

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Proses sintesis cairan ionik eutektik pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Material Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA UPI, sedangkan untuk proses karakterisasi dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA UPI. Pengukuran NMR dilakukan di laboratorium kimia terpadu FMIPA-ITB. Penelitian ini berlangsung pada bulan Maret hingga Juli 2023.

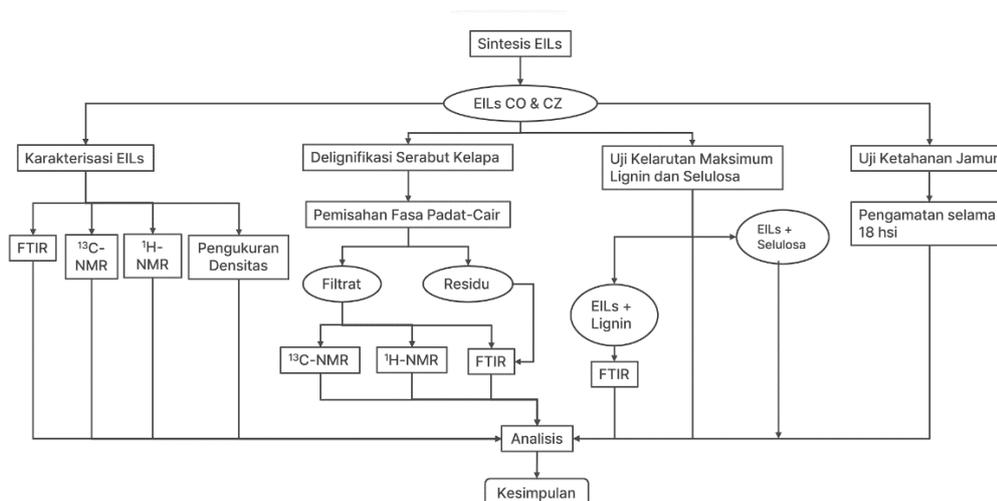
3.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi: 1) Sintesis, dan delignifikasi: tabung *Schlenk*, *magnetic stirrer*, tabung sentrifugasi, alat *centrifuge*, botol kaca, penangas pasir, oven, termometer, gelas *beaker*, desikator, cawan porselen, spatula, piknometer dan neraca analitik; 2) Aktivitas antijamur meliputi gelas ukur, tabung reaksi, autoclave, cawan petri, pipet mikro, *vortex mixer*; 3) Karakterisasi: FTIR dan NMR.

3.3 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi kolin klorida (Sigma Aldrich), seng klorida (Sigma Aldrich), lignin alkali *kraft* (Sigma Aldrich), PDB *Broth [Potato Dextrose Broth]* (HiMedia Laboratories), agar bacteriological no. 1 (Oxoid), asam oksalat anhidrat (Sigma Aldrich), sampel serabut kelapa lokal, aquades, isolat jamur *Aspergillus niger*, isolat jamur *Penicillium*, isolat jamur *Trichoderma* sp, dan methanol grade teknis. Seluruh bahan yang digunakan merupakan bahan dengan grade analitik dan grade biologi molekuler kecuali disebutkan.

3.4 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1. Bagan Alir Penelitian

3.5 Sintesis Cairan Ionik Eutektik

Sintesis cairan ionik eutektik dilakukan dengan menggunakan metode pemanasan sederhana yaitu masing-masing komponen (akseptor dan donor ikatan hidrogen) ditambahkan ke dalam tabung *Schlenk* yang dilengkapi dengan *magnetic stirrer* kemudian dipanaskan di atas *hotplate* dengan penangas pasir pada suhu 85-100 °C sampai terbentuk cairan homogen bening. Cairan EILs yang sudah disintesis dipindahkan ke vial dan ditutup dengan rapat serta disimpan dalam desikator sebelum dan sesudah digunakan atau untuk penyimpanan.

3.6 Penentuan Densitas dari EILs

EILs hasil sintesis ditentukan densitasnya menggunakan sebuah piknometer dengan volume 5 cm³. Volume dari piknometer dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan aquades pada 26 °C. Densitas dari seluruh EILs dilakukan dengan mengukur piknometer dalam penangas air yang dilengkapi dengan termometer. Seluruh densitas EILs diukur pada temperatur 26 °C.

3.7 Penentuan Kelarutan Lignin Alkali *Kraft* dan Selulosa dalam EILs

Penentuan kelarutan dilakukan untuk lignin alkali *kraft* dan α -selulosa sebagai uji preliminasi untuk memperoleh informasi persen kelarutan dari masing-masing konstituen yang ada dalam lignoselulosa pada seluruh EILs hasil sintesis. Sekitar 2-4% w/w dari lignin dan selulosa ditambahkan ke dalam 4 g EILs. Persen kelarutan

dari lignin dan selulosa diukur dengan menimbang massa terlarut dari masing-masing konstituen dalam sejumlah berat EILs hasil sintesis mengikuti persamaan berikut.

$$\% \text{ Kelarutan} = \frac{\text{massa konstituen terlarut}}{\text{massa EILs yang digunakan}} \times 100\% \quad (3.1)$$

3.8 Preparasi Sampel Serabut Kelapa

Sampel serabut kelapa dikeringkan terlebih dahulu selama 1 jam menggunakan oven pada suhu 100 °C. Serbuk serabut kelapa yang telah dikeringkan, dihaluskan menggunakan blender, selanjutnya sampel serabut kelapa yang telah diblender dihaluskan lebih lanjut menggunakan lumping dan alu. Sampel serbuk kelapa yang telah halus diayak menggunakan *siever* menjadi ukuran 140 – 200 mesh.

3.9 Delignifikasi dari Serabut Kelapa

Sampel serabut kelapa halus yang sebelumnya telah diayak menjadi ukuran 140 – 200 mesh dicampurkan dengan EILs (dengan rasio massa 1:20) di tabung *Schlenk* pada penangas pasir dan dipanaskan pada suhu 95 – 100 °C selama 24 jam.

3.10 Preparasi Sampel untuk Karakterisasi

Setelah proses ekstraksi lignin atau delignifikasi dilakukan selama 24 jam, residu padatan dan fraksi cairan dipisahkan dengan menggunakan *centrifuge*. Sentrifugasi dilakukan dengan putaran 3600 rpm selama 20 menit, fraksi EILs yang mengandung lignin dipisahkan ke dalam *vial* tertutup yang disebut sebagai LSKCO untuk fraksi EILs kolin-oksalat (CO) yang mengandung lignin dan LSKCZ untuk fraksi EILs kolin-ZnCl₂ (CZ) yang mengandung lignin; residu padatan dicuci menggunakan metanol untuk kemudian disentrifugasi kembali dengan putaran 3600 rpm selama 5 menit selama beberapa kali sampai hasil cucian residu padatan dengan metanol tidak berwarna. Residu padatan yang sudah dicuci beberapa kali dikeringkan dalam cawan penguapan dan dibiarkan mengering pada suhu ruang selama beberapa jam dan kemudian dipanaskan selama 1 jam di bawah oven. Residu padatan yang sudah kering disimpan dalam wadah kering tertutup dan masing-masing disebut sebagai SKZ dan SKO untuk residu padatan sisa delignifikasi menggunakan EILs CZ dan CO.

3.11 Karakterisasi FTIR

Karakterisasi FTIR dilakukan untuk seluruh sampel lignin alkali kraft yang dilarutkan dalam EILs (LCO & LCZ), fraksi lignin dalam EILs (LSKCO & LSKCZ), EILs hasil sintesis (CO & CZ), dan residu padatan serabut kelapa sisa hasil delignifikasi dalam EILs (SKCO & SKCZ) masing-masing untuk EILs CO & CZ. Spektra inframerah untuk seluruh sampel ini diukur menggunakan spektrometer FTIR-8400S (Shimadzu Europe). Spektra inframerah direkam pada rentang 4000 – 400 cm^{-1} .

3.12 Karakterisasi NMR

Karakterisasi NMR dilakukan untuk sampel fraksi lignin dalam EILs (LSKCO & LSKCZ) dan EILs hasil sintesis (CO & CZ). Spektra NMR direkam menggunakan spektrometer Agilent 500 MHz dengan sistem konsol DD2, yang beroperasi pada frekuensi 500 MHz untuk ^1H dan 125 MHz untuk ^{13}C . Sampel diukur menggunakan pelarut $\text{DMSO-}d_6$ pada jumlah sampel 70-300 mg.

3.13 Uji Ketahanan Jamur terhadap Bambu

Uji ketahanan jamur dilakukan untuk mengetahui sifat anti jamur dari EILs pada bambu yang dilapisi/direndam menggunakan EILs hasil sintesis terhadap pada beberapa isolat jamur yang dikembangkan dalam media cair di dalam cawan petri. Media perkembangan jamur dibuat dari campuran PDB (*Potato Dextrose Broth*) dengan agar bakteriologi. Media padat yang dibuat ditempatkan dalam cawan petri dan seluruh peralatan disterilisasi dalam autoclave selama 30 menit.

Isolat jamur *Aspergillus niger*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* sp dilarutkan terlebih dahulu menggunakan aquades dan hasil larutan isolat jamurnya diambil secukupnya menggunakan pipet mikro dan disebarkan pada media yang berisi bambu yang direndam dalam EILs. Media yang sudah disebarkan isolat jamur didiamkan dalam inkubator selama 2-3 hari dan dibiarkan selama 18 hari setelah inokulasi.