BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Preparasi dan Laboratorium Karakterisasi Dasar milik Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang berlokasi di Kawasan Sains dan Teknologi (KST) Samaun Samadikun, Bandung. Kegiatan penelitian tugas akhir ini berlangsung selama periode Februari hingga Agustus 2025.

3.2. Alat dan Bahan

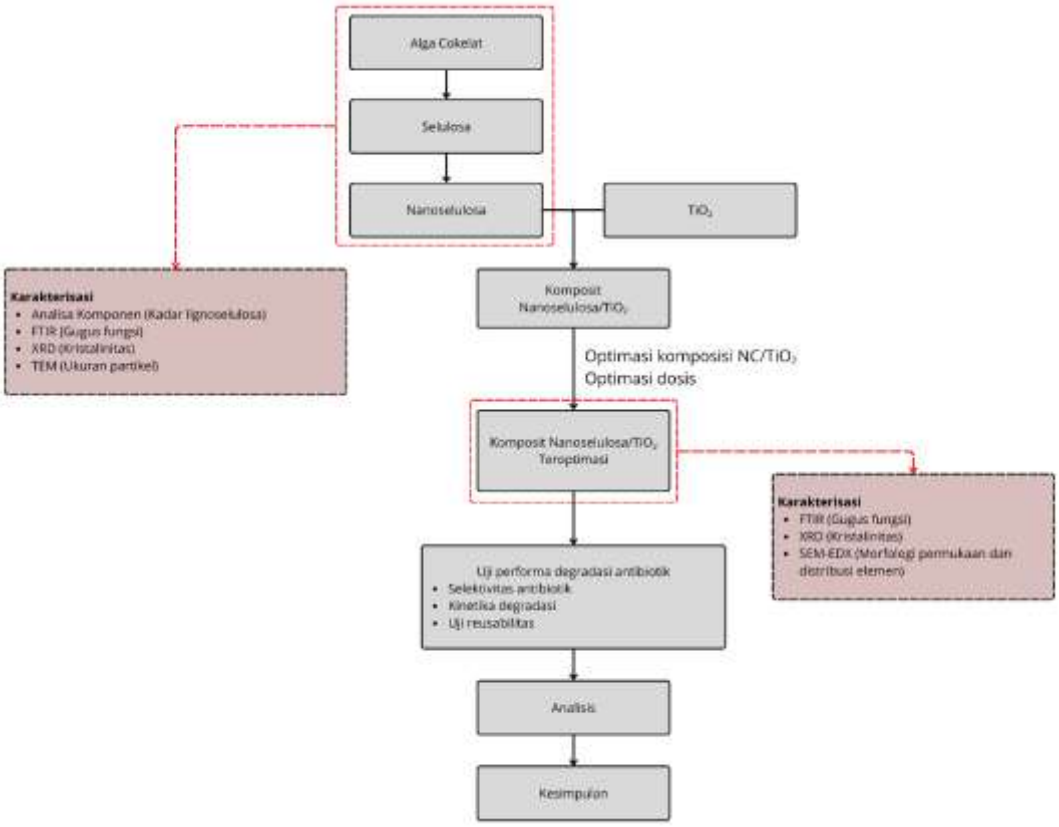
Penelitian ini menggunakan berbagai peralatan laboratorium dasar dan alat karakterisasi lanjutan. Peralatan gelas yang digunakan antara lain gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, labu Erlenmeyer, batang pengaduk, spatula, pengaduk magnetik (magnetic stirrer), botol semprot, stirrer bar, kaca arloji, cawan petri, pipet tetes, dan neraca analitik. Selain itu, digunakan pula hot plate, ruang asam (fume hood), alat ultrasonikasi, oven pengering, grinder, serta set alat fotokatalis untuk uji aktivitas degradasi.

Karakterisasi material dilakukan menggunakan beberapa instrumen, yaitu Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) untuk analisis gugus fungsi, X-Ray Diffraction (XRD) untuk mengidentifikasi struktur kristal, Zeta Potential Analyzer untuk mengetahui kestabilan dispersi partikel, serta Transmission Electron Microscopy (TEM) dan Scanning Electron Microscopy (SEM) untuk mengamati morfologi dan ukuran partikel. Selain itu, digunakan juga Spektrofotometer UV-Vis untuk mengukur efisiensi fotodegradasi rifampisin selama proses fotokatalitik.

Adapun bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi natrium klorit ($NaClO_2$), asam asetat glasial, asam sulfat pekat (H_2SO_4), TiO_2 komersial tipe Degussa P25, serta antibiotik rifampisin dengan merek Rifamtibi sebagai model polutan.

3.3. Diagram Alir Penelitian

Raihan Tubagus Ramadhan, 2025
PENGEMBANGAN KOMPOSIT NANOSELULOSA DARI ALGA COKELAT (Sargassum Duplicatum) TERFUNGSIONALISASI TiO_2 UNTUK FOTODEGRADASI LIMBAH ANTIBIOTIK
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu



Gambar 3. 1. Diagram alir penelitian

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Isolasi Selulosa

Proses preparasi sampel dimulai dengan pencucian sampel alga cokelat Sargassum Duplicatum menggunakan air bersih untuk menghilangkan kotoran dan kontaminan. Air hasil cucian kemudian disimpan untuk dimanfaatkan dalam pembuatan sap (cairan kaya nutrisi). Setelah proses pencucian, sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 2 hari untuk mengurangi kadar air. Rumput laut kering yang diperoleh kemudian dihaluskan menggunakan grinder, lalu diayak menggunakan mesh no. 50 untuk mendapatkan ukuran partikel yang seragam. Sampel halus ini selanjutnya digunakan dalam proses produksi selulosa.

Raihan Tubagus Ramadhan, 2025
PENGEMBANGAN KOMPOSIT NANOSELULOSA DARI ALGA COKELAT (Sargassum Duplicatum) TERFUNGSIONALISASI TiO_2 UNTUK FOTODEGRADASI LIMBAH ANTIBIOTIK
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Proses produksi selulosa diawali dengan tahap bleaching untuk menghilangkan warna asli rumput laut serta mengurangi kandungan lignin dan hemiselulosa hingga residu selulosa yang dihasilkan berwarna putih (Chen et al., 2016). Dalam penelitian ini, optimasi dilakukan dengan variasi konsentrasi $NaClO_2$ dan durasi waktu untuk mendapatkan kondisi pemutihan yang paling efisien. Proses bleaching dilakukan dengan menggunakan larutan $NaClO_2$ 5% pada perbandingan 1:30 (w/v) selama 3 jam pada suhu 65°C. Selama proses ini, pH larutan diatur pada pH 4 dengan menambahkan asam asetat glacial secara bertahap hingga pH yang diinginkan tercapai. Setelah proses bleaching selesai, larutan kemudian disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh disimpan untuk dimanfaatkan dalam pembuatan asam alginat, sedangkan residu yang mengandung selulosa dicuci menggunakan air bersih untuk menghilangkan sisa bahan kimia. Residu tersebut kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Selulosa kering yang dihasilkan kemudian dihaluskan menggunakan grinder untuk mendapatkan bubuk selulosa siap pakai.

3.4.2. Produksi Nanoselulosa

Proses produksi nanokristalin selulosa (CNC) bertujuan untuk memperoleh selulosa dengan dominasi struktur kristalin, di mana bagian amorf pada selulosa dihilangkan melalui metode hidrolisis menggunakan asam kuat seperti asam sulfat, asam klorida, asam fosfat, atau jenis asam lainnya. Proses ini memerlukan pengaturan khusus terkait suhu, waktu reaksi, kecepatan pengadukan, serta rasio asam terhadap selulosa (Chen et al., 2016). Dalam tahap ini, sebanyak 2 gram selulosa direaksikan dengan asam sulfat pada berbagai variasi konsentrasi dengan suhu 50°C selama 90 menit. Selama proses berlangsung, campuran diaduk pada kecepatan 300 rpm dengan rasio selulosa terhadap asam 1:50 (w/v) untuk memastikan reaksi berjalan merata.

Raihan Tubagus Ramadhan, 2025
PENGEMBANGAN KOMPOSIT NANOSELULOSA DARI ALGA COKELAT (Sargassum Duplicatum) TERFUNGSIONALISASI TiO_2 UNTUK FOTODEGRADASI LIMBAH ANTIBIOTIK
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Setelah hidrolisis selesai, campuran dipisahkan dari asam melalui proses sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Residu NC kemudian dimasukkan ke dalam dialysis bag dan direndam dalam aquades untuk menetralkan pH hingga mencapai kondisi netral, yang bertujuan untuk menghilangkan sisa asam dari sampel. Selanjutnya, NC yang telah bersih diproses menggunakan ultrasonikasi untuk memastikan partikel NC terdispersi secara merata, tidak menggumpal, dan memiliki homogenitas yang baik. Proses akhir dilakukan dengan metode freeze drying untuk mengeringkan dan menghasilkan NC dalam bentuk serbuk.

3.4.3. Optimasi Komposit Nanoselulosa-TiO_2

TiO_2 secara bertahap ditambahkan ke dalam suspensi NC 2% sambil diaduk konstan untuk menjaga homogenitas campuran. Variasi komposisi NC:TiO_2 dibuat dalam rasio 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, dan 1:3 (b/b). Campuran tersebut kemudian diproses dengan ultrasonikasi pada amplitudo 40% selama 45 menit menggunakan pengaturan pulse 2 detik dan jeda 2 detik, sehingga partikel TiO_2 dapat terdispersi merata dalam matriks nanoselulosa. Setelah proses ultrasonikasi, larutan komposit disaring menggunakan vacuum filtration membrane hingga terbentuk lapisan padat. Lapisan padat yang dihasilkan dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C untuk menghilangkan kelembaban dan memperoleh komposit kering. Komposisi terbaik ditentukan berdasarkan kinerja degradasi antibiotik Rifampicin 10 ppm, yang dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.4.4. Optimasi Dosis Katalis Nanoselulosa-TiO_2

Optimasi dosis katalis dilakukan dengan menguji efektivitas komposit dalam mendegradasi antibiotik Rifampicin pada konsentrasi awal 10 ppm. Variasi jumlah katalis yang digunakan berada pada rentang 3 g/L hingga 7 g/L, dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh peningkatan dosis terhadap kinerja fotokatalitik. Rentang tersebut dipilih untuk memperoleh titik keseimbangan antara jumlah katalis yang memadai sebagai penyerap cahaya dan penyedia situs aktif, serta menghindari kemungkinan terjadinya

Raihan Tubagus Ramadhan, 2025
PENGEMBANGAN KOMPOSIT NANOSELULOSA DARI ALGA COKELAT (Sargassum Duplicatum) TERFUNGSIONALISASI TiO_2 UNTUK FOTODEGRADASI LIMBAH ANTIBIOTIK
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

aglomerasi partikel yang dapat menurunkan efisiensi reaksi. Nilai dosis yang menunjukkan hasil degradasi paling tinggi ditetapkan sebagai konsentrasi optimal, dan selanjutnya digunakan sebagai acuan pada pengujian kinerja komposit terhadap antibiotik lain.

3.4.5. Karakterisasi

3.4.5.1. Analisa Komponen menggunakan Metode *Van Soest*

Analisis komponen lignoselulosa dilakukan untuk menentukan kandungan selulosa, hemiselulosa, dan lignin pada sampel. Pengujian dilakukan di Balai Perakitan dan Pengujian Unggas dan Aneka Ternak, Badan Perkebunan dan Modernisasi Pertanian (Kementerian Pertanian, Ciawi, Bogor) menggunakan metode Van Soest (IKM 09, 10, 11, dan 12 Gravimetri). Sampel yang dianalisis terdiri dari biomassa awal (raw) dan selulosa hasil isolasi. Setiap analisis dilakukan dengan pendekatan gravimetri, di mana kandungan komponen lignoselulosa dihitung berdasarkan bobot residu yang diperoleh setelah perlakuan fraksinasi bertingkat menggunakan larutan deterjen netral (NDF), larutan deterjen asam (ADF), serta asam sulfat untuk pemisahan lignin. Hasil yang diperoleh menggambarkan proporsi relatif dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin dalam sampel, yang selanjutnya digunakan sebagai data karakterisasi bahan baku penelitian.

3.4.5.2. FTIR

Karakterisasi gugus fungsi dilakukan menggunakan instrumen FTIR dengan metode Attenuated Total Reflectance (ATR). Spektrum direkam pada rentang bilangan gelombang 4000–500 cm^{-1} untuk mengidentifikasi perubahan ikatan kimia pada sampel. Analisis ini dilakukan di Laboratorium Institut Teknologi Bandung (ITB). Sampel yang diuji meliputi biomassa awal (raw), selulosa, nanoselulosa, TiO_2 P25 Degussa, serta komposit optimum.

3.4.5.3. XRD

Raihan Tubagus Ramadhan, 2025
PENGEMBANGAN KOMPOSIT NANOSELULOSA DARI ALGA COKELAT (Sargassum Duplicatum) TERFUNGSIONALISASI TiO_2 UNTUK FOTODEGRADASI LIMBAH ANTIBIOTIK
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Pengukuran XRD (X-ray Diffraction) dilakukan untuk mengidentifikasi pola kristal dan tingkat kristalinitas dari masing-masing sampel, yang meliputi biomassa awal (raw), selulosa, nanoselulosa, TiO_2 P25 Degussa, serta komposit optimum. Analisis dilakukan di Laboratorium Karakterisasi Lanjut Bandung – BRIN menggunakan instrumen XRD tipe D8 Advance (Bruker) dengan konfigurasi Bragg-Bentano Diffraction. Sumber radiasi yang digunakan adalah CuKα dengan panjang gelombang Kα1 sebesar 1.54060 Å, pada tegangan 40 kV dan arus 25 mA. Sistem deteksi menggunakan Lynxeyexe-t dengan goniometer radius 280 nm. Pengukuran dilakukan pada rentang sudut 2θ sebesar 10–90° dengan step size 0.02° dan waktu per step 0.2 detik. Kondisi lainnya yaitu menggunakan sample stage standar, optics divergence slit 1.00 mm, serta pengaturan suhu dan kelembaban ruang masing-masing 20.6 °C dan 53%.

3.4.5.4. Zeta Potensial

Pengujian potensial zeta dilakukan untuk mengevaluasi stabilitas dispersi nanoselulosa hasil hidrolisis asam. Analisis dilakukan di Laboratorium BRIN KST B.J. Habibie Serpong menggunakan instrumen zeta potential analyzer yang bekerja berdasarkan pergerakan partikel bermuatan dalam medan listrik (elektroforesis). Sampel yang diuji meliputi variasi hasil optimasi konsentrasi asam, yaitu CNC-35, CNC-40, CNC-45, dan CNC-50. Nilai potensial zeta yang diperoleh digunakan sebagai indikator kestabilan koloid, di mana semakin tinggi nilai absolut potensial zeta menunjukkan dispersi nanoselulosa yang lebih stabil. Dari hasil ini ditentukan konsentrasi asam optimum yang menghasilkan nanoselulosa dengan kestabilan dispersi terbaik untuk digunakan pada tahap penelitian selanjutnya.

3.4.5.5. TEM

Karakterisasi morfologi nanoselulosa dilakukan menggunakan Transmission Electron Microscopy (TEM) di BRIN Cibinong. Sampel

Raihan Tubagus Ramadhan, 2025
PENGEMBANGAN KOMPOSIT NANOSELULOSA DARI ALGA COKELAT (Sargassum Duplicatum) TERFUNGSIONALISASI TiO_2 UNTUK FOTODEGRADASI LIMBAH ANTIBIOTIK
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

yang dianalisis merupakan hasil optimum yang telah ditentukan berdasarkan uji potensial zeta. Analisis TEM dilakukan untuk mengamati bentuk, ukuran, serta distribusi nanoselulosa, sehingga dapat mengonfirmasi keberhasilan proses hidrolisis asam pada kondisi optimum.

3.4.5.6. SEM-EDS

Analisis morfologi permukaan serta distribusi unsur pada komposit optimum dilakukan menggunakan Scanning Electron Microscopy – Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM-EDS) di Laboratorium Karakterisasi Lanjut Bandung – BRIN Bandung. Pengukuran SEM dilakukan dengan kondisi sinyal Secondary Electron (SE), tegangan percepatan sebesar 20 kV, serta mode high vacuum. Hasil SEM digunakan untuk mengamati topografi dan homogenitas permukaan komposit, sedangkan analisis EDS dilakukan untuk mengidentifikasi dan memverifikasi keberadaan unsur penyusun dalam komposit.

3.4.5.7. UV-DRS

Pengukuran UV-Vis Diffuse Reflectance Spectroscopy (UV-DRS) dilakukan di Laboratorium ITB untuk menganalisis sifat optik material serta menentukan nilai energi celah pita (band gap). Data spektrum reflektansi yang diperoleh kemudian dikonversi menggunakan persamaan Kubelka-Munk untuk menghitung energi celah pita dari material yang diuji.

3.4.6. Uji Kinerja Komposit Fotokatalis

a. Pembuatan larutan standar antibiotik

Satu kaplet mengandung 450 mg Rifampicin (RMP). Larutan induk RMP 100 ppm dibuat dengan cara menimbang 25 mg RMP yang telah digerus halus, kemudian dilarutkan dalam 20 mL akuades pada gelas kimia berukuran 50 mL. Campuran ini dihomogenkan menggunakan sonikator selama 15 menit.

Raihan Tubagus Ramadhan, 2025
PENGEMBANGAN KOMPOSIT NANOSELULOSA DARI ALGA COKELAT (Sargassum Duplicatum) TERFUNGSIONALISASI TiO_2 UNTUK FOTODEGRADASI LIMBAH ANTIBIOTIK
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Selanjutnya, larutan dipindahkan ke dalam labu takar 250 mL dan ditambahkan akuades hingga mencapai tanda batas volume. Dari larutan induk ini dibuat larutan deret standar RMP dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Absorbansi masing-masing larutan standar diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menyusun kurva kalibrasi, yang kemudian digunakan dalam penentuan konsentrasi RMP pada sampel hasil degradasi.

b. Uji Adsorpsi Komposit

Uji adsorpsi komposit dilakukan terhadap larutan antibiotik dalam kondisi gelap tanpa penyinaran UV. Konsentrasi katalis yang digunakan adalah 5 g/L. Katalis dicampurkan ke dalam larutan antibiotik 10 ppm, kemudian campuran diaduk menggunakan magnetic stirrer pada kecepatan 200 rpm dalam keadaan gelap. Sampel diambil setiap interval 15 menit dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memantau proses adsorpsi.

c. Uji degradasi antibiotik

Uji fotokatalisis komposit dilakukan untuk menilai kemampuan degradasi antibiotik. Katalis pada dosis optimum hasil optimasi (g/L) didispersikan dalam larutan Rifampicin 10 ppm. Campuran diaduk menggunakan magnetic stirrer dengan kecepatan 200 rpm dalam kondisi gelap terlebih dahulu untuk mencapai kesetimbangan adsorpsi. Setelah itu, larutan diberi penyinaran menggunakan lampu UV-A (395 nm) berdaya 50 watt dengan pengadukan konstan. Sampel diambil setiap interval 30 menit dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kinerja fotokatalitik komposit dibandingkan dengan nanoselulosa murni dan TiO_2 P25 Degussa. Selanjutnya, aktivitas degradasi Amoxicillin juga diuji dengan kondisi yang sama. Persentase degradasi fotokatalitik dihitung berdasarkan persamaan:

$$\%Degradasi = \frac{C_t - C_0}{C_0} \times 100$$

Raihan Tubagus Ramadhan, 2025
PENGEMBANGAN KOMPOSIT NANOSELULOSA DARI ALGA COKELAT (Sargassum Duplicatum) TERFUNGSIONALISASI TiO_2 UNTUK FOTODEGRADASI LIMBAH ANTIBIOTIK
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

d. Uji Kinetika Degradasi

Kajian kinetika dilakukan untuk mengetahui orde reaksi dari proses fotodegradasi. Analisis menggunakan model kinetika orde pertama, yang dinyatakan pada Persamaan berikut:

$$ln\frac{C_t}{C_0} = -kt$$

di mana kkk merupakan konstanta laju reaksi. Nilai konstanta laju diperoleh dari hasil plot antara terhadap waktu (t), dengan kemiringan garis lurus yang dihasilkan sama dengan -k.

e. Uji Reusabilitas

Pengujian selanjutnya adalah uji penggunaan kembali (reusabilitas). Komposit yang telah digunakan dipisahkan dari larutan antibiotik, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 5–10 menit untuk menghilangkan sisa adsorbat. Setelah itu, komposit dikeringkan di dalam oven pada suhu 50 °C hingga siap digunakan kembali pada siklus pengujian berikutnya.

Raihan Tubagus Ramadhan, 2025
PENGEMBANGAN KOMPOSIT NANOSELULOSA DARI ALGA COKELAT (Sargassum Duplicatum) TERFUNGSIONALISASI TiO_2 UNTUK FOTODEGRADASI LIMBAH ANTIBIOTIK
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu