

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Material Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia untuk proses isolasi. Sedangkan untuk proses karakterisasi dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Universitas Pendidikan Indonesia, Laboratorium KK Farmasetika Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung, Laboratorium Greenlabs Bandung. Penelitian dilakukan dari bulan Maret – Agustus 2022.

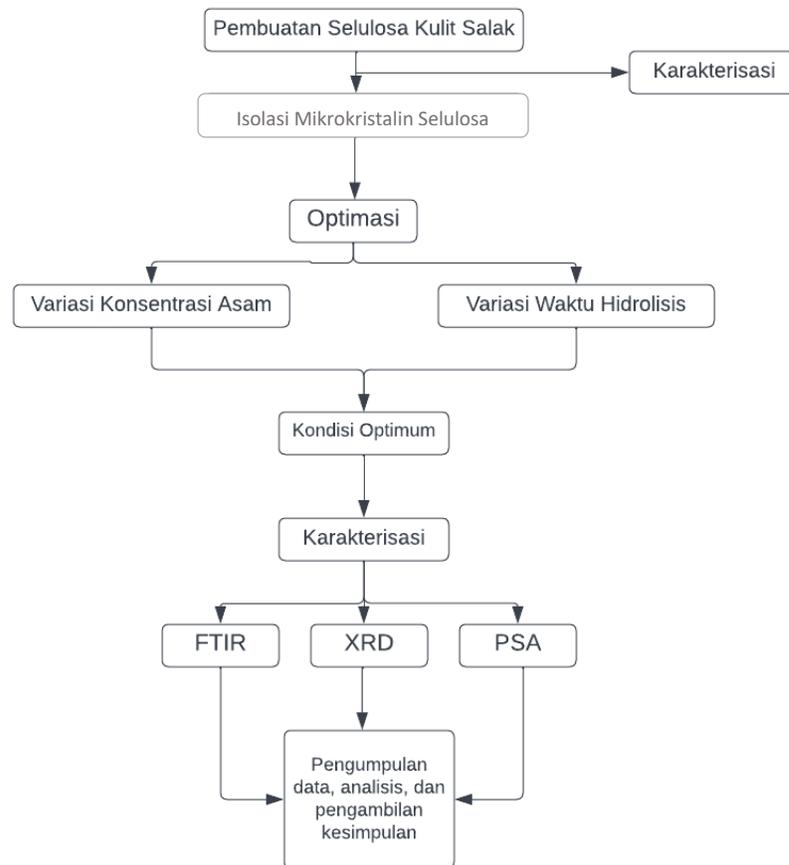
#### **3.2 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi : 1) Tahap Isolasi : gelas kimia, hot plate, stirrer, gelas ukur 100 mL, penangas air, indikator universal, selang, neraca analitik, set alat refluks, termometer, blender, statif dan klem, pipet tetes, oven, alat sentrifugasi, alat sonikasi, membran dialisis. 2) Tahap Karakterisasi : Spektrometer FTIR, XRD, PSA.

#### **3.3 Bahan**

Bahan yang digunakan adalah : serbuk kulit salak, Etanol 85%, aquades,  $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$  2%, HCl 0,2%, NaOH 0,2%, NaClO 5%,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  50%, 55%, 60%, dan 65%, pH universal.

### 3.4 Diagram Alir Penelitian



**Gambar 3.1** Diagram alir penelitian

### 3.5 Isolasi Selulosa

#### 3.5.1 Penghilangan Senyawa Polifenol

Serbuk kulit salak ditimbang sebanyak 20 g dan direfluks menggunakan etanol 85% sebanyak 100 mL selama 45 menit pada suhu 85°C. Setelah itu, endapan yang diperoleh dipisahkan dari larutan dan direfluks lagi sebanyak 2 kali. Kemudian endapan dipisahkan dan dicuci menggunakan aquades hingga pH mendekati netral/netral.

### 3.5.2 Penghilangan Senyawa Pektin

Sampel kemudian ditambahkan ammonium oksalat 2% sebanyak 1 L dan diaduk selama 1 jam pada suhu 50 °C. Endapan yang diperoleh kemudian dipisahkan dari larutannya dan dicuci menggunakan aquades hingga pH mendekati netral/netral.

Setelah itu, sampel ditambahkan HCl 0,2% sebanyak 200 mL dan diaduk selama 1,5 jam pada suhu 85 °C. Endapan yang diperoleh kemudian dipisahkan dari larutannya dan dicuci menggunakan aquades hingga pH mendekati netral/netral.

### 3.5.3 Delignifikasi

Sampel ditambahkan 200 mL NaOH 0,2% dan diaduk selama 1,5 jam pada suhu 5°C. Endapan dipisahkan dari larutannya dan dicuci menggunakan aquades hingga pH netral/mendekati.

### 3.5.4 Bleaching

Sampel ditambahkan NaOCl 5% dan diaduk selama 2 jam pada suhu 50°C hingga didapatkan endapan putih. Endapan dipisahkan dari larutannya kemudian dibilas dengan aquades hingga pH mendekati netral.

### 3.5.5 Pengeringan

Sampel selulosa dimasukkan kedalam oven pada suhu 35-40 °C hingga dihasilkan padatan selulosa kering. Kemudian dihaluskan hingga diperoleh serbuk selulosa.

## 3.6 Isolasi Mikrokristalin Selulosa

Sebanyak 1 gram serbuk selulosa dihidrolisis dalam 50 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan variasi konsentrasi 50%, 55%, 60%, 65% pada suhu 45°C selama 30 menit, 45 menit, 55 menit, dan 60 menit dengan pengadukan konstan. Selanjutnya di*quencing* dengan aquades 10 kali lipat dan didiamkan sampai terbentuk dispersi koloid yang stabil. Dispersi koloid yang didapatkan disentrifugasi 3000 rpm selama 20 menit. Endapan dispersi koloid didialisis menggunakan Carolina™ *Dialysis Tubing* 12000-14000 hingga pH ~6. Kemudian disonikasi selama 10 menit. Lalu, dilakukan *freeze drying* dan didapatkan serbuk mikrokristalin selulosa, lalu selanjutnya dikarakterisasi.

### 3.7 Karakterisasi

#### 3.7.1 Fourier Transform Infrared (FTIR)

Karakterisasi gugus fungsi mikrokristalin selulosa dilakukan dengan menggunakan spektrometer FTIR “Prestige 21 Shimadzu FTIR Spectrometer” dengan rentang panjang gelombang 450-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Sampel digiling dengan KBr lalu dijadikan pelet dan dianalisis dalam spektrometer FTIR dengan pemindaian 2  $\text{cm}^{-1}$ . Data FTIR dapat digunakan untuk mengetahui rasio kristalinitas, energi dan jarak ikatan hidrogen selulosa. Rasio kristalinitas dihitung dengan cara membandingkan puncak serapan pada 1372 dan 2900  $\text{cm}^{-1}$  seperti ditunjukkan dalam persamaan (1) (Nelson & O’Connor, 1964):

$$CrR = \frac{A_{1372}}{A_{2900}} \quad (1)$$

Energi ikatan hidrogen ( $E_H$ ) untuk beberapa *stretching* OH dihitung menggunakan persamaan (2) (Struszczyk, 1986) :

$$E_H = \frac{1}{k} \left[ \frac{v_0 - v}{v_0} \right] \quad (2)$$

Dimana  $v_0$  adalah frekuensi standar gugus OH bebas (3650  $\text{cm}^{-1}$ ),  $v$  adalah frekuensi ikatan OH, dan  $k$  adalah konstanta ( $1/k = 2,625 \times 10^2$  kJ). Sedangkan, menurut Pimentel dan Sederholm (Pimentel & Sederholm, 1956), jarak ikatan hidrogen ( $R$ ) diperoleh menggunakan persamaan (3) :

$$\Delta v (\text{cm}^{-1}) = 4430 \times (2,84 - R) \quad (3)$$

Dimana  $\Delta v = v_0 - v$ ,  $v_0$  adalah frekuensi *stretching* OH monomeric, yang mencapai 3600  $\text{cm}^{-1}$  dan  $v$  adalah frekuensi *stretching* yang teramati dalam spektra inframerah sampel selulosa.

#### 3.7.2 X-ray Diffraction (XRD)

Karakterisasi dengan difraksi sinar-X dilakukan menggunakan instrument XRD “Bruker D8 ADVANCE” untuk mengetahui sifat fisik mikrokristalin selulosa antara lain ukuran kristalit dan kristalinitas. Sampel yang diuji berbentuk bubuk dan diletakan pada wadah sampel.

Data difaktogram sampel dianalisis untuk menghitung indeks kristalinitas dengan menggunakan persamaan Segal (Segal et.al, 1959)

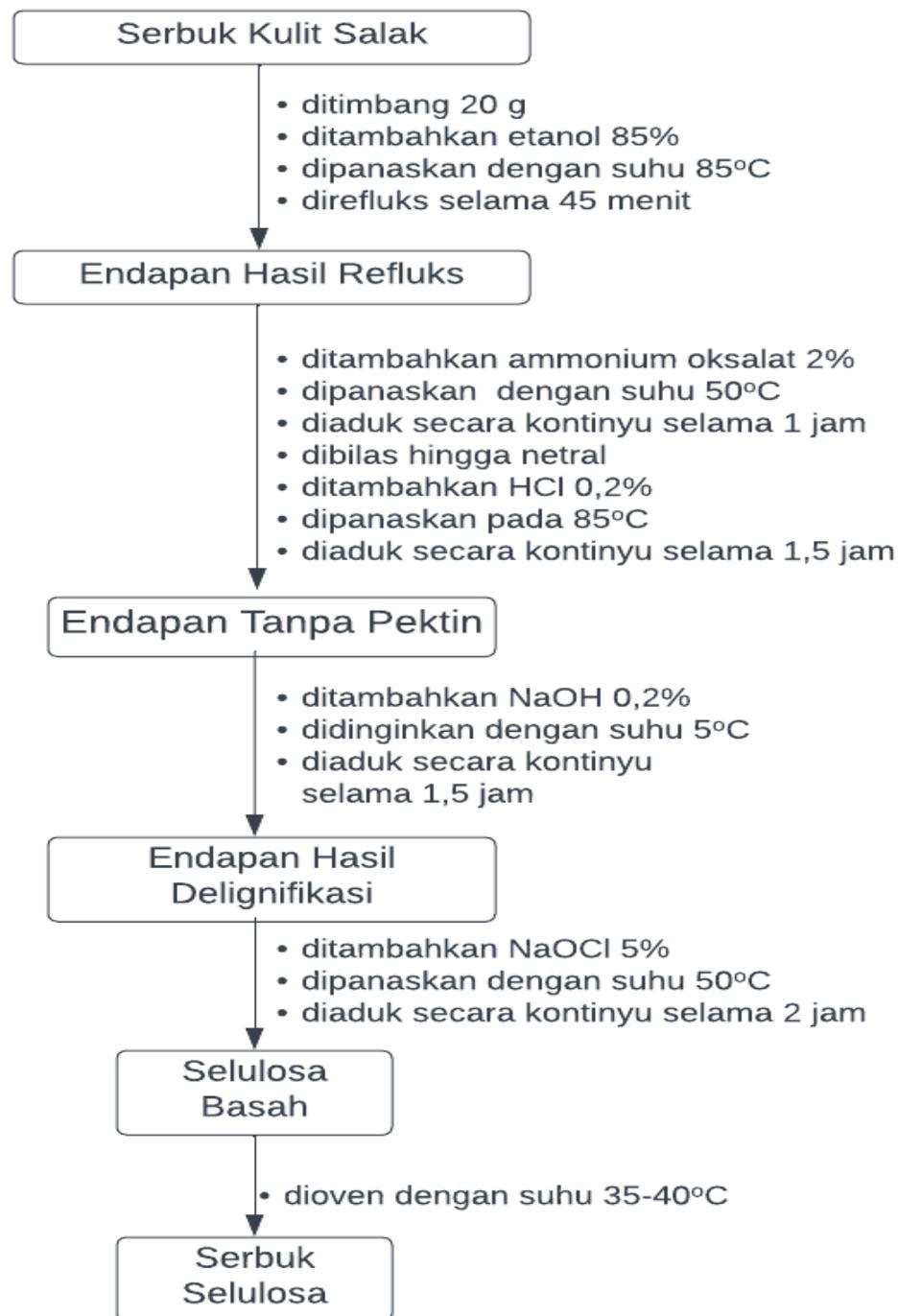
$$CI (\%) = \frac{I_{200} - I_{am}}{I_{200}} \times 100\% \quad (4)$$

Dimana  $I_{200}$  adalah intensitas maksimum dari difraksi kisi puncak kristalin (pada  $2\theta = 22,5^\circ$  untuk selulosa I) dan  $I_{am}$  adalah intensitas difraksi bagian amorphous (pada  $2\theta = 18^\circ$  untuk selulosa I).

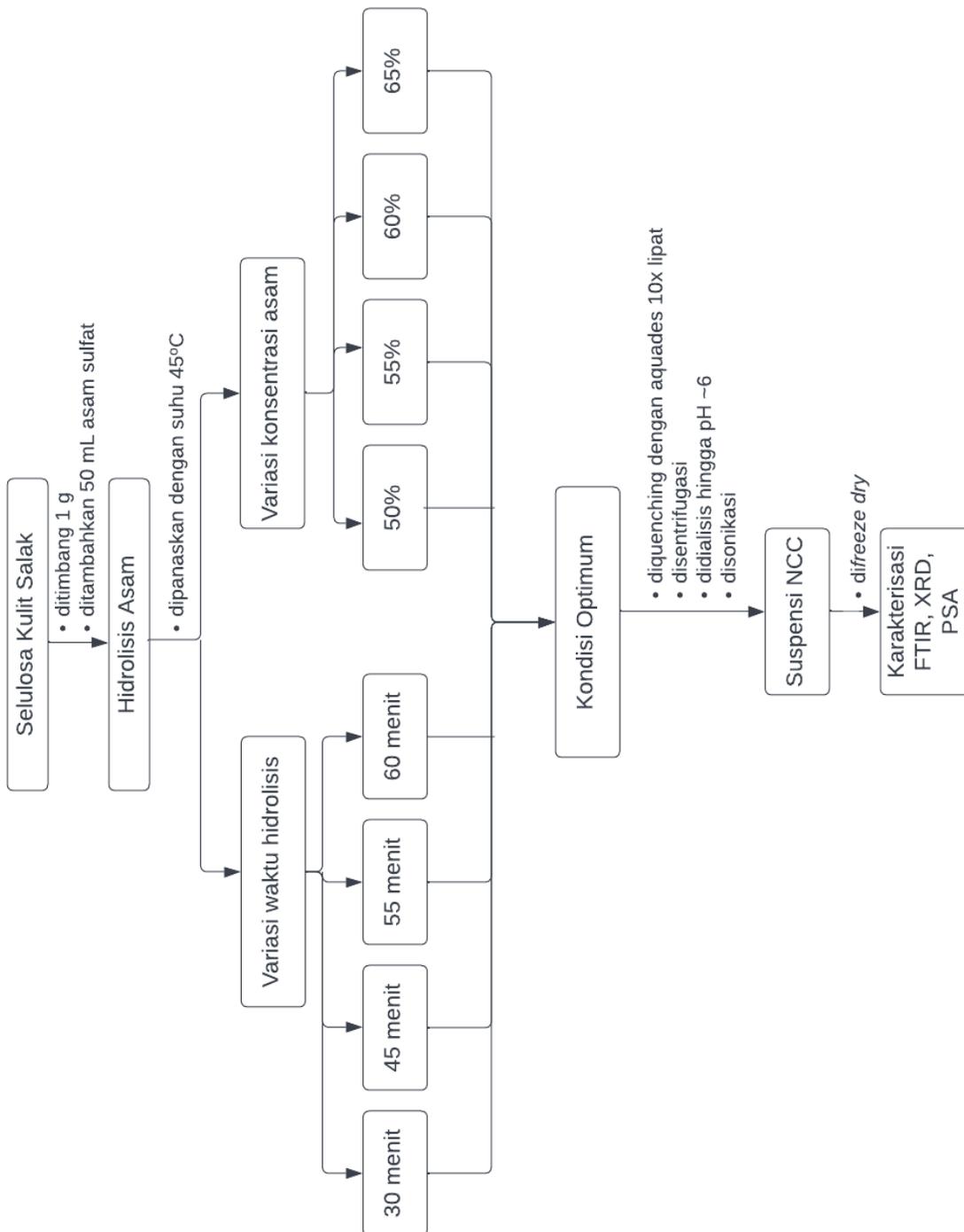
### **3.7.3 Particle Size Analyzer (PSA)**

Karakterisasi dengan PSA dilakukan untuk mengerahui distribusi ukuran partikel dari mikrokristalin selulosa. Pengukuran dilakukan menggunakan Beckman Coulter DelsaNano C *Particle Size Analyzer*. Sampel berwujud cairan/suspensi.

### 3.7.4 Diagram Alir Metode Penelitian



**Gambar 3.2.** Diagram alir isolasi selulosa



**Gambar 3.3.** Diagram alir isolasi MCC