

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Pengumpulan dan Preparasi Bahan

Biji buah papaya (*Carica papaya L.*) segar diperoleh dari halaman rumah peneliti beralamat di Krajan, Tegalrejo, Magelang. Buah papaya yang diperoleh masih segar berwarna hijau kuning kemerahan. Pemetikan buah dilakukan di waktu pagi hari. Cara pemanenan buah papaya dengan memutar buahnya ke samping menggunakan tangan. Setelah itu buah papaya dibelah, diambil bijinya kemudian direndam dibilas menggunakan air pam. Biji papaya yang diambil dengan bobot 363 gram sampel basah. Setelah biji papaya terpisah dengan daging buah, biji papaya dijemur selama 3 hari dengan periode waktu pagi sampai sore. Setelah itu biji papaya di oven di lab penelitian dasar UMY fakultas Kedokteran dan Ilmu kesehatan selama 2 hari, didapatkan hasil sampel berat kering. Kemudian di cek kadar airnya menggunakan metode gravimetri didapatkan hasil 6,67 %. Kemudian sampel di *blender* tanpa air menggunakan blender merk Philips lalu diayak menggunakan ayakan nomor 20 untuk menyeragamkan ukuran untuk di ekstraksi menggunakan metode sokletasi.

##### 2. Determinasi Tanaman

Untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian benar maka perlu dilakukan determinasi. Determinasi dilakukan di bagian Biologi Farmasi UGM (Universitas Gadjah Mada).

Determinasi bertujuan untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan sampel analisis fitokimia (Harborne, 1987). Surat keterangan hasil determinasi biji buah papaya tercantum pada Lampiran 5.

### **3. Trans esterifikasi**

Bagian yang digunakan untuk ekstraksi dengan metode sokletasi adalah biji buah papaya yang telah dikeringkan dan telah dihaluskan menggunakan blender merk Philips. Tujuannya untuk memperkecil bahan, sehingga luas permukaan bahan yang dapat berinteraksi dengan penyari semakin besar, sehingga penyarian akan menjadi lebih efektif (Harborne, 1987). Sebanyak 67,50 gram sampel dibungkus menggunakan kertas saring kemudian dipasang di bagian alat sokletasi untuk diekstraksi dengan penyari etanol 96% sebanyak 500 ml, dan KOH (Kalium Hidroksida) dengan berat 11,5 gram sebagai katalis untuk mempercepat terjadinya proses trans esterifikasi *in situ*. Proses ekstraksi minyak dari biji papaya menggunakan metode sokletasi pada suhu 70 °C. Proses sokletasi yang dilakukan peneliti sebanyak 15 kali siklus yang ditandai mulai dengan penyari etanol 96% dalam satu siklus dari cairan penyari berwarna kuning keruh dan akan berakhir dengan tanda penyari etanol 96% menjadi jernih.

Berikut detail waktu 15 siklus ekstraksi sokletasi:

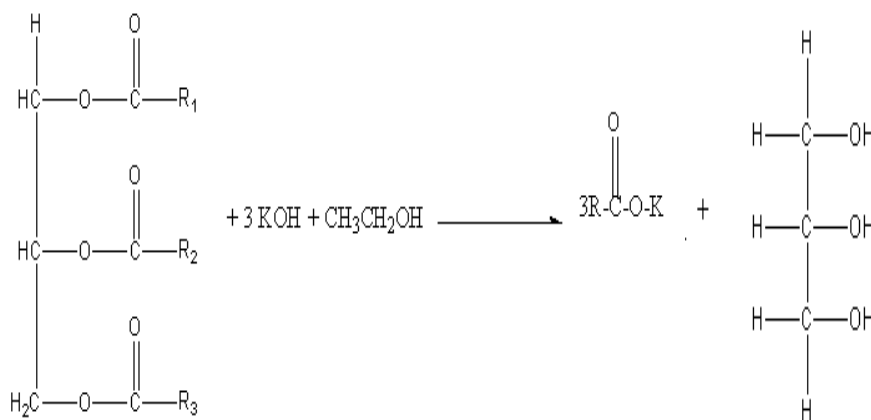
**Tabel 3.** Waktu dan Warna yang Terbentuk pada Esktrasi Sokletasi

<b>Waktu ( menit )</b>	<b>Keterangan</b>
1	ekstrak berwarna kuning pekat
25	ekstrak berwarna kuning pekat
39	ekstrak berwarna kuning pekat
17	ekstrak berwarna kuning pekat
21	ekstrak berwarna kuning cerah semi pekat
12	ekstrak berwarna kuning agak cerah
1 ( hari selanjutnya )	ekstrak berwarna kuning jernih
25	ekstrak berwarna kuning jernih
19	ekstrak berwarna kuning jernih
14	ekstrak berwarna kuning jernih
30	ekstrak berwarna kuning lebih jernih
7	ekstrak berwarna jernih kekuningan tipis
20	ekstrak berwarna jernih kekuningan tipis
17	ekstrak berwarna agak jernih
21	ekstrak berwarna jernih

Setelah proses ekstraksi sokletasi berhenti, hasil sari kemudian di evaporasi pada suhu 70 °C untuk menguapkan penyari, yaitu etanol 96% dan kemudian didapatkan ekstrak kental sebanyak kurang lebih 5 ml.

#### **4. Trans esterifikasi**

Reaksi trans esterifikasi merupakan reaksi bolak-balik antara trigliserida dengan alkohol membentuk etil ester asam lemak dan gliserol sebagai produk samping. Akan tetapi hasil trans esterifikasi dalam penelitian ini gagal, dengan ditandainya terdapat endapan sabun dan tidak terbentuk eti ester, hal ini dapat terjadi dikarenakan KOH yang digunakan terlampau tinggi dan masih terdapatnya kadar air yang tinggi sehingga dapat bereaksi saingan terhadap reaksi trans esterifikasi. Secara sederhana dapat ditulis sebagai berikut:

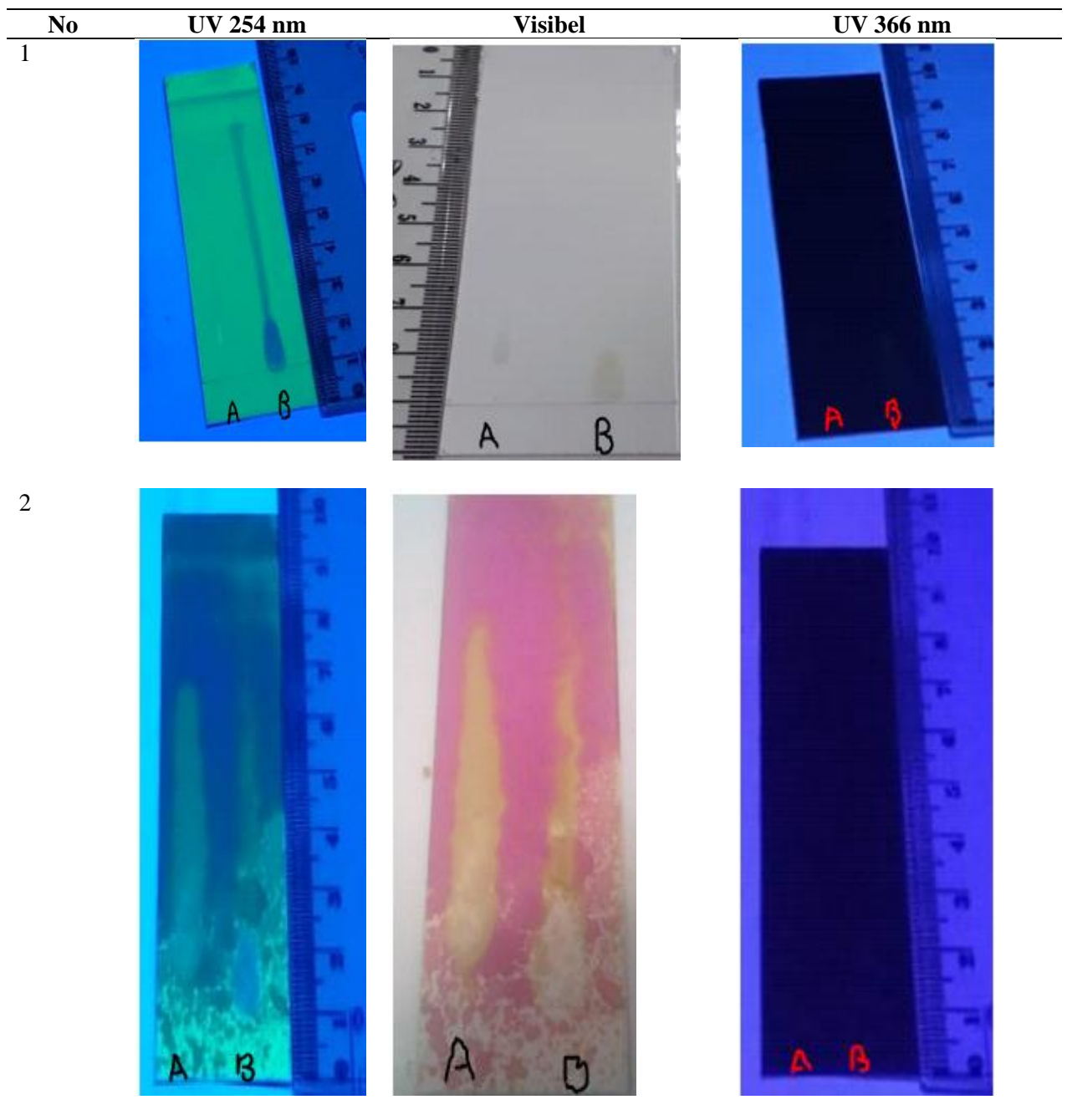


**Gambar 4.** Reaksi Trans esterifikasi

## 5. Analisis Kualitatif kandungan Gliserol

### a. Analisis Kualitatif Kandungan Gliserol Dengan KLT Silica gel 254 (Kromatografi Lapis Tipis)

Analisis kualitatif ini bertujuan untuk mengetahui serta memastikan adanya kandungan senyawa kimia gliserol dalam cairan yang diduga *crude* gliserol. Identifikasi gliserol merujuk jurnal Korea berjudul *Improvement in Thin-Layer Chromatography in Quantitative Assay of Glycerol in Biodiesel* dengan fase gerak air demineral (1 ml) : Asetonitril (5,6 ml) dan digunakan marker gliserol grade pro analisis terdapat migrasi sampel spot diposisi nilai Rf 0,8 sekian di bawah penerangan lampu uv 254 nm, tidak tampak di bawah lampu uv 366 nm dan di bawah penerangan sinar tampak. Setelah nilai spot terbaca dilakukan penyemprotan plat KLT dengan  $\text{KMnO}_4$  didapatkan nilai Rf tailing sepanjang 0,7. Berikut foto KLT yang didapat selama penelitian.



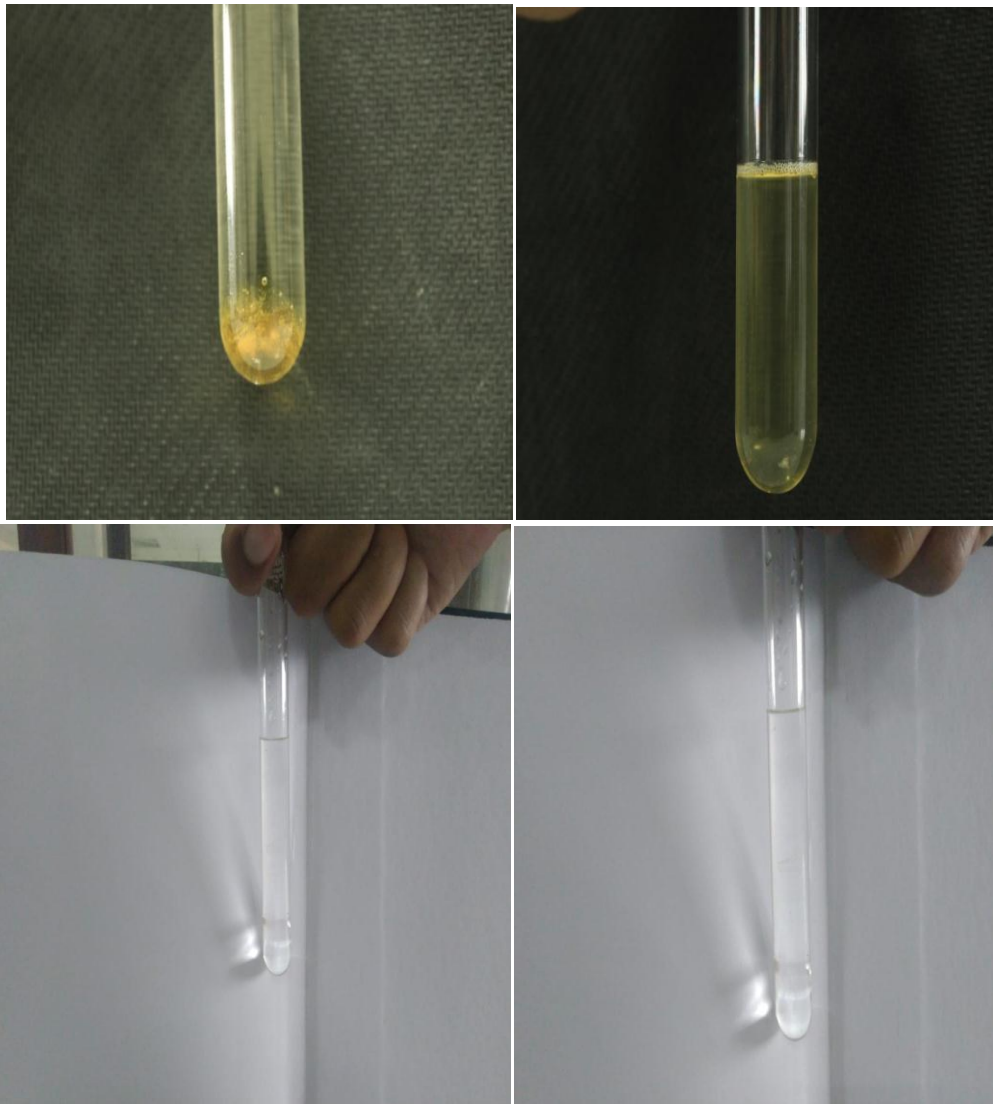
Gambar 5. Hasil Kromatografi Lapis Tipis

Keterangan :

- 1) Baris pertama fase gerak air demineral (1 ml) : Asetonitril (5,6 ml), A = Marker gliserol grade pro analisis, B = *Crude* gliserol, dengan hanya pengenceran 1 ml crude gliserol + 5 ml aquadest, dan tanpa pengenceran pada gliserol grade pro analisis. Didapatkan nilai  $R_f = 0,8$  (UV 254 nm), nilai  $R_f$  tidak terlihat dibawah penerangan lampu uv 366 nm dan cahaya tampak.
  - 2) Baris kedua merupakan plat klt pada baris ketiga yang telah disemprot  $KMnO_4$ , didapatkan nilai  $R_f$  0,7 dibawah penerangan sinar UV 254 nm dan visibel, tidak terlihat nilai  $R_f$  di bawah penerangan lampu UV 366 nm. Sedangkan bercak spot di posisi  $R_f$  0,8 setelah disemprot  $KMnO_4$  tidak didapatkan nilai  $R_f$  di bawah penerangan lampu UV 254 nm, lampu 366 nm dan cahaya visibel.
- b. Uji Kualitatif Sifat Kepolaran *Crude* Gliserol dengan Aquadest pada Suhu Kamar Dibandingkan dengan Gliserol Murni

Saat pengujian kelarutan senyawa yang diduga *crude* gliserol dengan aquadest didapatkan hasil saat setelah sampel senyawa dimasukkan di dalam tabung reaksi berisi aquadest seketika sampel senyawa mengendap dan tidak mudah larut di dalam pelarut aquadest. Akan tetapi setelah tabung reaksi tersebut disentrifugasi, sampel senyawa yang di duga *crude* gliserol larut sempurna di dalam pelarut aquadest disertai adanya buih. Dibandingkan dengan kelarutan gliserol murni di dalam aquadest, seketika gliserol saat ditambahkan aquadest

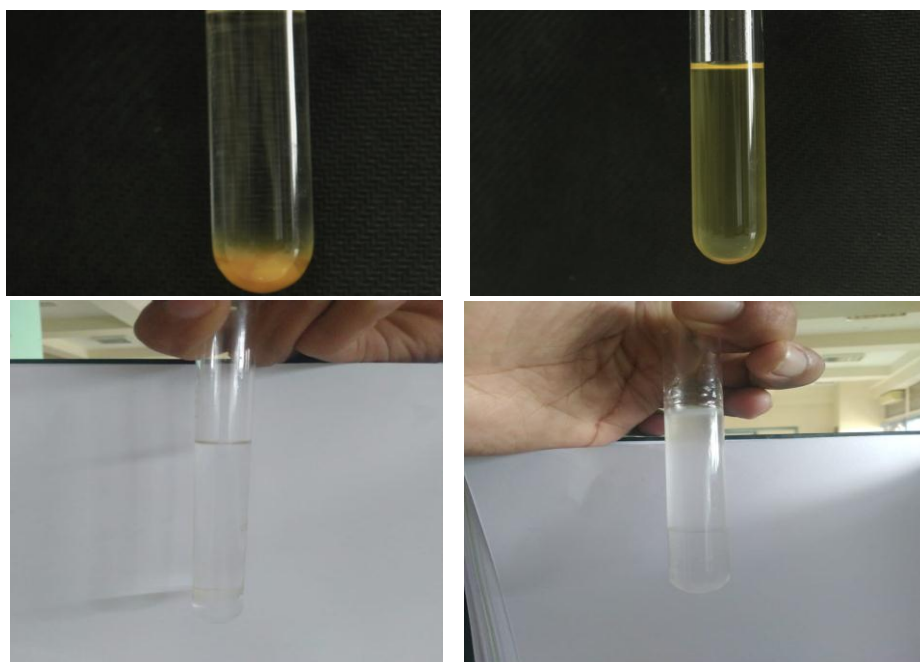
masih dalam keadaan mengendap dan sedikit larut, akan tetapi setelah disentrifugasi gliserol larut sempurna dalam aquadest.



**Gambar 6.** Hasil Uji Kelarutan *Crude* Gliserol dengan Aquadest pada Suhu Kamar Dibandingkan Gliserol Murni dalam Aquadest pada Suhu Kamar

c. Uji Kualitatif Sifat Kepolaran *Crude* Gliserol dengan Etanol 96% pada Suhu Kamar Dibandingkan dengan Gliserol Murni

Saat pengujian kelarutan senyawa yang diduga *crude* gliserol dengan Etanol 96% didapatkan hasil saat setelah sampel senyawa dimasukan di dalam tabung reaksi berisi etanol 96% seketika sampel senyawa mengendap dan agak mudah larut di dalam pelarut. Akan tetapi setelah tabung reaksi tersebut disentrifugasi, sampel senyawa yang di duga *crude* gliserol hampir larut sempurna di dalam pelarut etanol 96% tanpa disertai adanya buih dan terdapat sedikit ada yang mengendap. Dibandingkan dengan kelarutan gliserol murni di dalam etanol 96%, seketika gliserol saat ditambahkan aquadest masih dalam keadaan mengendap dan mudah larut, sedangkan setelah disentrifugasi gliserol larut sempurna dalam etanol 96%.

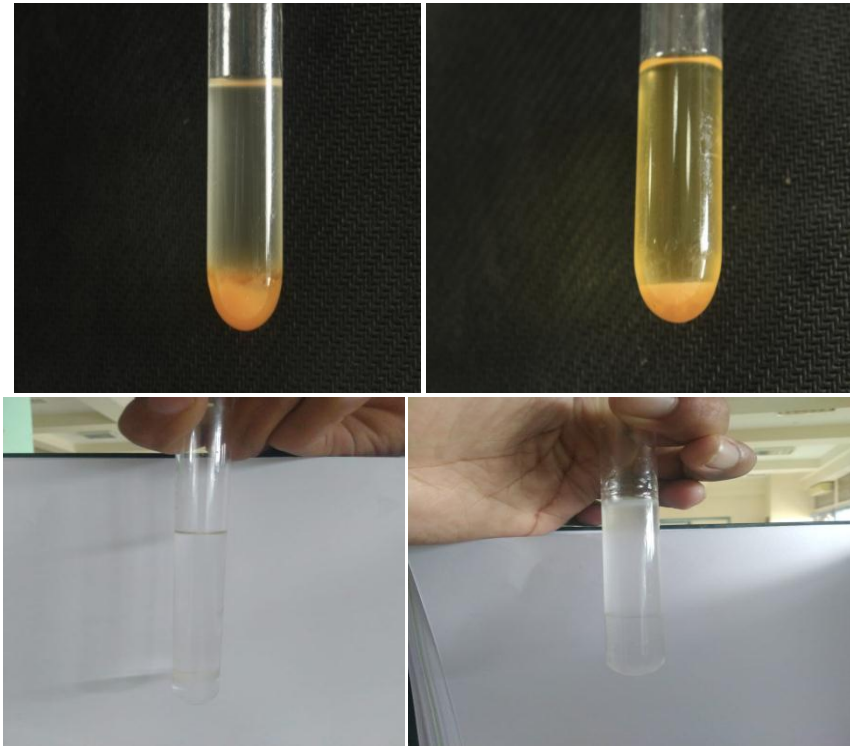


**Gambar 7.** Hasil Uji Kelarutan *Crude* Gliserol dengan Etanol 96% pada Suhu Kamar Dibandingkan Gliserol Murni dalam Etanol 96% pada Suhu Kamar



- d. Uji Kualitatif Sifat Kepolaran *Crude* Gliserol dengan Dietil Eter pada Suhu Kamar Dibandingkan dengan Gliserol Murni dalam Dietil Eter pada Suhu Kamar

Saat pengujian kelarutan senyawa yang diduga *crude* gliserol dengan dietil eter didapatkan hasil saat setelah sampel senyawa dimasukan di dalam tabung reaksi berisi dietil eter, seketika sampel senyawa mengendap dan pelarut menjadi agak keruh. Setelah tabung reaksi tersebut disentrifugasi, sampel senyawa yang di duga *crude* gliserol tabung reaksi berisi pelarut dietil eter menjadi keruh kekuningan disertai adanya endapan bening dibagian bawah tabung reaksi tanpa disertai adanya buih. Dibandingkan dengan kelarutan gliserol murni di dalam dietil eter, seketika gliserol saat ditambahkan aquadest masih dalam keadaan mengendap dan praktis tidak larut, sedangkan setelah disentrifugasi gliserol tetap praktis tidak larut sempurna, hal ini ditandainya dengan pemisahan dua larutan.



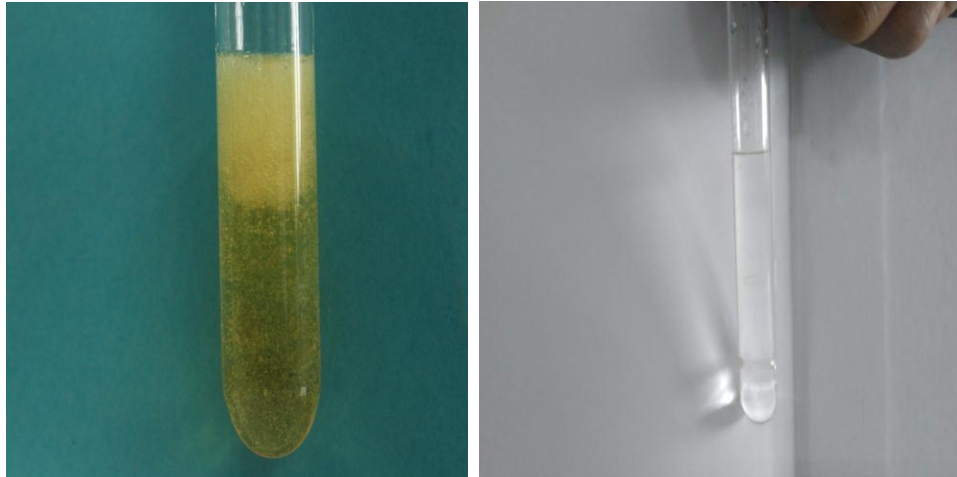
**Gambar 8.** Hasil Uji Kelarutan *Crude* Gliserol dengan Dietil Eter pada Suhu Kamar Dibandingkan Gliserol Murni dalam Dietil Eter

e. Identifikasi Secara Fisik Hasil *Crude* Gliserol

Pada suhu ruangan sampel *crude* gliserol yang dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah diencerkan dengan aquadest didapatkan hasil bentuk *crude* gliserol berubah menjadi gel atau memadat. Sedangkan sampel *crude* gliserol yang disimpan didalam wadah tertutup rapat tetap berbentuk padatan. Dan sesaat setelah sampel *crude* gliserol murni tanpa pengenceran yang sebelumnya tersimpan didalam wadah tertutup rapat berbentuk cair, dalam suhu ruangan di dalam tabung reaksi berubah menjadi memadat. Adapaun bau dari sampel *crude* gliserol berbau kuat, menyengat, tengik, terasa

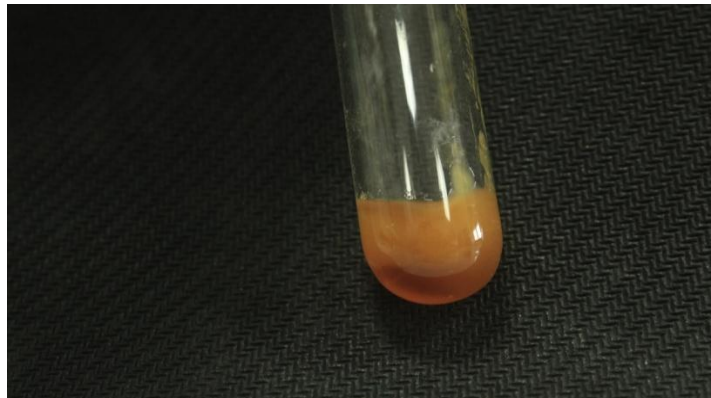
mengikis kulit ataupun mengiritasi saat terkena kulit setelah beberapa saat.

- f. Saat *Crude* Gliserol Diencerkan dengan Aquadest dan Disentrifugasi Dibandingkan Gliserol murni dengan Aquadest



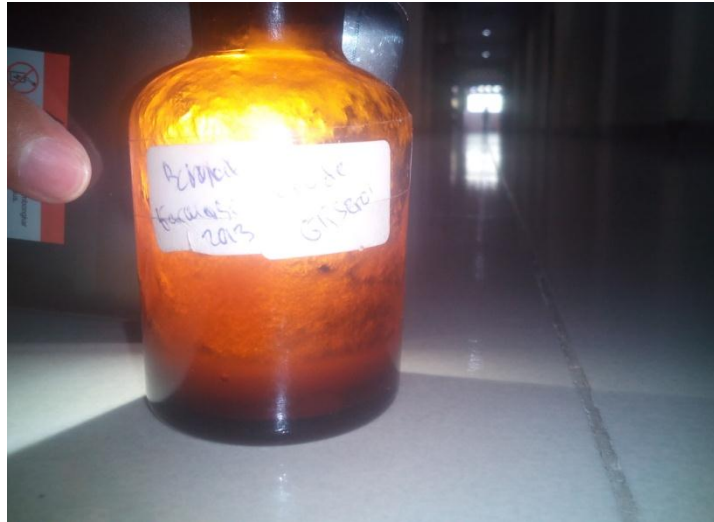
**Gambar 9.** *Crude* Gliserol dalam Aquadest dan Gliserol murni dalam Aquadest

- g. Beberapa Saat Setelah *Crude* Gliserol Dituangkan dalam Tabung Reaksi Tanpa Wadah Atas yang Tertutup



**Gambar 10.** *Crude* Gliserol dalam Wadah Terbuka

- h. *Crude* Gliserol yang Tersimpan dalam Wadah Tertutup



**Gambar 11.** *Crude* Gliserol dalam Wadah Tertutup

- i. Setelah Sampel *Crude* Gliserol yang Diencerkan Aquadest Memadat dan Dituang Menjadi Satu dengan *Crude* Gliserol yang Tersimpan dalam Wadah Tertutup ke Gelas Ukur



**Gambar 12.** *Crude* Gliserol yang Encer dan Memadat dalam Gelas Ukur Sebanyak 5 ml

## B. Pembahasan

### 1. Pengumpulan dan Preparasi Bahan

Bahan biji papaya yang dipilih ialah buah papaya yang masak, yaitu yang berwarna kuning hijau kemerahan. Biji yang diperoleh dipisahkan dengan daging buah dengan cara dicuci menggunakan air pam dingin, hal ini dimaksudkan untuk menghilangkan partikel pengganggu yang mungkin dapat mengganggu bahan yang akan diisolasi, yaitu gliserol. Biji papaya yang telah dicuci kemudian dikeringkan untuk menurunkan kadar air di dalam biji papaya, hal ini dilakukan agar reaksi hidrolisis antara minyak dengan alkohol tidak berkompetisi dengan air. Setelah biji papaya di cek kadar air nya sesuai dengan yang diharapkan yaitu kurang dari 10 %, hal ini perlu di pastikan untuk menghindari terjadinya reaksi saingan antara reaksi trans esterifikasi dengan reaksi hidrolisis. Kemudian biji papaya di *blender* dengan keadaan biji kering, untuk memperluas luas permukaan agar dapat berinteraksi dengan cairan penyari secara lebih efektif. Setelah partikel biji dihaluskan kemudian biji papaya diayak menggunakan ayakan nomor 20 untuk menyeragamkan ukuran untuk kemudian diekstraksi menggunakan metode sokletasi.

### 2. Determinasi Tanaman

Untuk memastikan bahan yang akan diuji, maka perlu diketahui identitas tanamannya, yang berupa data taksonomi. Hal ini dilakukan di Fakultas Farmasi Departemen Biologi Bahan Alam UGM, dengan data yang dimaksud dapat dilihat pada lampiran nomor 5.

### 3. Trans esterifikasi

Pengambilan bahan ataupun zat aktif dari suatu bagian tanaman dapat dilakukan menggunakan metode ekstraksi. Ekstraksi yaitu suatu proses penyarian senyawa bahan yang dimaksud terkandung didalamnya menggunakan pelarut yang sesuai dengan derajat kepolaran senyawa yang akan disari, umumnya di dahului dengan memperkecil ukuran dan mengayaknya dengan ayakan nomor 20 agar lebih seragam dan mempunyai luas permukaan yang cukup luas untuk berinteraksi dengan larutan penyari. Hal ini membuktikan bahwa hukum “*like dissolved like*” berlaku semestinya, senyawa yang bersifat polar akan larut dalam penyari polar begitu juga sebaliknya senyawa yang bersifat polar tidak akan larut dalam penyari non polar, begitu juga senyawa non polar dapat sedikit larut dalam penyari semi polar. Jenis pelarut merupakan salah satu faktor berpengaruh terhadap banyaknya rendemen yang di dapatkan dari bahan dan kadar dari senyawa kimia bahan alam seperti gliserol. Gliserol yang terdapat di alam berupa senyawa gabungan dengan asam lemak dan menjadi satu kesatuan utuh yaitu minyak. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol dengan kadar 96%. Kelarutan minyak dalam etanol ialah cukup baik, etanol sendiri mempunyai nilai tetapan dielektrikum 24,30 sehingga penyari ini bersifat semi polar (Sudarmadji *et al*,1989). Etanol yang digunakan untuk mengekstraksi sebanyak 500 mL ditambah KOH padat sebesar 11,5 gram, maka etanol yang digunakan mempunyai nilai 0,9583 Molar (M). Dalam reaksi trans esterifikasi secara

*stoikhiometri* hanya dibutuhkan 3 mol alkohol untuk mengkonversi 1 mol trigliserida menjadi 3 mol etil ester dan 1 mol gliserol. Pada reaksi ini maka akan terjadi reaksi secara reversibel. Pada reaksi trans esterifikasi *in situ*, alkohol berperan ganda sebagai pelarut dalam proses ekstraksi trigliserida dari biji papaya dan sebagai pereaksi trans esterifikasi, oleh karena itu alkohol dibutuhkan dalam jumlah berlebih sehingga reaksi dapat terdorong kearah kanan dan rendemen etil ester yang didapatkan lebih tinggi, alkohol yang digunakan untuk mendorong reaksi kearah produk digunakanya 10 kali rasio stokhiometri supaya reaksi konversi dapat berjalan dengan sempurna (Ozgul, *et al.*, 2002). Sokletasi merupakan suatu metode ekstraksi semi kontinyu yang umumnya diterapkan untuk ekstraksi lipid dari bahan yang mengandung minyak. Menurut prosedur sokletasi tersebut, minyak dan lemak dari bahan padat yang diambil dengan mencuci berulang (perkolasi) dengan organik pelarut dalam hal ini ialah etanol 96%. Metode sokletasi ini dipilih karena pelarut yang digunakan lebih sedikit bahan, yang artinya lebih efisien dan larutan penyari yang dialirkan melalui sifon tetap tinggal dalam labu, sehingga pelarut yang digunakan untuk mengekstrak sampel selalu baru dan meningkatkan laju ekstraksi, waktu yang digunakan lebih cepat pula. Dalam penelitian ini sokletasi dimodifikasi pemanasan lemah dikisaran angka 70 °C, hal ini dilakukan karena titik didih etanol 78,4 °C (Kartika, *et al.*, 1997). Adapun kerugian metode ini ialah pelarut yang digunakan harus mudah menguap dan hanya untuk ekstraksi senyawa yang tahan panas.

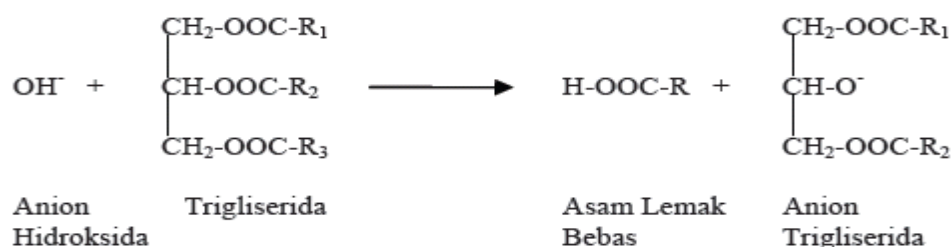
Setelah ekstrak terkumpul dan dipindah kedalam gelas beker yang kemudian di aduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan angka 9 selama 63 menit, kemudian angka 11 selama 11 menit, kemudian kecepatan diangka 10 selama 12 menit, kemudian diangka kecepatan 11 selama 76 menit mulai terdapat lapisan atas dan bawah meskipun masih tipis, kemudian 26 menit selanjutnya dengan kecepatan yang sama pada tutup plastik percikan sampel tadi menjadi mengerak, kemudian 13 menit selanjutnya dengan kecepatan yang sama yaitu 11, mulai terdapat endapan yang diduga sabun didasar gelas beaker. 37 menit setelah didapatkan endapan yang diduga sabun, sampel yang diaduk menggunakan *magnetic stirrer* tidak menunjukkan perubahan apapun lagi, kemudian ekstrak disaring lalu dievaporasi pada suhu 70 °C kemudian didapatkan ekstrak kental yang diduga *crude* gliserol.

#### 4. Isolasi Gliserol

Trans esterifikasi merupakan metode pengenceran minyak yaitu reaksi ester baru yang mengalami penukaran posisi asam lemak (Freedman, *et al.*, 1984). Reaksi trans esterifikasi ini sendiri dipengaruhi oleh dua faktor mendasar, yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal ini mencakup jenis karakteristik biji itu sendiri dan kondisi biji, sedangkan faktor eksternal itu sendiri mencakup ukuran partikel bahan, suhu, kecepatan pengadukan, jenis katalis yang digunakan, waktu reaksi dan jenis alkohol yang digunakan. Karakteristik biji papaya ini sendiri yang sangat berpengaruh adalah kadar air dan kandungan kadar minyak



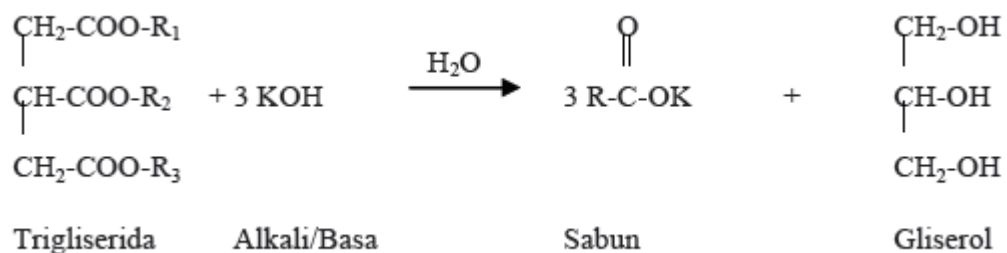
yang terdapat pada biji papaya. Semakin tinggi kadar minyak dalam biji maka rendemen etil ester yang dihasilkan semakin tinggi, hal ini dikarenakan trigliserida yang terkonversi menjadi etil ester berbanding lurus. Sedangkan apabila dalam hal ini, terdapat kandungan air dalam jumlah yang mencukupi maka akan terjadi reaksi hidrolisis. Apabila hal ini terjadi maka akan menjadi reaksi saingan bagi reaksi trans esterifikasi. Reaksi hidrolisis ini terjadi karena adanya anion  $\text{OH}^-$  yang dapat menyerang gugus ester pada struktur trigliserida. Namun apabila kandungan air yang terdapat pada minyak biji papaya tidak mencukupi, maka hal ini tidak akan menjadi gangguan bagi reaksi trans esterifikasi. Hal ini karena anion etoksida ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}^-$ ) lebih kuat daripada anion hidroksida ( $\text{OH}^-$ ) penyusun air, sehingga pembentukan etil ester dengan alkohol kemungkinan terjadinya akan menjadi lebih besar daripada reaksi hidrolisis. Terjadinya reaksi hidrolisis akan menyebabkan meningkatnya adanya asam lemak bebas dalam minyak, adapun sifat asam lemak bebas ini sedikit larut dalam air dan larut dalam minyak, berikut gambaran terbentuknya asam lemak bebas yang dikarenakan anion hidroksida ( $\text{OH}^-$ ):



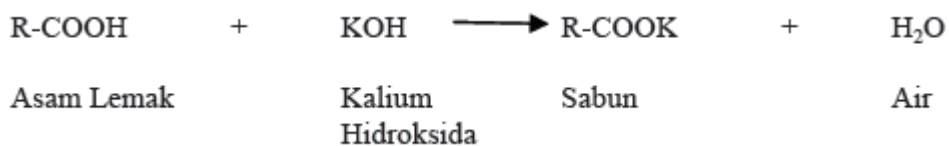
**Gambar 13.** Reaksi hidrolisis trigliserida oleh anion hidroksida

(Noureddini, *et al.*, 1997)

Kandungan asam lemak bebas dan kadar air secara berturut-turut yang lebih dari 0,5% dan 0,3% pada minyak dapat menurunkan rendemen proses trans esterifikasi (Freedman, *et al.*, 1984). Dari reaksi diatas dapat disimpulkan bahwa jenis katalis yang digunakan akan sangat berpengaruh dengan adanya asam lemak bebas. Apabila diinginkan proses trans esterifikasi terjadi dengan kandungan asam lemak bebas lebih dari 0,5% pada minyak disarankan menggunakan katalis asam, jika menggunakan katalis basa maka akan terbentuknya sabun. Meskipun dalam tujuan penelitian ini yang ingin didapatkan gliserol tetap terbentuk, akan tetapi cara untuk mendapatkan gliserol tersebut dengan cara trans esterifikasi gagal. Hanya saja dalam pengambilan *crude* gliserol ini diperlukan perlakuan tambahan, yaitu destilasi alkohol, dikarenakan gliserol larut dalam alkohol dan titik didih alkohol jauh lebih rendah daripada gliserol yaitu sekitar 71 °C. Berikut reaksi dari penyabunan dan pembentukan sabun karena adanya asam lemak bebas :



**Gambar 14.** Reaksi penyabunan trigliserida

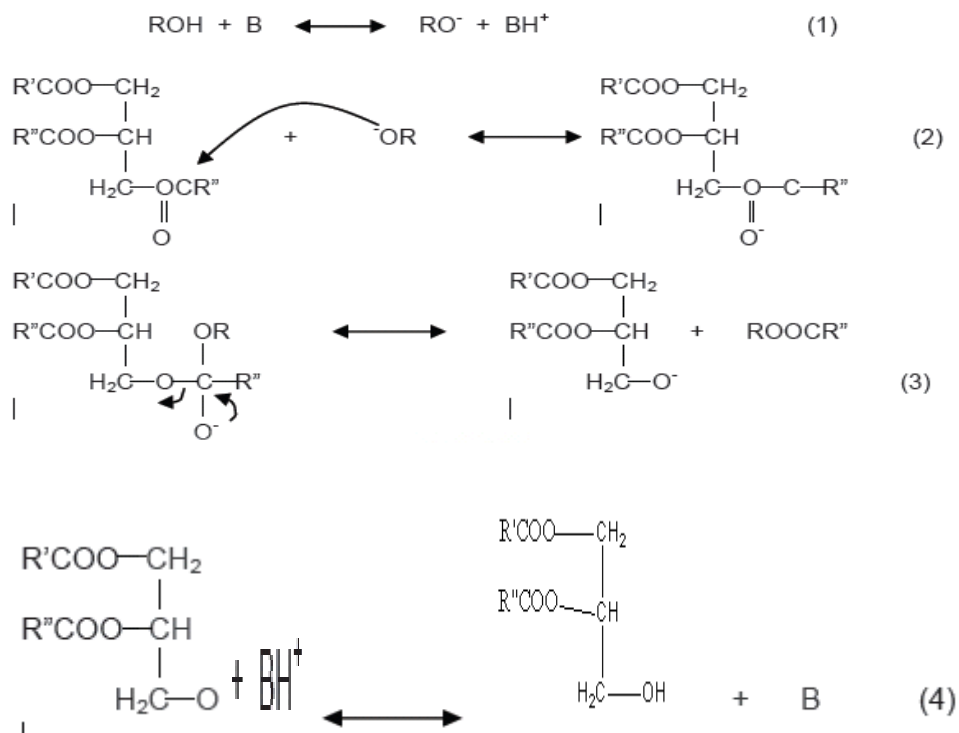


**Gambar 15.** Reaksi pembentukan sabun antara basa KOH dengan asam lemak bebas

Alkohol yang digunakan pada penelitian ini adalah jenis alkohol etanol dengan kadar 96% grade teknis, jenis alkohol ini dipilih karena relatif tidak toksik daripada metanol dan dipilih kadar 96% diharapkan dapat lebih banyak untuk menyari minyak dalam biji papaya dan dapat lebih mendukung terjadinya reaksi trans esterifikasi karena dapat menghindari terjadinya reaksi hidrolis sebagai reaksi saingan trans esterifikasi, daripada pelarut metanol yang sulit ditemukan dengan tercantumnya kadar metanol sebenarnya. Trans esterifikasi berkatalis basa berlangsung antara metanol atau etanol dan trigliserida melalui pembentukan berturut-turut digliserida dan monogliserida yang menghasilkan metil atau etil ester pada setiap tahapanya (Pinto, *et al.*, 2005). Reaksi trans esterifikasi dengan katalis basa lebih cepat 4000 kali dibandingkan katalis asam dan juga jenis katalis ini mempunyai sifat korosif yang lebih lemah dibandingkan katalis asam (Srivastava, 1999). Hal ini dikarenakan reaksi berlangsung searah, akan tetapi pemakaian katalis jenis basa hanya dapat berlangsung sempurna bila minyak atau lemak dalam kondisi netral dan tanpa air (Freedman, *et al.*, 1986). Katalis KOH ini dipilih daripada NaOH karena KOH bersifat lebih elektropositif daripada NaOH, dan juga katalis KOH dipilih daripada NaOCH<sub>3</sub> karena

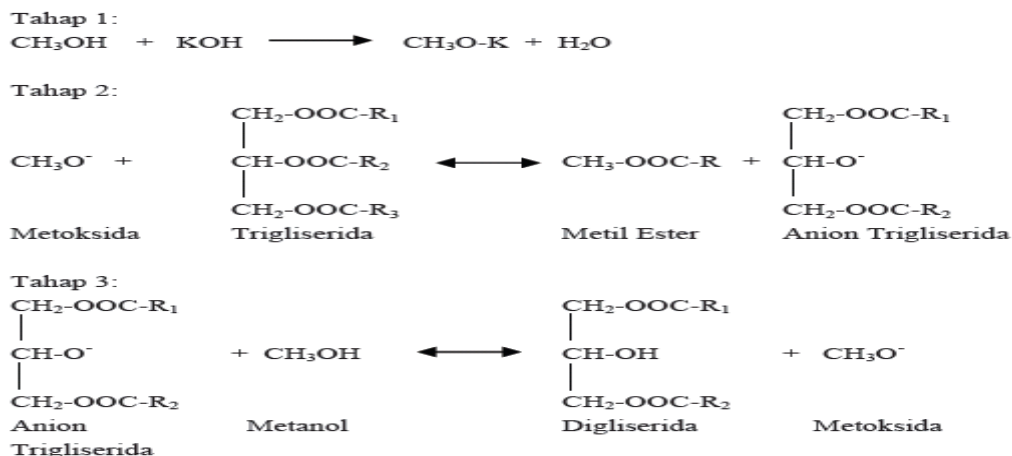
KOH lebih murah harganya serta lebih mudah dijumpai dalam toko penyedia bahan kimia. Berikut tahapan mekanisme reaksi trans esterifikasi berkatalis basa (ditunjukkan dalam gambar dan penjelasan tiap langkah) :

- Reaksi antara basa dengan alkohol menghasilkan alkoksida dan katalis terprotonkan.
- Nukleofilik menyerang alkoksida pada group karbonil dari trigliserid, membentuk suatu intermediate (Guthrie, 1991)
- Penstabilan muatan intermediate membentuk digliserida dan alkil ester.
- Katalis mengalami deprotonasi dan kembali ke keadaan semula.



**Gambar 16.** Mekanisme Trans esterifikasi berkatalis basa dari minyak nabati ( Nouredini, *et al.*, 1997)

Berikut juga tahapan reaksi terbentuknya gliserol sebagai hasil samping dari reaksi tersebut (Reaksi tidak lengkap):



**Gambar 17.** Tahapan reaksi terbentuknya gliserol (Noureddini, *et al.*, 1997)

Berikut faktor-faktor penting yang mempengaruhi rendemen etil ester lainnya adalah : Suhu, waktu reaksi, serta kecepatan pengadukan. Suhu dapat mempengaruhi lama waktu reaksi dan rendemen etil ester pada proses trans esterifikasi dengan katalis basa (Liu, *et al.*, 2008). Apabila suhu semakin tinggi, maka semakin banyak pula energi yang didapatkan reaktan untuk mencapai energi aktivasi. Energi ini didapatkan dari tumbukan-tumbukan antar molekul reaktan yang semakin intens. Energi kinetik dari molekul-molekul reaktan meningkat dan menyebabkan peningkatan kecepatan transfer massa antara reaktan dengan katalis. Pemanasan ini menyebabkan molekul-molekul minyak terdispersi dan terdistribusi kedalam molekul-molekul etanol dan bereaksi sehingga memutuskan ikatan gliserida membentuk etil ester (Noureddini, *et al.*, 1997). Waktu reaksi trans esterifikasi merupakan salah satu faktor yang

memainkan peran dalam pembentukan produk. Semakin lama waktu reaksi yang diberikan, maka rendemen etil ester akan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan waktu untuk antar molekul reaktan bertumbukan semakin lama, sehingga waktu konversi trigliserida menjadi etil ester lebih tinggi. Akan tetapi, jika sudah mencapai titik keseimbangan reaksi, maka waktu reaksi tidak berpengaruh lagi pada rendemen etil ester.

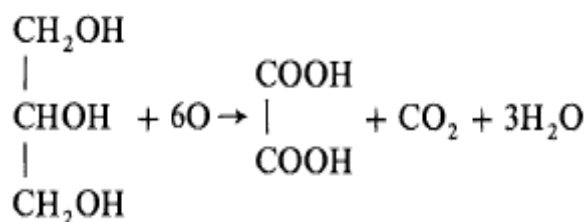
## 5. Analisis Kualitatif Kandungan Gliserol

### a. Analisis Kualitatif kandungan Gliserol dengan KLT Silica gel 254

Jenis plat KLT yang digunakan merupakan plat jenis KLT silica gel 254, suatu jenis silica gel yang apabila diperiksa dibawah lampu UV A, panjang atau pendek dapat berpendar atau berflourosensi sebagai indikator pada 254 nm, karena jenis plat KLT ini terdapat timah-kadmium sulfida atau mangan-timah silikat. Sedangkan untuk eluen aqudest (1 ml), dan Asetonitril (5,6 ml) didapatkan nilai tetapan dielektrik campuran sebesar 1,02952. Semua fase gerak KLT dimasukkan dan dicampur kedalam *chamber* dan ditutup rapat dengan ditambahkan kertas untuk mendeteksi kejenuhan eluen didalam *chamber*. Untuk fase gerak aquadest (1 ml) : asetnitril (5,6 ml) didapatkan waktu penjenuhan yang relatif sangat cepat, yaitu 9 menit. Penjenuhan fase gerak plat KLT ini sengaja dilakukan untuk proses elusidasi dapat berjalan dengan cepat serta untuk mencegah penguapan eluen. Plat KLT yang digunakan dengan panjang 10 cm dan lebar 2,5 cm, dengan batas atas dan bawah masing-masing 1 cm yang ditandai

dengan tanda pensil. Adapun untuk tiga kali pertama dari empat kali pengujian kualitatif menggunakan plat KLT penotolan sampel *crude* tiap 1 ml diencerkan dengan 5 ml aquadest sampai viskositas sampel dapat dengan mudah diambil maupun ditotolkan menggunakan pipa kapiler, sedangkan untuk marker gliserol grade pro analisis ditotolkan dalam keadaan awal (tidak diencerkan). Secara konsep gliserol tidak mempunyai *kromofor* maupun *auksokrom*, maka senyawa ini tidak akan berpendar dibawah penerangan lampu UV 254 nm, 364 nm dan visibel. Akan tetapi hal ini dapat dilakukan metode pendekatan untuk melihat bercak spot pada plat KLT, yaitu dengan penyemprotan  $\text{KMnO}_4$ .  $\text{KMnO}_4$  padatan sebanyak 0,16 gram dilarutkan dalam 25 ml aquadest hangat, setelah larut sempurna maka larutan ini disemprotkan pada plat KLT didapatkan hasil nilai Rf 0,7 di bawah penerangan lampu visibel, nilai Rf 0,7 di bawah penerangan lampu UV 254 nm dan tidak tampak nilai Rf di bawah penerangan lampu UV 354 nm. Sedangkan mulanya pada percobaan terakhir ini didapatkan nilai Rf pada crude gliserol dengan nilai 0,8 setelah disemprotkan  $\text{KMnO}_4$  tidak tampak lagi di bawah penerangan lampu UV 254 nm, lampu 364 nm dan lampu visibel. Menurut buku referensi acuan berjudul *Analytical Methods for Glycerol* karangan M. R. F. Ashworth. Permanganat dapat digunakan antara asam atau cairan alkali sebagaimana diharapkan menghasilkan berbagai produk reaksi. Total oksidasi karbon dioksida dan air membutuhkan 7 atom oksigen per molekul gliserol, hal ini

dapat dituliskan sebagai reaksi kimia yaitu :  $C_3H_8O_3 + 7O \rightarrow 3CO_2 + 4H_2O$ . Reaksi ini dimungkinkan muncul, karena adanya kandungan produk organik dari hasil reaksi. Gliserol yang telah bereaksi dengan penyemprotan  $KMnO_4$  akan berpendar berwarna kuning dengan latar belakang pink (Borisovich, *et al.*, 1970). Hal ini dimungkinkan dengan terjadinya reaksi sebagai berikut :



**Gambar 18.** Teroksidasinya gliserol

b. Uji Kelarutan *Crude* Gliserol dengan Aquadest

Sesuai Farmakope Indonesia edisi III gliserol larut sempurna di aquadest, hal ini dikarenakan aquadest bersifat polar dan gliserol bersifat polar, maka hal ini keduanya mempunyai sifat sama yaitu polar dan akhirnya larut disuhu ruangan. Aquadest mempunyai nilai tetapan dielektrik 78,5. Sedangkan gliserol mempunyai nilai tetapan dielektrik sebesar 42,5. Kemudian hasil kelarutan *crude* gliserol dibandingkan dengan hasil kelarutan gliserol murni di dalam aquadest, gliserol murni larut sempurna dalam aquadest.

c. Uji Kelarutan *Crude* Gliserol dengan Etanol 96%

Sesuai Farmakope Indonesia edisi III, gliserol larut di dalam alkohol, hal ini dikarenakan etanol bersifat polar, cenderung kearah semi polar dan gliserol bersifat polar, maka hal ini keduanya



mempunyai sifat sama yaitu polar dan akhirnya larut disuhu ruangan. Etanol mempunyai nilai tetapan dielektrik 24,3, sedangkan gliserol mempunyai nilai tetapan dielektrik sebesar 42,5. Kemudian hasil kelarutan *crude* gliserol dibandingkan dengan hasil kelarutan gliserol murni di dalam etanol 96% dengan hasil larut sempurna dalam etanol 96%.

d. Uji Kelarutan *Crude* Gliserol dengan Dietil Eter

Sesuai Farmakope Indonesia edisi III, gliserol tidak larut di dalam eter, hal ini dikarenakan eter bersifat non polar dan gliserol bersifat polar, maka hal ini keduanya mempunyai sifat yang berkebalikan yaitu polar dan non polar, dan akhirnya terjadi gumpalan larutan gliserol di dalam larutan Eter pada suhu ruangan. Eter mempunyai nilai tetapan dielektrik 4,34, sedangkan gliserol mempunyai nilai tetapan dielektrik sebesar 42,5. Kemudian hasil kelarutan *crude* gliserol dibandingkan dengan hasil kelarutan gliserol murni di dalam eter, didapatkan hasil gliserol murni praktis tidak larut dalam eter.

**Tabel 4.** Hasil Tabel Kelarutan *Crude* Gliserol dan Gliserol Murni

<b>Uji Kualitatif Kelarutan</b>	<b>Pelarut yang Digunakan</b>	<b>Keterangan</b>
<i>Crude</i> Gliserol	Aquadest	Larut Sempurna disertai adanya buih setelah sentrifuge
<i>Crude</i> Gliserol	Etanol 96%	Hampir larut sempurna,tanpa disertai buih setelah disentrifuge disertai sedikit adanya endapan

<i>Crude</i> Gliserol	Dietil Eter	yang diduga protein Tidak Larut sama sekali setelah disentrifuge, tanpa buih dan adanya endapan 2 lapisan cairan
Gliserol Murni	Aquadest	Larut sempurna
Gliserol Murni	Etanol 96%	Larut sempurna
Gliserol Murni	Dietil eter	Praktis tidak larut

e. Identifikasi Secara Fisik *Crude* Gliserol

*Crude* gliserol diidentifikasi secara fisik meliputi bentuk zat, warna, bau, keadaan sebelum – sesudah *crude* gliserol disentrifugasi menggunakan pelarut aquadest, serta jumlah volume *crude* gliserol yang didapatkan. Didapatkan hasil bau *crude* gliserol berbau kuat menyengat, tengik, terasa mengikis kulit atau bersifat iritan terhadap kulit

f. Saat *Crude* Gliserol Diencerkan dengan Aquadest dan Disentrifugasi

Sesaat *crude* gliserol sebelum diencerkan berbentuk cair berwarna kuning-oranye dan hampir tidak larut sesaat dicampurkan dengan aquadest. Akan tetapi *crude* gliserol menjadi hampir larut sempurna saat disentrifugasi disertai adanya buih. Hal ini sesuai dengan yang tercantum dalam Farmakope Indonesia edisi III.

g. Beberapa saat setelah *crude* gliserol dituangkan dalam tabung reaksi tanpa wadah atas yang tertutup. Setelah beberapa banyak *crude* gliserol yang berbentuk cairan dituangkan kedalam tabung reaksi tanpa ditutup pada bagian atas lama-kelamaan berubah menjadi memadat.

Hal ini sesuai dengan yang tercantum dalam Farmakope Indonesia edisi III.

h. *Crude* Gliserol yang Tersimpan dalam Wadah Tertutup

*Crude* gliserol yang tersimpan dalam wadah tertutup, tetap berbentuk cairan kental. Hal ini sesuai dengan yang tercantum dalam Farmakope Indonesia edisi III.

i. Sampel *Crude* Gliserol yang Diencerkan aquadest memadat dan Dituang Menjadi Satu

*Crude* gliserol yang diencerkan dengan aquadest memadat dan dituang menjadi satu dengan *crude* gliserol yang tersimpan dalam wadah tertutup ke gelas ukur sejumlah *crude* gliserol yang telah didapatkan ditampung ke dalam gelas ukur, didapatkan volume *crude* gliserol sebesar 5 ml.