

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Tulang sotong, HCl (pro analis), NaOH (pro analis), asam asetat glasial, aquades, kertas saring whatmann no.42, alumunium foil.

3.2 Peralatan Penelitian

Mortir dan stemper, corong, gelas kimia, pipet volume dan pipet filler, gelas ukur, labu ukur, kaca arloji, termometer, batang pengaduk, spatula, kurs porselen, desikator, *hotplate stirrer*, neraca analitik, lemari asam dan basa, ayakan no.80, kertas pH universal, oven, *furnace*, dan *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer* (FTIR).

3.3 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam waktu dua bulan terhitung dari bulan Juli sampai bulan Agustus. Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang, dan determinasi serta *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer* (FTIR) dilakukan pada Laboratorium ITB.

3.4 Prosedur Percobaan

3.4.1 Preparasi Bahan Baku Tulang Sotong

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian yaitu tulang sotong yang diperoleh dari pengepul biota laut yang ada di pasar Cikampek, Karawang. Preparasi bahan baku yaitu terlebih dahulu bahan dicuci dengan air agar kotoran yang melekat hilang, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari. Setelah kering, tulang sotong dihaluskan agar diperoleh serbuk tulang sotong, kemudian diayak menggunakan ayakan 80 Mesh, bahan diserbuk berguna untuk memperbesar luas permukaan. Bahan berupa serbuk yang telah lolos ayakan maka siap untuk disintesis lebih lanjut menjadi kitosan. Proses sintesis bahan menjadi kitosan dilakukan melalui tiga tahap yaitu tahap demineralisasi, tahap deproteinisasi, dan tahap deasetilasi.

3.4.2 Sintesis Kitosan

A. Demineralisasi

Serbuk tulang sotong yang sudah dihaluskan dan diayak dengan ayakan 80 Mesh, kemudian ditimbang sebanyak 200 g ditambahi larutan HCl 1,5 M dengan perbandingan 1:15 (b/v). Serbuk tulang sotong dan larutan HCl 1,5 M dicampur dalam gelas kimia kemudian direndam selama 72 jam, setelah itu dipanaskan pada suhu 60°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan menggunakan *hotplate stirrer* dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Setelah proses pengadukan selesai campuran disaring, dan residu hasil penyaringan dicuci dengan aquades hingga pH netral dan disaring kembali. Residu yang sudah netral dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C hingga berat konstan. Diperoleh serbuk tulang sotong tanpa mineral (Agustina *et al.*, 2015).

B. Deproteinisasi

Serbuk tulang sotong hasil demineralisasi ditambahi 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. Setelah proses pengadukan selesai campuran disaring, dan residu hasil penyaringan dicuci dengan aquades hingga pH netral dan disaring kembali. Residu yang sudah netral dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C hingga berat konstan. Diperoleh hasil produk kitin dari tulang sotong (Agustina *et al.*, 2015).

C. 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 pada suhu 80°C dengan variasi waktu pengadukan yaitu 4 jam, 6 jam, dan 8 jam. Selanjutnya residu disaring, dicuci dengan aquades hingga pH netral. Residu yang diperoleh dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C hingga berat konstan. Setelah itu, didapat hasil produk kitosan dari tulang sotong (Agustina *et al.*, 2015; Tobing *et al.*, 2011). Kitosan yang telah diperoleh kemudian diidentifikasi gugus fungsionalnya menggunakan *Fourier Transform InfraRed Spectrophotometer* (FTIR).

D. Karakterisasi Kitosan

D.1 Rendemen

Rendemen transformasi kitin menjadi kitosan ditentukan berdasarkan persentase berat kitosan yang dihasilkan terhadap berat kitin yang diperoleh (Agustina *et al.*, 2015).

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat kitosan (g)}}{\text{berat kitin (g)}} \times 100\%$$

D.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°C selama 1-2 jam (tergantung bahannya). Kemudian didinginkan dalam desikator selama kurang lebih 30 menit dan ditimbang. Dipanaskan lagi dalam oven, lalu didinginkan dalam desikator dan diulangi hingga berat konstan. Perhitungan kadar air dapat dilakukan dengan rumus sebagai berikut : (Agustina *et al.*, 2015)

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{a - b}{c} \times 100\%$$

Keterangan :

a : Berat wadah + sampel basah (g)

b : Berat wadah + sampel kering (g)

c : Berat sampel basah (g)

D.3 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) (Agustina *et al.*, 2015).

D.4 Kadar Abu

Kadar abu merupakan parameter untuk mengetahui mineral yang terkandung pada kitosan. Standar mutu kadar abu kitosan menurut *Protan*

Laboratory adalah $\leq 2\%$. Pengujian kadar abu dapat dilakukan dengan cara : Kurs porselen kosong ditimbang sebelum dimasukkan ke oven, dipanaskan di dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam. Perlakuan diulang sampai menemukan bobot konstan. Sampel kitosan 0,5 gram dimasukkan dalam kurs porselen yang sudah diketahui beratnya dan di *furnace* pada suhu 600°C selama satu jam. Kitosan yang telah diabukan dimasukkan kedalam desikator hingga suhu ruang lalu ditimbang beratnya, perlakuan dilakukan sampai berat konstan. Kadar abu dihitung menggunakan persamaan berikut : (Masindi & Herdyastuti, 2017; Musyrofah & Pestariati, 2018).

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{B_2 - B_1}{B_S} \times 100\%$$

Keterangan :

B_1 : berat kurs kosong (g)

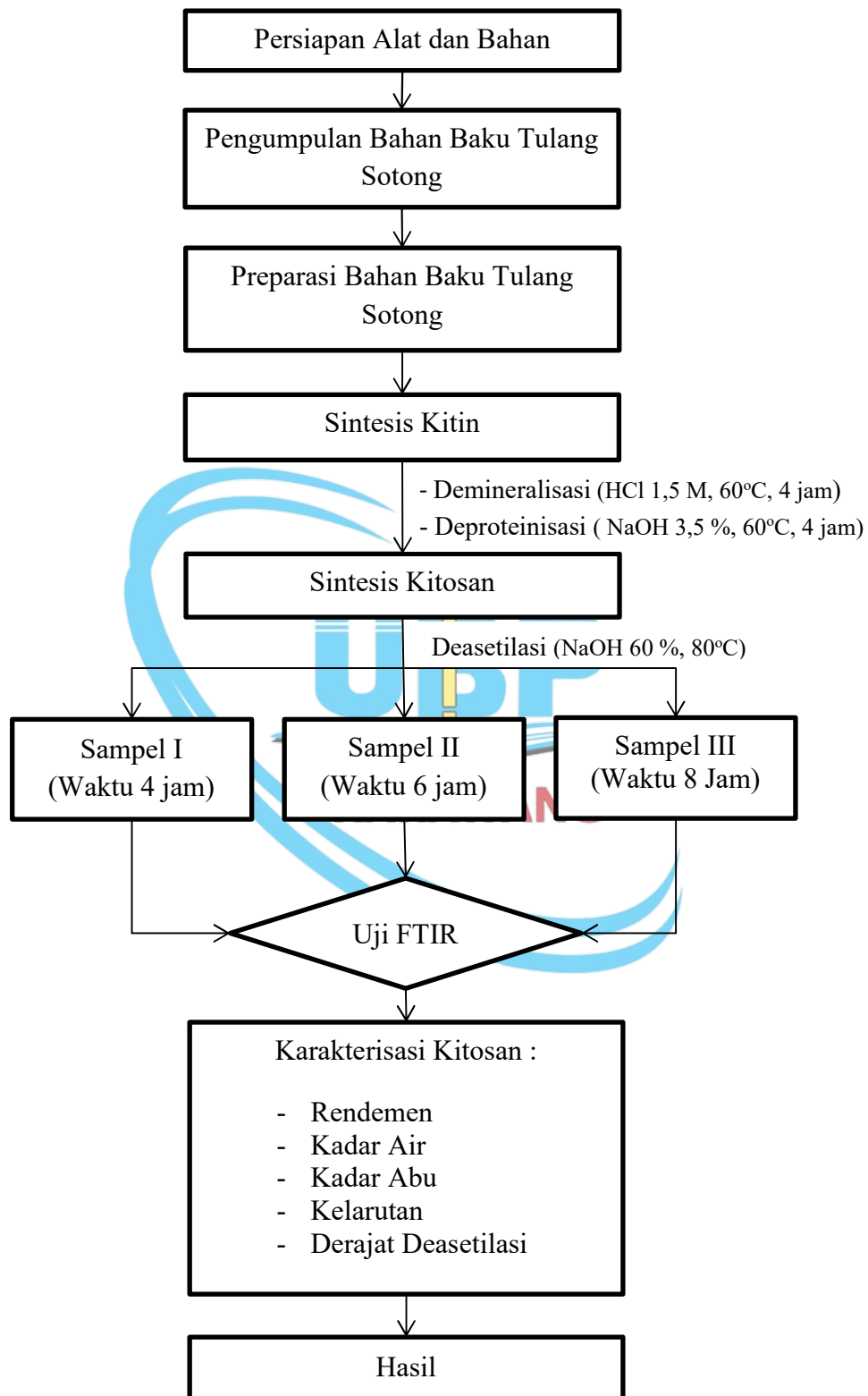
B_2 : berat (sampel+kurs) setelah diabukan (g)

B_S : berat sampel (g)

D.5 Derajat Deasetilasi

Derajat deasetilasi kitosan ditentukan dengan menggunakan *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer* (FTIR). Pada analisis, sampel kitosan dicampur dengan KBr hingga berbentuk pelet. Pelet KBr yang diperoleh kemudian dimasukkan ke tempat cuplikan dan direkam spektrum serapan inframerahnya pada bilangan gelombang (frekuensi) $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ (Arsyi *et al.*, 2018).

3.5 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian