

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk kedalam jenis penelitian eksperimental dan *Posttest-Only with Control Group Design*. Kelompok yang dilakukan perlakuan pada uji ini adalah *Virgin Coconut Oil* (VCO) menggunakan metode fermentasi menggunakan beberapa variasi yaitu VCO murni, VCO kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), dan VCO komersial. Dengan parameter uji ini ada dua, yaitu fisik dan kimia. Parameter fisik organoleptik meliputi warna dan bau. Sedangkan parameter kimia meliputi bilangan asam lemak bebas, dan bilangan peroksida, dan *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS). Jumlah pengulangan pada setiap kelompok uji yaitu 9 kali yang didapatkan dari hasil perhitungan dengan rumus Federer.

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

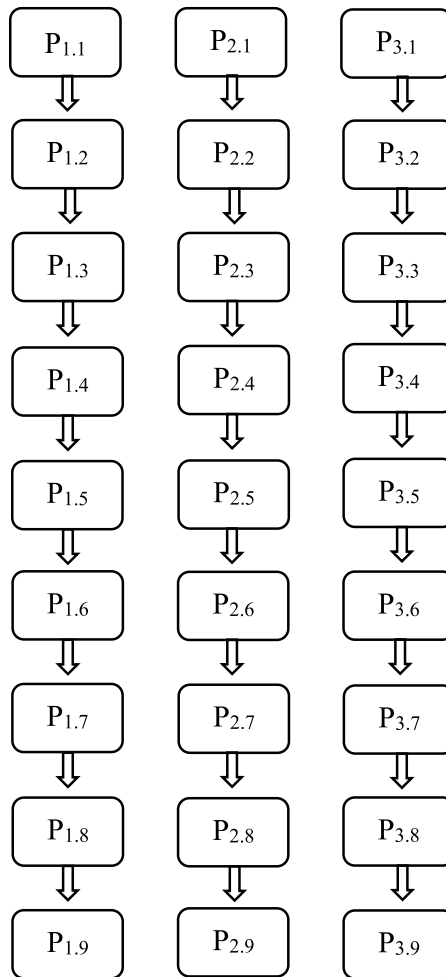
**Gambar 6.** Rumus Federer

Keterangan:

t = Jumlah perlakuan yang dilakukan

n = Jumlah pengulangan

Berdasarkan perhitungan rumus Federer, maka diketahui jumlah pengulangan sebanyak 9 kali.



**Gambar 7.** Skema Pengulangan

Keterangan:

P<sub>1</sub> = Perlakuan 1 yaitu VCO menggunakan metode fermentasi murni.

P<sub>2</sub> = Perlakuan 2 yaitu VCO menggunakan metode fermentasi kayu manis (*Cinnamomum burmannii*).

P<sub>3</sub> = Perlakuan 3 yaitu VCO menggunakan metode fermentasi komersial.

### 3.2 Waktu dan Tepat Penelitian

Waktu penelitian ini dimulai dari bulan Januari hingga bulan Mei 2024.

Tempat yang digunakan untuk penelitian ini adalah:

- a. Laboratorium Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan alam Universitas Lambung Mangkurat, untuk melakukan determinasi tanaman

kayu manis (*Cinnamomum burmannii*).

- b. Laboratorium Bahan Alam Universitas Borneo Lestari (UNBL) untuk melakukan proses pembuatan simplisia kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan pembuatan VCO (*Virgin Coconut Oil*) dengan metode fermentasi.
- c. Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Borneo Lestari (UNBL) untuk melakukan uji kualitas dari *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan penambahan serbuk kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang dilihat dari parameter fisik organoleptik (warna dan bau) dan parameter kimia (bilangan asam lemak bebas, bilangan peroksida, dan GC-MS).

### **3.3 Variabel Penelitian**

#### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi VCO murni, VCO kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), dan VCO komersial.

#### **3.3.2 Variabel Terikat**

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

### **3.4 Populasi dan Sampel**

#### **3.4.1 Populasi**

Populasi yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu pohon kelapa (*Cocos nucifera L.*) yang ada di Guntung Manggis kecamatan

Landasan Ulin kota Banjarbaru Provinsi Kalimantan Selatan dan pohon kayu manis (*Cinnamomum Burmannii*) yang ada di Kemuning kecamatan Banjarbaru Selatan kota Banjarbaru Provinsi Kalimantan Selatan.

### **3.4.2 Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu daging buah kelapa yang diambil di Guntung Manggis kecamatan Landasan Ulin kota Banjarbaru Provinsi Kalimantan Selatan dan Kulit kayu manis yang diambil di Kemuning kecamatan Banjarbaru Selatan kota Banjarbaru Provinsi Kalimantan Selatan.

## **3.5 Alat dan Bahan Penelitian**

### **3.5.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat aluminium foil, ayakan mesh 40, batang pengaduk, blender, corong kaca (Pyrex®), erlenmeyer, oven, baskom, gelas beker (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), kaca arloji, kertas saring, kuvet (Quartz Cuvette®), labu ukur (Pyrex®), neraca analitik, mikropipet (SOCOREX®), pipet tetes, pipet volume, buret, statif dan klem, spektrofotometri UV-Vis (PG Instrument®), termometer (one med®), GC-MS, water bath, dan vial.

### **3.5.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ammonium tiosianat ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ ), asam klorida (HCl), akuades, daging buah kelapa, kulit kayu manis (*Cinnamomum Burmannii*), feroklorida

(FeCl<sub>2</sub>) (Merck®), etanol 70% (Merck®), etanol 96% (Merck®), hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Merck®), indikator phenolptalein (PP) (Smart-lab®), kloroform (CHCl<sub>3</sub>) (Merck®), metanol (CH<sub>3</sub>OH) (Merck®), dan natrium hidroksida (NaOH) (Merck®), asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Merck®), dan n-heksana (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>) (Merck®)

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Pengambilan Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum Burmannii*)**

Kulit kayu manis diambil di Kemuning kecamatan Banjarbaru Selatan kota Banjarbaru Provinsi Kalimantan Selatan. Melakukan pengambilan kulit kayu manis pada pohon yang diameter 15 sampai dengan 20 cm (Andika *et el*, 2022).

#### **3.6.2 Pengolahan Simplicia Kulit kayu manis (*Cinnamomum Burmannii*)**

Sampel kulit kayu manis yang telah terkumpulkan dilakukan sortasi basah, setelah itu dicuci menggunakan air mengalir lalu lakukan perajangan menjadi potongan yang lebih kecil. lakukan pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 150 menit. Setelah kering, dilakukan sortasi kering dengan memilih simplisia yang rusak atau terkena kotoran, kulit kayu manis dihaluskan dengan diblender. Kemudian melakukan pengayakan menggunakan ayakan ukuran 40 *mesh* agar mendapatkan serbuk yang halus (Saihaan, 2021).

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

Tahapan pertama pada pembuatan VCO dengan fermentasi yaitu memilih kelapa yang sudah tua karena memiliki kandungan minyak atau lemak yang tinggi. Buah kelapa yang sudah dipisahkan dari batok di bersihkan kulit arinya lalu diparut, kemudian hasil parutan daging buah kelapa ditambahkan akuades dengan perbandingan 1000 g parutan daging kelapa ditambahkan 600 mL akuades, diamkan selama 3-5 menit agar hasil parutan kelapa tercampur dengan aquades secara merata. Kemudian diperas dan saring hasil santannya. Santan hasil penyaringan dimasukkan ke dalam toples dan didiamkan 2-3 jam hingga terbagi menjadi dua lapisan yaitu krim dan skim (Ririn, 2019).

Tahap kedua yaitu pembuatan larutan aktivasi ragi dengan perbandingan 1:50 (1 g ragi dengan 50 mL air kelapa) yang didiamkan selama 4 jam. Tahap ketiga yaitu penambahan larutan aktivasi ragi dengan 450 mL krim lalu lakukan pengadukan hingga homogen, diamkan selama 24 jam hingga terbentuk 3 lapisan yaitu VCO (bagian atas), blondo (bagian tengah), dan air (bagian bawah) (Sembodo & Lusiani, 2023). Lakukan perhitungan rendemen VCO:

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

### **3.6.4 Penambahan Simplisia Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum Burmannii*) Terhadap *Virgin Coconut Oil* (VCO)**

Penambahan simplisia kayu manis kedalam VCO menggunakan perbandingan 1:10 (1 serbuk kayu manis dan 10 mL VCO). Lalu maserasi selama 24 jam pada suhu ruang, lakukan pengadukan setiap 6 jam. Hasil maserasi VCO kayu manis kemudian disaring dan filtrat siap diuji (Pramitha *et al.*, 2022).

## **3.7 Pengumpulan Data**

### **3.7.1 Pengujian Organoleptik**

Uji organoleptik dilakukan dengan lima orang panelis untuk mengamati kualitas aroma dan warna produk VCO murni, VCO kayu manis, dan VCO komersial dengan menggunakan indra pencium dan penglihat, melalui hasil pengujian aroma dan warna akan diketahui daya penerimaan panelis terhadap produk tersebut (Fathurahmi, 2020). Sebelum melakukan pengujian, panelis diberikan penjelasan dan cara mengisi formulir penilaian sampel untuk menghindari terjadinya kesalahan (Kartika, 2014).

### **3.7.2 Penentuan Bilangan Asam Lemak Bebas**

Sampel VCO murni, VCO kayu manis, dan VCO komersial ditimbang sebanyak 5 g, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 mL, lalu tambahkan 25 mL etanol 95% serta indikator phenoftalein (PP) sebanyak 3-5 tetes. Lakukan titrasi dengan NaOH 0,1 N hingga berubah warna menjadi merah muda dan tidak hilang selama 15 detik

(Nuraisyah *et al*, 2023). Catat jumlah NaOH yang digunakan pada proses titrasi, untuk mengetahui nilai dari kadar asam lemak bebas. Kemudian lakukan 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 (g)

### 3.7.3 Penentuan Bilangan Peroksida

#### a. Pembuatan Larutan Induk Fe 1000 ppm

Pembuatan larutan stok Fe dilakukan dengan menimbang 0,05 g serbuk besi larutkan ke dalam 5 mL HCl 10 M, kemudian tambahkan 0,5 mL larutan hidrogen peroksida 30%. Panaskan larutan tersebut selama 5 menit lalu didinginkan hingga mencapai suhu kamar, kemudian ditepatkan dengan aquades dalam labu ukur 50 mL (Khairuddin *et al.*, 2017).

#### b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar Fe (II) diletakan dicuvet ke2 dan larutan blanko (kloroform dan metanol 7:3) dan absorbansinya diukur dengan alat Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450–600 nm (Ardiansyah, 2021)

#### c. Penentuan Kurva Baku Larutan Standar

Dibuat serial larutan standar dengan memasukkan 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm, 0,8 ppm, dan 1 ppm larutan stok Fe 100 mg/mL



ke dalam 5 buah labu ukur 10 mL, ditambahkan larutan  $\text{NH}_4\text{SCN}$  dan 0,05 mL larutan  $\text{FeCl}_2$ , kemudian ditambahkan dan ditepatkan menggunakan larutan campuran kloroform dan metanol (Khairuddin *et al.*, 2020). Kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Dari data hasil absorbansi, selanjutnya dihitung persamaan kurva bakunya sehingga diperoleh persamaan garis linier  $y = bx + a$  (Tulandi *et al.*, 2015).

d. Analisis Bilangan Peroksida

Ditimbang sampel VCO murni, VCO kayu manis, dan VCO komersial sebanyak 0,3 g, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian tambahkan 10 mL campuran kloroform dan metanol yang berfungsi sebagai blanko dengan perbandingan 7:3. Lalu masukkan 0,05 mL  $\text{NH}_4\text{SCN}$ . Kemudian ukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum ( $E_0$ ). Selanjutnya, ditambahkan larutan  $\text{FeCl}_2$  sebanyak 0,05 mL, lalu kocok larutan dan diamkannya selama 5 menit. Kemudian ukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum ( $E_2$ ). Yang terakhir, sebanyak 0,05 mL  $\text{NH}_4\text{SCN}$  dan 0,05 mL  $\text{FeCl}_2$  tambahkan 10 mL campuran dari kloroform dan metanol, kemudian diamkan selama 5 menit lalu ukur absorbansinya pada Panjang gelombang maksimum ( $E_1$ ) (Puspitasari *et al.*, 2020). Untuk menghitung perbedaan absorbansi ( $y$ ) ditentukan menggunakan rumus:

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

Hasil perhitungan perbedaan dari absorbansi sampel dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi Fe pada sampel dengan berdasarkan kurva standar. Nilai perbedaan absorbansi dimasukkan dalam persamaan kurva standar ( $y = bx+a$ ) dari serial larutan standar yang telah didapatkan sebelumnya untuk mengetahui konsentrasi Fe yang terdapat pada sampel. Konsentrasi sampel kurva standar ( $x$ ) disebut dengan  $m$  (Khairuddin *et al.*, 2017). Bilangan peroksida sampel (miligramekuivalen oksigen per kilogram) 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)

$m_o$  = Massa sampel (g)

55,84 = Massa relatif Fe (g/mol)

1000 = Faktor konversi (1000 g/kg)

0,0101 = Volume akhir larutan dalam kuvet (L)

#### 3.7.4 *Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS)*

Sebelum sampel diinjeksikan ke dalam instrumen GC-MS, sampel minyak disiapkan dengan menetapkan 50 g sampel VCO dan menambahkan 0,4 mL NaOH Metanolik. Campuran ini divorteks dan dipanaskan pada suhu 50°C selama 10 menit. Setelah melalui proses pendinginan, masing-masing ditambahkan 1 mL CH<sub>3</sub>COOH, 1 mL akuades, dan 1 mL n-heksana. Kemudian campuran ini divorteks dan didinginkan selama beberapa menit sehingga terbentuk dua lapisan (Mandei *et al.*, 2020).

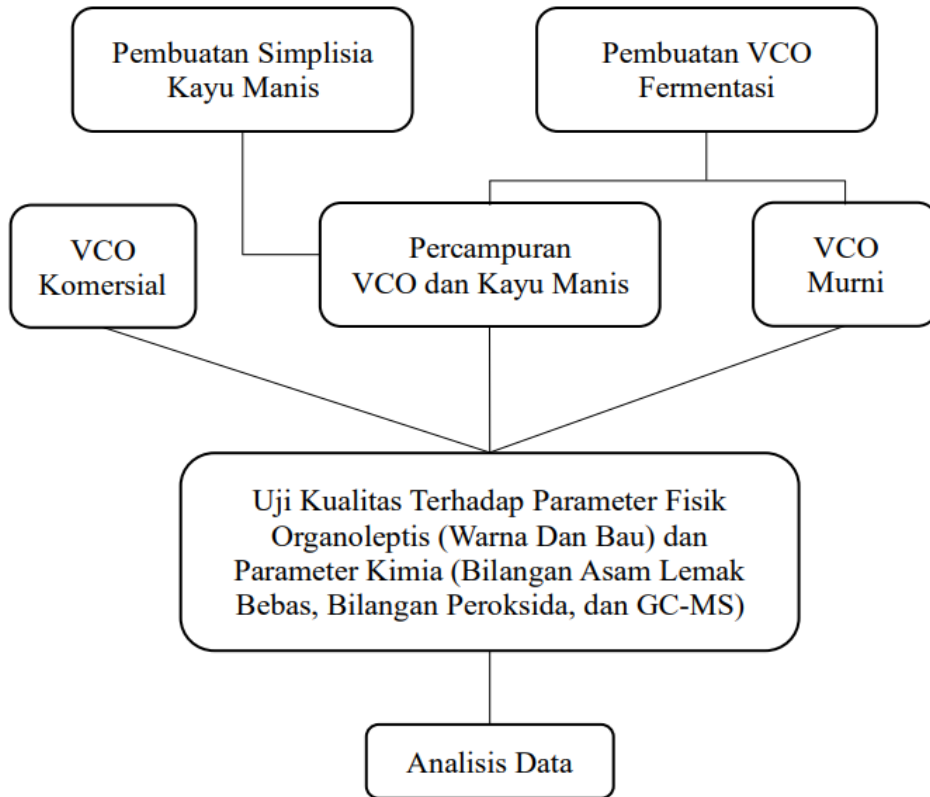
Sekitar 1  $\mu\text{L}$  pada lapisan atas diambil sebagai sampel untuk disuntikkan dan dianalisis dalam GC-MS, Shimadzu QP2010 yang dilengkapi dengan kolom kapiler berukuran (30 m)  $\times$  0,25 mm ID; 0,25  $\mu\text{m}$  (diselingi DB5MS, Jepang), dengan menginjeksikan sampel ke dalam kolom kapiler. Gas pembawanya adalah helium, dimana suhu injektor dan detektor diatur pada 280°C. Injeksi dilakukan dengan menggunakan mode split (1:30). Suhu kolom diprogram untuk berubah dari 50 °C menjadi 280 °C dengan kecepatan 5°C per menit. Etil ester asam lemak dipisahkan pada tekanan konstan (100 kPa), dan puncaknya diidentifikasi melalui perbandingan spektrum massa dengan spektral massa sebagai database (standar internal). Identifikasi senyawa tersebut berkaitan dengan perbandingan spektrum massanya dengan NIST Mass Spectral Library 2008 (Mandei *et al.*, 2020).

### 3.8 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini yaitu pada uji organoleptik dengan melakukan pengamatan oleh lima orang panelis. Sedangkan hasil uji dari bilangan asam lemak bebas, bilangan peroksida, dan 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 oleh nilai 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 (Handoyo *et al.*, 2021).

### 3.9 Skema Penelitian



Gambar 8. Skema penelitian

### 3.10 Jadwal Penelitian

**Tabel 1.** Jadwal Penelitian

Kegiatan	Bulan ke				
	1	2	3	4	5
Persiapan Proposal	X	X			
Pelaksanaan Seminar Proposal		X			
Penelitian			X	X	
Pengolahan Data				X	
Penyusunan Skripsi					X