

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental laboratorium. Rencana penelitian ini akan dilakukan di laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Limbah cangkang keong mas akan dibuat menjadi kitosan yang diasetilasi dari kitin dengan variasi konsentrasi NaOH 50%, 60% dan 70%. Hasil yang diperoleh selanjutnya akan dilakukan pengujian kualitas kitosan.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang dipergunakan pada penelitian ini adalah gelas kimia, pipet volume dan pipet filler, mortir dan stamper, gelas ukur, labu ukur, batang pengaduk, cawan porselen, kurs porselen, spatula, desikator, lemari asam basa, ayakan No. 80, *hotplate stirrer*, neraca analitik, kertas pH, furnace, oven dan Spektrofometer FTIR

3.2.2 Bahan

Cangkang keong mas, HCl, NaOH (pa), aquades, asam asetat glasial, aluminium foil dan kertas saring whatmann no. 42.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel yang terlibat pada penelitian ini yaitu variasi konsentrasi NaOH pada saat proses deasetilasi dengan konsentrasi yang diberikan yaitu 50, 60 dan 70%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu kandungan kitin pada cangkang keong sawah, rendemen, kadar air, kadar abu, kelarutan dan derajat diasetilasi.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Bahan Baku Cangkang Keong Mas

Bahan baku utama yang dipergunakan pada penelitian ini merupakan cangkang keong mas yang diperoleh dari Desa Klari Kecamatan Klari Karawang. Cangkang keong mas yang terkumpul selanjutnya dibersihkan dan dikeringkan, setelah kering cangkang keong mas dihaluskan kemudian disaring menggunakan ayakan mesh No. 80. Cangkang keong mas yang sudah diayak siap untuk disintesis menjadi kitin dengan dua proses yaitu demineralisasi (penghilang mineral) dan deproteinasi (penghilang protein)

3.4.2 Pembuatan Kitosan

Proses sintesis pembuatan kitosan menggunakan tiga tahapan, tahapan pertama dan kedua adalah demineralisasi dan deproteinasi untuk menghilangkan mineral dan protein sehingga bahan baku menjadi kitin. Kemudian tahapan ketiga yaitu diasetilasi untuk menghilangkan gugus asetil pada kitin sehingga menjadi kitosan. Pembuatan ketiga tahapan tersebut adalah sebagai berikut :

1. Demineralisasi

Serbuk cangkang keong mas yang sudah diayak dimasukkan kedalam gelas kimia lalu dicampurkan dengan HCl 1,5 M kemudian direndam selama 72 jam, setelah 72 jam serbuk cangkang keong dipanaskan menggunakan *hotplate stirrer* kecepatan 100 rpm menggunakan suhu 60°C dalam waktu 4 jam.

2. Deproteinasi

Setelah dilakukan tahap demineralisasi serbuk cangkang keong mas ditambahkan dengan NaOH 3,5%. Untuk perbandingan antara cangkang keong mas dengan NaOH adalah 1:10 (b/v). cangkang keong sawah dimasukkan kedalam gelas kimia lalu tuangkan larutan NaOH 3,5% kemudian panaskan dengan suhu 60°C selama 4 jam diaduk dengan *hotplate stirrer* menggunakan kecepatan 100 rpm.

3. Deasetilasi

Hasil dari isolasi kitin dilanjutkan dengan proses diastilasi menggunakan variasi NaOH 50%, 60% dan 70% dengan perbandingan 1:10 (b/v). Campuran dari berbagai variasi NaOH diaduk melalui penggunaan hotplate stirrer berkecepatan 300 rpm dengan suhu 80°C selama 4 jam. Setelah selesai residu disaring, dicuci dengan aquades hingga pH menjadi netral. Hasil residu dikeringkan didalam oven dengan suhu 80°C hingga beratnya menjadi konstan. Setelah proses selesai didapat kitosan dari cangkang keong sawah untuk kemudian dianalisis gugus fungsionalnya menggunakan *Fourier Transform InfraRed* (Agustina *et al.*, 2015; Tobing *et al.*, 2011).

3.5 Kualitas Kitosan

3.5.1 Rendemen

Ditentukan perhitungan untuk mengetahui rendemen kitosan yang dihasilkan dengan berat cangkang keong mas.

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

3.5.2 Kadar Air

Sampel berbobot antara 1 hingga 2 gram diukur menggunakan cawan porselin atau kaca arloji yang memiliki massa yang telah ditetapkan. Setelah itu, zat yang telah disebutkan sebelumnya dimasukkan ke dalam perlakuan panas menggunakan oven selama durasi antara satu hingga dua jam, dengan menjaga suhu berkisar antara 100 hingga 105°C. Setelah perlakuan panas, sampel didinginkan dalam desikator selama sekitar 30 menit, dan kemudian diukur beratnya. Sampel selanjutnya dipanaskan kembali dalam oven, kemudian didinginkan dalam desikator hingga berat yang konsisten tercapai. Penentuan kadar air dilakukan dengan menggunakan rumus yang terdapat dalam persamaan (2) (Sudarmadji *et al.*, 1994):

Rumus :

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{w_1 - w_2}{w_1 - w_0} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 : Cawan porselen kosong (g)

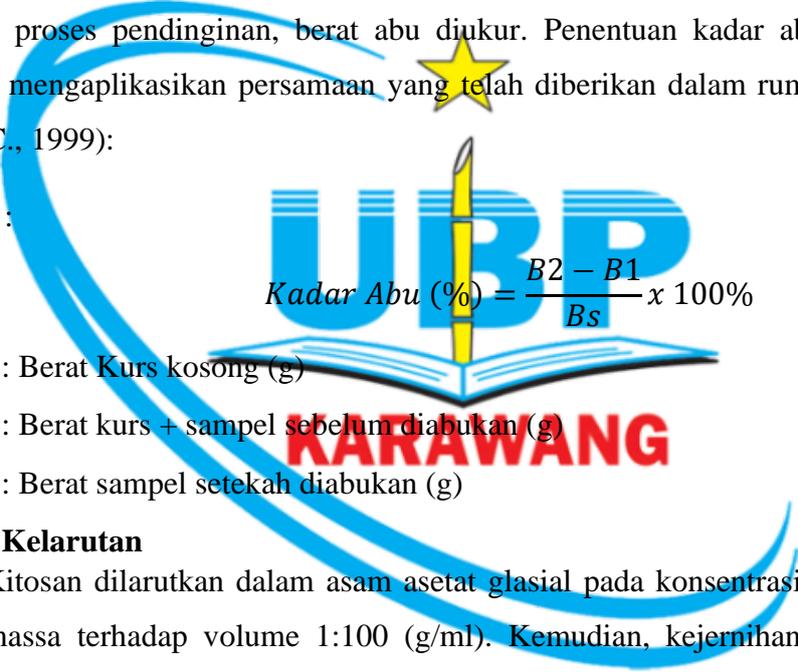
W1 : Cawan porselen kosong + sampel sebelum dioven (g)

W2 : Cawan porselen kosong + sampel setelah dikeringkan (dioven) (g)

3.5.3 Kadar Abu

Sampel berbobot 1 gram diukur dan ditempatkan dalam kurs porselen yang kering dan memiliki berat yang telah diketahui sebelumnya. Kurs porselen ini kemudian dimasukkan ke dalam tanur dengan suhu 600°C selama 2 jam. Setelah itu, wadah porselen beserta abunya didinginkan dalam desikator selama 30 menit. Setelah proses pendinginan, berat abu diukur. Penentuan kadar abu dilakukan dengan mengaplikasikan persamaan yang telah diberikan dalam rumus yang ada (AOAC., 1999):

Rumus :



$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{B2 - B1}{Bs} \times 100\%$$

B1 : Berat Kurs kosong (g)

B2 : Berat kurs + sampel sebelum diabukan (g)

Bs : Berat sampel setekah diabukan (g)

3.5.4 Kelarutan

Kitosan dilarutkan dalam asam asetat glasial pada konsentrasi 2%, dengan rasio massa terhadap volume 1:100 (g/ml). Kemudian, kejernihan pelarut dan larutan kitosan dibandingkan untuk mengevaluasi hasilnya (Agustina *et al.*, 2013).

3.5.5 Derajat Deasetilasi

Salah satu parameter kitosan adalah derajat diasetilasi. Derajat diasetilasi menunjukkan presentase gugus asetil agar menjadi kitosan. FTIR digunakan untuk menghitung derajat diasetilasi dari kitosan menggunakan rumus sebagai berikut ;

$$A = \text{Log} \frac{P0}{P}$$

Keterangan :

P₀ : puncak tertinggi

P : puncak terendah

Metode analisis spektrum inframerah untuk menentukan derajat deasetilasi (DD) dari kitin dan kitosan pertama kali diperkenalkan oleh Moore dan Robert pada tahun 1978. Metode ini kemudian diperbaiki lebih lanjut oleh Domszy dan Robert pada tahun 1985, dan pada tahun 1992, Baxter et al. menyajikan pendekatan alternatif untuk menghitung DD dengan menggunakan teknik penarikan dasar. Perhitungan DD dilakukan dengan mengevaluasi rasio antara absorbansi pita karbonil asetamida (sekitar 1665 cm⁻¹) dan pita hidroksi (sekitar 3450 cm⁻¹) dalam spektrum inframerah. Penentuan DD dihitung dengan menggunakan persamaan (10)

$$DD (\%) = \left(1 - \frac{A_{1665}}{A_{3450}} \times \frac{1}{1,33} \right) \times 100\%$$

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 NaOH deasetilasi kitin 50%, 60%, dan 70%. Pada setiap unit percobaan diperiksa hasil dari kadar air, kadar abu, kelarutan, dan derajat deasetilasi.

3.7 Diagram Alir

