

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah eksperimental dan *Posstets-Only with Control Group Design*. Kelompok yang dilakukan perlakuan pada uji ini adalah *Virgin Coconut Oil* (VCO) menggunakan metode fermentasi dengan penambahan rempah sereh (*Cymbopogon citratus*). Parameter yang dilihat yaitu fisika dan kimia. Parameter fisika organoleptik meliputi warna dan bau. dan parameter kimia meliputi bilangan asam, bilangan peroksida dan *Gass Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS). Jumlah pengulangan pada setiap kelompok uji yaitu 9 kali yang didapatkan dari hasil perhitungan dengan rumus Federer.

$$\begin{aligned}(t-1)(n-1) &\geq 15 \\(3-1)(n-1) &\geq 15 \\2n-2 &\geq 15 \\2n &\geq 15 + 2 \\2n &\geq 17 \\n &\geq 8,5\sim 9\end{aligned}$$

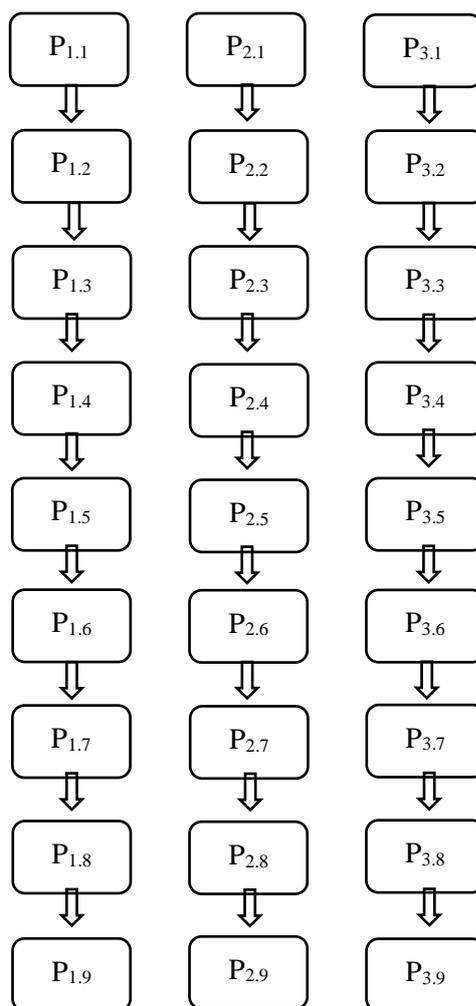
Gambar 5. Rumus *Federer*

Keterangan:

t = Banyak perlakuan yang dilakukan

n = Banyak pengulangan

Berdasarkan hasil dari perhitungan rumus federer tersebut, maka dapat diketahui jumlah pengulangan yang dilakukan yaitu sebanyak 9 kali.



Gambar 6. Skema pengulangan

Keterangan:

P1 = Perlakuan 1 yaitu *Virgin Coconut Oil* (VCO) murni yang dibuat menggunakan metode fermentasi dengan tanpa penambahan rempah sereh

P2 = Perlakuan 2 yaitu *Virgin Coconut Oil* (VCO) murni yang dibuat menggunakan metode fermentasi dengan penambahan rempah sereh

P3 = Perlakuan 3 yaitu *Virgin Coconut Oil* (VCO) komersil.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dimulai dari bulan Januari hingga bulan Mei 2024.

- a. Laboratorium Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lambung Mangkurat untuk melakukan determinasi tanaman rempah sereh (*Cymbopogon citratus*).

- b. Laboratorium Bahan Alam Universitas Borneo Lestari (UNBL) untuk melakukan pembuatan simplisia dari rempah sereh (*Cymbopogon citratus*).
- c. Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Borneo Lestari (UNBL) untuk melakukan uji kualitas dari *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan penambahan rempah Sereh (*Cymbopogon citratus*) yang dilihat dari parameter fisik organoleptis dan parameter kimia (bilangan asam, bilangan peroksida dan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS)).

3.3. Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel bebas

Variabel pada penelitian ini yaitu, VCO murni, VCO rempah sereh (*Cymbopogon citratus*) dan VCO komersil.

3.3.2. Variabel terikat

Kualitas *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan metode fermentasi yang dilihat dari parameter fisik organoleptik dan parameter kimia (bilangan asam, bilangan peroksida dan GC-MS)

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain baskom, saringan, toples untuk santan, kain lap, alumunium foil, botol kaca 100 ml, hot plate (*Kenko*[®]), stirrer, blender, ayakan mesh 40 (*Standard Sieves*[®]), buret 50 ml (*Pyrex*[®]), Erlenmeyer 250 ml (*Herma*[®]), kuvet

(*Quartz Cuvette*[®]), labu ukur 100 ml (*Pyrex*[®]), neraca analitik (*OHAUS*[®]), oven (*Heraterm*[®]), pipet tetes, pipet volume 25 ml (*Pyrex*[®]), labu ukur 100 ml dan 1.000 ml (*Herma*[®]) gelas ukur 25 ml (*Herma*[®]), pipet mikro (*DRAGON LAB*[®]), statif dan klem, spektrofotometer UV-Vis (*PG instrument T60*[®]), termometer (*Onemed*[®]) dan *waterbath* (*Mammert*[®]).

3.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain buah kelapa tua segar (*Cocos nucifera L.*), simplisia rempah sereh (*Cymbopogon citratus*), aquadest (air suling), ammonium tiosionat (NH_4SCN), asam klorida (HCl), feroklorida (FeCl_2) (*Merck*[®]), etanol 96% (*Merck*[®]), hydrogen peroksida (H_2O_2) (*Merck*[®]), indikator phenoptalein (PP) (*Smart-lab*[®]), kloroform (CHCl_3) (*Merck*[®]), metanol (CH_3OH) (*Merck*[®]), natrium hidroksida (NaOH) (*Merck*[®]), asam sulfat (H_2SO_4) (*Merck*[®]) dan n-heksana ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$) (*Merck*[®]).

3.5. Populasi dan Sampel

3.5.1. Populasi

Populasi pohon kelapa (*Cocos nucifera L.*) diperoleh dari Palam, Banjarbaru dan populasi tanaman rempah sereh (*Cymbopogon citratus*) diperoleh dari Kelurahan Guntung Manggis, Kecamatan Landasan Ulin, Kota Banjarbaru, Provinsi Kalimantan Selatan.

3.5.2. Sampel

Sampel daging buah kelapa diperoleh dari Palam, Banjarbaru. Sampel yang digunakan berupa daging buah kelapa yang sudah tua. Sedangkan sampel sereh diperoleh dari Kelurahan Guntung Manggis, Kecamatan Landasan Ulin, Kota Banjarbaru, Provinsi Kalimantan Selatan. Sampel yang digunakan berupa sereh yang segar dan bau yang khas.

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Pengambilan Rempah Sereh (*Cymbopogon citratus*)

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Sereh (*Cymbopogon citratus*) yang didapat dari Kelurahan Guntung Manggis, Kecamatan Landasan Ulin, Kota Banjarbaru, Provinsi Kalimantan Selatan. Bagian yang digunakan adalah batang yang memiliki warna hijau bagian atas dan putih bagian pangkal batang (Saragih *et al.*, 2023).

3.6.2. Pengolahan Simplisia Sereh (*Cymbopogon citratus*)

Sereh dipilih terlebih dahulu yang masih segar dan yang memiliki aroma khas sereh. Pengolahan simplisia dilakukan dengan menyortir bahan baku yakni batang sereh. Kemudian dilakukan sortasi basah dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada sereh, Setelah itu sereh dirajang kurang lebih 0,5 cm, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 55° selama 30 menit, kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing dan sisa kotoran lainnya. Setelah pengeringan simplisia di

haluskan menggunakan blender kemudian diayak menggunakan ayakan mesh 40 (Shadri *et al.*, 2018).

3.6.3. Pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO) Menggunakan Metode Fermentasi

Tahapan pertama pada penelitian ini yaitu dipilih kelapa yang sudah tua karena memiliki kadar minyak atau lemak yang tinggi. Pisahkan daging buah dari batok kelapa lalu di parut, kemudian parutan kelapa ditambahkan akuades menggunakan perbandingan 1:2 kemudian dilakukan perendaman selama 2-5 menit agar kelapa parut tercampur dengan akuades secara merata. Diperas dan disaring rendaman kelapa lalu masukkan perasan kelapa ke dalam toples dan didiamkan 2-3 jam hingga terbentuk dua lapisan yaitu krim dan skim (Dewi *et al.*, 2019).

Tahap kedua, proses aktivasi ragi dengan cara melarutkan 1 gram ragi roti ke dalam 50 mL air kelapa dan didiamkan selama 4 jam. Tahap ketiga, masukkan larutan aktivasi ragi roti ke dalam krim lalu diaduk hingga merata dan kemudian didiamkan selama 24 jam hingga terbentuk 3 lapisan yaitu VCO, blondo, dan air (Mahmudah, 2019). Ambil dan saring VCO menggunakan kertas saring. Dan dilakukan perhitungan rendemen VCO:

$$\%rendemen\ VCO = \frac{\text{bobot minyak yang diperoleh}}{\text{bobot kelapa parut}} \times 100\%$$

3.6.4. Penambahan Rempah Sereh (*Cymbopogon citratus*) terhadap Virgin Coconut Oil (VCO)

Metode yang digunakan oleh Fatima, (2021) dengan modifikasi yaitu, serbuk rempah sereh ditimbang dengan perbandingan bahan dan VCO 1:10 (1 gram dalam 10 mL). Masukkan rempah sereh dan VCO ke dalam wadah tertutup rapat, kemudian sampel dimaserasi selama 24 jam pada suhu ruang dan lakukan pengadukan setiap 6 jam sekali, setelah 24 jam hasil dari produk VCO dengan penambahan rempah sereh disaring menggunakan kertas saring, Filtrat yang diperoleh siap untuk diuji.

3.7. Pengumpulan Data

3.7.1. Pengujian Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan lima orang panelis, kemudian dilakukan pengamatan pada setiap panelis dari warna dan aroma VCO murni, VCO yang sudah ditambahkan rempah sereh (*Cymbopogon Citratus*) dan VCO komersil. Sebelum panelis melakukan pengamatan peneliti memberikan penjelasan terlebih dahulu dan cara pengisian formulir penilaian sampel (Kartika, *et.al.* 2014).

3.7.2. Penentuan Bilangan Asam Lemak Bebas

Digunakan sampel VCO sebanyak 2,5 g, dimasukkan dalam erlenmeyer berukuran 250 mL, ditambahkan etanol 95% sebanyak 25 mL. Ditambahkan indikator phenoftalein 0,5% sebanyak 3-5 tetes. dilakukan titrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N hingga berubah warna atau warna merah jambu dan tidak hilang dalam waktu 15 detik

(Dewi *et al.*, 2019). Kemudian dilakukan perhitungan pada jumlah NaOH untuk melakukan titrasi, catat untuk dihitung hasil dari kadar asam lemak bebas. Diperoleh asam lemak bebas selanjutnya dilakukan perhitungan menggunakan rumus (Bouta *et al.*, 2020):

$$\text{Asam lemak bebas} = \frac{M \times A \times N}{1000 \times G} \times 100\%$$

Keterangan:

M = Bobot molekul asam lemak (minyak kelapa = 200)

A = Volume NaOH untuk titrasi (mL)

N = Normalitas larutan NaOH G = Berat sampel (gram)

3.7.3. Penentuan Bilangan Peroksida

a. Pembuatan Larutan Induk Fe 1000 ppm (IDF, 1991)

Pembuatan larutan stok Fe dengan cara dilarutkan sebanyak 0,05 g ke dalam 5 mL HCl 10 M, kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan hidrogen peroksida 30%. Dipanaskan larutan selama 5 menit lalu didinginkan hingga suhu kamar, kemudian ditempatkan menggunakan akuades di dalam labu ukur 50 mL. Didapatkan konsentrasi larutan yaitu sebesar 1000 mg/L. Didapatkan larutan induk Fe dengan konsentrasi 100 ppm dengan diencerkan 5 mL larutan yang telah dibuat dengan larutan campuran kloroform dan metanol di dalam labu ukur 50 mL (Muqasyifah *et al.*, 2017).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebelum dilakukan analisis bilangan peroksida, terlebih dahulu menentukan panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang bertujuan agar dapat memberikan kepekaan sampel dengan maksimal. Menurut (Morti *et al.*, 2018). Senyawa-senyawa yang berwarna dalam analisis UV- Vis berada pada rentang 400-700 nm. Pengukuran bilangan peroksida menggunakan besi klorida (FeCl_2) dan amonium tiosianat (NH_4SCN).

c. Penentuan Kurva Baku

Sebelum dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis, terlebih dahulu membuat larutan Fe dengan konsentrasi 100 ppm, dibuat dengan cara mengencerkan 5 mL larutan yang telah dibuat sebelumnya (larutan induk 1.000 ppm) lalu ditambahkan larutan kloroform dan metanol 7:3 ke dalam labu ukur 50 mL. Kemudian membuat serial larutan standar menggunakan larutan stok 100 ppm ke dalam 5 buah labu ukur 10 mL dengan cara mengambil 0,02 mL; 0,04 mL ; 0,06 mL ; 0,8 mL dan 0,1 mL lalu menambahkan 0,05 mL larutan NH_4SCN dan 0,05 mL larutan FeCl_2 pada masing-masing labu ukur, kemudian mengencerkan dan menepatkan volumenya menggunakan larutan campuran kloroform dan metanol sehingga

diperoleh konsentrasi 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm, 0,8 ppm, dan 1 ppm (Muqasyifah *et al.*, 2020).

d. Analisis Bilangan Peroksida (IDF, 1991)

Ditimbang sampel VCO murni, VCO dengan penambahan sereh dan VCO sebanyak 0,3 g, lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan 10 mL campuran kloroform dan metanol dengan perbandingan 7 : 3. Lalu dimasukkan 0,05 mL NH_4SCN . Kemudian diukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum. Setelah itu, ditambahkan larutan FeCl_2 sebanyak 0,05 mL, lalu dikocok larutan dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian diukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum (Muqasyifah *et al.*, 2020).

Menggunakan rumus:

$$y = E_2 - (E_1 + E_0) \quad (1)$$

Keterangan:

y = $bx + a$ (nilai persamaan regresi linier)
 E_2 = Hasil pengukuran absorbansi FeCl_2
 E_1 = Hasil pengukuran absorbansi Blanko Fe
 E_0 = Hasil pengukuran absorbansi NH_4SCN

Perbedaan dari absorbansi sampel akan digunakan untuk menentukan konsentrasi Fe pada sampel dengan berdasarkan kurva standar. Nilai perbedaan absorbansi dimasukkan dalam persamaan kurva standar ($y = a+bx$) dari larutan standar yang telah didapatkan untuk mengetahui konsentrasi Fe yang terbaca pada sampel. Konsentrasi sampel kurva standar (x) disebut

dengan m . Bilangan peroksida sampel (miligram ekuivalen oksigen perkilogram) ditentukan dengan rumus:

$$\text{Bilangan peroksida} = \frac{M \times 1000}{55,84 \times m_o} \times 0,0101$$

Keterangan:

M	=	Konsentrasi Fe pada sampel (mg/L)
Mo	=	Massa sampel (g) 30
55,84	=	Massa relatif Fe (g/mol)
1000	=	Faktor konversi (1000 g/kg)
0,0101	=	Volume akhir larutan dalam kuvet (L)

3.7.4. Pengujian *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS)

Sebelum menginjeksikan sampel ke dalam instrumen GC-MS, sampel minyak disiapkan dengan mengatur 50 g sampel VCO dan menambahkan 400 μ L NaOH Metanol. Campuran ini diaduk dan dipanaskan pada suhu 50° C selama 10 menit. Setelah melalui proses pendinginan, 1 mL CH₃COOH, 1 mL aquadest dan 1 mL n-heksana masing-masing ditambahkan. Kemudian campuran ini di vortex dan didinginkan selama beberapa menit di mana dua lapisan terbentuk sebagai hasilnya. Sekitar 1 μ L pada lapisan atas diambil sebagai sampel yang akan diinjeksikan dan dianalisis dalam GC-MS yang dilengkapi dengan kolom kapiler (30 m) \times 0,25 mm ID; 0,25 μ m dengan menginjeksikan sampel ke dalam kolom kapiler. Gas pembawa adalah helium, di mana suhu injektor dan detektor diatur pada 280° C.

Injeksi dilakukan menggunakan mode split (1:30). Suhu kolom diprogram untuk berubah dari 50° C ke 280° C dengan kecepatan 5° C per menit. Etil ester asam lemak dipisahkan pada tekanan konstan

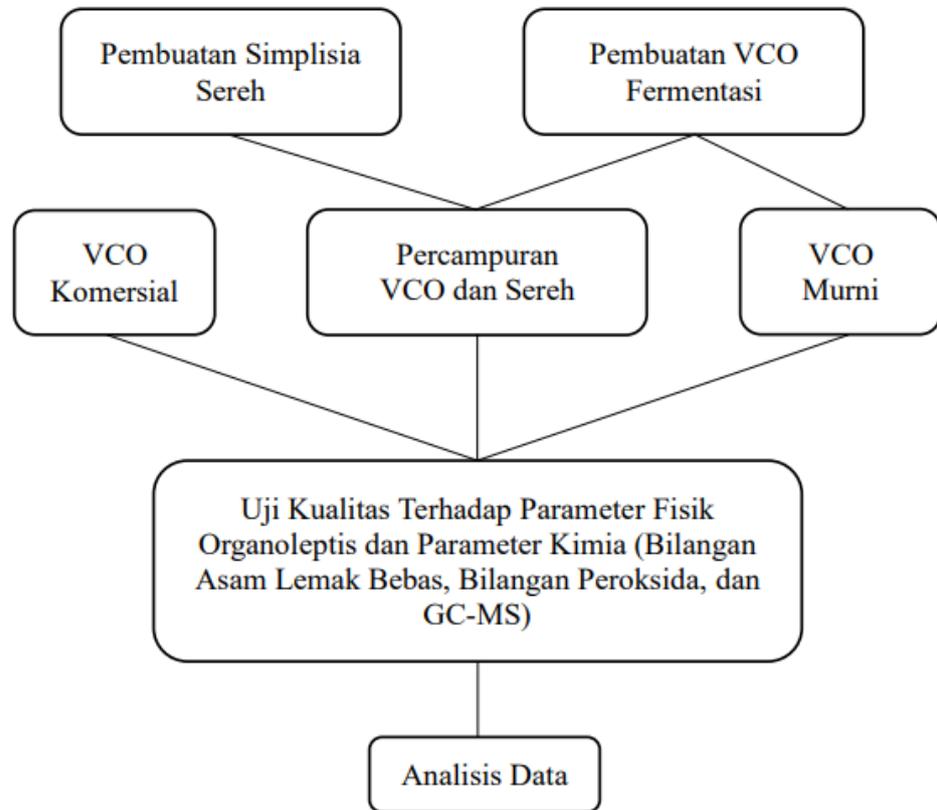
(100 kPa), dan puncaknya diidentifikasi melalui perbandingan spektra massa dengan spektra massa sebagai basis data (standar internal). Identifikasi senyawa dilakukan dengan membandingkan spektrum massa spektrum massa dengan NIST *Mass Spectral Library* 2008 (Suryani, 2020).

3.8. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan yaitu pada uji organoleptik dengan pengamatan lima orang panelis. Sedangkan hasil uji dari bilangan asam lemak bebas, bilangan peroksida dan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) diolah dengan SPSS untuk mendapatkan hasil rata-rata. Uji normalitas dan uji homogenitas dilakukan untuk melihat data terdistribusi secara normal dan homogen dengan ditunjukkannya data P value $> 0,05$. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan uji parametrik *One Way Anova* dengan taraf kepercayaan 95% ($P = 0,05$).

Uji *One Way Anova* digunakan untuk menganalisis ada atau tidak adanya perbedaan pada variabel bebas dan variabel terikat dengan adanya dua sampel atau lebih. Apabila data yang didapatkan tidak terdistribusi normal dan homogen, atau hanya salah satu yang terdistribusi normal maupun homogen maka akan dilakukan uji non parametrik *Kruskal-wallis* (Rahmatullah *et al.*, 2021). Uji *Kruskal-Wallis* atau disebut juga uji H adalah salah satu uji statistik non parametrik yang dapat digunakan untuk menguji apakah ada perbedaan yang signifikan antara kelompok variabel independen dengan variabel dependennya (Rozi *et al.*, 2022).

3.9. Skema Penelitian



Gambar 7. Skema Penelitian