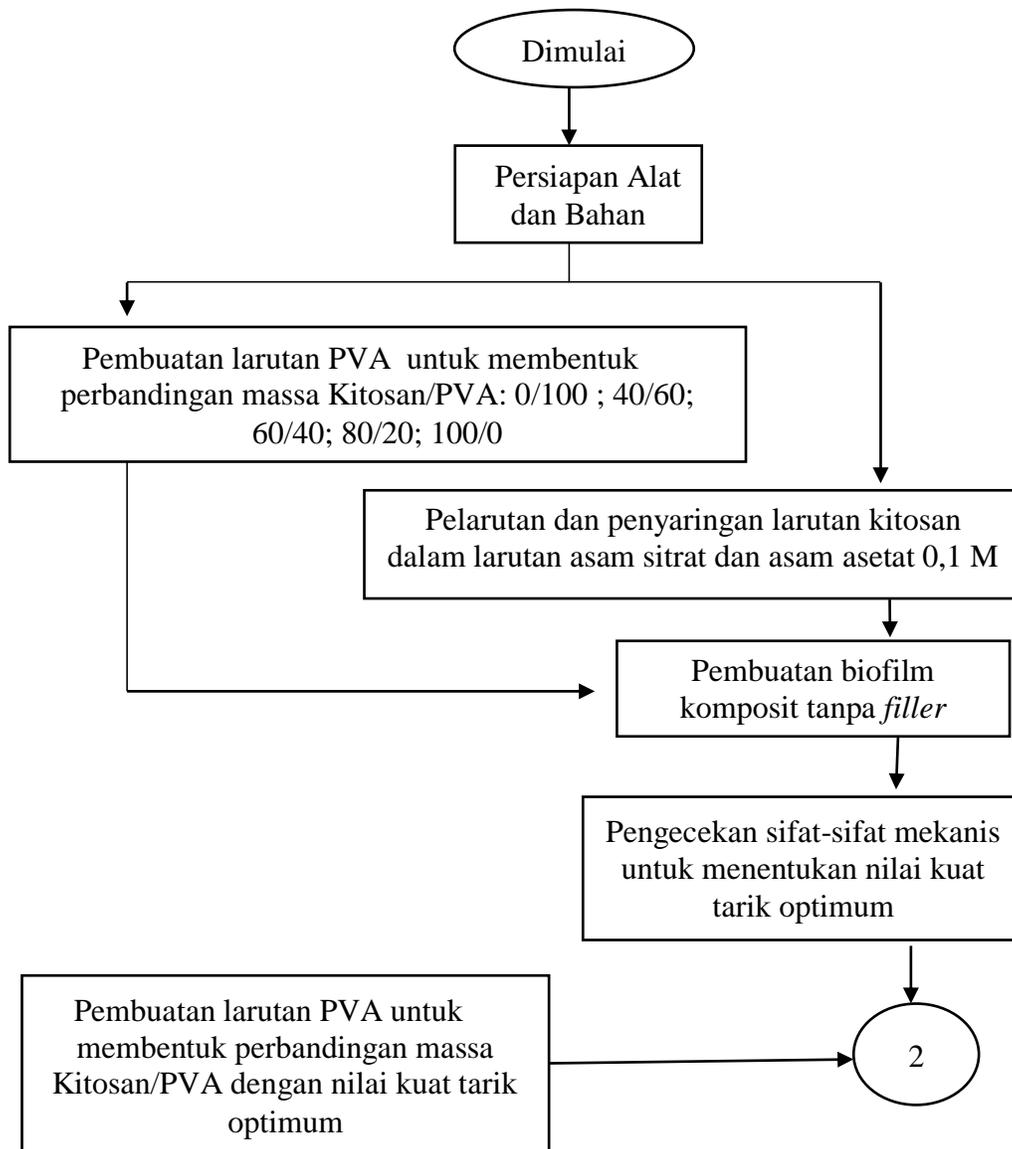


### BAB III METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tahapan Penelitian

Berikut ini adalah tahapan Penelitian secara umum :



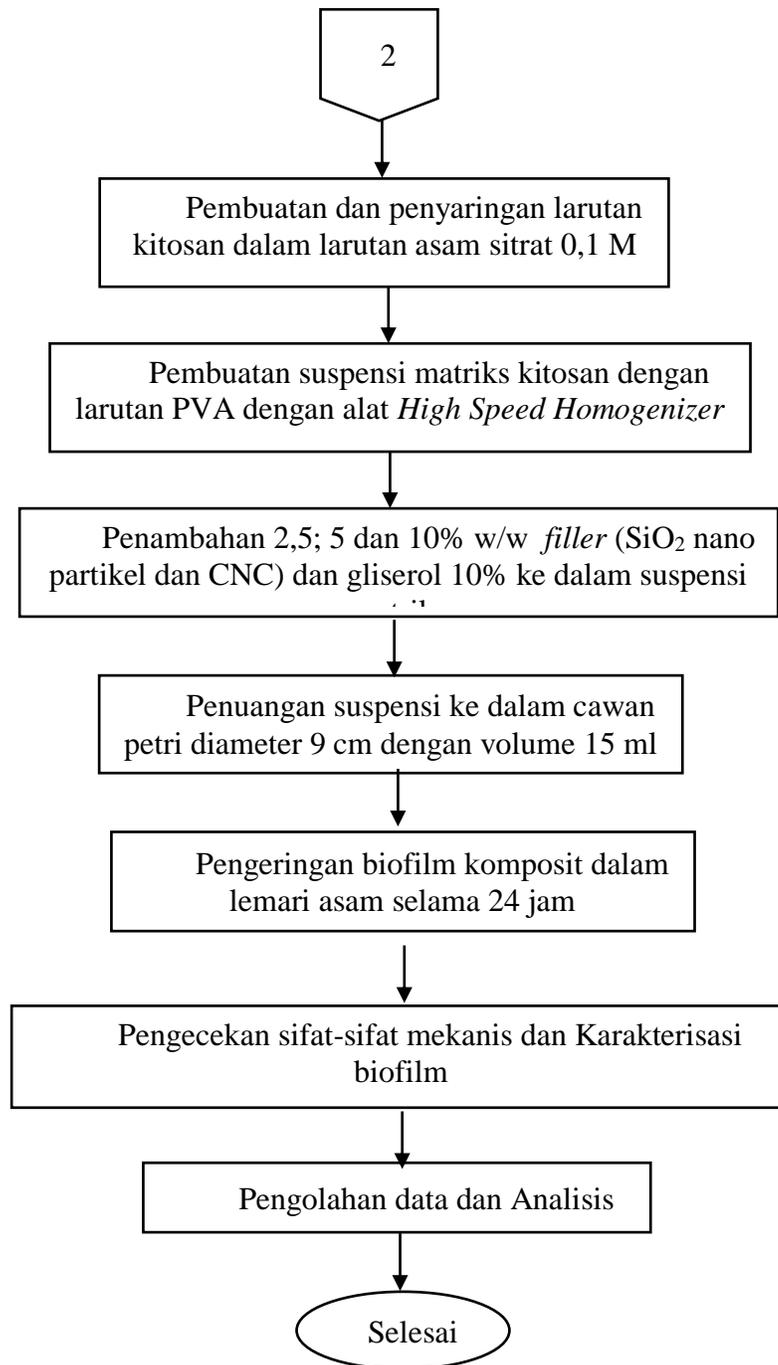


Diagram 3. 1 Alur Penelitian Secara Garis Besar

Penelitian ini diawali dengan mempersiapkan bahan dan alat yang digunakan untuk membuat komposit biofilm antara lain Kitosan dengan derajat deasetilasi (DD) 90,6 % berasal dari *shrimp shell* berukuran 100 mesh dari *supplier* lokal Monodon Lampung Selatan, Polivinil Alkohol (PVA) PA dari Sigma-Aldrich, Suspensi koloid SiO<sub>2</sub> Nanopartikel 10% dari Nitrakimia, CNC dengan kadar 100% dari Merck, Asam Sitrat PA dari Merck, Asam asetat 0,1 M dari Rofa Chemical, Gliserol kadar 85% PA dari Merck, Akuades. Sedangkan alat yang digunakan adalah *High Speed Homogenizer*, *magnetik stirer*, labu volumetrik, gelas beaker, gelas ukur, pemanas, termometer, cawan petri, desikator, oven, neraca analitik, pipet, dll. Untuk analisis struktur kimia, morfologi biofilm dan sifat termal dengan FTIR, SEM, dan DSC, sedangkan untuk analisis sifat mekanis dengan *Universal Testing Machine (UTM)*.

Percobaan dimulai dengan pembuatan larutan PVA, kemudian pembuatan larutan kitosan dalam asam sitrat dan asam asetat dengan konsentrasi 0,1 M. Variasi perbandingan massa PVA/Kitosan sebesar 0/100, 40/60, 60/40, 80/20, 100/0. Kemudian larutan kitosan disaring dengan menggunakan kertas tisu untuk menghilangkan pengotor atau partikel yang tidak terlarut. Selanjutnya dibuat suspensi matriks antara larutan kitosan dengan PVA dengan menggunakan alat HSH (*High Speed Homogenizer*) dengan cara meneteskan suspensi kitosan ke dalam larutan PVA perlahan lahan dengan kecepatan penetes 100 ml selama 30 menit (menggunakan *timer*), selanjutnya diaduk selama 1 jam kemudian untuk rasio kitosan/PVA : 40/60, 60/40 dan 80/20 diberi gliserol 10% w/w (dari massa kering kitosan dan PVA) lalu aduk selama 30 menit lagi, selanjutnya secara perlahan pengadukan dihentikan. Selanjutnya lakukan sonikasi dengan *ultrasonicator* selama 30 menit untuk berikutnya dituang ke dalam cawan petri berdiameter 9 cm dengan volume 15 ml untuk dilakukan pengeringan dalam lemari asam selama 24 jam. Biofilm komposit ini kemudian diujikan sifat-sifat mekanisnya untuk kemudian diketahui rasio terbaik dengan nilai kuat tarik (*Tensile Strength*) yang optimum.

Sintesis berikutnya dilakukan setelah mengetahui hasil TS yang optimum atau rasio terbaik. Pembuatan larutan PVA dan larutan kitosan sampai pada step pembuatan

matriks dilakukan seperti pada langkah sebelumnya. Selanjutnya dilakukan penambahan *filler* berupa suspensi SiO<sub>2</sub> nanopartikel dan CNC (yang sudah dilarutkan lebih dulu di dalam air) sebanyak 2,5; 5 dan 10% w/w (dari massa kering total kitosan dan PVA) lalu aduk kembali selama 30 menit, kemudian setelah itu ditambahkan gliserol 10% w/w (dari massa kering total kitosan dan PVA) lalu diaduk kembali selama 30 menit. Setelah itu sonikasi selama 30 menit untuk pendispersian lebih lanjut untuk kemudian dituang ke dalam cawan petri berdiameter 9 cm dengan volume penuangan sebanyak 15 ml. Suspensi biofilm komposit kemudian dimasukkan ke dalam ruang asamselama 24 jam dan setelah kering dikelupas untuk selanjutnya diuji kekuatan tarik (*Tensile Strength*) dan Fleksibilitas (*Elongation Break*) nya juga perubahan struktur kimia dan morfologi biofilm dengan FTIR dan SEM serta sifat termofisika nya dengan DSC (*Differential Scanning Calorimetry*). Untuk pengujian sifat-sifat mekanisnya dilakukan untuk semua rasio kitosan/PVA tanpa *filler* baik yang menggunakan pelarut asam asetat dan asam sitrat 0,1 M. Setelah diuji kekuatan tarik (TS) diambil rasio yang TS nya optimum dengan rasio kitosan yang lebih besar dari PVA nya. Rasio ini nantinya akan dipakai sebagai acuan dalam pembuatan komposit biofilm kitosan/PVA yang akan ditambahkan *filler* untuk dilakukan pengujian dengan SEM, FTIR dan DSC dan hasil nya akan dibandingkan dengan biofilm kitosan murni dan PVA murni. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Analis COE Fakultas Teknik Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Cilegon sedangkan pengecekan sifat-sifat mekanis dilakukan di LIPI Cibinong dan pengecekan dengan SEM, FTIR dan DSC dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang.

## **3.2 Prosedur Penelitian**

### **3.2.1 Prosedur Sintesis Biofilm Komposit Kitosan/PVA Tanpa *Filler***

Prosedur Penelitian dibawah untuk 1x *running* dengan masing-masing konsentrasi asam sitrat dan asam asetat 0,1 M. Prosedur dibawah dilakukan berulang

untuk variasi rasio PVA/Kitosan 0/100, 40/60, 60/40, 80/20, dan 100/0. (lebih jelas terdapat pada Tabel 3.1 dan 3.2 di Metode Pengumpulan dan Analisis Data).

**a) Tahapan Pembuatan larutan asam sitrat 0,1 M**

Timbang 2,5 gr asam sitrat ke dalam labu ukur 100 ml, tambahkan akuades sampai tanda batas, aduk hingga homogen (larutan berwarna jernih).

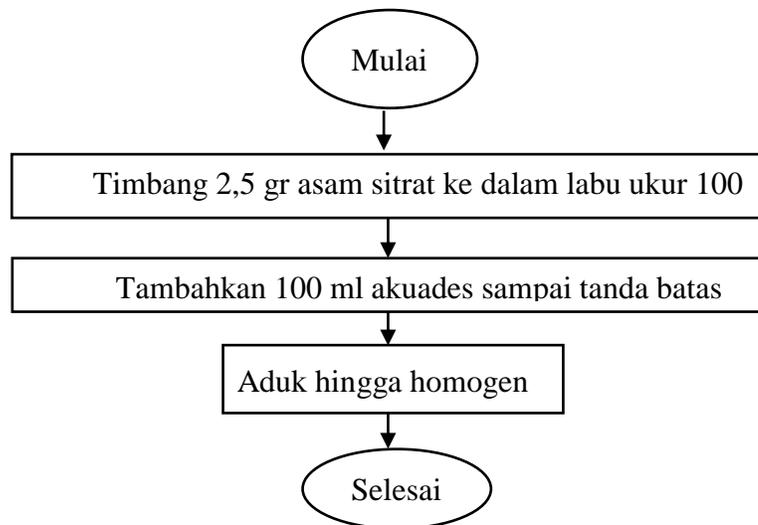
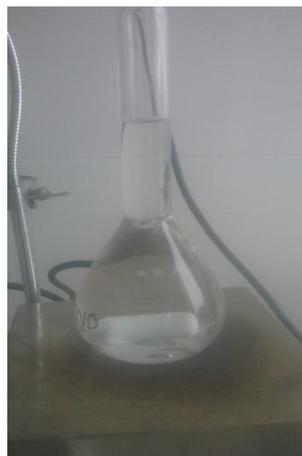


Diagram 3. 2 Alur Pembuatan Larutan Asam Sitrat



Gambar 3. 5 Pembuatan Larutan Asam Sitrat 0,1 M

**b) Tahapan Pembuatan Larutan PVA untuk rasio Kitosan/PVA : 60/40**

Mencampurkan 1,6 gr PVA dengan akuades dalam labu ukur 100 ml (hingga tanda batas) lalu diaduk selama 30 menit pada suhu 70-75 °C. Setelah larutan menjadi jernih, hentikan pengadukan dan diamkan pada suhu kamar.

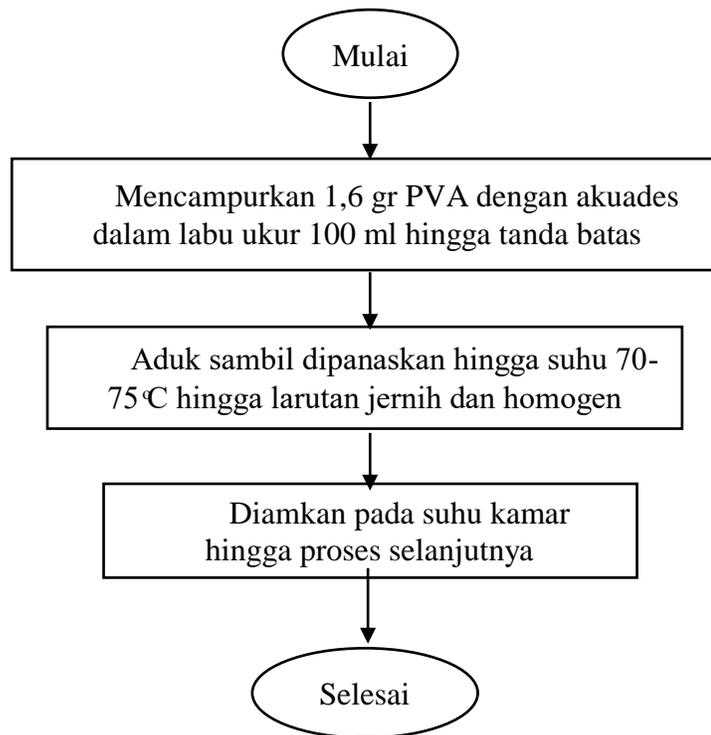
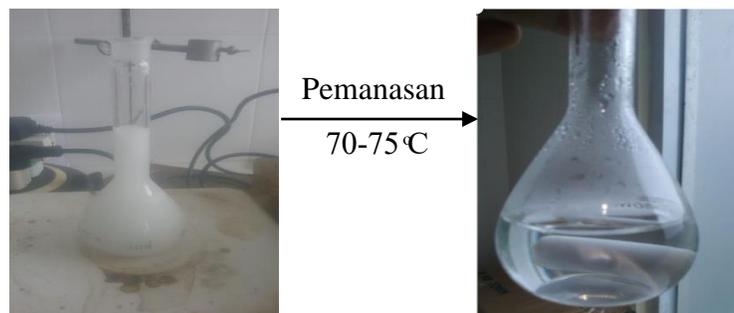


Diagram 3. 3 Alur Pembuatan Larutan PVA



Gambar 3. 6 Pembuatan Larutan PVA

**c) Tahapan Pembuatan larutan Kitosan untuk rasio Kitosan/PVA : 60/40**

Mencampurkan 2,4 gr kitosan dalam larutan asam sitrat/asam asetat 0,1 M (untuk asam asetat sudah tersedia larutan dengan konsentrasi 0,1 M dari Rofa Chemical) yang telah disiapkan di dalam labu ukur 100 ml kemudian diaduk 2 jam hingga homogen lalu disaring dengan kertas tisu untuk memisahkan pengotor atau material yang tidak terlarut.

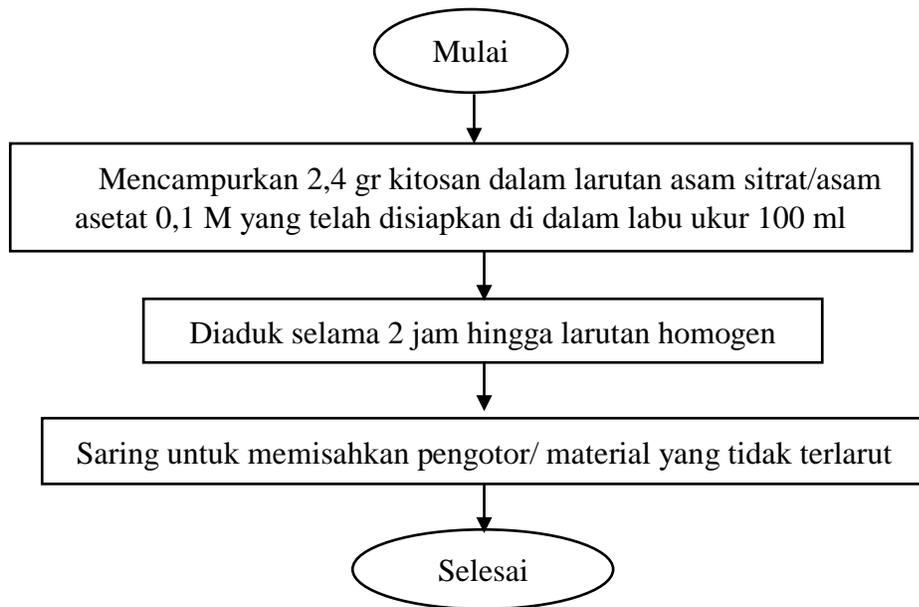
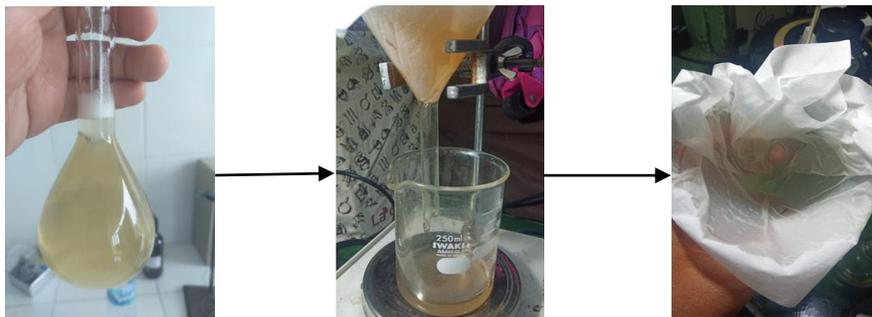


Diagram 3. 4 Alur Pembuatan Larutan Kitosan



Gambar 3. 7 Pelarutan kitosan dalam asam sitrat/asam asetat 0,1 M dilanjutkan proses penyaringan

**d) Tahapan Pembuatan Suspensi Matriks Kitosan/PVA : 60/40**

Di dalam gelas beker 500 ml, masukkan larutan PVA yang sudah disiapkan, aduk dengan *high speed homogenizer* pada kecepatan 5000-10000 rpm secara bertahap. Tuangkan larutan kitosan yang sudah disaring ke dalam labu pemisah, dan masukkan ke dalam larutan PVA secara perlahan sehingga seluruh larutan kitosan habis selama kurang lebih 30 menit, kemudian naikkan kecepatan homogenizer ke kecepatan 20.000 rpm dan aduk selama 1 jam. Lalu masukkan 10% gliserol dan aduk selama 30 menit lagi.

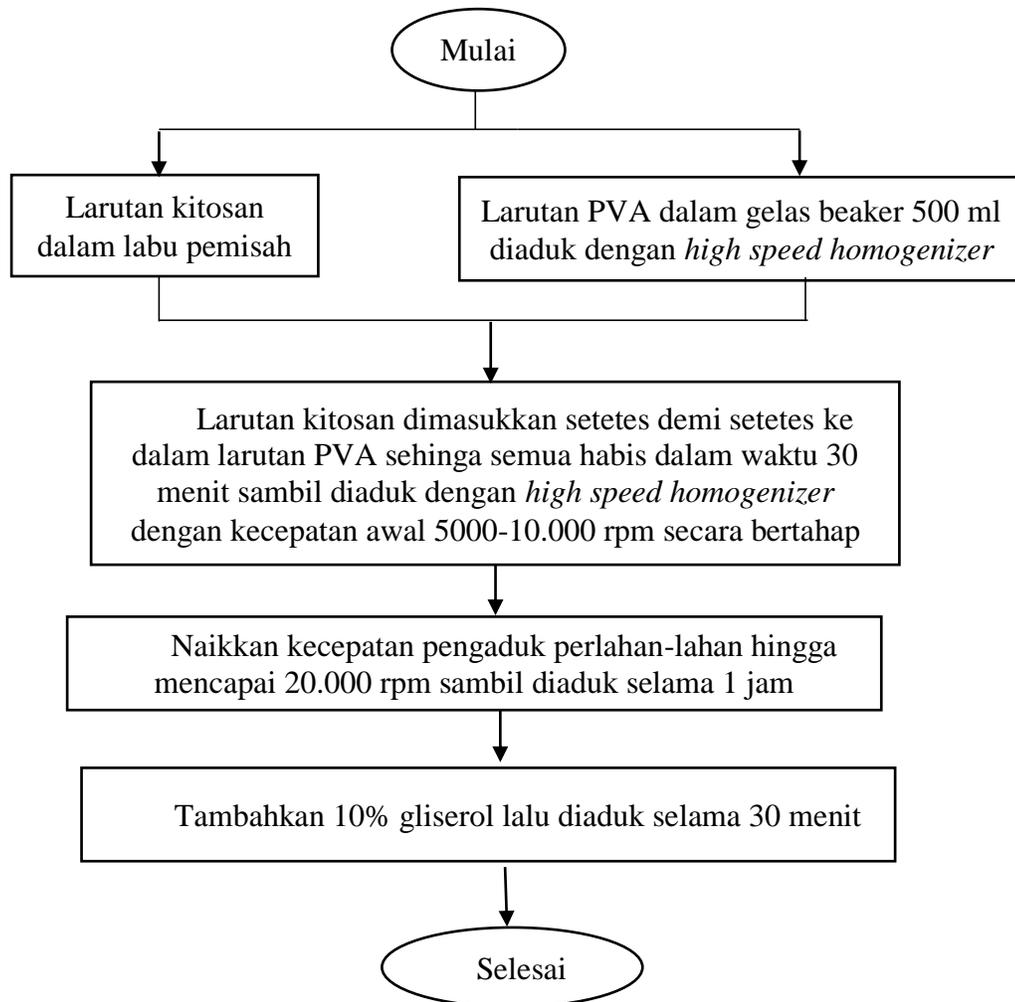


Diagram 3. 5 Alur pembuatan suspensi matriks Biofilm komposit Kitosan/PVA : 60/40

**e) Tahapan Penuangan dan Pengeringan Biofilm Komposit Kitosan/PVA**

Selanjutnya pada suspensi matriks kitosan/PVA turunkan kecepatan perlahan lahan hingga pengadukan berhenti. Kemudian sonikasi dengan ultrasonikator selama 30 menit untuk mendapatkan suspensi yang terdispersi lebih homogen dan tuang ke dalam cawan petri berdiameter 9 cm sebanyak 15 ml. Beri label dan masukkan ke dalam lemari asam dengan kondisi *blower* menyala. Lakukan pengeringan selama maksimal 24 jam, kemudian sesudah kering, lepas biofilm dan simpan dalam kertas yang telah diberi silika gel, tutup rapat untuk dilakukan pengecekan sifat-sifat mekanis di LIPI Cibinong untuk menentukan rasio Kitosan./PVA dengan kuat tarik yang optimum.

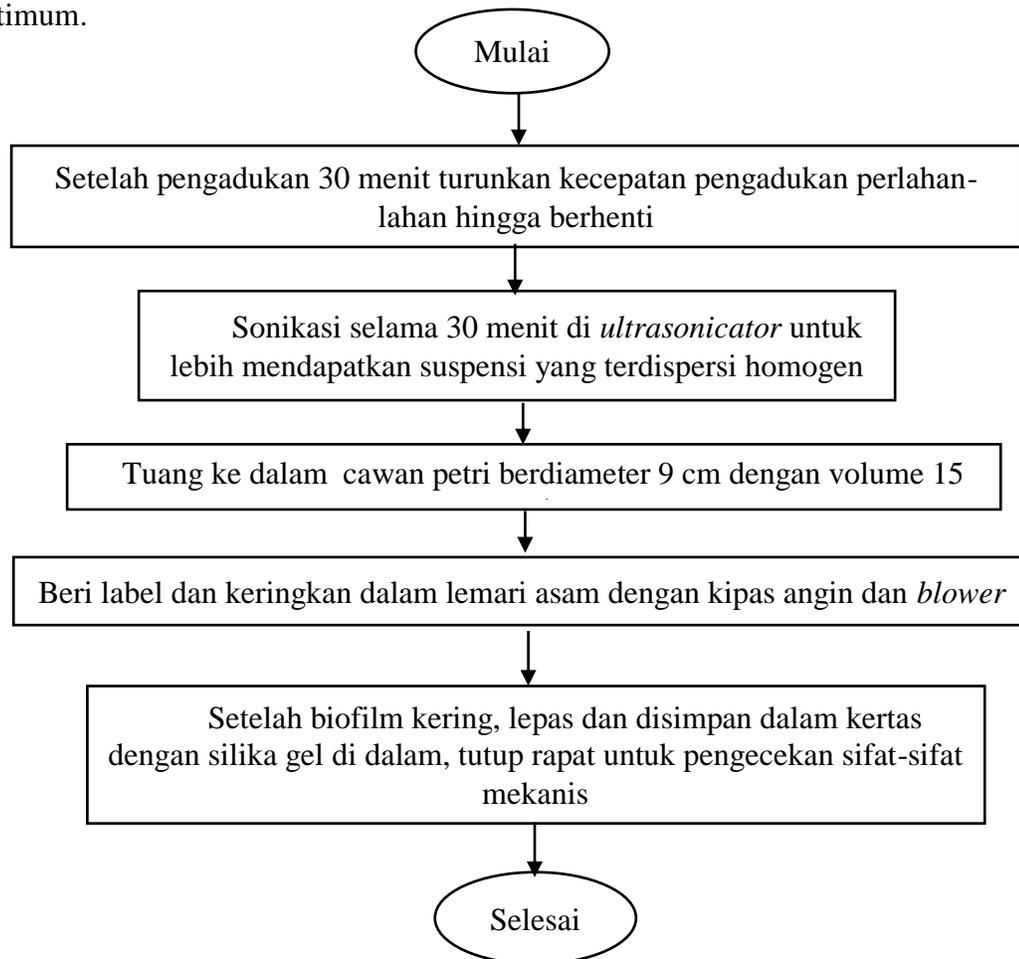
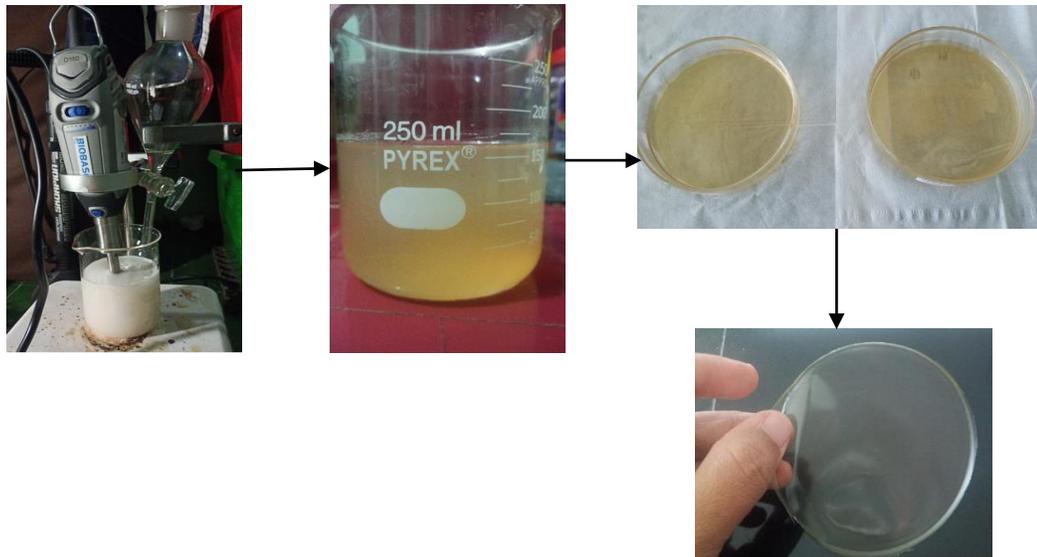


Diagram 3. 6 Tahapan Penuangan dan Pengeringan Biofilm Komposit Kitosan/PVA tanpa *Filler*



Gambar 3. 8 Tahapan Sintesis Suspensi Matriks, Penuangan dan Pengeringan Biofilm Komposit Kitosan/PVA tanpa *Filler*

### 3.2.2 Prosedur Sintesis Biofilm Komposit Kitosan/PVA Dengan *Filler*

Prosedur Penelitian dibawah untuk 1x *running* dengan konsentrasi asam sitrat 0,1 M dan rasio Kitosan/PVA dengan nilai kuat tarik yang optimum (didapat rasio kitosan/PVA : 80/20 dari hasil uji sifat mekanis dari LIPI Cibinong). Prosedur dibawah dilakukan berulang untuk variasi konsentrasi SiO<sub>2</sub> dan CNC sebesar 2,5; 5 dan 10% (lebih jelas terdapat pada Tabel 3.1 dan 3.2 di Metode Pengumpulan dan Analisis Data).

#### (1) Tahapan Pembuatan larutan asam sitrat 0,1 M

Timbang 2,5 gr asam sitrat ke dalam labu ukur 100 ml, tambahkan akuades sampai tanda batas, aduk hingga homogen.

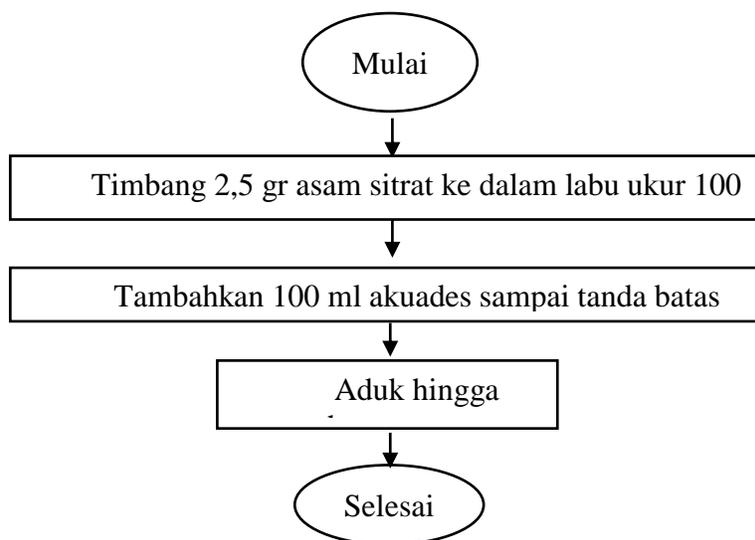
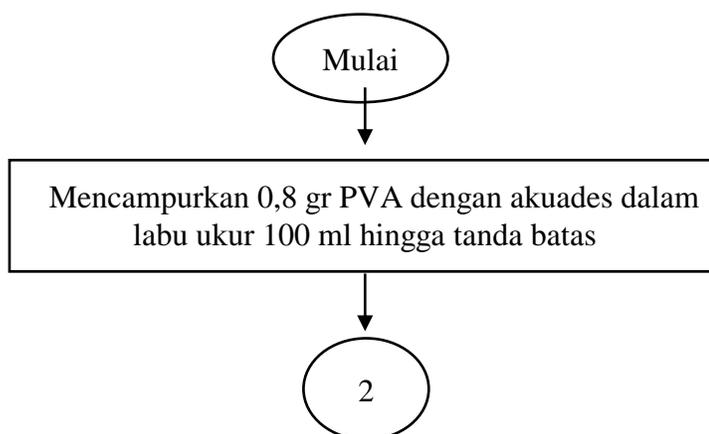


Diagram 3. 7 Alur Pembuatan Larutan Asam Sitrat untuk rasio Kitosan/PVA : 80/20

**(2) Tahapan Pembuatan Larutan PVA untuk rasio Kitosan/PVA : 80/20**

Mencampurkan 0,8 gr PVA dengan akuades dalam labu ukur 100 ml (hingga tanda batas) lalu diaduk selama 30 menit pada suhu 70-75°C. Setelah larutan menjadi jernih, hentikan pengadukan dan diamkan pada suhu kamar.



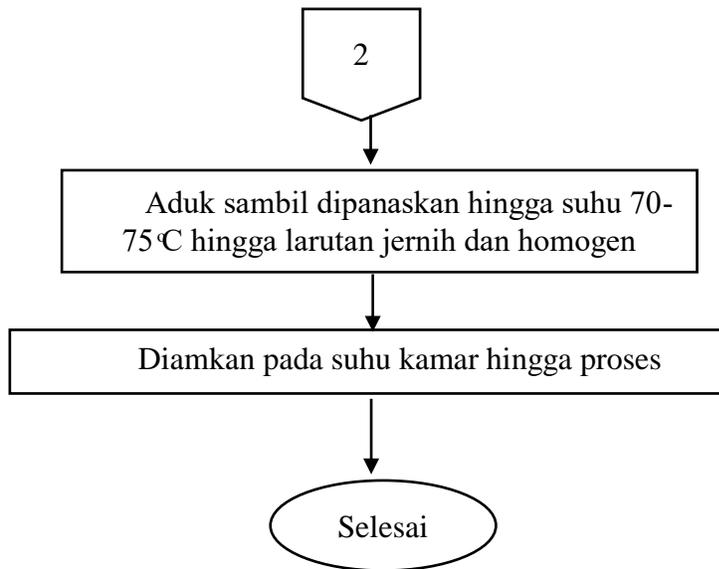


Diagram 3. 8 Alur Pembuatan Larutan PVA untuk rasio Kitosan/PVA : 80/20

**(3) Tahapan Sintesis larutan Kitosan untuk rasio Kitosan/PVA : 80/20**

Mencampurkan 3,2 gr kitosan dalam larutan asam sitrat 0,1 M yang telah disiapkan di dalam labu ukur 100 ml kemudian diaduk 2 jam hingga homogen lalu disaring dengan kertas tisu untuk memisahkan pengotor atau material yang tidak terlarut.

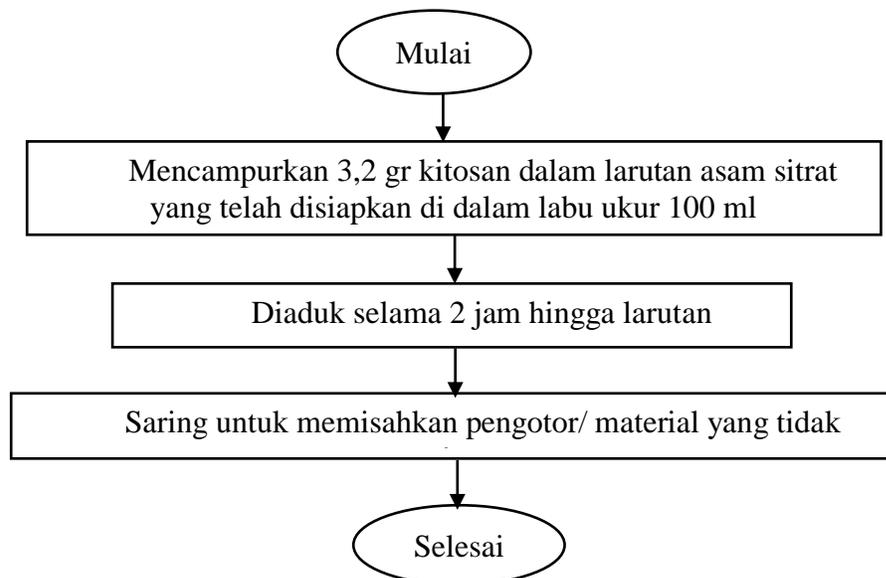


Diagram 3. 9 Alur Pembuatan Larutan Kitosan untuk rasio Kitosan/PVA : 80/20

#### (4) Tahapan Pembuatan Suspensi Matriks Kitosan/PVA untuk rasio 80/20

Di dalam gelas beker 500 ml, masukkan larutan PVA yang sudah disiapkan, aduk dengan *high speed homogenizer* pada kecepatan 5000-10000 rpm secara bertahap. Tuangkan larutan kitosan yang sudah disaring ke dalam labu pemisah, dan masukkan ke dalam larutan PVA secara perlahan sehingga seluruh larutan kitosan habis selama kurang lebih 30 menit, kemudian naikan kecepatan homogenizer ke kecepatan 20.000 rpm dan aduk selama 1 jam.

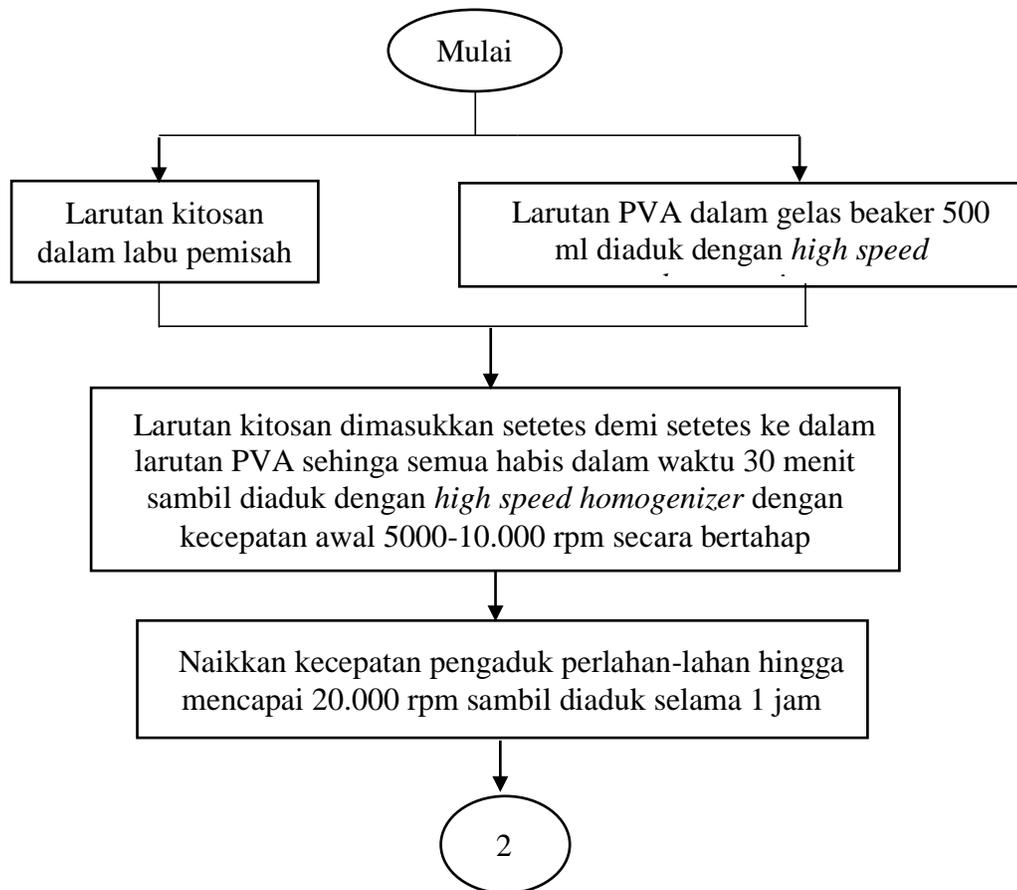
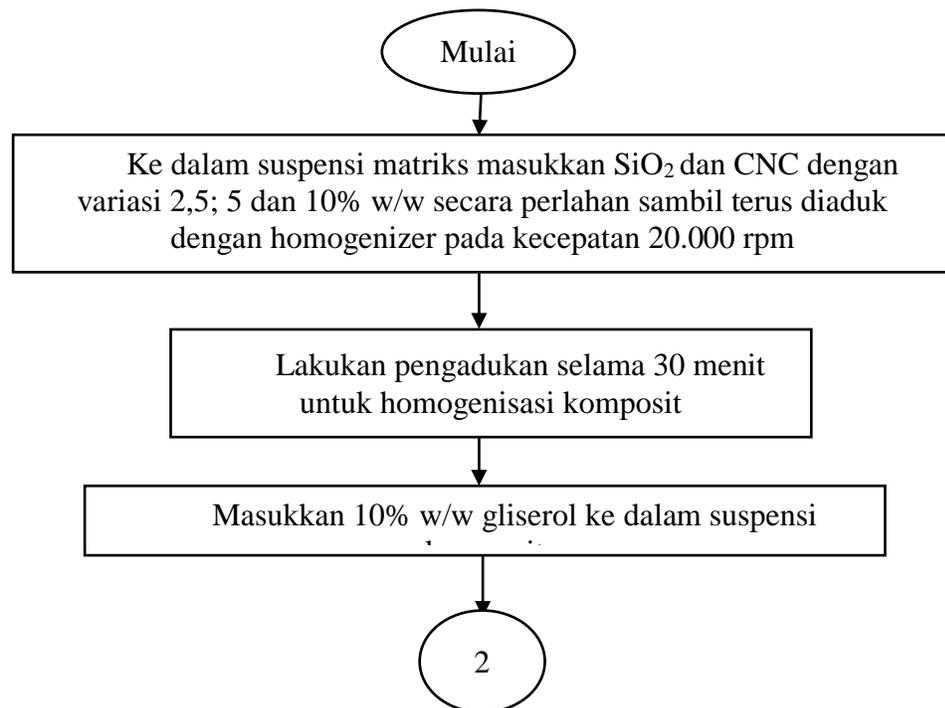


Diagram 3. 10 Alur pembuatan suspensi matriks Biofilm komposit Kitosan/PVA untuk rasio : 80/20

**(5) Tahapan Penambahan *Filler* dan *Plasticizer* pada Suspensi Matriks Biofilm Komposit Kitosan/PVA untuk rasio : 80/20**

Kedalam suspensi matriks ditambahkan suspensi CNC dan SiO<sub>2</sub> nanopartikel dalam variasi konsentrasi 2,5; 5 dan 10% w/w (dari total massa kering kitosan dan PVA) secara perlahan supaya tidak terjadi penggumpalan sambil terus diaduk dengan *homogenizer* pada kecepatan 20.000 rpm, aduk selama 30 menit. Selanjutnya tambahkan 10% gliserol w/w (dari total massa kering kitosan dan PVA) ke dalamnya lalu aduk 1 jam lagi. Selanjutnya mulai turunkan perlahan kecepatan *homogenizer* sampai berhenti dan lakukan sonikasi dengan ultrasonikator selama 30 menit. Suspensi biofilm komposit kemudian dituang ke dalam cawan petri berdiameter 9 cm sebanyak 15 ml. Beri label dan masukkan ke dalam lemari asam dengan kondisi *blower* menyala. Lakukan pengeringan selama maksimal 24 jam, kemudian sesudah kering, lepas biofilm dan simpan dalam kertas yang telah diberi silika gel, tutup rapat untuk dilakukan pengecekan sifat-sifat mekanis di LIPI Cibinong dan karakterisasi dengan SEM, FTIR dan DSC di UPT Laboratorium Terpadu Undip.



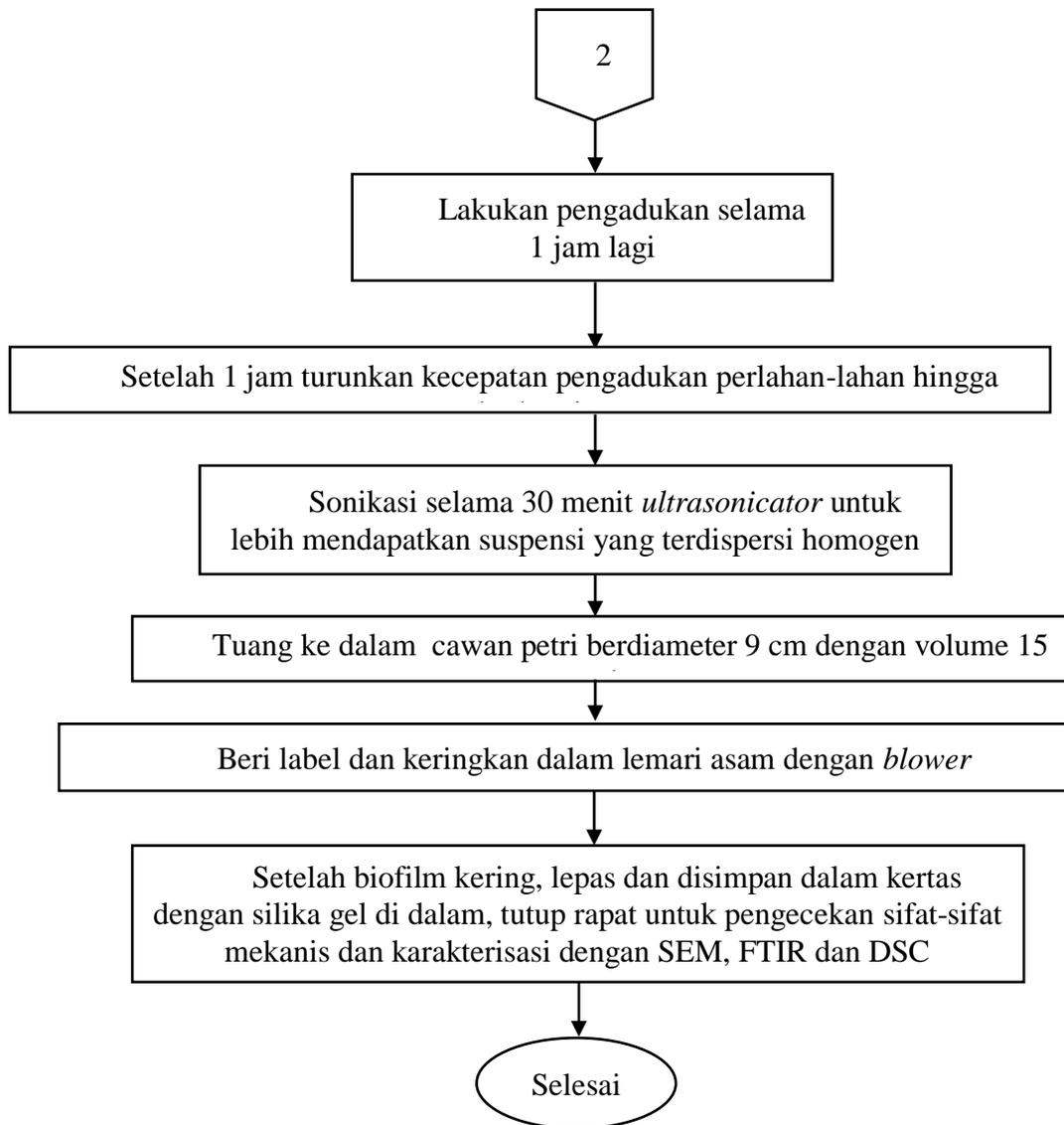


Diagram 3. 11 Penambahan *Filler* dan *Plasticizer* hingga penuangan dan pengeringan pada Suspensi Matriks Biofilm Komposit Kitosan/PVA untuk rasio : 80/20

### 3.3 Alat dan Bahan

#### 3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

1. Gelas Beaker 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml dan 500 ml

2. Gelas ukur 10 ml, 50 ml
3. Labu ukur 50 ml, 100 ml
4. Pipet ukur 5 ml dan 10 ml
5. Corong pisah
6. Pipet tetes
7. Alat penyaring
8. Botol semprot
9. Magnetik stirer
10. Heater
11. *High Speed Homogenizer*
12. Cawan petri
13. Spatula
14. *Ultrasonic waterbath*
15. Neraca analitik
16. Termometer
17. Lemari asam
18. Kipas angin kecil

### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

1. Bubuk Kitosan dengan DD 90,6 % berasal dari *shrimp shell* berukuran 100 mesh dari *supplier* lokal Monodon Lampung Selatan
2. Polivinil Alkohol (PVA) dengan 99,6 mol % hidrolisis dari Sigma Aldrich
3. Suspensi Koloid SiO<sub>2</sub> Nanopartikel (kandungan 10% ) dari Nitrakimia
4. CNC kadar 100% dari Merck
5. Gliserol kadar 85% dari Merck
6. Asam sitrat monohidrat dari Merck
7. Larutan asam asetat 0,1 M dari Rofa Chemical
8. Akuades

### 3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

1. Variabel berubah
  - a. Perbandingan massa PVA/Kitosan : (0/100); (40/60); (60/40); (80/20); (100/0)
  - b. Persen Penambahan SiO<sub>2</sub> nanopartikel dan CNC (0; 2,5; 5; 10 % w/w dari total massa kering kitosan dan PVA)
  
2. Variabel tetap
  - a. Persen Penambahan gliserol sebesar 10 % w/w dari massa kering kitosan dan PVA)
  - b. Penambahan asam sitrat/asam asetat sebesar 0,1 M
  - c. Volume penuangan larutan komposit ke dalam cawan petri diameter 9 cm sebanyak 15 ml
  - d. Suhu yang digunakan selama proses pelarutan PVA adalah 70°C dan proses mulai dari pembuatan larutan kitosan hingga suspensi komposit kitosan sebesar 50-60°C
  - e. Waktu pengadukan antara 15 menit pada pelarutan asam sitrat, 30 menit pada pelarutan PVA, 1 jam pada pembuatan larutan kitosan, suspensi kitosan hingga komposit kitosan
  - f. Kecepatan Pengadukan yang digunakan mulai dari 5000 rpm hingga 20.000 rpm

### 3.5 Metode Pengumpulan dan Analisis Data

Sample komposit yang telah dibuat dicek Kekuatan tarik atau *Tensile Strength* (TS) dan Fleksibilitas/*Elongation Break* (EB) dengan menggunakan alat UTM di LIPI Cibinong dengan standart uji sesuai ASTM D882-18. Juga dilihat perubahan struktur kimia, morfologi dan sifat termal biofilmnya dengan menggunakan FTIR, SEM dan DSC di UPT Lab Terpadu UNDIP dari data sifat mekanik yang terbaik. Dari data tersebut dapat dilihat perubahan dan perbandingan sifat mekanis dan karakterisasi komposit biofilm Kitosan/PVA beberapa variasi konsentrasi *filler* yaitu SiO<sub>2</sub>

nanopartikel dan CNC. Tabel Pembuatan Komposit Biofilm dalam penelitian disajikan pada Tabel 3.1 dan 3.2 di bawah ini.

Rasio CH/PVA	Glycerol (%)	Tensile Strength (MPa)		Elongation Break (%)		Modulus Elastis ( $10^3$ MPa)	
		As. Sitrat	As. Asetat	As. Sitrat	As. Asetat	As. Sitrat	As. Asetat
0/100	0						
40/60	10						
60/40	10						
80/20	10						
100/0	0						

Tabel 3. 1 Matriks Penelitian Pembuatan Komposit Biofilm Kitosan/PVA Tanpa *Filler*

Rasio CH/PVA	SiO <sub>2</sub> (%)	CNC (%)	Glycerol(%)	As Sitrat (M)	Tensile Strength (MPa)	Elongation Break (%)	Modulus Elastis ( $10^3$ MPa)
80/20	2,5		10	0,1			
80/20	5		10	0,1			
80/20	10		10	0,1			
80/20		2,5	10	0,1			
80/20		5	10	0,1			
80/20		10	10	0,1			

Tabel 3. 2 Matriks Penelitian Pembuatan Komposit Biofilm Kitosan/PVA dengan *Filler*

### 3.5.1. Analisis Gugus Fungsi dengan FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

Analisis gugus fungsi dengan FTIR bertujuan untuk mengetahui proses yang terjadi pada pencampuran/blending bahan bahan komposit film baik secara fisik atau kimia, sehingga sampel pada tiap proses pembuatan komposit film dianalisis dengan FTIR. Sampel ditempatkan ke dalam *set holder*, kemudian dicari spektrum yang

sesuai. Hasilnya akan didapatkan difraktogram hubungan antara bilangan gelombang dengan intensitas. Spektrum FTIR direkam menggunakan spektrometer pada suhu ruangan

### **3.5.2. Analisis Morfologi dengan SEM (*Scanning Electron Microscope*).**

Analisis morfologi terhadap penampang atas film dilakukan dengan menggunakan SEM JEOL JSM-6360LA. Sampel biobiofilm ditempelkan pada *set holder* dengan perekat ganda, kemudian dilapisi dengan logam emas dalam keadaan vakum. Setelah itu, sampel dimasukkan pada tempatnya di dalam SEM. Kemudian gambar topografi diamati dan dilakukan perbesaran 3000 X, 5000 X, 10.000 X dan 30.000 X.

### **3.5.3. Analisis Termal dengan Menggunakan DSC (*Differential Scanning Calorimetry*)**

Uji termal dilakukan dengan alat (DSC). Sampel ditimbang dan dipanaskan dari suhu 35°C sampai 550°C dengan laju pemanasan 10°C per menit dimana pada suhu 550°C ditahan selama 5 menit, kemudian suhu diturunkan hingga 20°C dengan laju penurunan panas 10°C per menit dan pada suhu 20°C ditahan selama 3 menit, selanjutnya suhu dinaikkan kembali hingga 550°C. Analisis dilakukan dengan menaikkan suhu sampel secara bertahap dan menentukan perubahan berat sampel terhadap suhu. Suhu dalam metode pengujian mencapai 550°C. Perubahan berat akibat proses pemanasan dapat ditentukan langsung dari termogram yang diperoleh. Setelah data diperoleh dapat diketahui nilai titik leleh dari masing-masing sampel.

## **3.6 Jadwal Pelaksanaan Penelitian**

Berikut ini adalah rencana Penelitian dan Penulisan Tesis

