

BAB 3

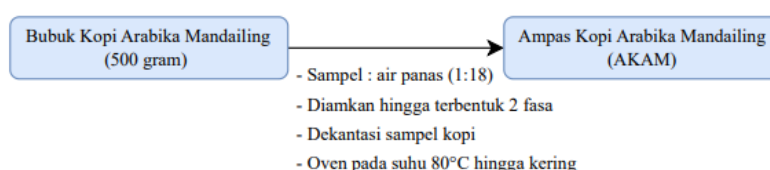
METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

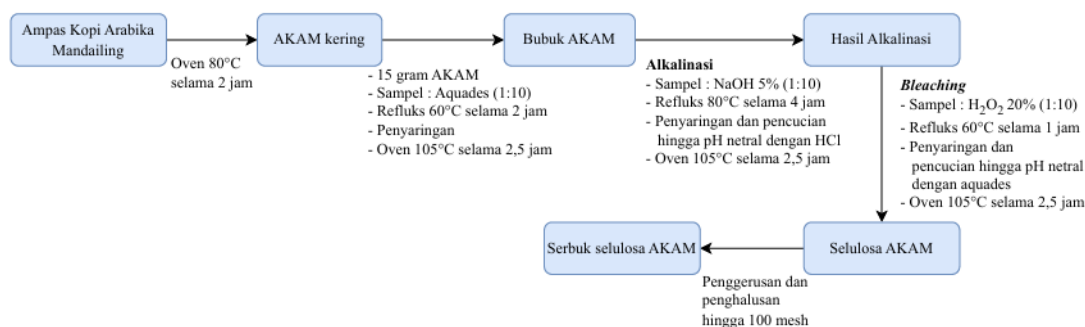
Penelitian ini dilakukan dalam dari bulan Maret 2025 hingga bulan Agustus 2025 di Laboratorium Riset Program Studi Kimia FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia. Penelitian ini dimulai dengan isolasi selulosa dari ampas kopi arabika Mandailing, isolasi nanoselulosa dari selulosa ampas kopi arabika Mandailing, dan karakterisasi nanoselulosa dengan PSA, FTIR, XRD, TEM, TGA.

3.2 Desain Penelitian

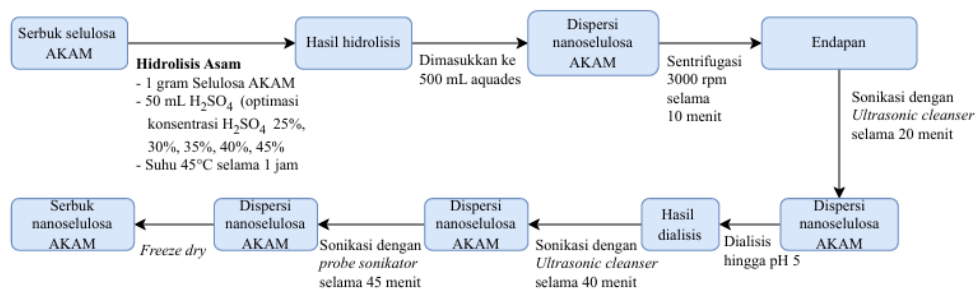
Penelitian ini dilaksanakan melalui beberapa tahapan yang ditunjukkan pada Gambar 3.1 dan Gambar 3.2. Tahapan pertama yaitu proses isolasi selulosa yang berasal dari ampas kopi arabika Mandailing. Tahapan kedua yaitu proses isolasi nanoselulosa yang diperoleh dari selulosa ampas kopi arabika Mandailing. Tahapan ketiga yaitu karakterisasi yang bertujuan untuk menentukan sifat termal serta karakteristik fisika-kimia dari nanoselulosa yang dihasilkan dari ampas kopi arabika Mandailing.



Gambar 3.1. Preparasi Ampas Kopi Arabika Mandailing (AKAM).



Gambar 3.2. Diagram Alir Penelitian Isolasi Selulosa dari Ampas Kopi Arabika Mandailing.



Gambar 3.3. Diagram Alir Penelitian Isolasi Nanoselulosa dari Ampas Kopi Arabika Mandailing.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Pada penelitian ini alat-alat yang digunakan yaitu *hot plate*, gelas kimia, batu didih, *magnetic stirrer*, batang pengaduk, corong *buchner*, erlenmeyer vakum, kaca arloji, sentrifugasi, sonikator, neraca analitik, gelas ukur, gunting, spatula, ayakan mesh No. 100, statif dan klem, sddkat refluks, *ultrasonic cleaner*, *ultrasonic cell disruptor* UCD-150, oven, *freeze-dry*, *waterbath*, Idan reaktor hidrolisis. Adapun instrumen yang digunakan untuk karakterisasi selulosa dan nanoselulosa ampas kopi arabika Mandailing yaitu, *Particle Size Analyzer* (PSA) di Laboratorium Farmasetika Sekolah Farmasi; *spectrometer* FTIR dan XRD di GreenLab, Bandung; Low Resolution TEM Imaging di Pusat Penelitian Nanosains dan Nanoteknologi ITB; dan instrumen TGA di Laboratorium Kimia Instrumen UPI.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu ampas kopi arabika Mandailing (15 g) yang diperoleh melalui salah satu penjual di *platform e-commerce* yang memproduksi kopi arabika Mandailing di Medan, natrium hidroksida (NaOH) 5%, hidrogen peroksida (H_2O_2), aquades, asam sulfat *merck* (H_2SO_4) 25%, asam sulfat *merck* (H_2SO_4) 30%, asam sulfat *merck* (H_2SO_4) 35%, asam sulfat *merck* (H_2SO_4) 40%, asam sulfat *merck* (H_2SO_4) 45%, asam klorida (HCl) 10%, indikator universal *merck*, dan kertas saring Whatman 42.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Ampas Kopi Arabika Mandailing (AKAM) (SEKI, 2025)

Sebanyak 500 gram bubuk kopi arabika Mandailing dicampurkan dengan air panas pada suhu 92°C dalam perbandingan 1:18 sebagai tahap awal ekstraksi. Setelah pencampuran, larutan tersebut didiamkan selama beberapa waktu hingga terbentuk dua fase yang terpisah, yaitu cairan kopi dan ampasnya. Berikutnya, proses dekantasi dilakukan untuk memisahkan larutan kopi dari ampas yang mengendap di dasar wadah. Setelah pemisahan selesai, ampas kopi yang telah terpisah kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 80°C. Proses pengeringan berlangsung hingga seluruh kadar air dalam ampas kopi menguap, menghasilkan ampas yang benar-benar kering. Proses berikutnya, ampas kopi yang telah kering ditimbang sebanyak 15 gram, kemudian ditambahkan aquades 1:10 ke dalam labu dasar bulat leher tiga dan dilakukan refluks selama 2 jam di suhu 60°C dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya, ampas kopi disaring dan dikeringkan di suhu 105°C selama 2,5 jam dan ditimbang setelah kering.

3.4.2 Isolasi Selulosa dari AKAM (SEKI, 2025)

Proses ekstraksi selulosa dilakukan melalui perlakuan alkali dan *bleaching*. Pada tahap perlakuan alkali, ampas kopi yang telah kering ditimbang dan ditambahkan larutan natrium hidroksida (NaOH) 5% ke dalam labu dasar bulat leher tiga dengan perbandingan ampas kopi dan larutan NaOH sebesar 1:10. Campuran ini direfluks pada suhu 80°C selama 4 jam dengan pengadukan secara terus-menerus menggunakan *magnetic stirrer* untuk memastikan reaksi berlangsung merata. Berikutnya, ampas kopi hasil alkali disaring dan dicuci menggunakan aquades serta asam klorida (HCl) 10% hingga mencapai pH netral. Setelah disaring, padatan yang terbentuk dikeringkan di oven pada suhu 105°C selama 2,5 jam. Setelah perlakuan alkali selesai, tahapan berikutnya adalah proses *bleaching*. Dalam proses ini, larutan hidrogen peroksida (H₂O₂) 20% ditambahkan ke dalam campuran dengan per-

bandingan 1:10 dan direfluks pada suhu 60°C selama 1 jam untuk menghilangkan zat pengotor. Proses *bleaching* dilakukan sebanyak satu kali. Berikutnya, hasil *bleaching* disaring dan dicuci aquades hingga pH larutan mencapai 5 yang berfungsi untuk menetralkan larutan serta membantu proses pemutihan. Kemudian, padatan yang telah disaring menggunakan kertas saring Whatman No.42 dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 2,5 jam hingga kadar airnya benar-benar hilang. Selulosa yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya. Kemudian, selulosa diayak menggunakan ayakan mesh No.100.

3.4.3 Penentuan Hasil Selulosa dari Ampas Kopi Arabika Mandailing

Perbandingan antara massa selulosa yang diperoleh pada akhir proses dengan massa awal ampas kopi arabika Mandailing dapat dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Massa Selulosa}}{\text{Massa Ampas Kopi Mandailing}} \times 100\% \quad (3.1)$$

3.4.4 Isolasi Nanoselulosa dari Selulosa AKAM.

Pada tahapan isolasi nanoselulosa yaitu dengan cara hidrolisis asam. Selulosa ditimbang dan ditambahkan asam sulfat (H₂SO₄) dengan variasi konsentrasi yaitu 25%, 30%, 35%, 40%, dan 45% sebanyak 50 mL pada suhu 45°C selama 60 menit di dalam reaktor hidrolisis. Berikutnya yaitu proses hidrolisis dihentikan dan larutan dipindahkan ke dalam aquades dingin sebanyak 10 kali lipat dari jumlah asam sulfat dalam gelas kimia hingga terbentuk dua fase. *Cloud* yang terbentuk dipisahkan dari larutan, *cloud* yang masih terdapat dalam larutan di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Sedimen yang dihasilkan, dilakukan sonikasi selama 60 menit *ultrasonic cleaner*. Kemudian, sedimen didialisis menggunakan aquades hingga diperoleh pH 5. Setelah proses dialisis, sedimen dilakukan sonikasi menggunakan *ultrasonic cell disruptor* pada suhu 35°C selama 40 menit.

Kemudian, dikeringkan dengan metode *freeze dry*. Hitung % rendemen dari nanoselulosa.

3.4.5 Penentuan Hasil Nanoselulosa dari Selulosa AKAM

Perbandingan antara massa nanoselulosa yang diperoleh pada akhir proses dengan massa awal selulosa dapat dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Massa Nanoselulosa}}{\text{Massa Selulosa}} \times 100\% \quad (3.2)$$

3.4.6 Karakterisasi Nanoselulosa dari Ampas Kopi Arabika Mandailing.

- a. Identifikasi Gugus Fungsi dan Interaksi Molekuler menggunakan *Fourier Transform InfraRed* (FTIR)

Karakterisasi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi nanoselulosa yang berasal dari ampas kopi arabika Mandailing. Prinsip kerja FTIR didasarkan pada interaksi antara energi dan materi. (Thermo, 2001). Berdasarkan data FTIR yang diperoleh dapat diketahui nilai EH dari selulosa dan nanoselulosa AKAM melalui persamaan pada 2.1 untuk mengetahui nilai RH serta jarak ikatan hidrogen dapat diperoleh melalui persamaan 2.2.

- b. Analisis *X-Ray Diffraction* (XRD)

Analisis *X-Ray Diffraction* (XRD) digunakan untuk mempelajari pola difraksi sinar-X sudut lebar serta menentukan indeks kristalinitas (CI) dari setiap spesimen (Segal dkk., 1959). Indeks kristalinitas (CI) ditentukan menggunakan rumus empiris dengan persamaan pada 2.3 serta ukuran kristalit dari selulosa dan nanoselulosa melalui persamaan Scherrer pada 2.4. Perolehan data XRD diolah dengan *software* Origin8.5 untuk mendapatkan difraktogram dari selulosa dan nanoselulosa.

- c. Analisis *Particle Size Analyzer* (PSA)

Distribusi ukuran partikel dalam suspensi nanoselulosa yang terdispersi dalam aquadest diukur menggunakan Particle Size Analyzer (PSA) den-

ngan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS). PSA menggunakan hamburan inframerah yang ditembakkan oleh alat pada sampel. Hal ini menyebabkan sampel bereaksi dengan menghasilkan gerak Brown yang merupakan gerak acak pada partikel yang sangat kecil dalam cairan karena adanya benturan dengan molekul-molekul dalam zat cair. (Horiba, 2014).

d. Analisis *Transmission Electron Microscopy* (TEM)

Analisis *Transmission Electron Microscopy* (TEM) dilakukan untuk mengamati morfologi serta distribusi ukuran partikel nanoselulosa secara detail. Prinsip kerja TEM didasarkan pada penembakkan elektron yang diarahkan menembus spesimen, kemudian difokuskan menggunakan lensa kondensor. Aliran elektron yang melewati spesimen selanjutnya ditangkap oleh layar fluoresen yang akan memancarkan cahaya ketika terkena elektron (Julianto dkk., 2017).

e. Analisis Termal Produk dengan TGA

Kurva TGA dan kurva DTG dari semua spesimen ditentukan dari penganalisis termogravimetri. Sekitar kurang dari 10 mg setiap sampel dipanaskan dalam kisaran 25-850°C pada laju pemanasan 5°C/menit di bawah laju aliran nitrogen (N₂) 100 mL/menit. Kurva TGA memberikan perubahan berat sampel sebagai fungsi suhu. Persentase penurunan berat pada setiap sampel ditentukan dari persentase berat residu selama pemanasan (Malarat dkk., 2023). Perolehan data TGA diolah menggunakan *software* Origin8.5.