

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Sampel, Bahan dan Alat

3.1.1 Sampel

Sampel berupa rimpang temu lawak yang diperoleh dari Desa Bulusan, Kecamatan Tembalang, Semarang, Jawa Tengah.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah Magnesium sulfat anhidrat p.a., metanol teknis dan aquades.

3.1.3 Alat

Alat yang digunakan adalah refraktometer ABBE, seperangkat alat distilasi, seperangkat alat GC-MS SHIMADZU QP-5000, alat gelas, piknometer, polarimeter, pisau atau alat pengiris, timbangan dan oven

3.2 Metode Kerja

Untuk mengisolasi minyak atsiri dari rimpang temu lawak digunakan metode distilasi uap dan air. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro Semarang, uji tetapan fisik dilakukan di Laboratorium Kimia Fisika FMIPA Universitas Diponegoro Semarang, dan analisis GC-MS dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Uji aktivitas minyak atsiri temu

lawak terhadap ikan Guppy dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Diponegoro Semarang.

3.3 Proses Kerja

Adapun kronologi kerja yang penulis lakukan adalah sebagai berikut :

3.3.1 Pengumpulan bahan atau sampel

Bahan atau sampel diambil dari Desa Bulusan, Tembalang, Semarang

3.3.2 Penyiapan bahan atau sampel

Setelah bahan segar dibersihkan dan dijemur di bawah sinar matahari selama \pm satu hari, bahan segar tersebut dirajang dengan ketebalan \pm 1 mm, kemudian dikeringkan di tempat teduh dan tidak terkena sinar matahari secara langsung.

3.3.3 Isolasi minyak atsiri dari rimpang temu lawak

Sebanyak 1 kg rimpang temu lawak kering dimasukkan ke dalam dandang. Setelah alat distilasi terpasang dilakukan distilasi uap dan air. Api diatur sedemikian rupa sehingga tetesan destilat yang keluar konstan. Destilat yang menetes ditampung dengan erlenmeyer sampai tetesan destilat bening. Percobaan ini dilakukan selama 6 jam.

Destilat yang terbentuk didiamkan sampai terpisah menjadi dua lapisan, lapisan atas adalah minyak dan lapisan bawah adalah air. Lapisan atas diambil kemudian ditambah dengan Magnesium sulfat anhidrat ($MgSO_4$ an hidrat), sehingga didapat minyak atsiri yang bebas air.

3.3.4 Penentuan tetapan fisik minyak atsiri temu lawak

a. putaran optik

Untuk menentukan putaran optik suatu zat digunakan alat polarimeter.

Prosedur penentuan putaran optik adalah sebagai berikut :

Tabung polarimeter 100 mm yang berisi minyak ditempatkan di bawah alat pemeriksa diantara *polarizer* dan *analizer*, secara perlahan-lahan *analizer* diputar sampai setengahnya dan intensitas sinarnya sama dengan penerangannya. Pada pengaturan yang sesuai akan dapat dilihat arah rotasi ke kanan atau ke kiri berdasarkan intensitas penerangan dari kedua bagian bidang.

Arah rotasi ditentukan, apabila *analizer* berputar berlawanan arah dengan jarum jam dari titik nol disebut *leavo* (-), dan apabila searah dengan jarum jam disebut *dekstro* (+). Setelah arah rotasi ditentukan, *analizer* diatur kembali sampai didapatkan intensitas penerangan yang sama dari kedua bagian bidang. Tombol *analizer* diputar sehingga garis di antara kedua bidang menjadi jelas. Selanjutnya dilakukan pembacaan derajat dan menit putaran optik minyak atsiri temu lawak.

b. indeks bias

Indeks bias ditentukan dengan alat Refraktometer ABBE. Prosedur yang digunakan adalah sebagai berikut :

Prisma dibersihkan dengan eter dan suhu alat dikondisikan menjadi 26 °C. Sampel ditempatkan pada prisma sampai penuh, kemudian prisma ditutup rapat dengan sekrup. Alat dibiarkan beberapa menit sebelum pembacaan dilakukan supaya suhu alat dan bahan menjadi sama. Alidade digerakkan maju dan mundur

sampai bayangan bidang berubah dari terang menjadi gelap. Warna dieliminir dengan memutar sekrup kompensator sampai menjadi mantap, sehingga diperoleh garis tidak berwarna, garis pembatas diatur sehingga diperoleh garis pemisah seperti rambut. Nilai indeks bias dari sampel dapat dibaca langsung dan pembacaan ke dua dilakukan beberapa menit kemudian supaya suhu setimbang.

c. berat jenis

Untuk mengukur berat jenis minyak atsiri temu lawak digunakan alat piknometer. Prosedur yang digunakan adalah :

Piknometer bersih diisi dengan air suling, permukaan air diatur sampai puncak kapiler. Kelebihan air dibuang dengan kain, suhu dikondisikan menjadi 27,5 °C kemudian ditimbang sehingga didapat nilai *water equivalen*.

Piknometer dikosongkan dan dicuci dengan alkohol dan eter kemudian dikeringkan. Piknometer diisi dengan minyak atsiri temu lawak, permukaan minyak diatur sampai puncak kapiler. Kelebihan minyak dibuang dengan kain dan suhu dikondisikan menjadi 27,5 °C kemudian ditimbang sehingga didapat nilai atau bobot dari minyak atsiri.

3.3.5 Penentuan kadar air dan rendemen hasil

a. penentuan kadar air

Kadar air ditentukan dengan cara sampel ditimbang sehingga diperoleh berat awal (a). Sampel dioven kemudian ditimbang sehingga diperoleh berat akhir yang konstan (b). Kadar air dihitung dengan rumus $\frac{b}{a} \times 100 \%$

b. penentuan rendemen hasil

Rendemen hasil ditentukan dengan menghitung berapa gram hasil (a) dibagi gram sampel yang digunakan (b) dikalikan 100 % atau $\frac{a}{b} \times 100 \%$

3.3.6 Analisis komponen kimia minyak atsiri dari rimpang temu lawak

Sebanyak 1 μL minyak yang telah dilarutkan dalam pelarut yang cocok diinjeksikan ke dalam alat GC-MS dengan kondisi sebagai berikut :

Jenis pengion	: EI (Electron Impack) 70 ev
Jenis kolom	: DB 1
Panjang kolom	: 30 m
Suhu kolom	: 50 °C (5 menit) s/d 250 °C / 10 m
Gas pembawa	: Helium 10 Kpa
Injektor mode	: Split 1 : 8 suhu 270 °C
Suhu detektor	: 280 °C

3.3.7 Uji aktivitas ⁽²⁵⁾

Untuk mengetahui aktivitas biologis dari minyak atsiri sampel diujikan terhadap ikan Guppy dengan prosedur sebagai berikut :

a. pembuatan variasi konsentrasi

Sebanyak 500 mg minyak atsiri temu lawak dilarutkan dalam labu takar 500 mL dengan aquades dan dua tetes metanol sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya dari konsentrasi 1000 ppm tersebut dibuat larutan dengan konsentrasi 500 ppm, 250 ppm, 200 ppm, 100 ppm , 90 ppm, 80 ppm, 70 ppm, 60 ppm, 50 ppm dan 40 ppm.

b. uji aktivitas minyak atsiri temu lawak terhadap ikan Guppy.

Ikan Guppy dipuasakan terlebih dahulu selama satu malam. Disiapkan 10 bejana dan setiap bejana diisi dengan variasi konsentrasi minyak atsiri sebanyak 100 mL dan 10 ekor ikan Guppy yang besar dan umurnya sama. Disiapkan juga bejana yang berisi aquades sebanyak 100 mL dan satu tetes metanol serta 10 ekor ikan Guppy yang besar dan umurnya sama sebagai kontrol. Uji aktivitas dilakukan dengan menghitung prosentase kematian ikan yang diamati setelah satu jam pemberian minyak atsiri temu lawak dengan pengulangan tiga kali (3x).

