

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan termasuk jenis penelitian eksperimental laboratoris. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Adapun rancangan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu menggunakan cangkang keong mas yang kemudian akan dijadikan kitosan, hasil diasetilasi dari kitin dengan menggunakan variasi suhu 125°C, 135°C, dan 145°C. Hasil deasetilasi kitosan kemudian akan dilakukan pengujian kualitas kitosan.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah cangkang keong mas, HCL (Hidrogen klorida) pro analis (*Supelco*), NaOH (Natrium hidroksida) pro analis (*Supelco*), asam asetat glasial, aquadest, aluminium foil, dan kertas saring whatman no. 42.

3.2.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortir (Pyrex), stamper (Pyrex), corong (Pyrex), gelas kimia (Iwaki), pipet volume (Pyrex), gelas ukur (Iwaki), labu ukur (Pyrex), kaca arloji (Pyrex), thermometer (Iwaki), batang pengaduk, spatula, cawan porselen (Pyrex), desikator, *hotplate stitter*, neraca analik, lemari asam dan basa, ayakan Mesh no. 80, kertas pH universal (MQuant), oven, tanur, dan *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer* (FTIR).

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variable bebas yang terlibat dalam penelitian ini adalah variasi suhu deasetilasi yang diberikan yaitu pada suhu 125°C, 135°C, dan 145°C.

3.3.2 Variabel Terikat

Variable terikat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandungan kitin cangkang keong mas, rendemen, kadar air, kadar abu, kelarutan dan derajat deasetilasi.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Bahan Baku Keong Mas

Bahan baku yang digunakan untuk penelitian ini adalah cangkang keong mas yang diperoleh dari pengumpul keong mas yang ada di daerah Desa Cimahi Kecamatan Klari Kabupaten Karawang. Cangkang keong mas yang telah dikumpulkan kemudian dibersihkan menggunakan air bersih lalu dikeringkan, setelah cangkang keong sawah sudah kering kemudian dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan mesh 80. Bahan baku yang sudah menjadi serbuk dan telah lolos ayakan lalu akan disintesis lebih lanjut untuk menjadi kitin. Untuk mendapatkan kitin dari cangkang keong mas dilakukan dengan metode penghilang mineral (demineralisasi), dan tahap penghilang protein (deproteinasi) yang selanjutnya akan dilakukan proses deasetilasi untuk mendapatkan hasil sintesis kitosan.

3.4.2 Pembuatan Kitosan

Proses sintesis kitosan dilakukan dengan tiga tahapan yaitu tahapan demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi. Dua tahapan pertama yang dilakukan yaitu tahapan demineralisasi dan deproteinasi yang selanjutnya dilakukan proses sintesis deasetilasi, urutan pembuatan pada tahapan ini sebagai berikut :

1. Demineralisasi

Serbuk cangkang keong sawah yang sudah diayak menggunakan mesh no.80 kemudian ditimbang sebanyak 200 gram dan dicampurkan dengan larutan HCL 1,5 M dengan perbandingan 1:10 (b/v) kedalam gelas kimia kemudian direndam selama 72 jam, kemudian dipanaskan pada suhu 60°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan menggunakan *hotplate stirrer* dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Setelah proses pengadukan selesai campuran dicuci dengan aquadest hingga pH netral lalu disaring. Residu yang sudah disaring kemudian dikeringkan dalam oven

pada suhu 80°C hingga diperoleh cangkang keong mas tanpa mineral kemudian di dinginkan (Agustina *et al.*, 2015).

2. Deproteinasi

Serbuk cangkang keong mas hasil demineralisasi ditambahkan dengan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1:10 (b/v) lalu campuran dimasukkan kedalam gelas kimia dan dipanaskan dengan suhu 60°C selama 4 jam sambil diaduk menggunakan *hotplate stirrer* dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Setelah proses pengadukan selesai campuran dicuci dengan aquadest hingga pH netral lalu disaring menggunakan kertas saring. Sampel yang telah disaring kemudian dikeringkan di oven pada suhu 80°C dan didinginkan menggunakan desikator hingga diperoleh hasil produk kitin dari cangkang keong mas (Setiawan *et al.*, 2019).

3. Deasetilasi

Kitin dideasetilasi dengan menambahkan NaOH pekat dengan konsentrasi 60% dengan perbandingan 1:10 (b/v). Campuran diaduk menggunakan *hotplate stirrer* dengan kecepatan pengadukan 300 rpm dan dipanaskan pada variasi suhu 125°C, 135°C dan 145°C selama 4 jam. Setelah proses pengadukan selesai campuran dicuci dengan aquadest hingga pH netral lalu disaring. Residu yang telah disaring kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C hingga berat konstan. Kemudian didinginkan menggunakan desikator. Kitosan yang telah terbentuk kemudian diidentifikasi menggunakan FTIR.

3.4.3 Karakterisasi Kitosan

1. Rendemen

Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10%, untuk mengetahui rendemen kitosan dapat ditentukan dengan menghitung perbandingan antara berat kitosan yang dihasilkan dengan berat cangkang keong mas pada awal proses (Agustina *et al.*, 2015).

Perhitungan nilai rendemen kitin dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat kitin}(g)}{\text{berat sampel}(g)} \times 100 \%$$

Perhitungan nilai rendemen kitosan dapat dihitung menggunakan rumus :

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

2. Kadar Air

Kadar air merupakan salah satu parameter yang sangat penting untuk menentukan mutu kitosan. Protan *Laboratory* menetapkan standar mutu untuk kadar air kitosan adalah $\leq 10\%$. Pengujian kadar air dapat dilakukan dengan cara : sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram dalam cawan porselen yang telah diketahui beratnya. Sampel dipanaskan dalam oven pada suhu $100-105^{\circ}\text{C}$ selama 1-2 jam. Kemudian didinginkan dalam desikator selama kurang lebih 30 menit dan ditimbang. Kemudian dipanaskan kembali dalam oven, lalu di dinginkan dalam desikator dan diulangi hingga berat konstan. Perhitungan kadar air dapat dilakukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_0 = berat cawan kosong

W_1 = berat cawan kosong + sampel basah (g)

W_2 = Berat cawan kosong + sampel kering (g)

3. Kadar Abu

Kadar abu merupakan parameter untuk mengetahui kandungan mineral yang terdapat pada kitosan. Standar mutu kadar abu kitosan menurut protan laboratory adalah $\leq 2\%$. 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 2 jam. Kemudian dimasukkan kedalam desikator kitosan yang telah diabukan sampai suhu ruang setelah itu ditimbang beratnya.

Kadar abu dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_0 : berat kurs kosong (g)

W_1 : berat sampel (g)

W_2 : berat sampel + kurs setelah diabukan (g)

4. Kelarutan

Kelarutan kitosan merupakan salah satu parameter yang dapat dijadikan sebagai standar penilaian mutu kitosan. Semakin tinggi kelarutan kitosan berarti mutu kitosan yang dihasilkan semakin baik. Kelarutan kitosan dilakukan dengan cara : kitosan dilarutkan ke dalam asam asetat konsentrasi 2% dengan perbandingan 1:100 (b/v). Hasil diamati dengan membandingkan kejernihan pelarut dan larutan kitosan (Agustina et al., 2015).

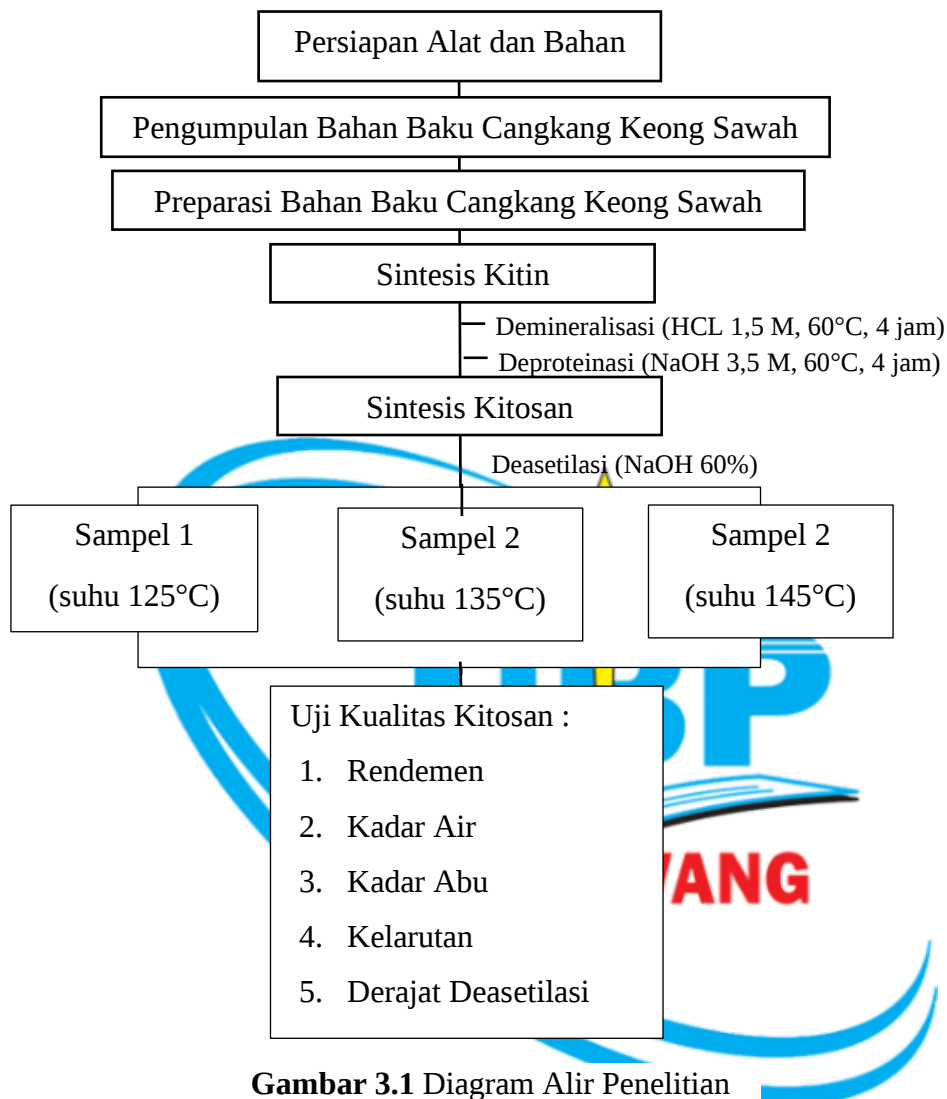
5. Derajat Deasetilasi

Derajat deasetilasi kitosan ditentukan dengan menggunakan Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer (FTIR). Derajat deasetilasi menunjukkan persentase gugus asetil yang hilang dari kitin sehingga dihasilkan kitosan. Histogram yang diperoleh dari analisis FTIR digunakan untuk menghitung derajat deasetilasi dari kitosan pada rumus sebagai berikut:

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

Hasil dari deteksi FTIR tergambar dalam bentuk puncak-puncak gugus fungsi pada bilangan gelombang masing-masing. Standar mutu dari pengujian FTIR yaitu $\geq 70\%$ (Suptijah et al., 1992). Derajat deasetilasi menggambarkan indikator penghilangan gugus asetil (COCH_3) yang terdapat pada kitin. Kitin yang mengalami proses deasetilasi disebut kitosan, derajat deasetilasi yang tinggi menunjukkan kemurnian dari kitosan yang dihasilkan (Suptijah et al. 1992).

3.5 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.6 Analisis Data

Analisis data kualitas dari rancangan acak kelompok melibatkan pengamatan berulang terhadap suatu objek. Perlakuan yang dilakukan pada pengujian yaitu pada variasi suhu deasetilasi kitin 125°C, 135°C, dan 145°C. Pada setiap unit percobaan kitosan diperiksa hasil dari kadar air, kadar abu, kelarutan, dan derajat deasetilasi.