

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan selama penelitian ini adalah berbagai peralatan gelas dan plastik, pembakar *Bunsen* beserta set penangasnya, pengaduk magnetik (*hot plate stirrer*), pengocok elektrik (*shaker*), corong *Buchner*, blender, termometer raksa, neraca digital, oven, mikrometer skrup ukuran 0,01-20 mm ("Mitutoyo" no.2050-08), mortar, alat *Ultrasonic*, viskometer *Ubbelohde*, stopwatch, pipet volume beserta ball pipet, FTIR ("SHIMADZU, FTIR-8400"), XRD ("PHILIPS ANALYTICAL X-RAY B.V"), desikator, cawan krus dan buret.

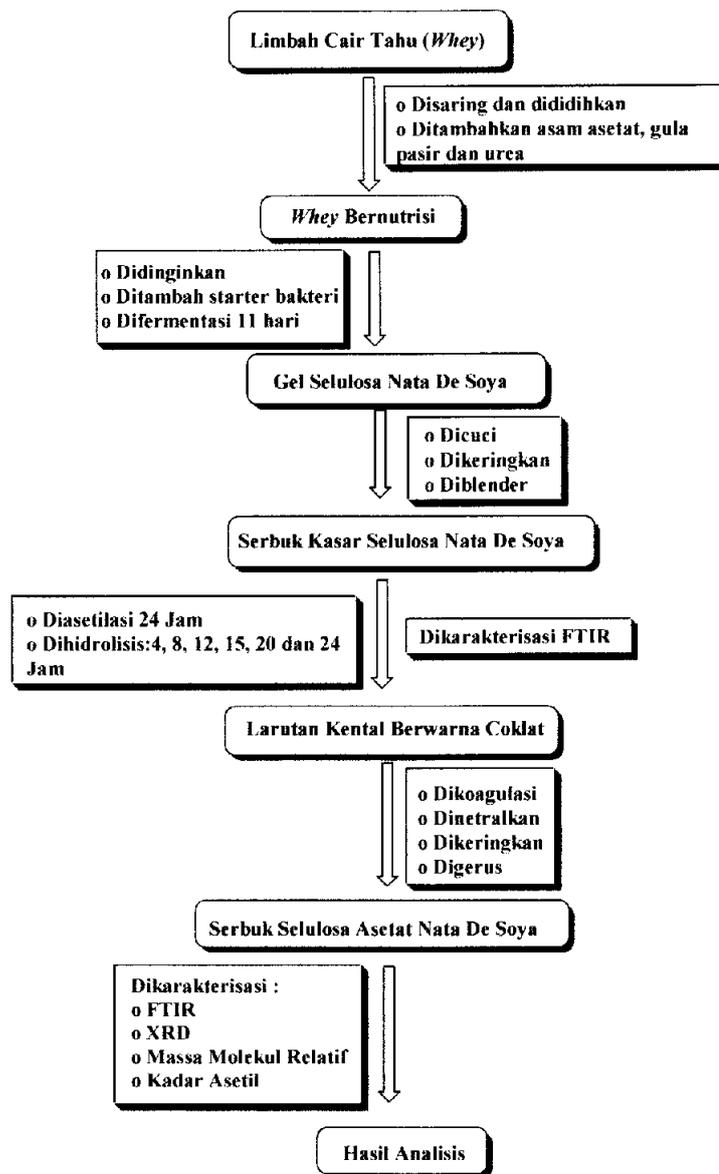
3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah cair tahu (*whey*) sebagai medium pembuatan nata de soya; gula pasir "GULAKU" sebagai sumber karbon tambahan penyusun komponen selulosa bakterial nata de soya; asam asetat glasial p.a (CH_3COOH 100%) sebagai pembentuk suasana asam; urea ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$) sebagai sumber nitrogen tambahan bagi pertumbuhan bakteri; larutan NaOH 1% dan larutan CH_3COOH 1% sebagai cairan pencuci nata de soya; biakan bakteri *Acetobacter xylinum* sebagai starter bakteri fermentasi nata de soya; asam

asetat anhidrat p.a (CH_3COOH 100%) sebagai reaktan proses asetilasi nata de soya; asam sulfat pekat (H_2SO_4 18 M) sebagai katalis dalam proses asetilasi; larutan asam asetat glasial untuk proses hidrolisis; aseton sebagai pelarut serbuk selulosa asetat dalam analisis massa molekul relatif; etanol, NaOH (0,5 M) dan HCl (0,5M) untuk titrasi dalam penentuan kadar asetil; fenolftalein sebagai indikator dalam titrasi penentuan kadar asetil; dan aqua dm sebagai pengkoagulasi larutan hasil asetilasi sekaligus cairan pencuci endapan selulosa asetat nata de soya.

3.1 Diagram Alir Penelitian

Penelitian ini dilakukan sesuai dengan diagram alir penelitian yang ditunjukkan oleh Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pembuatan Selulosa Nata de Soya

Satu liter limbah cair tahu disaring dan dipanaskan sampai mendidih. Setelah mendidih ditambahkan 10 mL asam asetat glasial dan 100 gram gula pasir. Larutan ini dinamakan larutan asam bergula (*whey* bergula). Tahap berikutnya adalah menambahkan 5 gram urea ke dalam larutan tersebut, kemudian larutan didinginkan (agar cepat, dapat direndam dalam penangas air mengalir). Setelah dingin, ke dalam larutan tersebut ditambahkan starter bakteri *Acetobacter xylinum* sebanyak 10 % dari volume media. Media yang telah ditambahkan stater didistribusikan pada wadah. Kemudian media tersebut ditutup rapat dengan kertas koran agar bakteri dapat berespirasi dengan baik. Media disimpan pada suhu kamar dan tidak boleh digoyang selama 11 hari. Setelah fermentasi, diperoleh gel nata de soya yang berwarna putih. Gel nata de soya hasil fermentasi dicuci dengan air mendidih selama 15 menit, kemudian dicuci dengan larutan NaOH 1% selama 24 jam dan larutan CH₃COOH 1% selama 24 jam, terakhir gel dicuci dengan air mengalir. Nata de soya hasil pencucian diukur ketebalannya, kemudian gel nata dikeringkan dalam oven dengan suhu antara 50-70°C sampai kering. Setelah itu, nata kering dihancurkan menggunakan blender hingga dihasilkan serbuk selulosa nata de soya. Serbuk ini kemudian dikarakterisasi lebih lanjut dengan FTIR.

3.3.2 Pembuatan Selulosa Asetat Nata de Soya

Sebanyak 2 gram serbuk selulosa nata de soya diberi perlakuan awal dengan 9,6 mL asam asetat glasial. Campuran dikocok selama 60 menit pada suhu 60°C menggunakan pengocok (*shaker*). Campuran ini kemudian ditambahkan 12 mL asam asetat glasial dan 3 tetes asam sulfat pekat, lalu dikocok kembali selama 45 menit pada suhu 60°C. Setelah 45 menit, ditambahkan 8 mL asam asetat glasial, kemudian dikocok kembali pada suhu 60°C selama 24 jam. Pada akhir tahap reaksi dihasilkan larutan coklat kental. Larutan ini kemudian dihidrolisis selama 4, 8, 12, 15, 20 dan 24 jam dengan menambahkan campuran asam asetat glasial (8 mL) dan aquades (4 mL). Pada akhir tahap hidrolisis diperoleh larutan kental berwarna coklat. Untuk mendapatkan padatan selulosa asetat, larutan hasil hidrolisis dituang ke dalam *aqua dm* kemudian diaduk dengan kuat. Padatan putih kekuningan segera terbentuk. Padatan yang diperoleh dicuci dengan *aqua dm* sampai pH netral. Hasil pencucian kemudian dikeringkan di udara terbuka. Setelah setengah kering, padatan tersebut digerus di atas mortar (lumpang), kemudian dibiarkan lagi sampai kering di udara terbuka. Terakhir, padatan tersebut digerus lagi sampai halus. Dari proses ini dihasilkan padatan serbuk berwarna putih. Untuk memastikan bahwa serbuk yang dihasilkan merupakan serbuk selulosa asetat nata de soya, maka masing-masing serbuk tersebut kemudian dikarakterisasi lebih lanjut dengan FTIR dan XRD.

3.4 Karakterisasi Selulosa dan Selulosa Asetat Nata de Soya

3.4.1 Analisis FTIR

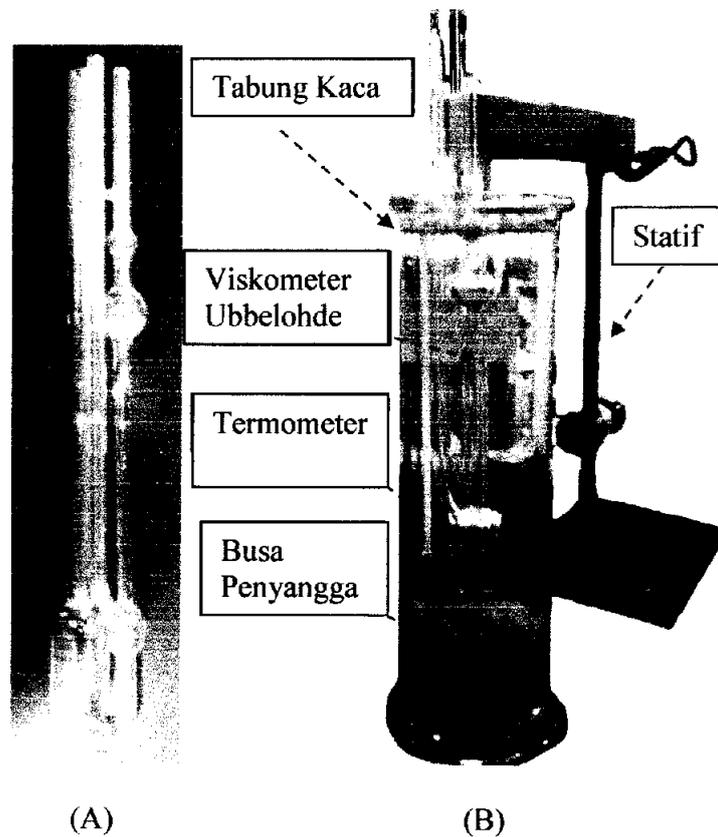
Sebanyak 1 mg selulosa dan selulosa asetat nata de soya masing-masing dicampur dengan KBr sebanyak 10 mg. Campuran ini kemudian digerus dengan mortar sampai halus kemudian ditekan untuk mendapatkan bentuk pelet. Pelet KBr yang diperoleh dimasukkan ke tempat cuplikan dan direkam dengan spektra infra merah pada bilangan gelombang $450\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$.

3.4.2 Analisis XRD

Serbuk sampel selulosa asetat nata de soya ditempatkan pada *sample holder* set alat difraktometer sinar-X. Pengujian dilakukan dengan mengukur intensitas sinar refleksi pada sudut datang 4° hingga 140°C , hasil pengujian berupa difraktogram sinar-X. Pengukuran derajat kristalinitas dari kedua sampel dilakukan dengan menentukan perbandingan antara luas daerah kristalin terhadap luas daerah keseluruhan, dikali seratus persen.

3.4.2 Penentuan Massa Molekul Relatif

Sebanyak 0,15 gram serbuk selulosa asetat nata de soya berbagai variasi hidrolisis dilarutkan dalam 100 mL aseton (Larutan A). Selanjutnya pengenceran larutan A dilakukan dengan konsentrasi: 0,2A; 0,4A; 0,6A dan 0,8A. Masing-masing larutan diukur waktu alirnya menggunakan alat viskometer *Ubbelohde* (Gambar 3.2).



Gambar 3.2 Alat Pengukuran Massa Molekul Relatif :

(A) Viskometer Ubbelohde (B) Contoh Set Alat

Pengukuran massa molekul relatif untuk viskositas (M_v) ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$[\eta] = K \times M_v^a \quad (3.1)$$

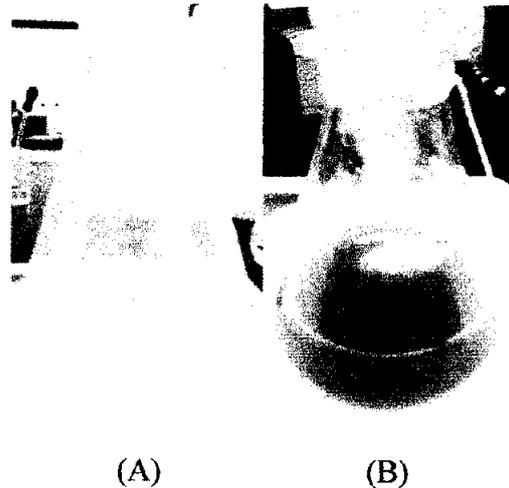
Dimana:

η = Viskositas.

K dan a = Tetapan polimer dan pelarut tertentu.

3.4.4 Penentuan Kadar Asetil

Sebanyak 1 gram serbuk selulosa asetat nata de soya dengan berbagai variasi waktu hidrolisis dikeringkan pada suhu 100°C selama 2 jam, kemudian disimpan dalam desikator. Setelah dingin, ditambahkan etanol sebanyak 40 mL dan dipanaskan pada suhu 55°C selama 30 menit. Campuran tersebut kemudian ditambahkan larutan NaOH sebanyak 40 mL dan dipanaskan kembali selama 15 menit pada suhu yang sama. Selanjutnya campuran tersebut didiamkan pada suhu kamar selama 72 jam, dan kelebihan NaOH dititrasi menggunakan HCl dengan indikator fenolftalein hingga terbentuk warna putih (Gambar 3.3(A)). Setelah dititrasi, campuran didiamkan kembali selama 24 jam agar NaOH dapat berdifusi secara maksimal terhadap selulosa asetat. Selanjutnya campuran dititrasi menggunakan NaOH hingga terbentuk warna merah muda (Gambar 3.3(B)). Prosedur yang sama dilakukan pada larutan blanko dan seluruh pekerjaan dilakukan duplo.



Gambar 3.3 Hasil Titrasi : (A) Setelah dititrasi HCl (B) Setelah dititrasi NaOH

Kadar asetil ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Kadar asetil (\%)} = [(D-C)N_a + (A-B)N_b] \times (F/W) \quad (3.1)$$

Dimana:

- A = Volume NaOH sebagai titrat pada titrasi sampel (mL).
- B = Volume NaOH sebagai titrat pada titrasi blanko (mL).
- C = Volume HCl sebagai titrat pada titrasi sampel (mL).
- D = Volume HCl sebagai titrat pada titrasi blanko (mL).
- N_a = Normalitas asam HCl (N).
- N_b = Normalitas basa NaOH (N).
- F = Tetapan (4,305 untuk kadar asetil dan 6,005 untuk kadar asam asetat).
- W = Berat sampel (gram).

