

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Februari sampai dengan bulan Oktober 2013 di Laboratorium Kimia Riset Material dan Makanan serta di Laboratorium Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia. Uji karakterisasi bentuk dan morfologi kristal di Laboratorium Pengujian Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Mineral dan Batubara (tekMIRA) Bandung dan uji kristalinitas dilakukan di Laboratorium fisika Pusat Survey Geologi (PSG) Bandung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas, panci aluminium, kompor, neraca analitik, wadah fermentasi, corong buchner, oven, buret 50 mL, pemanas listrik, pengaduk magnetik, kaca arloji, sentrifugator, *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy Shimadzu*, *X-Ray Diffraction (XRD)*, dan *Scanning Electron Microscope (SEM)*.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah cair tahu yang didapat dari pabrik tahu yang berlokasi di Cimahi, Jawa Barat. Bahan lainnya yang digunakan adalah gula pasir (gulaku), air, Ammonium Sulfat ( $\text{NH}_2\text{SO}_4$ ) (E. Merck), alkohol 70%, Natrium hidroksida (NaOH) 1% (E.Merck), Asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) (E. Merck), Asam Sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 98% (E.Merck), indikator universal, kertas saring whatman, kertas koran, karet pengikat, dan membran semipermeabel (Cellu-Sep; MWCO 12.000-14.000) yang didapatkan dari Membrane Filtration Products, Inc. (TXS, USA).

**Devi Anastasya, 2014**

*Studi Pendahuluan Mendapatkan Nanokristalin Selulosa Bakterial Menggunakan Media Limbah Cair Tahu*

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

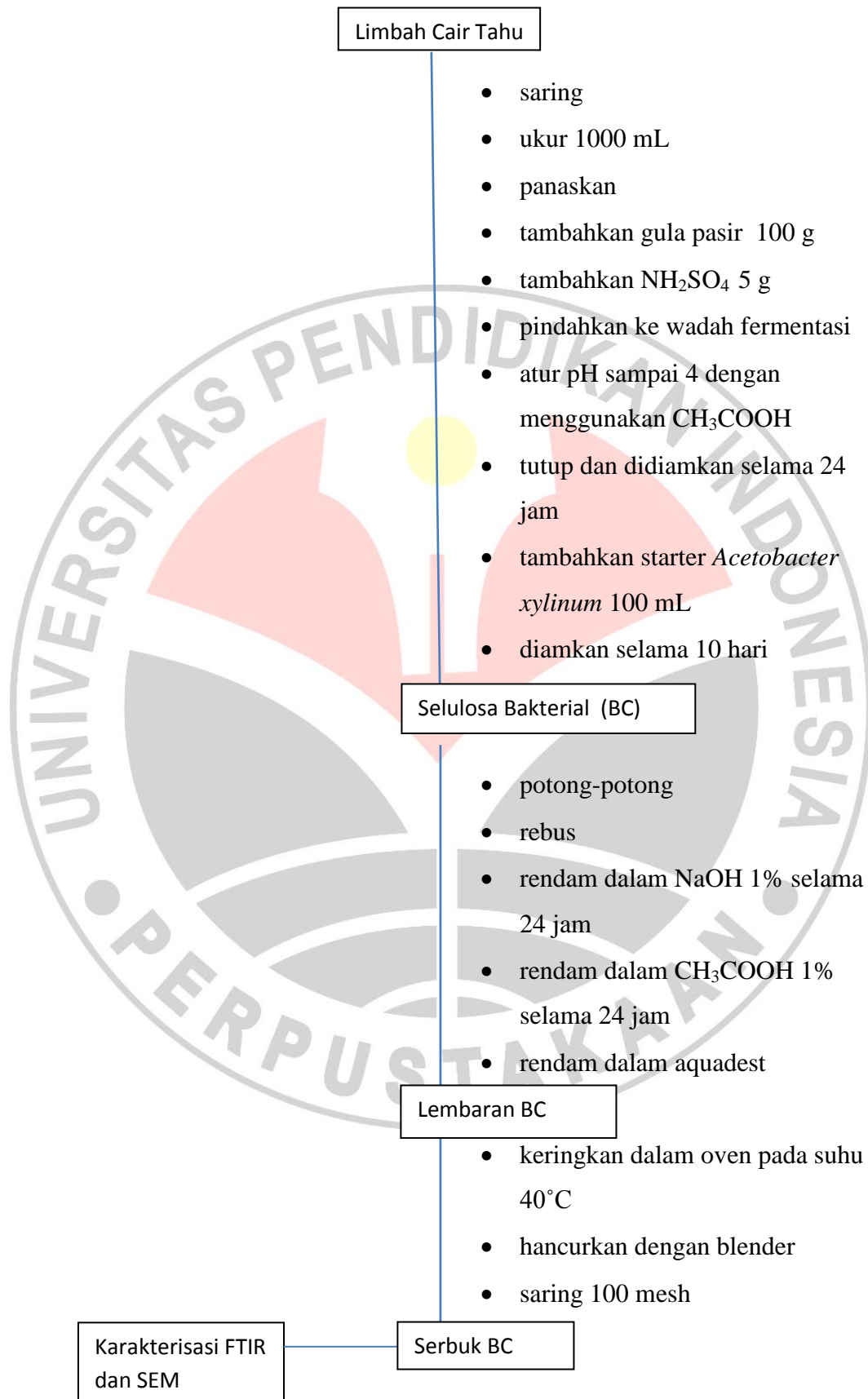
### 3.3 Tahapan Penelitian

Prosedur penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap, yakni :

1. Tahap Preparasi Sampel Selulosa
  - a. Tahap sintesis selulosa bakterial
  - b. Tahap pemurnian selulosa bakterial
2. Tahap isolasi nanokristalin selulosa
  - a. Hidrolisis asam
  - b. Pemisahan
  - c. Dialisis
  - d. Sonikasi
  - e. *Freeze drying*
3. Tahap karakterisasi meliputi analisis gugus fungsi menggunakan *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy*, Tahap uji morfologi dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy (SEM)*, Tahap uji kristalinitas dengan menggunakan *X-Ray Diffraction (XRD)*

### 3.4 Bagan Alir Penelitian

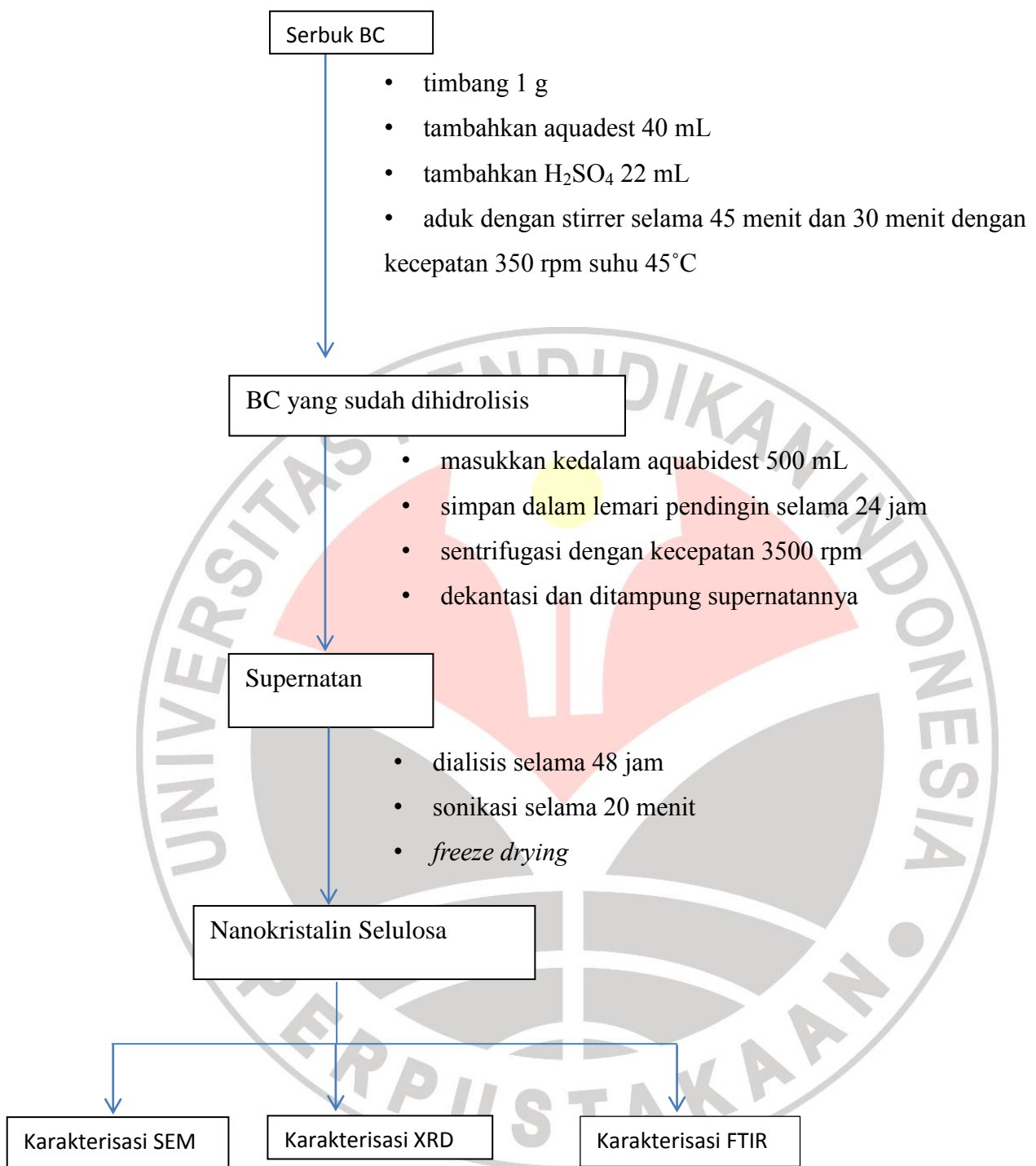
Penelitian yang dilakukan meliputi tiga tahapan dimulai dari tahap preparasi sampel selulosa yang terdiri sintesis selulosa bakterial dan pemurnian selulosa bakterial. Tahap kedua yaitu isolasi nanokristalin selulosa yang terdiri dari hidrolisis dengan menggunakan asam kuat, pemisahan, dialisis, sonikasi, dan *freeze drying*. Kemudian tahapan karakterisasi meliputi analisis gugus fungsi menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*, uji morfologi menggunakan *Scanning Electron Microscopy (SEM)*, dan uji kristalinitas dengan menggunakan *X-Ray Diffraction (XRD)*. Bagan Alir penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1



**Devi Anastasya, 2014**

Studi Pendahuluan Mendapatkan Nanokristalin Selulosa Bakterial Menggunakan Media Limbah Cair Tahu

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



Gambar 3.1. Bagan Alir Penelitian

## 3.5 Cara Kerja

### 3.5.1 Tahap Preparasi Limbah Cair Tahu

Limbah cair tahu direbus sampai mendidih, kemudian ditambahkan gula pasir 7,5 % (b/v) sebagai sumber karbon dan ammonium sulfat ( $\text{NH}_2\text{SO}_4$ ) 0,5 % (b/v) sebagai sumber nitrogen. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam wadah fermentasi dan diatur pH-nya menjadi 4 dengan penambahan asam asetat glasial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). Wadah ditutup dengan kertas koran yang sudah disterilisasi dan diikat, lalu didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 24 jam, ditambahkan starter sebanyak 10% (v/v) dan didiamkan selama 10 hari.

#### 3.5.1.1 Pemurnian Selulosa Bakterial

Selulosa bakterial dipotong-potong sekitar 4x5 cm dan direbus dalam air mendidih selama 20 menit. Kemudian direndam dalam larutan NaOH 1% (v/v) selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah itu, direndam dengan larutan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  1% (v/v) selama 24 jam.

Selulosa bakterial dicuci beberapa kali dengan menggunakan aquades. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C. Lembar BC yang telah kering dihancurkan menggunakan blender dan disaring menggunakan saringan 100 mesh. Serbuk BC yang diperoleh diuji gugus fungsinya menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

#### 3.5.2 Isolasi Nanokristal Selulosa

Isolasi nanokristalin selulosa dengan bahan baku selulosa bakterial, dilakukan dengan 5 tahap, yaitu tahap hidrolisis asam, pemisahan, dialisis, sonikasi, dan *freeze drying*.

##### 3.5.2.1 Hidrolisis Asam

Aquadest 40 mL ditambahkan kedalam 1 gram serbuk selulosa, kemudian diaduk dengan kecepatan 350 rpm dan suhu 45 °C. Setelah 10 menit,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat

**Devi Anastasya, 2014**

*Studi Pendahuluan Mendapatkan Nanokristalin Selulosa Bakterial Menggunakan Media Limbah Cair Tahu*

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

ditambahkan tetes demi tetes dengan suhu dan kecepatan yang tetap. Campuran diaduk selama 45 menit dan 30 menit dihitung mulai dari tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> terakhir.

### **3.5.5.2 Pemisahan**

Tahapan pemisahan dilakukan melalui proses sentrifugasi. Hasil hidrolisis dimasukkan ke dalam aquabidest 500 mL dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin selama 24 jam. Hasil hidrolisis disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm dan dilakukan pencucian endapan hasil sentrifugasi secara berulang-ulang dengan menggunakan aquadest. Supernatan yang diperoleh ditampung ke dalam gelas kimia.

### **3.5.5.3 Dialisis**

Supernatan yang didapatkan dari hasil sentrifugasi dibiarkan selama 24 jam. Supernatan didekantasi dan kemudian dimasukkan ke dalam membran semipermeabel dan direndam dalam air deionisasi selama 48 jam, kemudian disonikasi selama 20 menit.

### **3.5.5.4 Sonikasi**

Setelah dialisis, kemudian disonikasi selama 20 menit

### **3.5.5.5 Freeze Drying**

Selanjutnya digunakan alat *freeze dry* untuk mendapatkan serbuk nanokristalin selulosa.

## **3.5.3 Analisis Gugus Fungsi**

Analisis awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah karakterisasi serbuk selulosa bakterial dengan menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR). Analisis ini bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat di dalam suatu senyawa. Pada penelitian ini, FTIR digunakan untuk membandingkan spektra sebelum dan sesudah proses isolasi nanokristalin selulosa. Uji gugus fungsi menggunakan FTIR dilakukan di laboratorium instrument Universitas Pendidikan Indonesia.

**Devi Anastasya, 2014**

*Studi Pendahuluan Mendapatkan Nanokristalin Selulosa Bakterial Menggunakan Media Limbah Cair Tahu*

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



### **3.5.4 Analisis Morfologi dan Ukuran Partikel Selulosa**

Analisis ukuran partikel selulosa dilakukan dengan menggunakan instrument *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Analisis SEM dilakukan untuk mengetahui gambaran morfologi suatu contoh. Dalam penelitian ini, analisis SEM dilakukan untuk mengetahui morfologi permukaan dan ukuran partikel selulosa setelah dihidrolisis. Uji morfologi permukaan dilakukan pada sample selulosa bakterial dan partikel selulosa setelah dilakukan hidrolisis pada waktu 30 dan 45 menit. Uji SEM ini dilakukan di laboratorium pengujian Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Mineral dan Batubara (tekMira).

### **3.5.5 Uji Kristalinitas**

Uji kristalinitas nanokristalin selulosa menggunakan *X-Ray Diffraction* (XRD). Analisis ini dilakukan untuk mengetahui derajat kristalinitas nanokristalin selulosa yang diperoleh. Uji kristalinitas ini dilakukan di laboratorium fisika Pusat Survey Geologi (PSG) Bandung.