

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan penelitian deskriptif eksperimental yang bertujuan mengetahui karakterisasi minyak atsiri daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) asal dataran tinggi Loksado Kalimantan Selatan.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada Januari sampai Mei 2024 di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Bahan Alam Universitas Borneo Lestari.

#### **3.3 Populasi dan Sampel**

Populasi dari penelitian ini adalah daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dataran tinggi Loksado. Adapun sampel dari penelitian ini adalah daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) diperoleh di Desa Loksado, Kecamatan Loksado, Kabupaten Hulu Sungai Selatan, Provinsi Kalimantan Selatan.

#### **3.4 Variabel Penelitian**

##### **3.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah hasil destilasi Minyak atsiri Daun Salam (*syzygium polyanthum* Wight).

##### **3.4.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat pada peneltian ini adalah hasil dari karakterisasi

minyak atsiri daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight).

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini berupa serangkaian alat destilasi air (*Pyrex*®), alat-alat gelas (*Pyrex*®), aluminium foil, corong pisah (*Pyrex*®), timbangan analitik (*Fujitsu*®), piknometer (*Pyrex*®), dan seperangkat alat GC-MS (*QP2010 Ultra Shimadzu*®), refractometer (*ATC*®), Lemeri pengering simplisia (*Ranger*®), pipet.

#### **3.5.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) segar dan yang dilayukan, *aquadest*, alkohol 70 % dan 96%, gas helium.

#### **3.5.3 Pengambilan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)**

Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) diambil di Desa Loksado, Kecamatan Loksado, Hulu Sungai Selatan, Kalimantan Selatan. Bagian yang digunakan adalah daun dari tanaman salam (*Syzygium polyanthum* Wight) yang diambil terhitung dari 3-5 daun dari pucuk yang berlokasi di desa loksado sebanyak 15 kg. Pengambilan daun Salam dilakukan pada sore hari karena adanya pengaruh waktu pengambilan. Berdasarkan penelitian terdahulu, hasil yang diperoleh daun yang diambil di waktu siang dan sore hari lebih baik dibandingkan sampel yang diambil

diwaktu pagi hari. Pada pengambilan diwaktu pagi hari kadar air yang terkandung di dalam daun Salam lebih banyak (Istiqomah *et al.*, 2020). Daun yang didapatkan akan dibagi menjadi 2 bagian yaitu 1 bagian untuk dilakukan pelayuan dan 1 bagian dibiarkan tetap segar.

#### **3.5.4 Determinasi Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)**

Determinasi sampel dilakukan dengan cara mengambil bagian daun dari tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) untuk dibuat herbarium lalu dideterminasi di Laboratorium Dasar Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru, Kalimantan Selatan dengan No Sertifikat hasil uji : 359/LB.LABDASAR/XII/2023.

#### **3.5.5 Pelayuan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)**

Daun yang telah dikumpulkan dicuci dengan air mengalir, ditiriskan dan disebar di atas kertas hingga airnya teresap (Fitriani & Lestari, 2022). Pengeringan dilakukan menggunakan oven dengan suhu 60°C sampai Daun Salam menjadi layu (Musthofa, 2016).

#### **3.5.6 Destilasi Minyak Atsiri Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)**

Sampel yang sudah siap untuk didestilasi dimasukkan kedalam labu 500 mL kemudian diletakan di atas *heating mantle*, dipasangkan aparatus *cleverger* dan kondensor yang sudah tersambung dengan selang air, lalu tombol *on* pada '*heating mantel*' dinyalakan dan keran air dihidupkan. Sampel didestilasi hingga diperoleh minyak atsiri Daun Salam yang (Safitri

& Rihayat, 2019). Dilakukan proses destilasi dengan suhu  $\leq 98^{\circ}\text{C}$  hingga waktu yang ditentukan (Zuzani & Harlia, 2015). Dilakukan perubahan alat destilasi menggunakan destilasi sederhana menggunakan panci besar untuk menyesuaikan metode yang cocok. Perubahan labu alas bulat dilakukan yang awalnya 500 mL menjadi 1000 mL. Setelah itu dilakukan modifikasi pada cara pengerjaan yaitu dengan tidak mengganti pelarut yang ada tetapi hanya menambahkan pelarut sampai perbandingan 1:4, adapun untuk sampel tetap diganti dengan yang baru setelah didestilasi selama 4-6 jam. Destilati yang didapat kemudian dipindah ke dalam corong pisah, kemudian didiamkan selama 12 jam hingga terbentuk 2 lapisan antara minyak dan air dalam corong pisah. Hal yang sama juga dilakukan pada sampel yang dilayukan (Effendi & Widjanarko, 2014).

Hasil minyak atsiri Daun Salam yang sudah terkumpul, kemudian dihitung persen rendemen menggunakan rumus

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{minyak atsiri yang dihasilkan (ml)}}{\text{bobot bahan baku yang digunakan (g)}} \times 100 \%$$

### 3.5.7 Karakterisasi Minyak Atsiri Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)

#### a. Warna dan Bau Minyak Atsiri

Sampel minyak atsiri dipipet sebanyak 10 ml, dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu tabung reaksi disandarkan pada kertas karton putih dan dilakukan pengamatan secara langsung dengan jarak

30 cm. Hasil dinyatakan sesuai dengan warna sampel minyak atsiri yang diamati dan untuk bau minyak atsiri dilakukan dengan mencium minyak atsiri secara langsung. (Abraham *et al.*, 2019). Uji ini dilakukan menggunakan pengisian formulir pada Lampiran 7 yang dilakukan responden untuk memilih karakter warna dan bau minyak atsiri daun salam segar maupun layu, kemudian dilakukan perhitungan persentase dari penilaian yang telah dilakukan responden.

#### **b. Uji Berat Jenis**

Piknometer dicuci dan dibersihkan, lalu dibilas berturut – turut menggunakan alkohol, lalu dikering, kemudian piknometer diisi menggunakan air suling bersuhu 25° C dan tutup disisipkan. Bagian luar piknometer dikeringkan menggunakan kain bersih dan ditimbangan ( $m_1$ ). Kemudian piknometer dikeringkan, lalu dibilas beberapa kali menggunakan alkohol berturut – turut, tunggu hingga kering, lalu dimasukkan ke dalam timbangan dan ditimbang ( $m$ ).

Piknometer dibersihkan, dicuci dengan alkohol, lalu ditunggu hingga kering, kemudian piknometer diisi menggunakan minyak atsiri bersuhu 25°C, dan tutup disisipkan. Bagian luar piknometer dikeringkan menggunakan kain bersih, dan ditimbangan ( $m_2$ ) (Anggraini *et al.*, 2018). Lalu dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Berat jenis} = \frac{m^2(g/ml) - m(g/ml)}{m^1(g/ml) - m(g/ml)}$$

Keterangan:

$m$  : Berat piknometer kosong (g/mL)

$m1$  : Berat piknometer dan air (g/mL)

$m2$  : Berat piknometer dan sampel (g/mL)

### c. Uji Indeks Bias

Indeks bias diukur menggunakan alat refraktometer yaitu pertama alat ditempatkan pada tempat yang memiliki pencahayaan yang bagus, dapat berasal dari sinar matahari atau sinar buatan, kemudian air bersuhu 20° C dialirkan ke dalam refraktometer, lalu dibersihkan dengan menggunakan alkohol. Sampel minyak atsiri dimasukkan kedalam refraktometer, sampel minyak atsiri harus bersuhu 20° C, lalu dilakukan gerakan maju mundur sampai bayangan bidang berubah dari terang menjadi gelap, kemudian dilakukan pembacaan untuk mengetahui kemurnian minyak atsiri yang didapatkan dilihat dari syarat nilai indeks bias (Anggraini *et al.*, 2018).

### d. Uji Kelarutan dalam Etanol

Uji kelarutan dalam alkohol dilakukan dengan cara minyak atsiri sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang ditutup dengan aluminium foil, kemudian perlahan alkohol dengan konsentrasi tertentu ditambahkan kedalam tabung reaksi, dalam penelitian ini

penulis menggunakan etanol tetes demi tetes kemudian dikocok, lalu dicatat volume dimana terjadi perubahan larutan menjadi jernih, sampai volume ml tidak terjadi perubahan maka dapat digunakan konsentrasi alkohol yang lebih tinggi (Abraham *et al*, 2019).

### **3.5.8 Analisis Minyak Atsiri Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) menggunakan GC-MS**

Kemudian sampel minyak atsiri diambil 10  $\mu$ L lalu di larutkan kedalam 240  $\mu$ L metanol. Larutan tersebut di injeksikan kedalam sistem GCMS sebanyak 1  $\mu$ L, laju alir dengan menggunakan suhu kolom 250 °C, gas pembawa helium dengan laju alir 15 menit, suhu kolom terprogram dengan suhu awal disesuaikan selama 4 menit, lalu dinaikkan perlahan-lahan dengan kenaikan 10°C selama 30 menit, dan detektor menggunakan MS (*Massa spektrometer*) (Rahayu, 2019).

## **3.6 Analisis Data**

Analisis karakterisasi mutu minyak atsiri daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dilakukan hasil analisis mutu yang meliputi kecerahan atau warna, berat jenis, indeks bias dan kelarutan dalam etanol yang dibandingkan dengan penelitian terdahulu untuk mengetahui mutu dari minyak atsiri daun Salam.

Analisis kandungan kimia menggunakan alat *Gas Chromatography Massa Spectrometry* (GC-MS) dilakukan untuk identifikasi senyawa yang terdapat pada minyak atsiri daun salam dengan cara membandingkan massa hasil

pemisahan GC setiap peak yang ada dikromatogram dengan massa yang ada pada database. Kromatografi gas (GC) berfungsi memisahkan molekul menjadi beberapa komponen, sedangkan spektrometri massa (MS) berfungsi untuk mendeteksi massa molekul masing-masing komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Hasny & Supriadi, 2021).

Analisis karakterisasi mutu dan kandungan kimia pada minyak atsiri daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dilakukan secara deskriptif untuk melihat perbedaan antara sampel daun Salam segar dan sampel daun Salam yang dilayukan baik dalam karakterisasi mutu maupun kandungan yang ada pada minyak atsiri daun Salam.