

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Kimia, Universitas Pendidikan Indonesia, Jalan Dr. Setiabudi No. 299, Isola, Kecamatan Sukasari, Bandung, Jawa Barat, 40154. Penelitian dilakukan dari bulan Februari 2023 hingga Juli 2023. Analisis *Fourier-Transform Infrared* (FTIR) dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen (LKI) Departemen Pendidikan Kimia, UPI. Karakterisasi *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dilakukan di Laboratorium Pusat Survei Geologi Bandung.

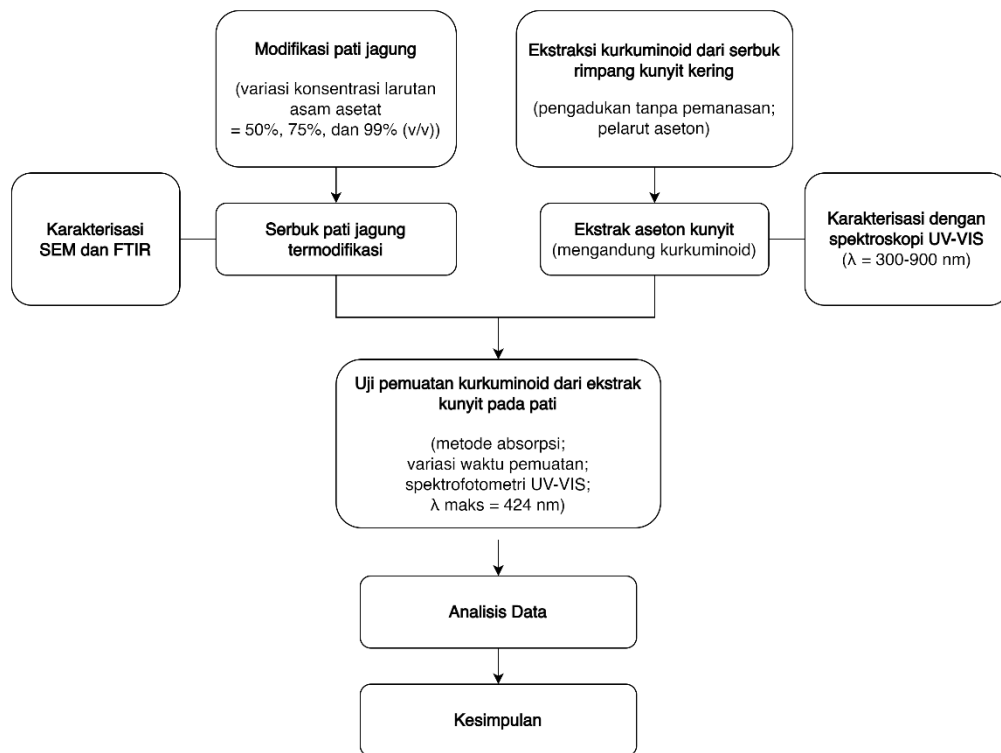
3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada studi ini yaitu gelas kimia, *centrifuge*, tabung *centrifuge*, oven, labu erlenmeyer bertutup, gelas ukur, pipet kaca, pipet plastik, spatula, *magnetic stirrer*, biji/*bar magnetic stirrer*, pipet ukur, *ball* pipet, botol kaca bertutup karet, set alat filtrasi vakum, dan vial kaca bertutup karet. Selain itu, instrumen spektrofotometer UV-VIS digunakan untuk penentuan panjang gelombang maksimum serta pengukuran absorbansi pada uji pemuatan kurkuminoid pada pati.

Bahan yang digunakan pada studi ini yaitu serbuk pati jagung, serbuk bubuk rimpang kunyit kering, larutan asam asetat glasial 99.98%, akuades, aseton 100%, etanol 96%, larutan NaOH 1 M, dan larutan HCl 0,6%.

3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini mencakup empat tahapan utama yaitu (1) modifikasi pati jagung, (2) karakterisasi produk pati jagung termodifikasi menggunakan FTIR dan SEM, (3) ekstraksi kurkuminoid dari bubuk rimpang kunyit kering, dan (4) uji pemuatan kurkuminoid dari ekstrak kunyit pada pati. Skema tahapan penelitian ditunjukkan pada **Gambar 3.1**.

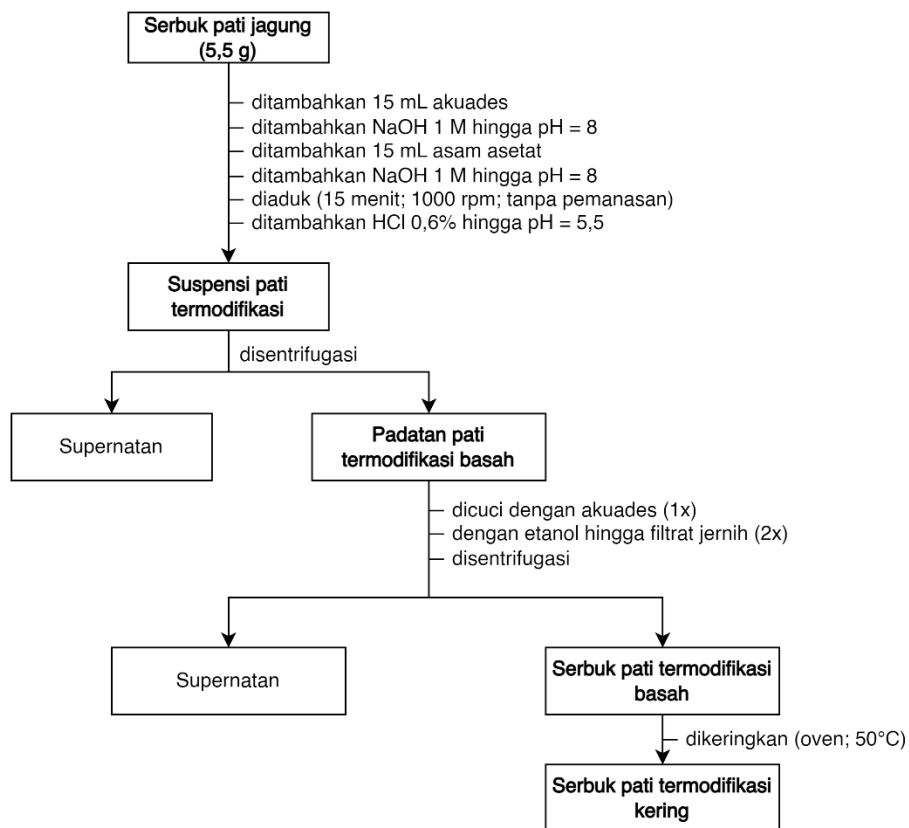


Gambar 3.1 Bagan alir penelitian

3.3.1 Modifikasi Pati Jagung

Prosedur modifikasi pati jagung divisualisasikan pada **Gambar 3.2**. Metode modifikasi pati jagung dilakukan dengan metode yang telah dilaporkan oleh Kumoro dkk. (2015) dengan beberapa modifikasi. Serbuk pati jagung sebanyak 5,5 g ditambahkan dalam 15 mL akuades dan diaduk. Campuran kemudian ditambahkan NaOH 1 M hingga pH = 8. Selanjutnya, larutan asam asetat dengan konsentrasi tertentu sebanyak 15 mL ditambahkan dan pH campuran diatur dengan NaOH 1 M hingga pH = 8. Penelitian ini menggunakan tiga larutan asam asetat dengan konsentrasi berbeda yaitu 50%, 75%, dan 99% (v/v). Larutan asam asetat dengan konsentrasi 50% (v/v) dan 75% (v/v) dibuat dengan mengencerkan asam asetat 99.98% dalam akuades dengan rasio 50% (v/v) dan 75% (v/v). Suspensi diaduk dengan pengadukan konstan selama 15 menit (1000 rpm). Suspensi ditambahkan HCl 0,6% sampai pH = 5,5. Seluruh proses modifikasi dilakukan tanpa proses pemanasan.

Setelah didinginkan hingga suhu kamar, suspensi disentrifugasi untuk mendapatkan padatan putih (11000 rpm; 1 menit). Padatan dicuci satu kali dengan akuades, dicuci dengan etanol sebanyak 2 kali, kemudian disentrifugasi. (11000 rpm; 1 menit). Padatan kemudian dikeringkan dalam oven (50 °C). Label AA50, AA75, dan AA99 kemudian secara berturut-turut digunakan untuk merujuk pada sampel pati yang telah dimodifikasi dengan larutan asam asetat konsentrasi 50%, 75%, dan 99% (v/v).



Gambar 3.2 Bagan alir modifikasi pati dengan asam asetat

3.3.2 Ekstraksi Kunyit

Serbuk rimpang kunyit diperoleh dari produk yang telah jadi. Serbuk rimpang kunyit sebanyak 18 mg (*dry weight*) dicampurkan dengan 100 mL larutan aseton. Campuran kemudian diaduk selama 30 menit. Campuran kemudian disaring

menggunakan filtrasi vakum dan filtrat diambil sebagai larutan ekstrak aseton kunyit.

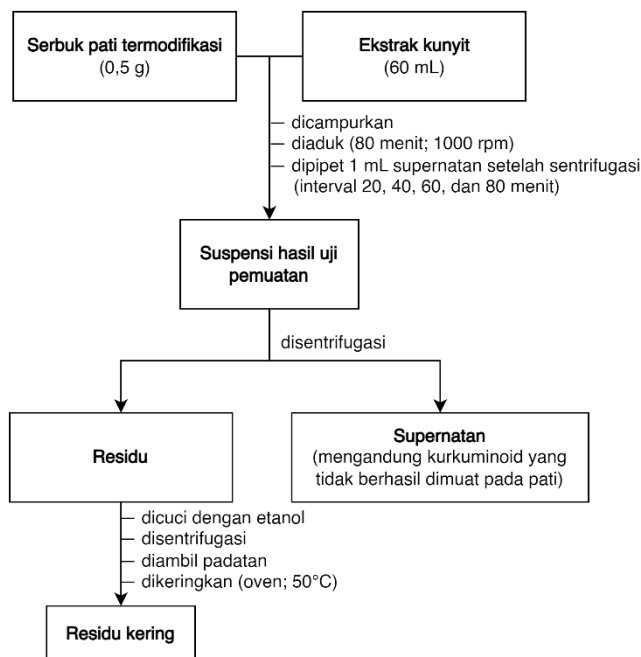
3.3.3 Karakterisasi Ekstrak Kunyit dengan Spektroskopi UV-VIS

Pengukuran absorbansi ekstrak kunyit sebelum pemuatan dilakukan menggunakan ekstrak kunyit yang telah diencerkan. Ekstrak kunyit diencerkan dalam akuades dengan rasio 50/50 (v/v), kemudian diambil sebanyak 1 mL dan diencerkan dengan akuades hingga volume 10 mL.

Pengukuran absorbansi maksimum ekstrak kunyit menggunakan spektroskopi UV-VIS dilakukan pada panjang gelombang 300-900 nm. Panjang gelombang yang memberikan nilai absorbansi maksimum (panjang gelombang maksimum; λ maks) selanjutnya dipakai untuk pengukuran uji pemuatan kurkuminoid.

3.3.4 Uji Pemuatan Kurkuminoid dalam Ekstrak Kunyit pada Pati

Bagan alir uji pemuatan kurkuminoid ditunjukkan pada **Gambar 3.3**. Pada penelitian ini, pemuatan dengan metode absorpsi dilakukan dengan mencampurkan serbuk pati dalam larutan ekstrak kunyit. Ekstrak kunyit diencerkan terlebih dahulu dengan rasio ekstrak kunyit/akuades sebesar 50/50 (v/v). Pati termodifikasi sebanyak 0,5 g ditambahkan ke dalam 60 mL ekstrak kunyit yang telah diencerkan dan diaduk selama 80 menit (1000 rpm). Pengaruh waktu pemuatan terhadap pemuatan kurkuminoid dipelajari dengan menggunakan metode dari studi Farias dkk. (2022). Supernatan diambil dari campuran uji pada interval 20, 60, 40, dan 80 menit. Untuk mengambil supernatan, pengadukan diberhentikan 5 menit sebelum interval waktu yang telah ditentukan untuk memisahkan supernatan dan residu melalui proses sentrifugasi. Setelah 1 mL supernatan dipipet, campuran kembali diaduk. Sebelum diukur absorbansinya dengan spektroskopi UV-VIS, 1 mL supernatan yang telah diambil diencerkan dengan akuades hingga 10 mL. Setelah pengadukan selama 80 menit, residu hasil sentrifugasi dibilas dengan etanol hingga filtrat jernih untuk menghilangkan kurkuminoid yang tidak termuat di padatan. Residu kemudian dikeringkan dalam oven (50°C).



Gambar 3.3 Bagan alir pemuatan kurkuminoid dari ekstrak kunyit pada pati termodifikasi asam asetat

3.3.5 Karakterisasi Spektroskopi *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR)

Perubahan pada gugus fungsi pati akibat proses modifikasi diidentifikasi dari hasil karakterisasi menggunakan spektroskopi *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR). Material hasil sintesis dicampur dengan KBr dengan perbandingan 1:99. Campuran sampel dan KBr digerus hingga sampel dan KBr tercampur merata. Campuran yang telah digerus diletakkan pada cetakan pelet dan ditekan dengan penekan hidrolik sehingga terbentuk pelet. Pelet tersebut selanjutnya diletakkan dalam *holder* dan dikarakterisasi dengan spektrofotometer FTIR pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Instrumen spektrofotometer FTIR yang digunakan adalah FTIR-600, Jaco Corp, Japan. Spektrogram FTIR dalam bentuk data persen transmitansi (%T) diolah lebih lanjut menjadi data absorbansi menggunakan Persamaan 2. Kristalinitas pati ditentukan secara kualitatif berdasarkan perubahan serapan pada bilangan gelombang 1022 cm^{-1} untuk struktur amorf dan 1047 cm^{-1} untuk struktur kristalin. Pengolahan data FTIR dilakukan menggunakan aplikasi OriginLab 8.5 dan Microsoft Excel.

$$\text{Absorbance} = 2 - \log(\% T) \quad (2)$$

3.3.6 Karakterisasi *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Struktur, morfologi, dan permukaan pati dapat dikaji menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Instrumentasi untuk karakterisasi SEM dilakukan menggunakan *Carl Zeis Type EVO MA 10*. Sampel yang akan dianalisis direkatkan pada *specimen holder*. Sampel yang sudah dipasang pada holder dibersihkan menggunakan *hand-blower*. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam mesin pelapis untuk diberi lapisan tipis berupa gold-paladium selama empat menit untuk menghasilkan lapisan dengan ketebalan 200-400 Å. Sampel yang telah dilapisi kemudian dimasukkan ke dalam ruang sampel. Foto SEM diambil pada perbesaran x500 dan x2500. Gambar SEM kemudian diolah lebih lanjut menggunakan aplikasi ImageJ.