

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Sampel

Sampel yang digunakan adalah tanaman nilam yang berasal dari Dusun Kembangan, Kecamatan Ngaglik, Sleman, Yogyakarta. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun dan batang sebanyak 800gr dengan perbandingan daun : batang = 3 : 1.

#### 4.2 Alat yang digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat destilasi *water bubble*, Labu ukur 500ml, Kaca arloji, Gelas beker 250ml, corong pisah 250ml, Gelas ukur 10ml, Selang air, botol sampel, Neraca analitik, Buret, Erlnmeyer 100ml, Labu ukur 10ml, AAS Perkin Elmer 5100, GC-MS Simadzu QP 2010 SE, Refraktometer, dan Terpal.

#### 4.3 Bahan yang Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Larutan  $\text{Fe}^{3+}$  2000 ppm, Aquades,  $\text{HNO}_3$  pekat, indikator PP, Larutan standar KOH 0,1 N, dan etanol 95% (v/v).

#### 4.4 Cara Kerja

##### 4.4.1 Preparasi daun dan batang nilam

- a. Daun nilam segar yang didapatkan dari wilayah Dusun Kembangan, Ngaglik, Yogyakarta dipisahkan antara daun dan batangnya.
- b. Batang yang sudah terpisah dari daun kemudian dipotong – potong

seukuran  $\pm 1$ cm untuk disuling bersama daun nilam.

- c. Kemudian dicampur antara daun dan batang nilam yang sudah dipotong – potong dengan perbandingan daun : batang = 3:1 sebanyak total berat 800 gram.

#### 4.4.2 Fermentasi daun nilam

- a. Campuran daun dan batang nilam sebanyak 800 gram ditempatkan diatas terpal untuk selanjutnya akan difermentasi, usahakan agar daun dan batang nilam tidak terlalu bertumpuk untuk menghindari daun menjadi busuk.
- b. Siram daun dan batang nilam tadi dengan 500ml aquades per 1kg bahan secara merata, usahakan semua daun dan batang nilam basah.
- c. Tutup rapat daun dan batang nilam yang telah disirami dengan aquades tadi, usahakan hanya sedikit udara yang masuk dalam terpal.
- d. Fermentasi daun dan batang nilam selama 10 jam.

#### 4.4.3 Pembuatan larutan $\text{Fe}^{3+}$ 2000 ppm

2,95 gram  $\text{FeCl}_3$  ditimbang dalam gelas arloji, kemudian dilarutkan dalam gelas beaker diaduk hingga larut, lalu dimasukkan dalam labu takar 500ml dan diencerkan dengan aquades sampai garis tanda, sehingga diperoleh larutan  $\text{Fe}^{3+}$  2000 ppm.

Larutan  $\text{Fe}^{3+}$  2000 ppm ini kemudian diencerkan hingga kadar  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi 10 ppm dan 20 ppm sebanyak 10 liter.

#### 4.4.4 Destilasi minyak nilam

Destilasi minyak nilam dari daun dan batang minyak nilam dilakukan dengan menggunakan destilasi *water bubble*. Daun dan batang nilam hasil fermentasi 10 jam dikeluarkan dari terpal kemudian ditimbang. Daun dan batang nilam dimasukkan dalam panci destilasi dan ditambah dengan larutan  $\text{Fe}^{3+}$  10 ppm dan 20 ppm hingga terendam. Tutup panci destilasi *water bubble* hingga rapat. Sambungkan ke kondensor agar uap minyak yang dihasilkan menjadi dingin. Nyalakan *boiler* dan ditunggu hingga air dan minyak nilam keluar dari kondensor. Destilasi dilakukan hingga 6 jam dari tetes pertama air dan minyak yang keluar dan dijaga suhu konstan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.4.5 Analisis

Analisis yang dilakukan pada minyak nilam hasil destilasi *water bubble* mencakup parameter – parameter yang telah ditetapkan oleh SNI yaitu Indeks bias, berat jenis, bilangan asam, kadar patchouli alcohol dan semua senyawa yang terdapat dalam minyak atsiri, dan kandungan besi (Fe) yang terdapat pada minyak nilam.

##### 4.4.5.1 Analisis kadar patchouli alcohol dalam minyak nilam

Analisis kadar patchouli alcohol dalam minyak nilam ini menggunakan alat *gas chromatography mass spectroscopy* (GC-MS) model Shimadzu QP 2010 SE. Langkah langkah analisis dengan GC-MS:

- a. Stabilizer dihidupkan.
- b. Saklar power pada GC ditekan kearah ON.
- c. Komputer dan printer dihidupkan.

- d. Program GC diaktifkan.
- e. Proses pemvakuman dan optimasi dilakukan.
- f. Tampilan analisis dilakukan.
- g. Sampel diinjeksikan ke dalam kolom menggunakan jarum injeksi (*syringe*).
- h. Tempat injeksi, kolom, dan detektor spektrometer massa dipanaskan pada temperatur dimana sampel mempunyai tekanan uap minimum 10 torr.
- i. Tempat injeksi dan detektor biasanya dibuat sedikit lebih panas dibandingkan dengan temperatur kolom untuk mempercepat penguapan sampel dan untuk mencegah kondensasi sampel.
- j. Terjadi pemisahan dalam kolom akibat partisi komponen-komponen sampel antara fasa gerak dan fasa diam.
- k. Aliran gas dan sampel yang keluar dari kolom dialirkan ke spektrometri massa yang akan mengidentifikasi komponen analisis berdasarkan massa senyawa.
- l. Terbentuknya kromatogram dan spektra hasil analisis.

#### 4.4.5.2 Analisis kadar besi (Fe) dalam sampel minyak nilam

Minyak nilam hasil destilasi ditimbang masing-masing dalam gelas piala 50ml, kemudian ditambah 10ml larutan  $\text{HNO}_3$  kemudian didihkan selama 30 menit. Hasil destruksi kemudian diencerkan dengan labu ukur 50ml hingga tanda batas.

Analisis dilakukan dengan metode kurva kalibrasi menggunakan spektrometer serapan atom (SSA) model Perkin Elmer 5100.

#### 4.4.5.3 Analisis bilangan asam pada minyak nilam

- a. 1 gram minyak nilam ditimbang dalam labu erlenmeyer.

- b. 5 ml etanol netral ditambahkan.
- c. 5 tetes indikator Phenolptalein ditambahkan.
- d. Larutan dititrasi menggunakan larutan Kalium Hidroksida 0,1 N yang sebelumnya telah distandarisasi menggunakan asam oksalat 0,1 N.
- e. Bilangan asam dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Bilangan Asam} = \frac{56,1 \times V \times N}{m} \quad (2)$$

56,1 adalah bobot setara KOH

V adalah volume larutan KOH yang diperlukan (ml)

N adalah normalitet larutan KOH (N)

m adalah massa contoh yang diuji

Sumber: SNI 06-2385-2006-Minyak Nilam

#### 4.4.5.4 Analisis berat jenis pada minyak nilam

Diambil 1ml minyak nilam hasil masing-masing destilasi dalam gelas beaker 50ml. Kemudian ditimbang berat kosong gelas beaker 50ml tadi sebagai berat kosong (m). Ditimbang berat minyak nilam sebanyak 1 ml dengan gelas beaker 50ml kosong (m<sub>2</sub>). Ditimbang juga 1ml aquades dalam wadah yang sama (m<sub>1</sub>). Data hasil pengukuran dihitung dengan rumus:

$$d = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times \rho_{\text{air}} \quad (3)$$

d adalah indeks bias minyak nilam yang diukur.

m adalah berat wadah penimbangan kosong.

m<sub>1</sub> adalah berat aquades ditimbang menggunakan wadah penimbangan.

$m_2$  adalah berat minyak nilam ditimbang menggunakan wadah penimbangan.

Sumber: SNI 06-2385-2006-Minyak Nilam

#### 4.4.5.5 Analisis Indeks bias pada minyak nilam

Analisis indeks bias dilakukan menggunakan alat bernama Refraktometer.

Cara kerjanya adalah diambil beberapa tetes minyak nilam pada masing-masing hasil destilasi dan teteskan pada wadah sampel refraktometer. Refraktometer harus dihadapkan pada sumber cahaya dan lensa refraktometer dibuka. Kemudian dilihat pada alat refraktometer hingga terlihat garis gelap terang berada pada lingkaran pembacaan alat. Kemudian dicatat harga indeks bias yang tertera dalam baris pembacaan alat refraktometer.

