

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Tahapan penelitian yaitu preparasi ekstrak GN, sintesis hidrogel CRF, dan uji kinerja hidrogel CRF dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Lingkungan FPMIPA B UPI yang beralamat di Jl. Dr. Setiabudhi No.229 Bandung. Sedangkan tahapan karakterisasi hidrogel CRF dengan FTIR dilakukan di Laboratorium Instrumen FPMIPA UPI dan karakterisasi hidrogel CRF dengan SEM dan XRD dilakukan di Laboratorium Research Center for Exotic Nanocarbon, Shinshu University dan Hiroshima University, Jepang. Waktu penelitian dimulai pada bulan April 2013.

3.2 Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah GN kering, glutaraldehid p.a. (Merck), metanol, asam sulfat, asam asetat p.a. (Merck), n-polivinil alkohol p.a. (Merck), natrium hidrogen pospat ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), kalium nitrat (KNO_3), zink nitrat ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$), kacang hijau, tanah, kapas, dan aquadest.

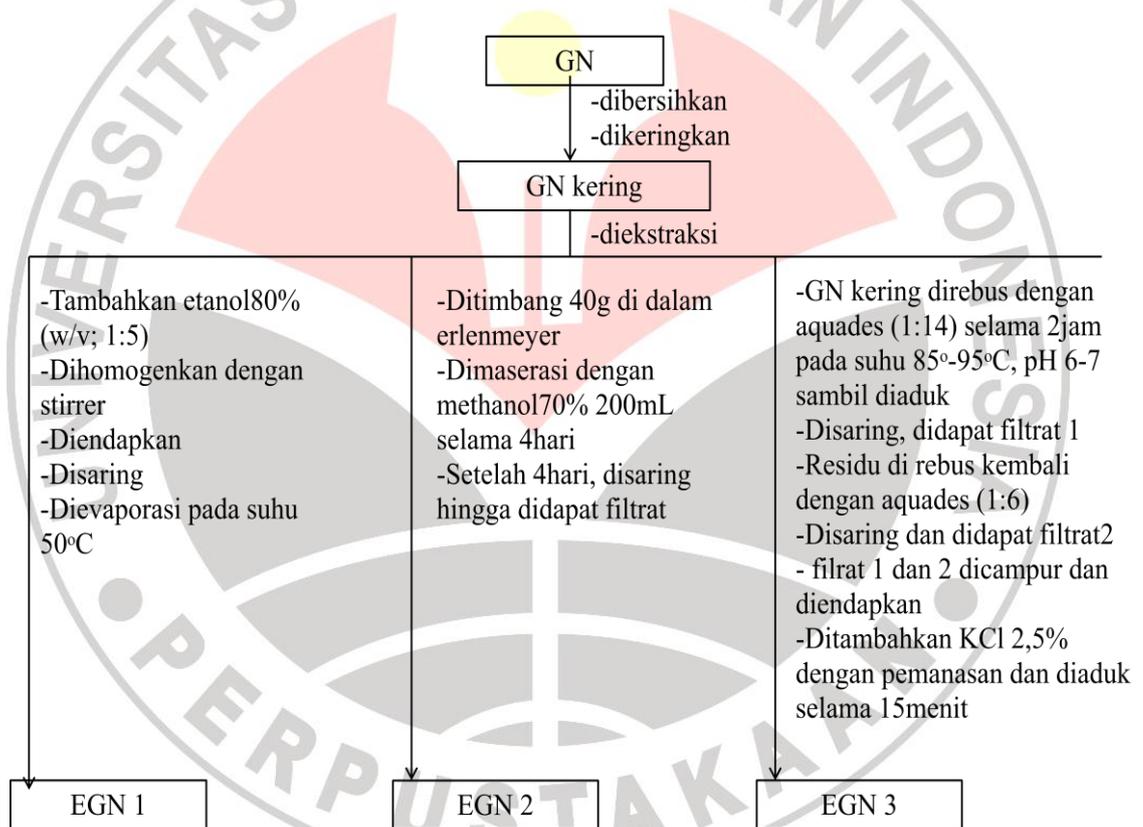
Sedangkan alat yang digunakan adalah *Scanning Electron Microscopy* (SEM), Spektrofotometer FTIR, X-ray diffraction (XRD), spektrometer serapan atom (AAS), *magnetic stirrer*, gelas kimia 600 mL, 400 mL, 250 mL, dan 100 mL, gelas ukur 50 mL, 25 mL, dan 10 mL, botol semprot, kertas saring, *corong buchner*, neraca analitik, kaca arloji, cetakan hidrogel, spatula, oven, penangas listrik, plastik wraps, batang pengaduk, labu ukur 250 mL dan 100 mL, pipet tetes, blender, mikropipet ukuran 5 mL dan 10 mL, dan gelas plastik.

3.3 Metode Penelitian

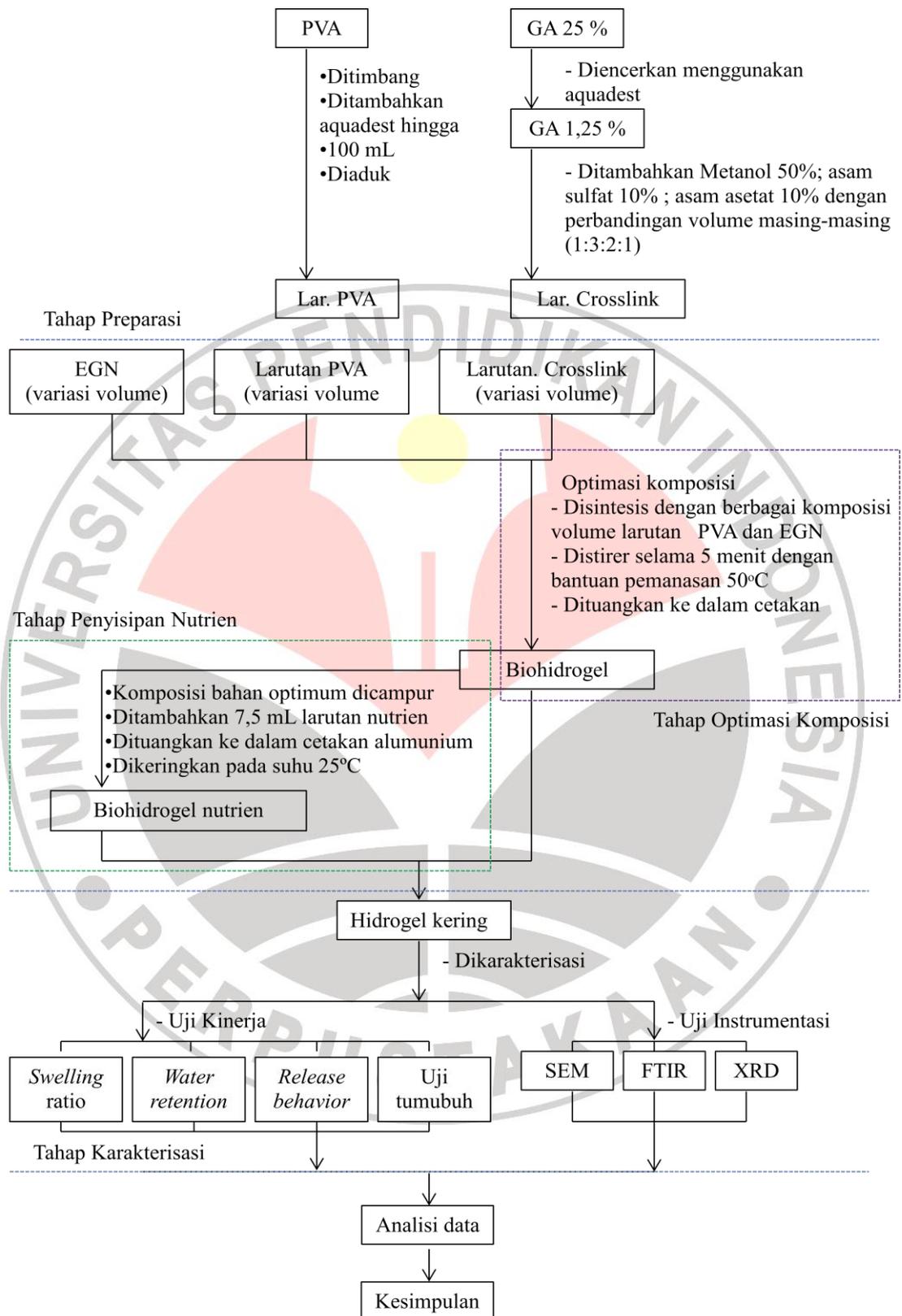
Penelitian ini dilakukan melalui berbagai tahap yaitu tahap preparasi, sintesis dan karakterisasi. Tahap preparasi meliputi tahap penyiapan EGN dengan teknik ekstraksi menggunakan tiga jenis pelarut yaitu metanol, etanol, dan air. Proses sintesis hidrogel EGN-PVA dilakukan pada berbagai variasi komposisi. Pada tahap ini, pembuatan biohidrogel dilakukan pada variasi volume bahan

dasar. Biohidrogel hasil sintesis kemudian dikarakterisasi melalui pengujian sifat mekanik dan kinerjanya sebagai CR (uji *swelling* dan retensi air) untuk penentuan kondisi optimum. Biohidrogel disintesis kembali dengan menggunakan komposisi optimum untuk kemudian disisipkan larutan nutrisi. Karakterisasi dan uji kinerja biohidrogel sebelum dan sesudah penyisipan nutrisi dilakukan melalui penentuan struktur dan morfologi dengan bantuan instrumentasi SEM, FTIR dan XRD, serta uji kinerja *swelling ratio*, retensi air, *release behavior*, dan biodegradasi.

3.4 Prosedur Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alir Preparasi EGN



Gambar 3.2 Diagram Alir Penelitian

Nurul Chotimah, 2013

Sintesis, Karakterisasi Dan Uji Kinerja Biohidrogel Berbahan Dasar EGN-PVA Dengan Crosslinker Glutaraldehyda

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.4.1 Tahap Preparasi

3.4.1.1 Tahap Pembuatan Larutan Asam asetat 10%

Diambil asam asetat glasial sebanyak 10,20 mL, kemudian dilarutkan ke dalam aquades 50 mL, dihomogenkan dan ditambahkan kembali aquades hingga volume 100 mL.

3.4.1.2 Tahap Pembuatan Larutan Methanol 50%

Larutan metanol 96% dipipet sebanyak 52,08 mL, kemudian dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL, lalu ditambahkan aquades sampai volume 100 mL dan dihomogenkan.

3.4.1.3 Tahap Pembuatan Larutan Glutaraldehida 1,25%

Larutan glutaraldehida 25% dipipet sebanyak 5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL, lalu ditambahkan aquades sampai volume 100 mL dan dihomogenkan.

3.4.1.4 Tahap Pembuatan Larutan Asam Sulfat 10%

Larutan asam sulfat 98% dipipet sebanyak 10,20 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3.4.1.5 Tahap Pembuatan Larutan Crosslink dengan Perbandingan 3:2:1:1

Larutan metanol 50% ditambahkan larutan asam asetat 10%, larutan glutaraldehida 1,25%, dan larutan asam sulfat 10% kemudian diaduk sampai homogen. Campuran ini dibuat dengan perbandingan 3:2:1:1.

3.4.1.6 Tahap Pembuatan Larutan PVA 10%

Polivinil alkohol ditimbang sebanyak 10 gram, kemudian dilarutkan ke dalam aquades 50 mL, dihomogenkan dan ditambahkan kembali aquades hingga volume 100 mL.

3.4.1.7 Tahap Pembuatan Nutrien 0,025mol

Natrium hidrogen pospat ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) ditimbang sebanyak 2,857 g, kalium nitrat (KNO_3) ditimbang sebanyak 2,5275 g, dan zink nitrat ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) ditimbang sebanyak 6,5349 g. Masing-masing zat

dibuat 0,025 mol. Kemudian ketiga zat tersebut dilarutkan ke dalam aquades 50 mL, dihomogenkan dan ditambahkan kembali aquades hingga volume 100 mL.

3.4.1.8 Tahap Preparasi GN

Simplisia GN diperoleh dari Pulau Pari, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta. GN dicuci dengan air untuk menghilangkan garam, mikroorganisme dan kotoran-kotoran yang menempel. GN yang telah bersih dikeringkan di udara terbuka selama beberapa minggu tanpa terkena cahaya matahari langsung. Simplisia yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender. Setelah itu, simplisia ditimbang massa keringnya.

3.4.1.9 Tahap Pembuatan EGN

Ekstraksi GN dilakukan melalui beberapa cara untuk mengetahui cara ekstraksi terbaik yang sesuai dengan kebutuhan ekstrak GN sebagai bahan dasar pembuatan hidrogel. Cara pertama ekstraksi dilakukan dengan menambahkan etanol 80% dengan perbandingan 1:5 (w/v), dihomogenkan, diendapkan dan kemudian disaring. Filtrat dievaporasi dengan menggunakan penguap putar (*rotary evaporator*) pada suhu 50 °C sehingga dihasilkan ekstrak GN pertama. (Jasmanindar, 2009)

Cara kedua simplisia GN ditimbang sebanyak 40 gram dan dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer. Lalu dilakukan perendaman (maserasi) dengan larutan metanol 70% sebanyak 200 mL dan direndam selama 4 hari. Perendaman tersebut berfungsi untuk menyerap senyawa-senyawa organik yang terkandung dalam simplisia. Setelah 4 hari, larutan disaring menggunakan kertas saring hingga didapat larutan ekstrak GN kedua. (Melki, 2012)

Cara ketiga ekstraksi GN dilakukan dalam dua tahap yaitu direbus dengan air dengan total air perebusan sebanyak 20 kali berat GN kering. Perebusan pertama dilakukan dengan air seberat 14 kali berat kering GN selama 2 jam (suhu 85-95 °C, pH 6 - 7) sambil

diaduk. Hasil perebusan disaring dengan kain dan residunya diekstrak lagi selama 1 jam dengan air (massa air 6 kali berat GN kering). Hasil perebusan disaring, residu dibuang, dan filtratnya dicampurkan ke filtrat hasil penyaringan pertama. Campuran ini lalu diendapkan untuk memisahkan kotoran halus yang masih ada. Setelah pengendapan, dilakukan pengentalan dengan menambahkan bahan pengental KCl 2,5% sambil dipanaskan selama 15 menit dan terus diaduk hingga di dapat ekstrak GN ketiga. Ekstrak GN pertama, kedua, dan ketiga yang dihasilkan disimpan dalam wadah tertutup yang akan digunakan untuk penentuan optimasi pelarut.

3.4.2 Tahap Sintesis

3.4.2.1 Uji Awal EGN

Pada tahap ini dilakukan pembuatan hidrogel EGN-PVA, ketiga jenis EGN dari hasil ekstraksi dicampurkan dengan PVA dan *crosslinker* GA masing-masing di dalam gelas yang berbeda dengan perbandingan 1:1:1. Setelah itu diaduk selama 5 menit menggunakan *magnetic stirrer* sampai homogen dengan bantuan pemanasan sebesar 50°C kemudian dituangkan ke cetakan dan dibiarkan sampai hidrogel kering. Tahap ini bertujuan untuk mengetahui apakah hidrogel dapat terbentuk atau tidak. Hasil pengujian ini dapat digunakan untuk memilih pelarut EGN terbaik ketika dicampurkan dengan PVA dan *crosslinker* GA pada penelitian hidrogel ditahap berikutnya melalui uji *swelling*.

3.4.2.2 Optimasi Komposisi EGN dan PVA

Pada tahap ini dilakukan pembuatan hidrogel EGN-PVA dengan 5 macam variasi komposisi untuk mengetahui komposisi optimum dalam pembentukan hidrogel dimana variabel tetap dalam hal ini ialah volume *crosslinker*, suhu (50 °C), dan waktu pemanasan (5 menit).

Larutan PVA ditambahkan larutan EGN dan larutan *crosslinker* dengan perbandingan masing-masing seperti pada tabel di bawah. Setelah itu diaduk 5 menit menggunakan *magnetic stirer* sampai homogen dengan bantuan pemanasan sebesar 50°C kemudian dituangkan ke dalam cetakan dan dibiarkan sampai hidrogel kering. Terdapat dua cara pada pengeringan hidrogel yaitu pengeringan secara alami pada suhu ruang (suhu sesuai keadaan lingkungan) dan pengeringan dengan bantuan oven (suhu 40 °C) selama 24 jam.

Tabel 3.1 Perbandingan Volume PVA dan EGN pada Pembuatan Hidrogel dengan Pengeringan Alami pada Suhu Ruang

No.	PVA (mL)	EGN (mL)	<i>Crosslinker</i> (mL)	Suhu (°C)	Waktu Pemanasan (menit)
1N	5	15	10	50	5
2N	10	10	10	50	5
3N	15	5	10	50	5
4N	20	-	10	50	5
5N	-	20	10	50	5

Tabel 3.2 Perbandingan Volume PVA dan EGN pada Pembuatan Hidrogel dengan Pengeringan Menggunakan Oven pada 40 °C Selama 24 Jam

No.	PVA (mL)	EGN (mL)	<i>Crosslinker</i> (mL)	Suhu (°C)	Waktu Pemanasan (menit)
1N-O	5	15	10	50	5
2N-O	10	10	10	50	5
3N-O	15	5	10	50	5
4N-O	20	-	10	50	5
5N-O	-	20	10	50	5

3.4.2.3 Tahap Pemasukan Nutrien ke dalam Hidrogel

Hidrogel yang telah terbentuk disisipkan nutrisi yang telah disiapkan sebelumnya dalam bentuk larutan nutrien. Metode penyisipan yang dilakukan ada dua yaitu, larutan nutrien dicampurkan bersamaan dengan bahan hidrogel CRF pada tahap pembuatan hidrogel. Sedangkan metode yang kedua dilakukan dengan cara

membenamkan hidrogel yang telah terbentuk ke dalam larutan nutrisi sehingga terjadi difusi nutrisi ke dalam hidrogel. Nutrisi disisipkan pada hidrogel hasil uji optimasi komposisi dan variasi GA. Nutrisi disisipkan dengan perbandingan PVA: EGN: *Crosslinker*: Nutrisi yaitu 10:10:10:7,5 sesuai dengan penelitian sebelumnya. Adapun mikronutrisi yang disisipkan yaitu Zink Nitrat 0,025 M sebagai sumber nutrisi bagi tanaman.

Pada tahap ini dilakukan pembuatan hidrogel EGN-PVA plus nutrisi dengan dua cara penyisipan nutrisi untuk mengetahui cara yang tepat dan selanjutnya hidrogel plus nutrisi akan dikarakterisasi dan diuji kinerjanya.

3.4.3 Tahap Karakterisasi Hidrogel CRF

Pada tahap ini, dilakukan karakterisasi terhadap biohidrogel *controlled release fertilizer* yang terdiri dari PVA, EGN, dan *crosslinker*, dengan dan tanpa penambahan nutrisi. Karakterisasi struktur dan morfologi biohidrogel dilakukan dengan menggunakan instrumentasi spektrometer FTIR, XRD, dan SEM. Sedangkan pengujian kinerja meliputi parameter *swelling ratio*, *water retention*, *release behavior*, uji tumbuh, dan uji degradasi.

3.4.3.1 Rasio Swelling

Untuk mempelajari *swelling* hidrogel, digunakan metode gravimetri. Rasio *swelling* diperlukan untuk mengetahui tingkat elastisitas hidrogel. Hidrogel kering ditimbang (W_d) lalu direndam dalam 25 mL aquadest dalam gelas kimia 100 mL. Setelah beberapa saat, hidrogel diangkat dan permukaannya dikeringkan dengan menggunakan tissue. Kemudian hidrogel tersebut ditimbang kembali berdasarkan waktu yang telah ditentukan yaitu setiap 10 menit sekali selama 2 jam pertama dan selanjutnya setiap satu hari sampai dua minggu setelah perendaman pertama.

Waktu pengangkatan hidrogel dilambangkan dengan W_s . Rasio *swelling* pada hidrogel CRF dipelajari dengan menggunakan persamaan 1

$$\%SR = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

3.4.3.2 Retensi Air

Faktor retensi air dalam hidrogel berfungsi untuk mempertahankan kelembaban dan kandungan nutrisi dalam tanah pertanian. Untuk mempelajari retensi air tanah yang mengandung hidrogel CRF, sampel hidrogel CRF kering dibenamkan di dalam 40g tanah kering yang ditempatkan dalam cangkir (A). Sejumlah 40g tanah kering lain tanpa hidrogel CRF ditempatkan dalam cangkir (B), kemudian setiap cangkir ditimbang (W). Setelah itu, air suling sebanyak 25mL ditambahkan ke dalam kedua cangkir dan ditimbang kembali (W_o). Cangkir tersebut disimpan pada kondisi suhu kamar yang sama dan ditimbang setiap hari (W_t) sampai berat tanah kembali seperti sebelum ditambahkan air suling. Retensi air (%WR) dari tanah kemudian dihitung dengan Persamaan 2.

$$\%WR = \frac{W_t - W}{W_o - W} \times 100 \quad (2)$$

3.4.3.3 Uji Tumbuh pada Kecambah Kacang Hijau

Pengujian ini bertujuan untuk melihat apakah hidrogel dapat bekerja sebagai media tumbuh tanaman. Pada aplikasi ini tanaman yang digunakan ialah kacang hijau. Kacang hijau yang akan digunakan disortasi terlebih dahulu dengan merendam kacang hijau tersebut di dalam air bersih selama satu malam, kacang hijau yang terendam dipilih untuk selanjutnya digunakan untuk uji tumbuh pada hidrogel. Kacang hijau yang telah disortasi diletakkan di atas permukaan hidrogel plus nutrisi dan diletakkan di dalam cangkir (A). Sejumlah kacang hijau lain diletakkan di atas permukaan hidrogel plus nutrisi yang disimpan di atas kapas basah dan ditempatkan dalam

cangkir (B). Kemudian kedua cangkir tersebut ditetesi dengan air secara berkala dan diamati pertumbuhannya.

3.4.3.4 Pengujian Kemampuan Biodegradasi

Hidrogel dipotong dengan ukuran 1x1 cm, setiap spesi yang telah ditimbang ditempatkan pada tanah pertanian yang ada didalam sebuah pot. Pot tersebut dibiarkan selama 50 hari dalam kondisi *ambient*. Variasi morfologi dan waktu disintegrasikan dari hidrogel diamati.

3.4.3.5 Release Behavior dengan Instrumentasi AAS

Penentuan konsentrasi adsorpsi dan desorpsi nutrisi pada hidrogel dilakukan dengan menggunakan metode AAS untuk mengetahui perubahan konsentrasi pada hidrogel sebelum dan setelah pelepasan nutrisi. Konsentrasi nutrisi dapat ditentukan dari kurva kalibrasi larutan standar. Kurva standar dibuat dengan memplot absorbansi (sumbu Y) terhadap konsentrasi larutan standar (sumbu X). Diperoleh garis linear dengan derajat linearitas mendekati 1. Kemudian, konsentrasi larutan nutrisi diperoleh dengan membandingkan absorbansi larutan tersebut dengan absorbansi larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya.

Hidrogel kering tanpa nutrisi direndam ke dalam larutan nutrisi Zink Nitrat dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Penyisipan nutrisi ke dalam hidrogel dilakukan selama 18 menit. Hidrogel kemudian diangkat dan dikeringkan dengan tissue. Hidrogel yang telah dikeringkan tersebut bersama hidrogel nutrisi *coated* yang telah dipotong dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm² dibenamkan dalam 25 mL aquadest selama 18 menit kemudian diangkat dan ditiriskan. Konsentrasi nutrisi yang terdesorpsi dalam aquadest hasil rendaman tersebut di uji AAS dengan panjang gelombang 766.5 nm, energi 64%, dan interval waktu pengukuran 0,7 detik. Pengukuran konsentrasi dilakukan secara triplo.

3.4.3.6 Karakterisasi menggunakan SEM

Alat yang akan digunakan pada analisis ini yaitu SEM. Pengujian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui penampang muka dan penampang melintang hidrogel serta untuk mengetahui ukuran pori hidrogel. Sebelum diuji, hidrogel terlebih dahulu dikeringkan dan kemudian dihaluskan. Setelah itu, sampel ditempatkan pada wadah sampel kemudian dimasukkan ke dalam *vacuum chamber* dari instrumen SEM untuk diobservasi struktur morfologinya.

3.4.3.7 Karakterisasi menggunakan FTIR spektrometer

Karakterisasi ini dilakukan untuk menentukan gugus fungsi pada hidrogel dengan bantuan alat spektrofotometer FTIR (SHIMADZU FTIR-8400). Terdapat 5 sampel yang dikarakterisasi menggunakan FTIR spektrometer, diantaranya: GN, EGN, PVA-GA, biohidrogel dengan dan tanpa nutrisi. Pada tahap preparasi, sampel dihaluskan kemudian dipadatkan dan dianalisis dalam bentuk pelet dengan penambahan KBr. Pelet sampel dimasukkan ke dalam instrumen untuk diukur serapan FTIR pada sampel tersebut. Spektrum direkam dalam daerah bilangan gelombang dari 4000 cm^{-1} sampai 600 cm^{-1} . Kemudian spektrum yang diperoleh dibandingkan satu sama lain untuk melihat pengaruh nutrisi dalam pembentukan gugus fungsi pada hidrogel.

3.4.3.8 Karakterisasi menggunakan XRD

Kristalinitas biohidrogel CRF dikarakterisasi dengan menggunakan teknik *X-ray diffraction* (XRD) dengan energi 50kV/300 mA. Sebelum dilakukan pengukuran, hidrogel terlebih dahulu dikeringkan dan kemudian dihaluskan. Setelah itu, sampel ditempatkan pada wadah sampel kemudian diuji kristalinitasnya.