

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian farmasi laboratoris. Tempat penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Rancangan yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan cangkang siput sawah kemudian dibuat kitosan hasil diasetilisasi dari kitin dengan variasi suhu 110°C, 120°C, 130°C. Padatan yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengujian kualitas kitosan yaitu uji rendemen, kadar air, kadar abu, kelarutan, derajat deasetilasi dan uji *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer* (FTIR).

3.2 Alat dan Bahan yang Digunakan

3.2.1 Alat

Dalam penelitian ini alat-alat yang digunakan adalah mortir dan stemper (one med), corong (pyrex), gelas kimia (iwaki), pipet volume (iwaki) dan pipet filler (D&N), gelas ukur (pyrex), labu ukur (pyrex), cawa porselen (pyrex), batang pengaduk (pyrex), spatula (OMM), kurs porselen (isolab), desikator (duran), *hotplate stirrer* (thermo), *magnetic stirrer* (RCC), neraca analitik (shimadzu), lemari asam dan basa (robust), ayakan no.80 (ABM), kertas pH meter (merck), oven (gemmyco), *furnace* (nabertherm), dan *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer* (FTIR).

3.2.2 Bahan

Bahan penelitian digunakan adalah cangkang siput sawah, HCl 37% (pro analisis) (Smart-lab), NaOH 40.00 g/mol (pro analisis) (merck), asam asetat glasial, aquades (brataco), kertas saring whatmann no. 42 (GE), aluminium foil (klin pak).

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang terlibat dalam penelitian ini adalah variasi suhu deasetilasi yang diberikan yaitu 110°C, 120°C, 130°C.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandungan kitin cangkang siput sawah, randemen, kadar air, kadar abu, kelarutan dan derajat deasetilasi.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Bahan Baku Cangkang Siput Sawah

Cangkang siput sawah (*Filopaludina javanica*) merupakan bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari pengepul siput sawah yang ada di daerah Desa Tegalsawah Kabupaten Karawang. Untuk memastikan nama latin dan keseragaman dari spesies yang diteliti dilakukan fiksasi cangkang untuk dideterminasi di Museum Zoologi Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB. Cangkang siput sawah dikumpulkan, selanjutnya dibersihkan dan dicuci lalu siput sawah direbus hingga mendidih untuk memisahkan cangkang dengan dagingnya, kemudian cangkang siput sawah yang diperoleh dikeringkan dan dijemur dibawah sinar matahari, setelah kering cangkang siput sawah di haluskan kemudian diayak menggunakan ayakan mesh no. 80 (80 lubang dalam 1 inci). Bahan berupa serbuk yang telah lolos ayakan siap untuk disintesis lebih lanjut menjadi kitin dan kitosan.

3.4.2 Pembuatan Kitosan

Dalam proses sintesis kitosan dilakukan dengan tiga tahapan, dua tahapan pertama yang dilakukan adalah demineralisasi, dan deproteinasi, selanjutnya setelah dilakukan dua tahap pertama kemudian dilanjutkan dengan proses sintesis deasetilasi, urutan pembuatannya sebagai berikut :

1. Demineralisasi

Serbuk cangkang siput sawah dan larutan HCl 1,5 M dicampur dalam gelas kimia kemudian direndam selama 72 jam, selanjutnya itu dipanaskan pada suhu 60°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan menggunakan *hotplate stirrer* dengan kecepatan pengadukan 100 rpm.

2. Deproteinasi

Serbuk cangkang siput sawah hasil demineralisasi ditambahkan larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1:10 (b/v) antara sampel dan pelarut. Campuran dimasukkan ke dalam gelas kimia, dipanaskan pada suhu 60°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan menggunakan *hotplate stirrer* dengan kecepatan pengadukan 100 rpm.

3. Deasetilasi

Hasil yang diperoleh dari proses deproteinisasi (kitin) dilanjutkan dengan proses deasetilasi dengan menambahkan NaOH 60% dengan perbandingan 1:10 (b/v). Campuran diaduk menggunakan *hotplate stirrer* dengan kecepatan pengadukan 300 rpm dan dipanaskan dengan variasi suhu 110°C, 120°C, 130°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan. Pada setiap tahap setelah pengadukan, residu dicuci dengan aquades dan disaring hingga pH netral. Residu yang sudah netral dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C hingga berat konstan. Kitosan yang telah terbentuk kemudian diidentifikasi menggunakan FTIR.

3.4.3 Karakterisasi Kitosan

A. Rendemen

Untuk mengetahui rendemen kitosan dapat ditentukan menghitung perbandingan antara berat kitosan yang dihasilkan dengan berat cangkang siput sawah.

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{massa kitosan kering (g)}}{\text{massa kitin kering (g)}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.1)$$

B. Kadar air

Kadar air kitosan merupakan indikator kualitas utama. Protan Biopolymer telah menetapkan standar kualitas kadar air 10% untuk kitosan. Metode untuk menentukan kadar air meliputi teknik AOAC (*Association of Analytical Communities*). Pertama sampel ditimbang dalam cawan porselen dengan berat yang diketahui 0,5 g untuk melakukan metode pemanasan AOAC (*Association of Analytical Communities*). Sampel kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 1-2 jam setelah ditimbang (tergantung bahannya). Sesudah sampel dipanaskan, dimasukkan ke dalam desikator selama kurang lebih 30 menit, kemudian ditimbang. Sampel ditimbang sebelum dan sesudah dipanaskan kembali dalam oven kemudian didinginkan dalam desikator sampai berat konstan (Agustina *et al.*, 2015). Untuk mengetahui kadar air dapat dilakukan perhitungan dengan rumus kadar air sebagai berikut: $\% \text{ kadar air} = \frac{a-b}{c} \times 100\% \dots \dots \dots (3.2)$

Keterangan:

- a : Berat wadah + sampel basah (g)
- b : Berat wadah + sampel kering (g)
- c : Berat sampel basah (g)

C. Kadar abu

Kadar abu merupakan parameter untuk mengetahui kandungan mineral yang terdapat pada kitosan. Standar mutu kadar abu kitosan menurut *Protan Laboratory* adalah >2%. Untuk menguji kadar abu caranya dapat dilakukan dengan kurs porselen kosong ditimbang sebelum dimasukkan ke oven dipanaskan dalam oven menggunakan suhu 105°C selama 1 jam. Perlakuan dulang sampai menemukan berat konstan. Kemudian sebanyak 0,5 gram sampel kitosan dimasukkan dalam kurs porselin yang telah diketahui beratnya dalam *Furnace* dengan suhu 600°C selama 1 jam. Kemudian dimasukkan kedalam desikator kitosan yang telah diabukan sampai suhu ruan setelah itu ditimbang beratnya (Musyrofah *et al.*, 2018).

D. Kelarutan

Kitosan dilarutkan dalam asam asetat glasial dengan konsentrasi 2% pada perbandingan 1:100 (g/ml). hasil diamati dengan membandingkan kejernihan pelarut dan larutan kitosan (Agustina *et al.*, 2013).

E. Derajat destilasi

Derajat deasetilasi merupakan salah satu parameter mutu kitosan. Derajat deasetilasi menunjukkan persentase gugus asetil yang hilang dari kitin sehingga dihasilkan kitosan. Histogram yang diperoleh dari analisis *FT-IR* digunakan untuk menghitung derajat deasetilasi dari kitosan pada rumus sebagai berikut: .

$$A = \text{Log} \frac{P_0}{P} \dots\dots\dots(3.3)$$

Keterangan:

P_0 : puncak tertinggi dan

P : puncak terendah

Perbandingan absorbansi pada 1.655 cm^{-1} dengan absorbansi 3.450 cm^{-1} digandakan satu per standar N-deasetilasi kitosan (1,33). Dengan mengukur absorbansi pada puncak yang berhubungan, nilai persentase N-deasetilasi dihitung dengan rumus berikut:

$$\%DD: \%DD = 1 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} - \frac{1}{1,33} \right) \times 100\% \dots\dots\dots(3.3)$$

Keterangan :

A_{1655} : nilai absorbansi pada 1655 cm^{-1}

A_{3450} : nilai absorbansi pada 3450 cm^{-1}

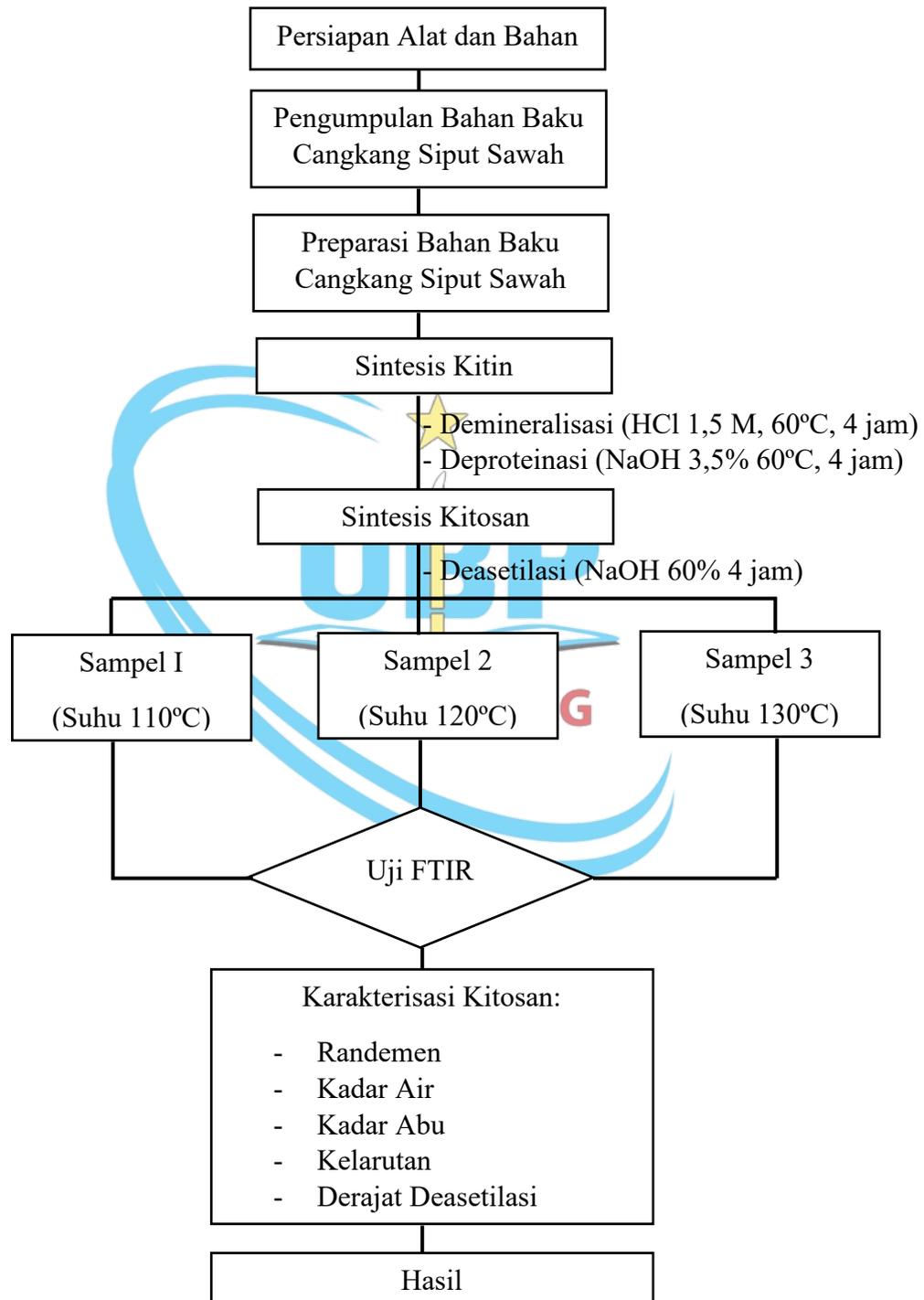
3.5 Analisis Data

Penghitungan randemen ditentukan berdasarkan presentasi berat kitosan yang dihasilkan terhadap berat kitin yang diperoleh. Kelarutan kitosan dengan cara kitosan dilarutkan kedalam asam setat konsentrasi 2% dengan perbandingan 1:100 (b/v). kadar air dan kadar abu kitosan dengan pengukuran berat sampel sebelum dan sesudah pemanasan. Kadar air dalam kitosan diketahui dari banyaknya air yang menguap

setelah pemanasan, sedangkan kadar abu diketahui dari berat kitosan yang tidak terabukan setelah pemanasan. Derajat deasetilasi kitosan diukur dengan menggunakan Fourier Transform Infra-Red Spektrofotometerbase.



3.6 Diagram Alir



Gambar 3.4 Diagram Alir Penelitian