

BAB III

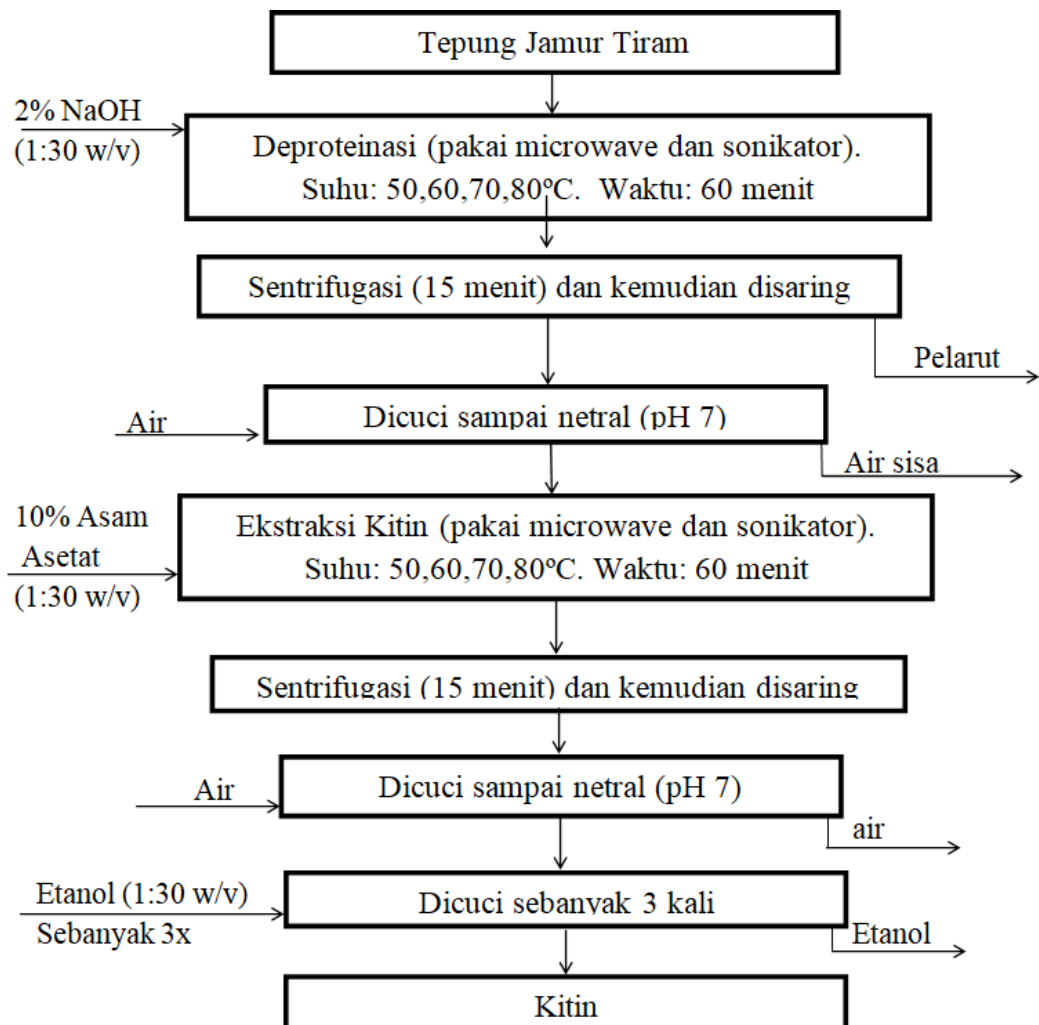
METODE PERCOBAAN

3.1 Tahapan Penelitian

Berikut merupakan tahapan yang terdapat pada penelitian ini, sebagai berikut

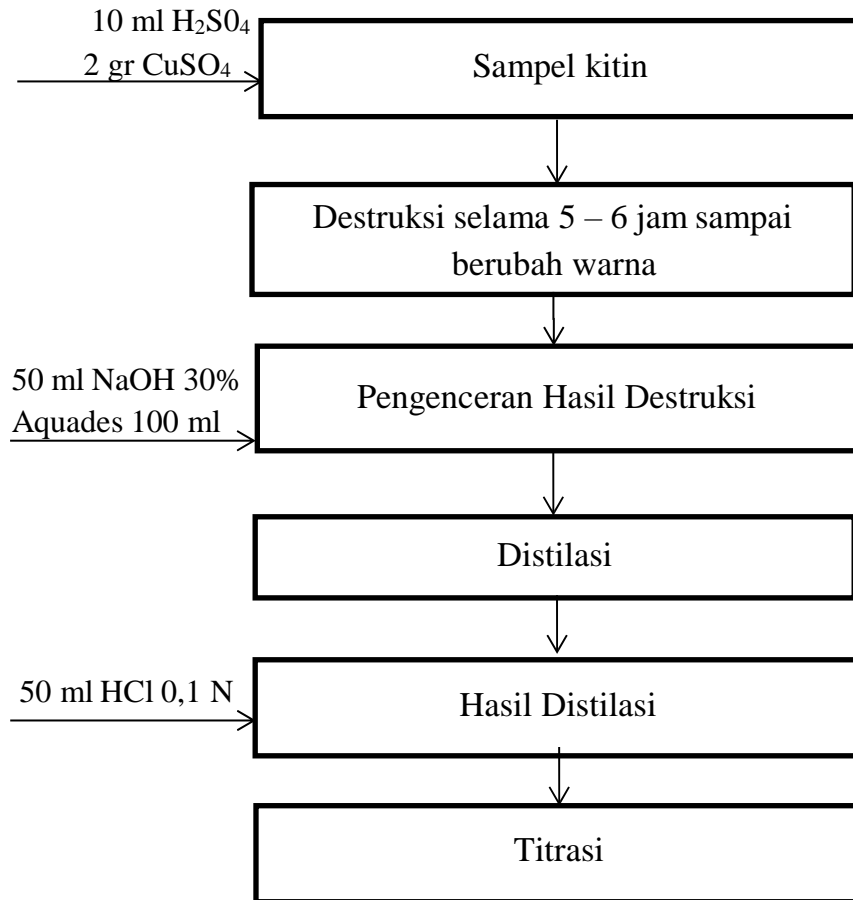
3.1.1 Tahap Deproteinasi dan Demineralisasi

Berikut merupakan diagram alir yang dimodifikasi dari sebuah jurnal yaitu *ISOLASI KITOSAN DARI TUDUNG JAMUR MERANG (Vollvariella volvaceae)*.(Indo. J. Chem. Res., 2018)



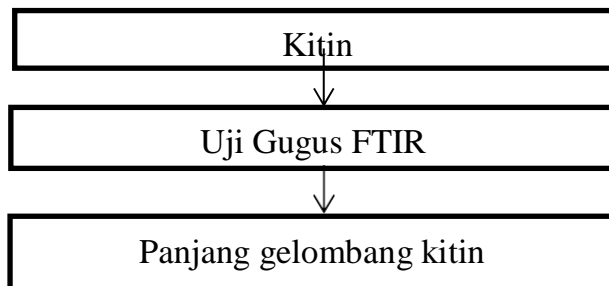
Gambar 3.1 Diagram Alir Tahap Deproteinasi dan Demineralisasi

3.1.2 Tahap Uji Kadar Nitrogen Total



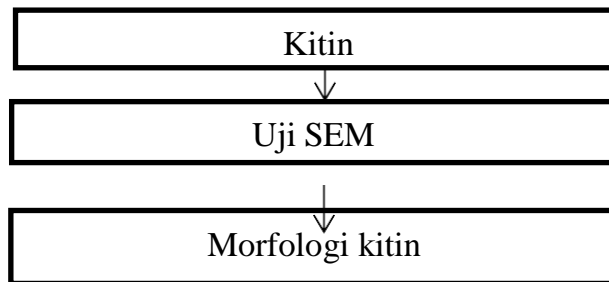
Gambar 3.2 Diagram Alir Uji Kadar Nitrogen Total

3.1.3 Tahap Uji FTIR



Gambar 3.3 Diagram Alir Uji FTIR

3.1.1 Tahap Uji SEM



Gambar 3.4 Diagram Alir Uji SEM

3.2 Prosedur Penelitian

Penelitian ini melalui beberapa tahapan penelitian. Adapun tahapannya ialah sebagai berikut :

3.2.1 Preparasi Bahan

Proses ini menggunakan jamur tiram putih bentuk serbuk dengan berat 6 gr tiap variasinya. Larutan NaOH 2% dan 3,5% (1:30 w/v), asam asetat 10% (1:30 w/v), dan etanol (1:30 w/v) juga dipersiapkan untuk proses ekstraksi kitin. Sedangkan untuk uji kadar Kitin dipersiapkan H₂SO₄, CuSO₄, HCl 0,1 N, dan NaOH 30%

3.2.2 Tahap Ekstraksi Kitin

Ekstraksi kitin memiliki beberapa tahapan. Untuk tahap pembuatan kitin diawali dengan proses deproteinasi yaitu proses penghilangan protein dari jamur tiram putih, yakni dengan mereaksikan serbuk jamur tiram dengan penambahan NaOH 2% dan 3,5% (1:30 w/v) dibantu gelombang microwave dan ultrasonikator untuk mereaksikannya dengan variasi suhu 50°C, 60°C, 70°C dan 80°C selamawaktu 60 menit. Larutan disaring untuk diambil bagian endapannya,lalu diberi pencucian endapan dengan aquadest selama proses penyaringan.

Tahap selanjutnya adalah tahap demineraliasi, yaitu menghilangkan mineral yang ada pada kitin. Prosesnya adalah endapan direaksikan dengan CH₃COOH 10%(w/v) dengan variasi suhu yang sama selama 60 menit dengan microwave dan ultrasonikator, kemudian larutan disaring untuk diambil endapannya dan diberi pencucian endapan dengan aquadest selama proses penyaringan dan diberi penambahan etanol (1:30 w/v), lalu saring

kembali. Terakhir, melakukan pengeringan sampel dengan oven temperatur 60°C selama waktu 2 jam dan didapatkan hasil berupa kitin.

3.2.3 Uji Kadar Nitrogen Total

Untuk tahap uji kadar nitrogen total yaitu menggunakan sampel kitin yang didapat dimasukkan ke dalam labu Kjeldhal dengan penambahan 10 mL H₂SO₄ dan 2 gr CuSO₄ untuk didestruksi selama 5-6 jam. Selanjutnya dilakukan pengeceran dengan penambahan 50 mL NaOH 30% dan 100 mL aquades. Larutan encer tadi selanjutnya didistilasi selama 3-5 jam. Hasil distilat ditambah dengan 50 mL HCl 0,1 N untuk dititrasi secara duplo dengan indikator PP untuk mendapatkan volume titrasi dalam menentukan kadar nitrogentotal.

3.2.4 Uji FTIR

Pengujian dengan FTIR menggunakan salah satu sampel kitin untuk melihat panjang gelombang dari sampel, sehingga dapat diketahui kandungan senyawanya berdasarkan literatur yang ada.

3.2.5 Uji SEM

Pengujian dengan SEM dilakukan pada sampel kitin, bertujuan untuk mengetahui struktur morfologi dan topografi dari sampel yang diujikan melalui pengamatan dengan alat ini menggunakan perbesaran hingga 1.000.000 kali. Dalam penelitian ini menggunakan perbesaran 2500 kali, 5000 kali dan 10.000 kali

3.3 Alat Dan Bahan

3.3.1 Alat

Pada penelitian ini, terdapat alat –alat yang digunakan sebagai berikut :

1. Botol plastik
2. Buret
3. Cawan Porselen
4. Corong
5. Erlemeyer

6. Gelas Beker
7. Gelas Ukur
8. Hot Plate (Distilasi)
9. Kondensor (Distilasi)
10. Labu Ukur
11. Labu Kjedhal
12. Magnetic Stirer
13. Microwave
14. Pipet Tetes
15. Spektrofotometer FTIR.
16. Statif
17. Ultrasonikator

3.3.2 Bahan

Pada penelitian ini, terdapat bahan – bahan yang digunakan sebagai berikut

18. Asam asetat 10%
19. Almunium foil
20. Aquades
21. Bubuk jarum tiram
22. CuSO_4
23. H_2SO_4
24. HCl 0,1 N
25. Indikator PP
26. Kertas saring
10. NaOH 2%, 3.5% dan 30%
11. Plastik sampel

3.4 Variabel Penelitian

Penelitian ini terdapat variabel tetap dan variabel berubah. Sebagai variabel tetap yakni massa jamur tiram dan konsentrasi pelarut, sedangkan untuk variabel berubah yaitu variasi pada penggunaan suhu yaitu 50°C , 60°C , 70°C dan 80°C serta digunakan variasi waktu 60 menit.

3.5 Metode Pengumpulan dan Analisa Data

Penelitian ini, mengumpulkan petunjuk yang diperoleh dari hasil penerapan variasi dan literature yang ada. Adapun analisisnya meliputi analisa kadar kitin melalui destruksi dan destilasi, dan mengetahui adanya kadar kitin yang diperoleh dengan Spektrofotometri FTIR dan SEM.

3.5.1 Analisa kadar kitin

Tahap pengumpulan data dilakukan dan dihitung kandungan kadar kitinnya menggunakan metode kandungan kadar nitrogen. Data diperoleh dengan menimbang sampel kering asli, pemecahan dan penyulingan sampel, dilanjutkan dengan titrasi dengan duplo. Kandungan Protein bisa dihitung dengan menggunakan cara berikut ini

- Kadar Nitrogen (N) total %

$$KN = \frac{(V_b - V_s)}{\text{berat sampel (mg)}} \times N_{NaOH} \times 14,008 \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

$$\text{Kadar Kitin} = (\text{Kadar N total}) \times Fk. \dots \dots \dots (2)$$

Keterangan:

Vs = Volume titrasi Sampel (ml)

Vb = Volume tirtasi blangko (ml)

N = Normalitas NaOH baku

Fk = Faktor Konversi : 14,5

3.5.2 Analisa FTIR

Adanya analisa yang dilakukan dalam penelitian ini, yakni analisa FTIR dengan Spektrofotometri FTIR untuk mengetahui gugus fungsi pada sampel sebagai penanda adanya senyawa kitin dari hasil penelitian yang telah dilakukan.

3.5.3 Analisa SEM

Sebagai pembuktian bahwa sampel yang diperoleh dalam penelitian ini sesuai bentuk morfologi dari sampel bersenyawa kitin, dilakukan analisa bentuk morfologi sampel dengan SEM.