

BAB III

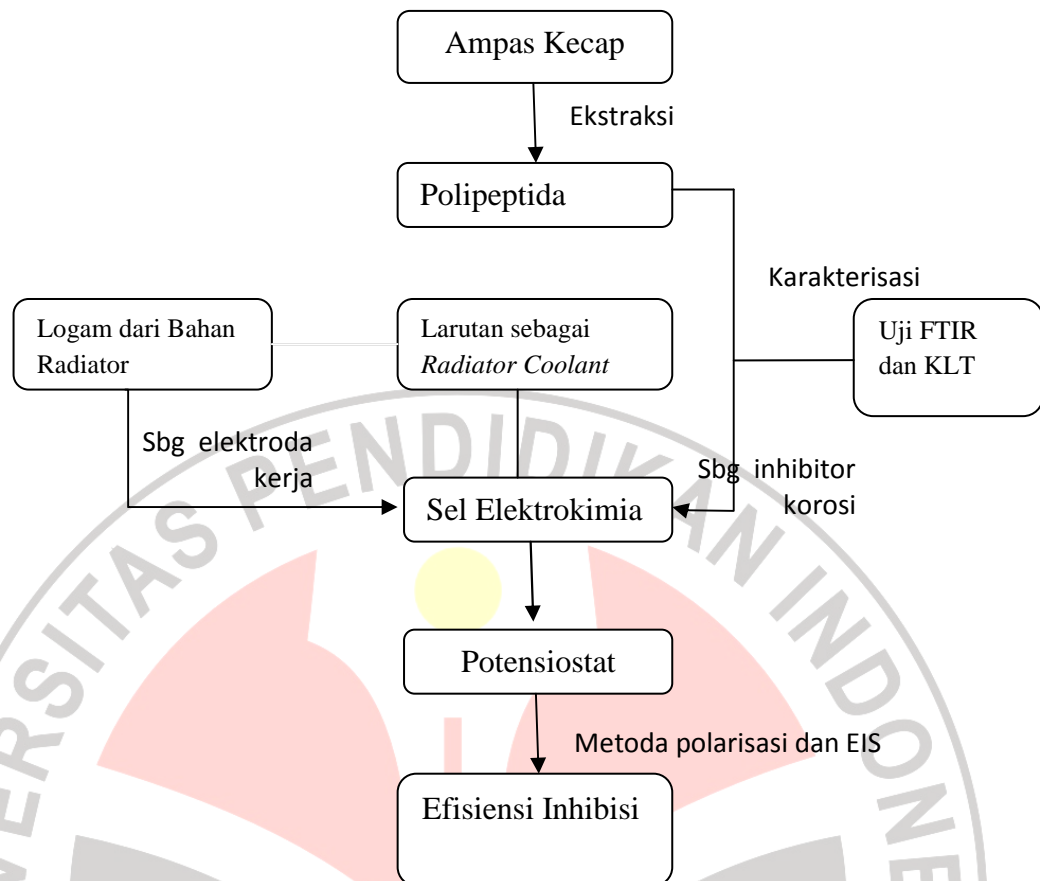
METODA PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Secara umum, proses penelitian ini terdiri dari tiga tahap. Tahap pertama adalah mengekstrak polipeptida dari ampas kecap melalui cara pengendapan dengan menggunakan asam asetat dan amonium sulfat. Tahap kedua adalah pengukuran laju korosi dan efisiensi inhibisi hasil ekstrak polipeptida pada kuningan dalam media *radiator coolant* dengan menggunakan metoda EIS dan Tafel. Tahap ketiga adalah karakterisasi senyawa hasil antaraksi antara ekstrak polipeptida dan permukaan kuningan dengan menggunakan FTIR dan KLT. Prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak polipeptida dari ampas kecap
2. Pembuatan larutan induk untuk pengujian korosi logam
3. Pelaksanaan pengujian dengan metoda EIS dan Tafel, meliputi:
 - a. Variasi konsentrasi inhibitor
 - b. Variasi temperatur larutan uji
4. Analisis data.
 - a. Uji KLT
 - b. Karakterisasi gugus fungsi dengan FTIR

Secara skematik, langkah-langkah yang ditempuh dalam penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Bagan Alir Penelitian

3.2 Persiapan Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam ekstraksi polipeptida dari ampas kecap ini adalah gelas kimia, gelas ukur, *stirrer* dan *magnetic stirrer*, neraca analitik, kaca arloji, spatula, termometer, evaporator (*Buchi oilbath B-485*), sentrifus (Kokusan H-103n), pipet tetes. Untuk pengukuran laju korosi dan efisiensi inhibisi zat inhibitor digunakan potensiostat produksi Radiometer® (Tacussel-Radiometer, Voltalab PGZ 301), Radiometer dengan perangkat lunak VoltaMaster (4) yang terdapat di Laboratorium Korosi Program Studi Kimia ITB. Selain itu, peralatan yang digunakan dalam proses pemurnian polipeptida yang terisolasi adalah set

alat refluks, plat KLT dan *chamber* KLT. Untuk karakterisasi hasil isolasi, peralatan yang digunakan adalah FTIR (SHIMADZU, FTIR-8400) di Laboratorium Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam produk ini antara lain ampas kecap, aquades, asam asetat 70% p.a, amonium sulfat teknis, butanol p.a, etanol 95%, asam klorida 12 M p.a, dietil eter p.a, cairan pendingin radiator (*radiator coolant*) dan plat KLT.

3.3 Ekstraksi polipeptida

Penelitian ekstraksi polipeptida ini dilakukan dengan cara dua tahap yaitu dilakukan dengan mengendapkan polipeptida dengan asam asetat 10% pada suhu 50°C dan juga pengendapan polipeptida dengan menggunakan ammonium sulfat (Zunita, 2009).

3.3.1 Ekstraksi polipeptida melalui metoda pengendapan dengan asam asetat 10%

Sebanyak 1000 mL limbah ampas kecap dipanaskan sampai suhu 50° C, ditambahkan asam asetat 10% kemudian didiamkan sampai terlihat ada endapan, dan didinginkan. Setelah dingin, akan terlihat endapan dan warna larutan sedikit lebih bening. Endapan polipeptida disentrifugasi dan endapan dimasukkan ke dalam larutan dietil eter:etanol 1:1. Setelah itu pelarut di uapkan dengan alat evaporasi.

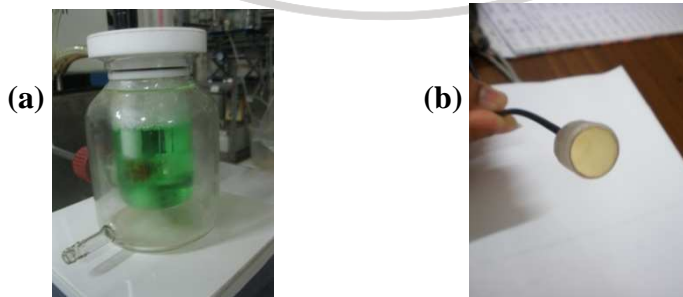
3.3.2 Fraksinasi Polipeptida dengan Ammonium Sulfat

Ke dalam 1000 mL filtrat ditambahkan sedikit demi sedikit padatan amonium sulfat, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sambil diaduk dengan pengaduk magnetik hingga konsentrasi amonium sulfat 10 %. Jika terdapat endapan, dipisahkan dari larutan dengan cara sentrifugasi. Fraksinasi dilanjutkan hingga konsentrasi amonium sulfat mencapai 40%. Endapan yang diperoleh dimasukkan ke dalam larutan dietil eter:etanol 1:1. Setelah itu pelarut di uapkan dengan alat evaporasi.

3.4 Tahap Preparasi

3.4.1 Tahap Preparasi Material

Sel elektrokimia dibuat dari gelas kimia dengan ukuran 250 ml dan 150 ml. Gelas kimia berukuran besar berada di bagian luar sedangkan gelas kimia kecil berada di bagian dalamnya. Ruang antar gelas digunakan untuk sirkulasi air yang berfungsi sebagai termostat melalui pipa kecil yang terpasang pada bagian atas dan bawah. Pada bagian kiri bawah dibuat pipa konektor yang berfungsi untuk mengalirkan gas CO_2 ke dalam larutan. Penutup sel dibuat dari karet dengan empat buah lubang, masing-masing untuk menyisipkan elektroda bantu (platina) dan elektroda kerja (kuningan) yang dipasang berhadapan dengan jarak 1,2 cm, elektroda acuan (elektroda kalomel jenuh, SCE) dan termometer.



Gambar 3.2 Sel Elektrokimia dengan tiga elektroda (a) dan elektroda kerja (b)

Spesimen uji (elektroda kerja) dibuat dari kuningan yang digunakan sebagai bahan pada radiator kendaraan roda empat atau lebih. Elektroda ini dibuat dengan cara memotong sampel kuningan radiator, dibubut sampai diameter 1,2 cm dan panjang 4 cm, kemudian ditutupi dengan resin epoksi agar yang terpapar hanya bagian permukaan kuningan saja. Sebelum dipakai untuk pengukuran, permukaan kuningan dihaluskan dengan kertas ampelas silikon karbida (*grade* 600-1200) dan dibilas dengan aquades dan etanol agar dipastikan tidak ada lemak, produk korosi, atau zat inhibitor yang masih menempel, selanjutnya dikeringkan pada temperatur kamar.

3.4.2 Tahap Preparasi Larutan Uji

Larutan uji berupa larutan cairan pendingin radiator. Larutan induk dibuat dalam konsentrasi 10.000 ppm dengan melarutkan ekstrak polipeptida/ sebanyak 0,1 gram ke dalam 10 mL cairan pendingin radiator (*radiator coolant*).



Gambar 3.3 Larutan Uji

3.5 Pengukuran Laju Korosi dan Efisiensi Inhibisi

3.5.1. Metoda EIS

Prosedur yang dilakukan dalam pengukuran dengan metoda EIS ini adalah sebagai berikut :

1. Dilakukan beberapa pengaturan yaitu nilai potensial DC yang diterapkan 'free', nilai frekuensi yang diterapkan mulai dari 50 kHz hingga 10 mHz, waktu OCP 4 menit, luas area elektroda kerja 1,1304 cm dan luas area elektroda pembanding 1,1304 cm.
2. Larutan pendingin radiator (blangko) sebanyak 100 ml ditempatkan pada gelas kimia 150 mL yang dilengkapi dengan pengaduk magnet. Ke dalam gelas kimia disusun tiga jenis elektroda yaitu elektroda kuningan yang merupakan elektroda kerja, elektroda platina yang merupakan elektroda bantu, dan elektroda kalomel jenuh yang merupakan elektroda acuan.
3. Ke dalam larutan blanko dialirkan gas CO₂, setelah 30 menit (untuk memastikan CO₂ telah jenuh dalam larutan) kemudian alat VoltaLabs® dijalankan. Setelah tercapai keadaan mantap (*steady state*) dilakukan pengukuran dengan EIS.
4. Saat proses pengukuran telah selesai (ditandai dengan keluarnya gambar kurva pengukuran potensial terhadap waktu) maka alat VoltaLabs® dimatikan lalu dilakukan pemrosesan melalui salah satu menu yang ada pada software VoltaLabs®. Hasil pemrosesan akan diperoleh kurva logaritma arus terhadap potensial.
5. Dilakukan pengukuran untuk larutan sampel dengan langkah yang sama dengan untuk larutan pendingin radiator.

3.5.2. Metoda Tafel

Sebelum pengukuran kuringan dalam media uji dengan metoda Tafel, terlebih dahulu dilakukan setting diantaranya adalah potensial DC yang diterapkan sebesar ± 50 mV relatif terhadap nilai potensial korosi. Kurva polarisasi potensiodinamik dipindai dengan laju sapuan konstan pada $0,5 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ (ASTM G5, 1987).

3. 6 Karakterisasi Polipeptida Hasil Ekstraksi

Ekstrak polipeptida yang memiliki daya inhibisi tertinggi (polipeptida yang diendapkan oleh ammonium sulfat fraksi 10-20%) dikarakterisasi dengan menggunakan hidrolisis asam dan kromatografi lempeng tipis (KLT) serta FTIR. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kandungan asam amino yang terdapat dalam ekstrak polipeptida tersebut.

Ekstrak polipeptida sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 30 mL HCl 6 N dengan cara direfluks selama 24 jam dengan suhu $106-107^{\circ}\text{C}$. Kemudian larutan dipekatkan dengan cara penguapan menggunakan evaporator selama 4 jam. Setelah itu, larutan siap digunakan untuk uji KLT.

Asam amino dari hasil ekstrak polipeptida ini ditentukan dengan cara KLT. Eluen yang digunakan merupakan campuran dari n-butanol:asam asetat 99%:aquades dengan perbandingan 4:1:1. Eluen diambil sekitar 15 ml dan dimasukkan ke dalam *chamber* KLT. Kemudian eluen dijenuhkan dengan cara ditutup dengan kaca arloji di atas *chamber* KLT selama 30 menit. Sementara itu, plat KLT dipotong segi empat berukuran 8x8 cm. Plat tersebut diletakkan di atas kertas yang telah diberi gambar KLT dengan tanda garis kurang lebih 1 cm dari

bagian bawah. Ekstrak polipeptida yang telah dipekatkan dengan evaporator ditetaskan dengan pipa kapiler pada garis yang telah dibuat. Lalu asam amino standar pun ditetaskan dengan pipa kapiler pada garis yang sama dengan jarak 1 cm dari sampel ataupun asam amino standar lainnya. Setelah itu, plat KLT dimasukkan ke dalam *chamber* dan ditutup kembali pada bagian atasnya. Eluen pun dibiarkan naik sampai mendekati ujung atas KLT kemudian plat KLT tersebut diangkat dan diberi tanda batas akhir eluen. Setelah kering, plat KLT disemprotkan ninhidrin sebagai penampak noda. Asam amino yang terdeteksi dihitung Rf-nya dan dibandingkan dengan asam amino standar.

