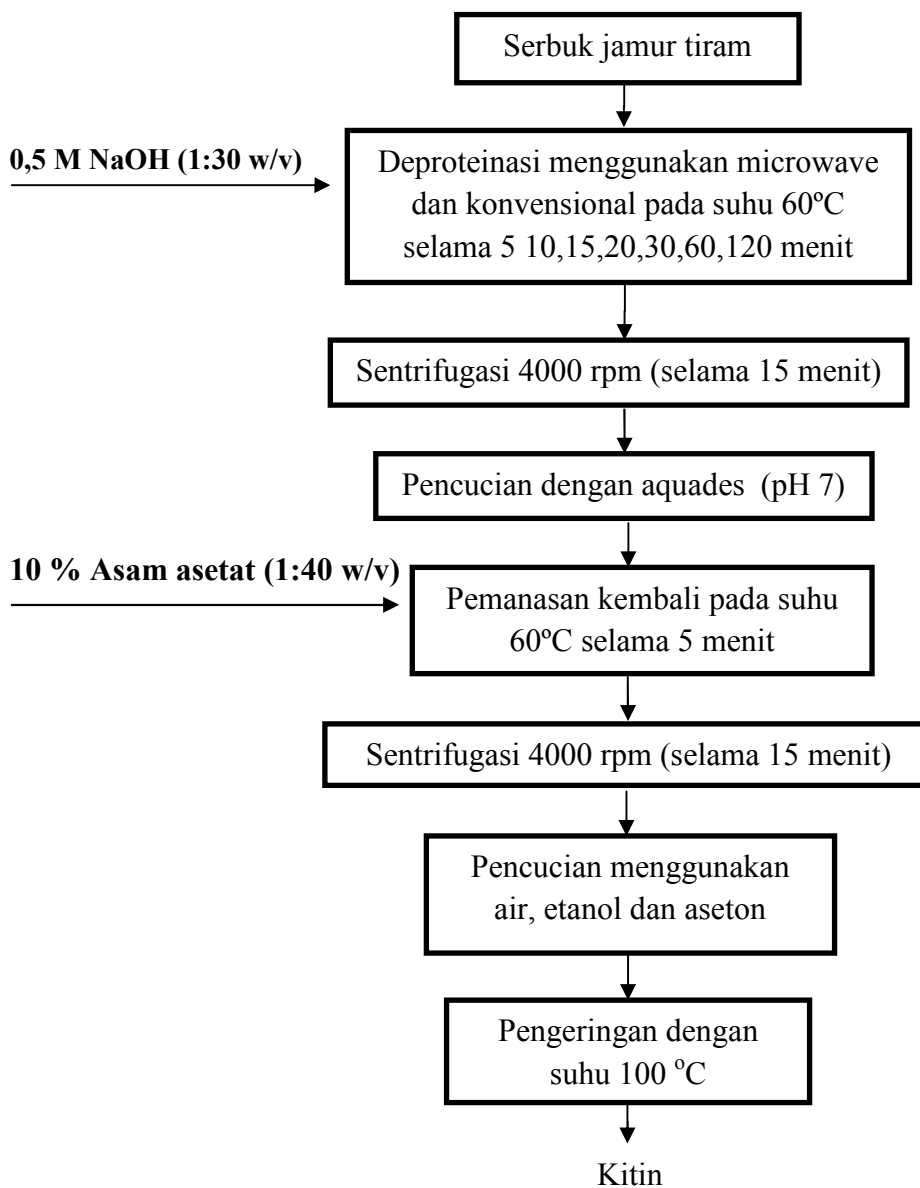


BAB III

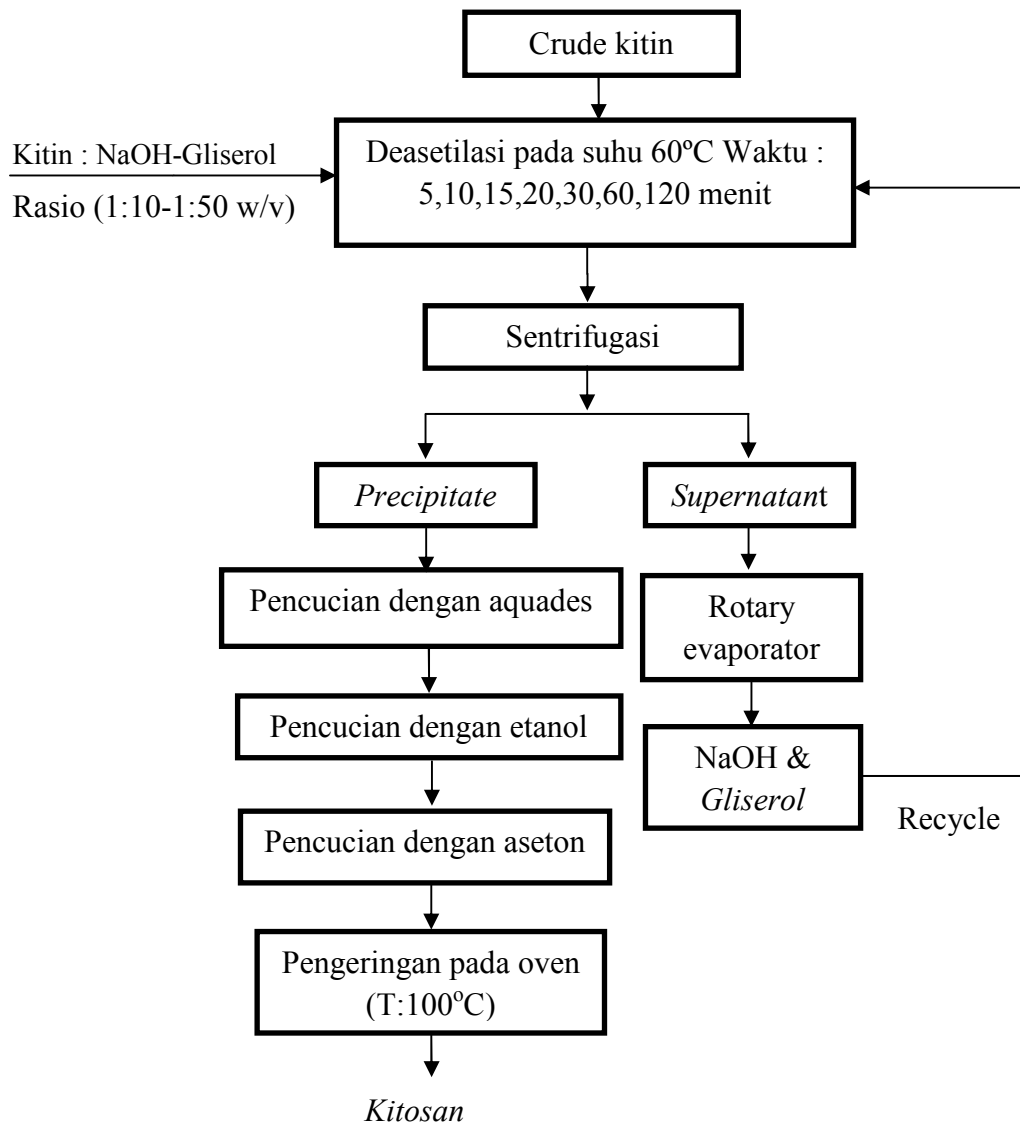
METODE PENELITIAN

3.1 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini meliputi proses deproteinasi kitin (gambar 3.1) dan deasetilasi kitosan (gambar 3.2) dengan bahan baku jamur tiram putih (*Pleurotus Ostreatus*).



Gambar 3.1 Diagram Alir Deproteinasi Kitin



Gambar 3.2 Diagram Alir Deasetilasi Kitosan menggunakan *Green Solvent*

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Proses Deproteinasi

Dalam tahap ini proses deproteinasi kitin dilakukan dengan cara menimbang 15 gr serbuk jamur tiram kering dalam cawan lalu mereaksikannya dengan NaOH 0,5 M pada rasio kitin terhadap pelarut 1:30 w/v. Proses deproteinasi ini menggunakan bantuan *Microwave Assisted Extraction (MAE)* dan konvensional pada suhu 60°C, yang di variasikan lama waktu reaksi (5,

10, 15, 20, 30, 60, dan 120 menit). Selanjutnya hasil deproteinasi kitin disaring menggunakan kertas saring. Untuk memudahkan pemisahan antara padatan-cairan dapat digunakan sentrifugasi selama 15 menit. Lalu tahap selanjutnya yaitu melakukan pencucian dengan air. Ekstraksi kitin dilanjutkan dengan penambahan 10% asam asetat (1:40) menggunakan microwave dan konvensional. Selanjutnya hasil deproteinasi tersebut dilakukan penyaringan dan pencucian kembali menggunakan aquades, etanol dan aseton untuk memperoleh padatan kitin yang kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 1 jam 30 menit.

3.2.2 Proses Deasetilasi

Kitin yang telah diperoleh dari proses deproteinasi, kemudian diproses lebih lanjut untuk merubahnya menjadi kitosan melalui tahap pemutusan gugus asetil. Tahapan deasetilasi berlangsung dengan cara mereaksikan kitin dalam larutan NaOH-*gliserol* yang divariasikan rasio kitin dan pelarutnya 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50. Perbandingan komposisi antara kitin dan NaOH adalah 70% : 30%, dalam proses deasetilasi ini NaOH berfungsi sebagai katalis yang mempercepat reaksi dan menghambat polimerisasi gliserol pada suhu tinggi. Selanjutnya, campuran lalu direaksikan dengan bantuan microwave dan secara konvensional melalui pemanasan dalam rentang waktu 5, 10, 15, 20, 30, 60, dan 120 menit

Endapan hasil reaksi kemudian dipisahkan dengan sentrifugasi (4000 rpm selama 15 menit) sehingga diperoleh *precipitate* dan cairan *supernatant*. Langkah berikutnya yaitu mencuci endapan dengan aquades yang dilanjutkan pencucian oleh etanol dan aseton. Kitosan yang diperoleh dikeringkan dengan cara dipanaskan pada oven (T: 100°C) selama 1 jam 30 menit dan dikarakterisasi dengan titrasi asam-basa untuk memperoleh nilai %DD, analisa *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan analisa *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR). Adapun untuk cairan *supernatant* diproses kembali sehingga Gliserol dan NaOH sisa reaksi dapat dikembalikan pada tahap awal untuk kebutuhan ekstraksi selanjutnya.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Dalam penelitian ini alat-alat yang digunakan diantaranya :

- a. Ayakan 30 mesh
- b. Batang Pengaduk
- c. Buret
- d. Corong
- e. Erlenmeyer
- f. Gelas kimia
- g. Hot plate
- h. Kertas saring
- i. kondensor
- j. Labu reaksi
- k. *Microwave*
- l. Neraca digita
- m. Stirrer
- n. Termometer

3.3.2 Bahan

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Asam asetat 10%
- b. Aseton 70%
- c. Aquades
- d. Etanol 70%
- e. Gliserol
- f. HCl 0,1 M
- g. Jamur tiram putih
- h. NaOH 0,5 M dan 0,25 M
- i. Indikator PP

3.4 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini meliputi variabel tetap dan variabel berubah. Variabel tetap dalam penelitian ini yaitu massa kitin sebanyak 8 gram, konsentrasi NaOH 0,5 M dan asam asetat 10%. Sedangkan variabel berubahnya meliputi lama waktu reaksi (5, 10, 15, 20, 30, 60, dan 120 menit), rasio kitin terhadap pelarut gliserol-NaOH (1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50), suhu reaksi (50, 60, dan 70°C) dan metode ekstraksi yang digunakan (*Microwave Assisted Extraction* (MAE) dan konvensional).

3.5 Metode Pengumpulan dan Analisis Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini diperoleh dari penerapan variasi yang dilakukan dan membandingkan hasilnya dengan data literatur yang ada. Kemudian, untuk analisisnya meliputi analisa derajat deasetilasi kitosan, analisa spektrofotometri FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*), dan analisa SEM (*Scanning Electron Microscope*).