

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Alat yang digunakan

Alat-alat yang di gunakan dalam penelitian ini berupa seperangkat alat destilasi, alat pendispersi (*Ultra-Turrax*) (*IKA T 18 basic*), alat-alat gelas, tissue, pipet ukur, instrumen PSA (Particle Size Analyzer), ,magnetic stirrer (*HMS-79*), alat *freeze dryer* (*TOPT-10B*), kertas saring whatman, instrumen GC-Ms (*Gas chromatography-mass spectrometry*) (*SIMAZDU QP-2010*) , dan instrumen SEM (*Scanning Electron-Microscopy*) (*Phenom TM*).

4.2 Bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cengkeh kering, aquadest, bubuk maltodekstrin ($C_6nH_{(10n+2)}O_{(5n+1)}$) teknis, bubuk kitosan ($C_6H_nO_4$)_n dari merk (*CAS (9012-76-4)*), dan n-heksan (C_6H_{14}) *p.a* dari merk (*EMSURE® CAS 110-54-3*).

4.3 Cara Kerja

4.3.1 Isolasi minyak atsiri dari daun cengkeh

Daun cengkeh yang telah gugur atau kering, dirajang kasar lalu dimasukkan kedalam alat destilasi uap. Disiapkan seperangkat alat destilasi yang telah tersambung secara aman dan rapat. Setelah semua terangkai dengan aman dan benar, nyalakan kompor hingga terbentuk uap panas. Kemudian diamati dan dilakukan proses destilasi selama 3-4 jam dan tampung destilat yang terdiri dari minyak dan air kedalam bak penampung lalu dipisahkan hasil minyak terhadap

air. Selanjutnya disiapkan botol kaca gelap untuk menampung dan menyimpan hasil minyak yang telah jernih untuk keperluan analisis selanjutnya.

4.3.2 Perhitungan rendemen minyak atsiri cengkeh

Perhitungan rendemen minyak atsiri (%R_m) berdasarkan massa minyak atsiri (M_m) yang dihasilkan oleh alat destilasi uap dibandingkan dengan massa daun cengkeh (M_{ds}) yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan minyak atsiri. Hasil dari nilai massa bahan daun cengkeh (M_{dc}) diperoleh dari hasil perkalian antara massa jenis minyak (ρ_m) dengan volume minyak (V_m) yang dihasilkan, dimana hasil dari ρ_m didapatkan melalui perhitungan pada massa jenis minyak. Kemudian nilai rendemen dapat ditentukan sebagai berikut :

$$W_m = \rho_m \times V_m$$

$$\%R_m = \frac{M_m}{M_{dc}} \times 100\%$$

4.3.3 Pembuatan mikroenkapsulasi minyak atsiri cengkeh

Pada tahap awal pembuatan formula mikrokapsul yaitu dibuat dengan cara satu unit percobaan menggunakan 10 ml minyak atsiri cengkeh dan 30 gram enkapsulan. Maka bahan 30 gram enkapsulan dibuat dari komposisi kitosan : maltodekstrin dengan perbandingan (1:2 ; 1:1 ; dan 2:1). Kemudian ditambahkan 150 ml aquadest dan dicampur merata dengan cara homogeniasi pada kecepatan putaran 6000 rpm dengan suhu 50 °C selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan 10 ml minyak atsiri (bahan inti) kedalam bahan enkapsulan dan dihomogenkan dengan menggunakan mesin pendispersi (Ultra-Turrax) pada kecepatan 15.000

rpm selama 15 menit. Mikro kapsul yang dihasilkan pada tahap ini selanjutnya disimpan dalam wadah kaca untuk keperluan analisis selanjutnya.

Tabel 4.1 Formula perlakuan produk enkapsulasi minyak atsiri cengkeh

Perlakuan	Porsi perbandingan (gram)				
	(X)	(Y)	(M)	(P)	(T)
(2:1)	20,0516	10,0350	10,26	150	190,3466
(1:1)	15,0024	15,0094	10,26	150	190,2718
(1:2)	10,0508	20,0519	10,26	150	190,3627

Keterangan :

1. Massa maltodekstrin (X)
2. Massa kitosan (Y)
3. Massa minyak atsiri cengkeh (M) didapat dari pengkalian volume dengan massa jenis minyak daun cengkeh
4. Massa pelarut dari auadest (P)
5. Total emulasi (T) didapatkan dari penampuran dari semua bahan Mikroenkapsulasi.

4.3.4 Pengeringan sampel dengan *freeze drying*

Proses pengeringan menggunakan freeze drying dengan suhu kurang dari -18°C . Kemudian disiapkan larutan enkapsulasi minyak atsiri cengkeh dan dimasukkan ke dalam tabung khusus yang disediakan lalu freezer hingga larutan membeku. Kemudian tabung yang berisi larutan sampel membeku dipasang pada alat freeze dryer yang telah dihidupkan. Dan selanjutnya keran pengatur tekanan dibuka agar uap air yang tersublim dapat berpindah dari bahan. Proses ini berlangsung hingga bahan benar-benar kering.

4.3.5 Analisis ukuran partikel dengan PSA

Larutan enkapsulasi minyak atsiri cengkeh yang belum dikeringkan dengan freeze drying, diambil sebanyak 0,25 gram dan dilarutkan kedalam 10 ml aquadest. Kemudian larutan tersebut dipipet dan diambil 3 tetes kedalam 10 ml aquadest, selanjutnya dianalisis menggunakan instrumen PSA (*Particle size Analyzer*). Setelah sampel selesai dianalisis maka hasil akan keluar dan tersimpan dalam folder. Hasil analisis yang diperoleh berupa grafik distribusi ukuran partikel dari sampel.

4.3.6 Analisis bahan aktif dari mikroenkapsulat dengan instrumen GC-MS

Didalam minyak cengkeh terdapat beberapa komponen bahan aktif, komponen utama dalam minyak cengkeh yaitu eugenol, yang akan ditetapkan dengan GC-MS dan diidentifikasi dengan *mass-spectrometry*. Sampel yang dianalisis yaitu berupa minyak cengkeh yang terenkapsulasi yang menghasilkan karakteristik yang paling baik dan minyak cengkeh (murni) dari hasil destilasi. Sampel diinjeksikan pada suhu 250 °C dengan split rasio 80:1. Kromatogram yang diperoleh diidentifikasi dengan *chem station data system*.

4.3.7 Analisis morfologi mikroenkapsula dengan instrumen SEM

Preparasi sampel dilakukan dengan cara kering yaitu hanya dengan menjatuhkan sampel yang telah berbentuk serbuk di atas prepatat yang telah ditempel di sebuah *tubs* logam setipis mungkin. Sampel siap diamati dengan SEM *voltase* akselerasi sebesar 15 kV.