL yang diperoleh kemudian dicatat dan dihitung perolehan hasil titrasi standarisasi larutan NaOH 0,5 N dengan menggunakan asam okslat menggunakan persamaan 14.

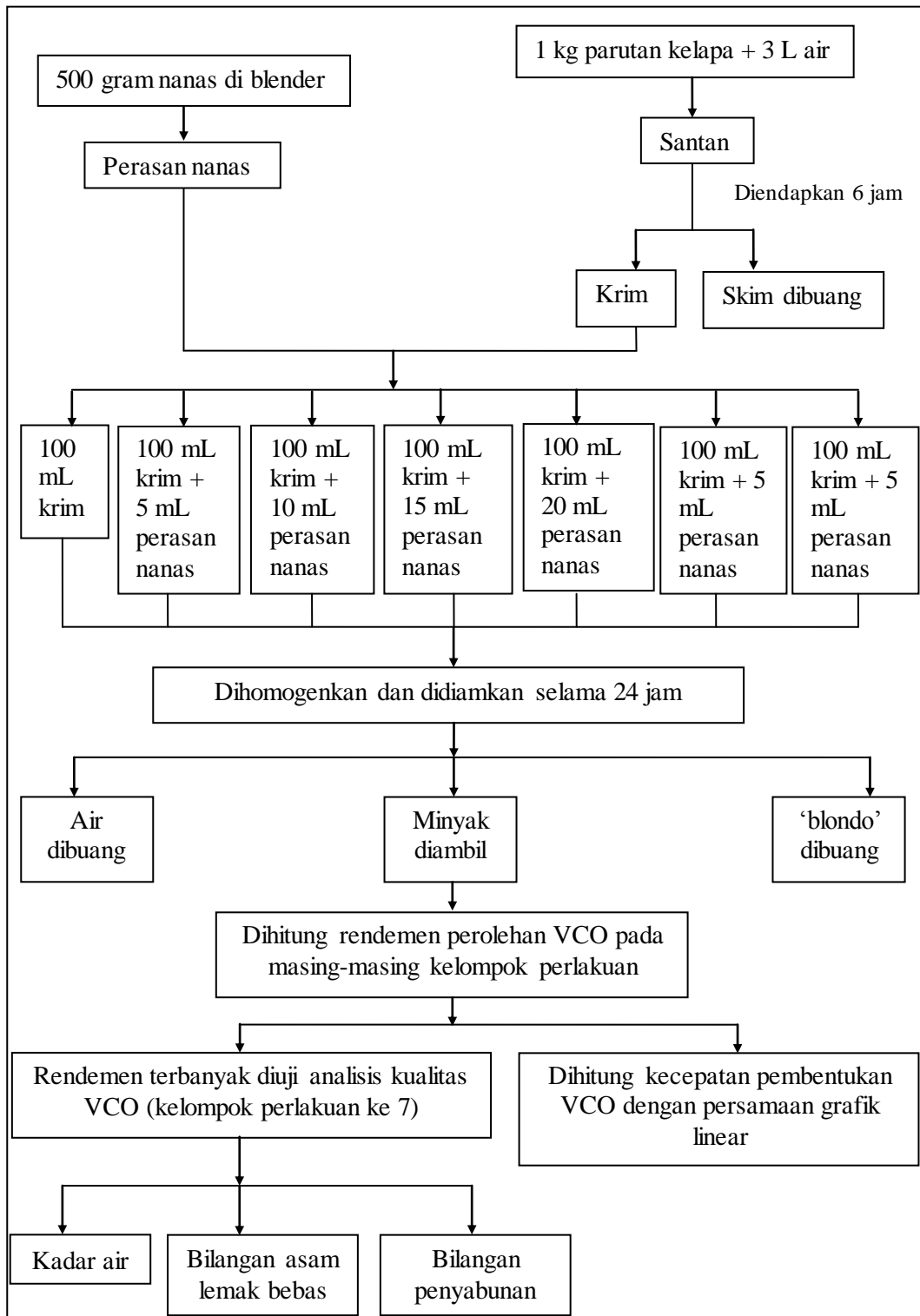
$$V_1 \times N_1 (\text{NaOH}) = V_2 \times N_2 (\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) \quad (14)$$

4) Analisis bilangan penyabunan (Sudarmadji, dkk., 1997).

Bilangan penyabunan digunakan untuk menentukan banyaknya mg basa (KOH/NaOH) yang dibutuhkan untuk menyabunkan satu gram minyak atau lemak. Untuk mengetahui bilangan penyabunan dari suatu VCO dilakukan langkah-langkah sebagai berikut:

VCO sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. VCO kemudian dilarutkan dengan 25 mL larutan KOH alkoholis 0,5 N. Larutan ditutup dengan pendingin balik dan dipanaskan selama 30 menit. Setelah 30 menit kemudian diberi 3 tetes indikator Fenolftalein dan titrasi kelebihan KOH 0,5 N dengan larutan standar HCL 0,5 N. Selanjutnya dilakukan juga penetapan blanko seperti langkah diatas tetapi tanpa penambahan VCO. Setelah itu dihitung bilangan penyabunan dengan menggunakan persamaan 4 pada BAB II.

F. Skema Langkah Kerja



Gambar 7. Skema langkah kerja pembuatan VCO dan analisis kualitas VCO