

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan jenis penelitian deskriptif kuantitatif, dengan menggunakan Teknik eskperimen. Studi kuantitatif adalah studi yang menggunakan data dalam bentuk analisis numerik dan statistic, sedangkan metode eksperimental digunakan untuk menemukan efek perlakuan tertentu pada orang lain dalam kondisi terkontrol (Sugshirono, 2011). Percobaan yang dilakukan pada penelitian ini adalah pembuatan selulosa nanokristal rumput laut *Gracilaria* sp. Sebagai bahan utama, dengan berbagai perlakuan menggunakan larutan Basa, Asam dan Bleaching untuk mendapatkan selulosa nanokristal dengan variasi suhu hidrolisis asam.

3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober sampai Desember 2023, di Laboratorium Ecotoxicology dan Laboratorium Mikrobiology Laut, Badan Riset dan Inovasi Nasional Kawasan Aprilani Soegiarto, Ancol, Jakarta Utara. Pengujian analisis FTIR dan TGA di BRIN Serpong, XRD dan FESEM di BRIN Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi adalah bagian dari subjek atau item yang diteliti (Agnes, 2007). Populasi dalam penelitian ini adalah Rumput Laut *Gracilaria* sp. Sampel merupakan bagian dari populasi yang diteliti. Jenis sampel yang dipilih harus mewakili populasi. Sampel dapat didefinisikan sebagai sembarang himpunan yang merupakan komponen dari suatu populasi yang diteliti (Agnes, 2007). Sampel dalam penelitian ini adalah selulosa nanokristal.

3.4 Alat dan Bahan

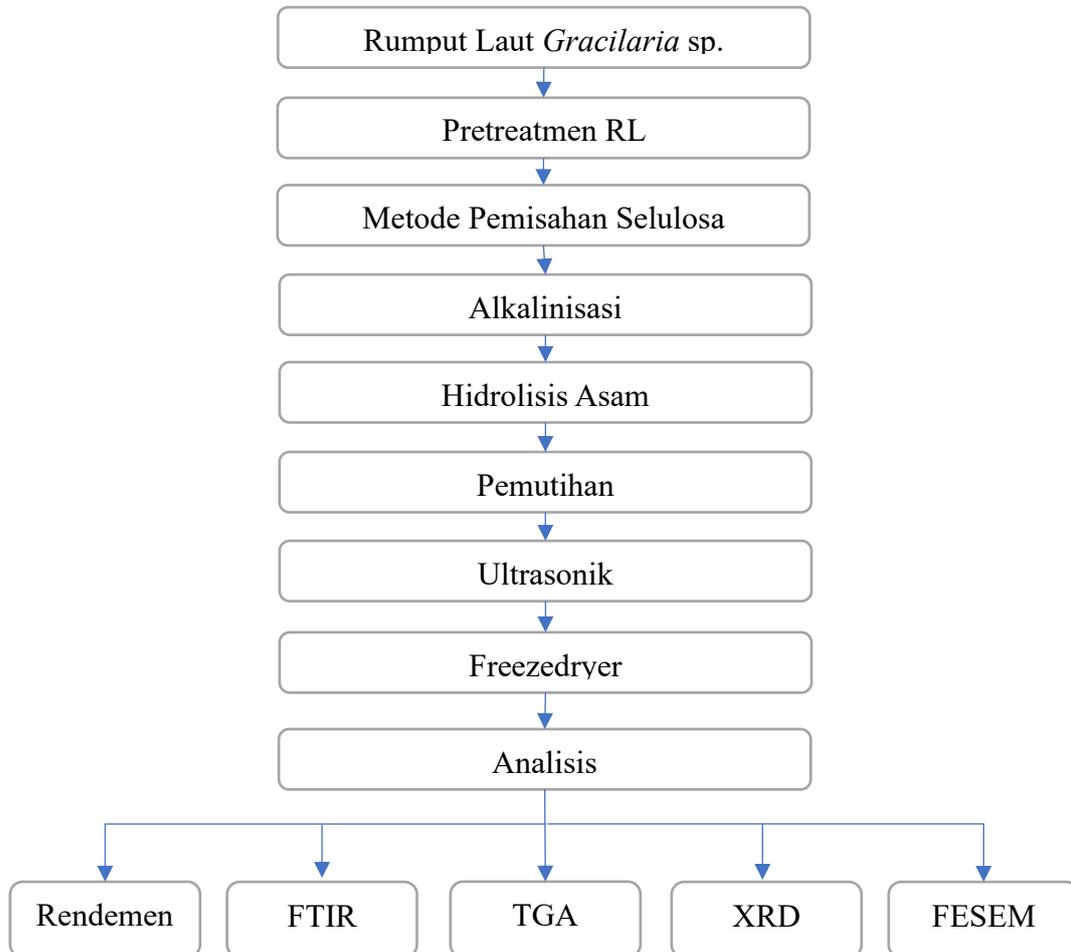
3.4.1 Alat

Peralatan yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah Gelas beaker (Iwaki & Pyrex), Sendok Pengaduk, Gelas Ukur (Iwaki), Waterbath (Mettler), Thermometer, Batang Pengaduk Kaca, Blender (Philips), Toples, Saringan 200 Mesh & 400 Mesh, Cawan Petri, Aluminium Foil (Klimpak), Kertas pH (Indikator universal), Kertas Label (Tom & Jerry), Timbangan Analitik (sartorius), sarung tangan (Safe Glove), Plastik Klip, Ultrasonik (Biomaisen) Freeze Dry (Buchi Lyovapor L200), Fume Hood (Esco Laboratory). Alat pengujian analisis FTIR (Bruker), TGA (Linseiss), XRD (Panalytical X'Pert Pro MPD) dan FESEM (Thermo scientific).

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rumput Laut *Gracilaria* sp. dari Koperasi Mina Agar Makmur, Karawang, Indonesia. *Natrium hidroksida* (NaOH) dari Teknikal Grade, *Sulfuric Acid* (H₂SO₄) dari Glatt Chemical, *Natrium hypochlorite* (NaOCl) dari CV. Geochem (Indonesia) dan Aquades.

3.5 Diagram Penelitian



Gambar 3. 1. Diagram Alir Ekstraksi Selulosa Nanokristal (Rahmi, 2020 dengan modifikasi)

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Preparasi Rumput Laut

Preparasi rumput laut dilakukan dengan tiga tahap yaitu pembersihan, perendaman dan penghalusan. Rumput laut dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran – kotoran yang menempel pada rumput laut, setelah itu dilakukan perendaman dengan air keran selama semalaman. Setelah direndam dan dicuci kembali rumput laut dihaluskan dengan blender.

3.6.2 Proses Alkalinisasi

Proses alkalinisasi dilakukan dengan cara membuat larutan NaOH dengan perbandingan 1 : 100 (NaOH : Aquades 3 gram : 300 ml) untuk 1 beker, tuangkan NaOH ke dalam beker aquades, aduk hingga larut, beri label di beker glass, larutan NaOH dituangkan ke dalam beker rumput laut lalu aduk. Setelah itu dipanaskan dengan waterbath selama 1 jam dengan suhu 45°C dan diaduk setiap 15 menit sekali. Angkat dari waterbath, dinginkan, lalu pisahkan Rumput Laut dari limbah dengan saringan 200 mesh, kemudian cuci rumput laut 5x dan rendam semalaman dengan aquades hingga netral. Proses ini dilakukan untuk menghilangkan lignin.

3.6.3 Proses Hidrolisis Asam

Proses hidrolisis dilakukan dengan cara membuat larutan H₂SO₄ 96% 1 M dalam 300 ml (H₂SO₄ : Aquades 16.67 ml : 283.33ml) tuangkan H₂SO₄ ke dalam beker aquades, aduk hingga larut. Larutan H₂SO₄ dituangkan ke dalam deker rumput laut yang sudah netral lalu aduk. Setelah itu dipanaskan dengan waterbath selama 1 jam tidak diaduk dengan suhu 40°C, 50°C & 60°C (perlakuan suhu). Angkat dari Waterbath, dinginkan lalu pisahkan rumput laut dari limbah dengan saringan 200 mesh, kemudian cuci rumput laut 5 kali dan rendam semalaman dengan aquades sehingga netral. Proses ini dilakukan untuk menghilangkan amorf.

3.6.4 Proses Pemutihan

Tahap selanjutnya pemucatan dengan cara membuat larutan NaOCl dengan perbandingan 1 : 10 (NaOCl : Aquades 30 ml : 300ml) tuangkan NaOCl ke dalam beker aquades, aduk hingga larut. Larutan NaOCl dituangkan ke dalam beker rumput laut yang sudah netral, lalu aduk. Setelah itu waterbath selama 2 jam dengan suhu 50°C diaduk 15 menit sekali. Angkat dari Waterbath, dinginkan lalu pisahkan rumput laut dari limbah dengan saringan 400 mesh, kemudian cuci rumput laut 3x, masukkan ke dalam plastik lalu chilling. Proses ini bertujuan memberikan efek *bleaching*, selain itu menghilangkan kadar zat-zat pengotor lainnya tanpa merusak selulosa.

3.6.5 Proses Ultasonik

Sampel selulosa ditimbang sebanyak 4 gram, kemudian dilarutkan ke dalam 400 ml. kemudian di ultrasonik dengan amplitudo 60%, selama 1 jam dengan 4 kali istirahat. Ketika mengultrasonik beker sampel dilapisi oleh ice gel atau es batu.

Tujuan dari tahap ultrasonik ini untuk meningkatkan selektivitas degradasi dari selulosa amorf.

3.6.6 Proses Freeze Dryer

Sampel selulosa yang sudah di ultrasonik dimasukkan ke dalam tube falcon sebanyak 25 ml, kemudian di tutup dengan *plastic wrap*, lubangi plastik dengan jarum. Setelah itu tube dimasukkan ke dalam alat *freeze dryer*. Proses ini bertujuan untuk memisahkan selulosa nanokristal dari sisa akuades.

3.7 Analisis Data

3.7.1 Rendemen

Hasil rendemen dari selulosa nanokristal dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot simplisia sebelum diekstraksi}} \times 100\%$$

3.7.2 Analisis *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Analisis gugus fungsi menggunakan spectrometer FTIR “Bruker” dengan panjang gelombang 400- 4000 cm^{-1} pada mode transmisi. Sampel diletakkan diatas alat, ditekan, kemudian dianalisis dalam spectrometer FTIR dengan pemindai 2 cm^{-1} . Tujuan penggunaan analisis FTIR pada penelitian ini adalah untuk memastikan gugus selulosa CNC.

3.7.3 *Thermogravimetric analysis* (TGA)

Panas digunakan dalam *analisis termogravimetri* untuk memaksa respons material dan perubahan fisik. Pengukuran kuantitatif perubahan massa dalam material yang terkait dengan transisi dan degradasi termal oleh TGA. TGA melacak perubahan massa dari dekomposisi, dehidrasi, dan oksidasi sampel dengan waktu dan suhu. Bahan khusus dan senyawa kimia yang memberikan karakteristik kurva thermofravimetri karena urutan proses unik dari reaksi fisikokimia yang terjadi pada rentang suhu dan laju pemanasan yang spesifik. Kualitas yang berbeda ini terhubung dengan susunan molekul sampel.

3.7.4 Analisis X-Ray Diffractometer (XRD)

Pengujian ini dilakukan untuk mengukur kristalinitas dari karakteristik fisik selulosa nanokristal. Selulosa nanokristal yang akan diuji dihaluskan terlebih dahulu kemudian diletakkan pada suatu wadah sampel pengujian dilakukan menggunakan instrumen XRD “Panalitycal X’Pert Pro MPD”. Pengujian dilakukan dengan system difraktometer dalam tingkat 0.1° . Energi yang digunakan sebesar 40 kV/40 mA dengan CuKa sebagai sumber sinar X dengan suhu 25°C . Diketahui bahwa sudut difraksi bagian amorfus (I_{am}) berada pada $2\theta = 18^\circ$ dan bagian kristalin (I_{002}) $2\theta = 22^\circ$ sehingga dengan puncak yang dihasilkan pada grafik, kristalinitas sampel dapat dihitung dengan persamaan Segal yaitu :

$$CrI (\%) = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{am}} \times 100$$

Keterangan:

I_{002} : Intensitas maksimum pada bidang (200) ($2\theta = 22^\circ$)

I_{am} : Intensitas minimum pada lembah antara bidang (200) dan (100) ($2\theta = 18^\circ$)

Dengan persamaan tersebut dapat dihitung kristalinitas masing-masing sampel dan akan terlihat pengaruh perlakuan suhu terhadap karakter sampel.

3.7.5 Analisis Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM)

Pengujian ini dilakukan untuk memperoleh data mengenai struktur permukaan atau morfologi dari selulosa nanokristal. Serbuk dari selulosa nanokristal dikoting, kemudian diletakkan pada wadah sampel yang kemudian diuji menggunakan instrumen FESEM Thermo scientific. Perbesaran dilakukan sebesar 1000 kali.