

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental laboratorik. Dalam penelitian ini mempunyai beberapa tahapan, yaitu : preparasi sampel, pencampuran katalis KOH dengan pelarut etanol 96%, ekstraksi trans esterifikasi *in situ* dengan sokletasi pemanasan ringan 65 °C, deaktivasi katalis dengan asam *phosphat*, penguapan pelarut etanol 96%, uji kualitatif menggunakan KLT dan uji kelarutan sampel menggunakan aquadest, etanol, dan eter.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September 2016 sampai April 2017, di laboratorium penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

C. Identifikasi Variabel Penelitian dan Operasional

1. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini, menggunakan beberapa variabel, yang terbagi menjadi 3 (tiga) macam yaitu :

- a. Variabel bebas : Ekstraksi Sokletasi
- b. Variabel tergantung : Kemurnian rendemen gliserol
- c. Variabel terkendali : Katalis KOH

D. Instrumen Penelitian

1. Bahan Penelitian

Biji buah papaya (*Carica papaya* L.), etanol 96% (PT. Brataco), KOH (PT. Prima Global Chemical), aquadest (PT. Brataco), gliserol grade pro analisis (EMSURE), eter (MERCK), Toluena (MERCK), Aseton (MERCK), Amonia (EMSURE), Asetonitril (*Merck* J. T. Baker) TLC *Silica gel* GF 254 (*Merck* KGaA).

2. Alat Penelitian

Timbangan analitik (METTLER TOLEDO), timbangan digital dapur (SF-400), alat-alat gelas lab *Pyrex*, Blender (Philiph), Seperangkat alat sokletasi (Pyrex), Pemanas elektrik (CIMAREC), *Vacum rotary evaporator* (IKA-REVI 10 BASIC), *Centrifuge* (SUPER MIXER).

3. Cara Kerja

a. Pengambilan Sampel dan Determinasi

Buah papaya yang diambil dari halaman rumah di Tegalrejo, kabupaten Magelang. Buah papaya diambil pada pagi hari dengan keadaan segar dan dipetik menggunakan plintiran tangan. Biji papaya diambil dari daging buah menggunakan sendok makan.

b. Pembuatan Simplisia

Biji papaya diambil dari daging buah papaya matang, biji dibersihkan dengan cara dicuci menggunakan air bersih. kemudian keringkan di bawah sinar matahari langsung selama 3 hari. Biji papaya yang telah kering di haluskan dengan cara diblender maupun ditumbuk

secara tradisional, setelah biji papaya halus harus diayak terlebih dahulu untuk menyeragamkan ukuran, setelah hasil ayakan didapatkan disimpan di dalam toples berwarna gelap maupun di dalam plastik tebal dengan posisi biji papaya hampir memenuhi ruang simpan.

c. Perhitungan Kadar Air dalam Simplisia

Metode pengukuran kadar air dalam hal ini berdasarkan rujukan metode AOAC (1995). Adapun prinsip dari metode ini bertujuan mengetahui kandungan kadar air dalam bahan. Cawan porselin dikeringkan di oven dengan suhu 105 °C selama 30 menit, lalu cawan didinginkan di dalam deksikator selama 30 menit dan ditimbang bobot kosongnya. Biji papaya ditimbang 3 gram dan dimasukkan kedalam cawan porselin. Sampel beserta cawanya dipanaskan pada suhu 105 °C selama beberapa jam. Kemudian didinginkan dalam deksikator selama 30 menit dan ditimbang. Pengovenan dilakukan berulang sampai diperoleh bobot sampel yang stabil. Penentuan kadar air dilakukan sebanyak 5 kali replikasi.

d. Ekstraksi Metode Trans esterifikasi *In Situ* Termodifikasi Pemanasan Lemah (65 °C)

Biji papaya halus yang telah tersimpan diayak untuk menyeragamkan ukuran. Biji papaya yang telah halus serta terayak langsung dimasukkan ke dalam tabung sokletasi dan ditambahkan pelarut etanol yang sebelumnya telah dicampurkan katalis KOH. Saat

proses trans esterifikasi tabung sokletasi diberi perlakuan pemanasan lemah 65 °C.

e. Isolasi Gliserol

Setelah ekstrak kental minyak biji papaya didapatkan ditambahkan larutan etanol dan KOH yang sebelumnya telah dicampur dahulu. Larutan diaduk dengan pemanasan 65 °C selama 30 menit menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian didinginkan sampai terbentuk larutan yang terdapat endapan basa-asam lemak, yaitu sabun dan *crude* gliserol atau sampai terbentuk dua lapisan yang memisah, lapisan cairan atas berwarna keruh agak cerah adalah etil ester sedangkan larutan bawah yang berwarna gelap keruh merupakan gliserol mentah.

f. Uji Kualitatif dengan KLT

Plat KLT dihangat keringkan dalam oven pada suhu 70 °C selama 1 jam. Ekstrak kering, ekstrak basah dan standar gliserol ditotolkan pada lempeng silica gel GF 254 yang berfungsi sebagai fase diam. Fase gerak yang digunakan adalah asetonitril (5,6 ml) : destilated water (1 ml) dilihat bercak dengan lampu UV 254 nm. Disiapkan lempeng *silica gel* GF 254 dengan ukuran 10x2,5 cm kemudian dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah dijenuhkan oleh fase gerak. Setelah selesai, lempeng tersebut dikeringkan dengan diangin-anginkan setelah itu dilakukan pengamatan warna bercak dan Rf pada lempeng terhadap ekstrak dengan lampu UV 254 nm yang sebelumnya telah disemprot dengan $Kmno_4$ ataupun Iodin.

g. Uji Kelarutan Sampel *Crude* Gliserol

Diambil sampel secukupnya kemudian dimasukkan kedalam tabung yang masing-masing berisi aquadest, etanol dan eter. Kemudian tabung raksi disentrifuge, hal ini untuk membuktikan hasil kelarutan sampel yang diduga *crude* gliserol dapat larut sempurna, larut sebagian, ataupun tidak larut dengan hasil kelarutan gliserol grade pro analisis dengan pelarut yang sama.

h. Uji Organoleptis Senyawa *Crude* Gliserol

Diambil sebagian *crude* gliserol diidentifikasi meliputi bau, warna, sifat terhadap kulit, sifat fisik zat dalam keadaan terbuka dan tertutup rapat. Hasil dari pengujian ini dibandingkan dengan hasil *crude* gliserol yang telah berhasil didapatkan dari bahan biji-bijian lain. Hal ini dilakukan untuk memastikan karakteristik *crude* gliserol tersebut.