

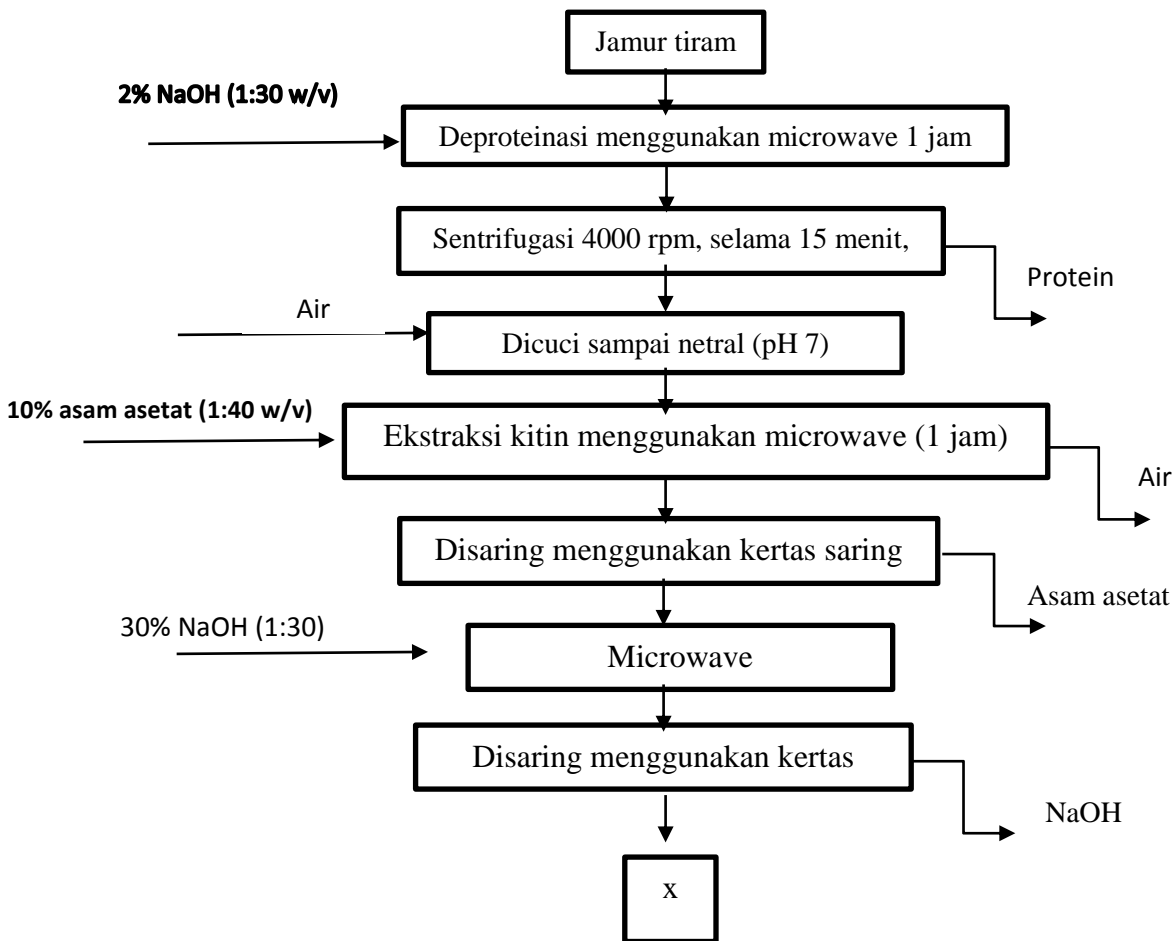
BAB III

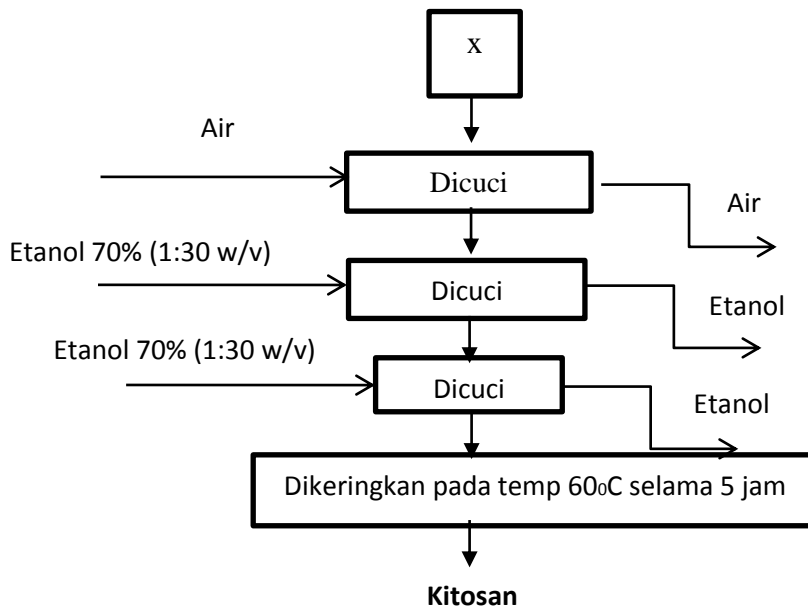
METODE PENELITIAN

3.1 Tahapan Penelitian

Adapun tahapan-tahapan penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada diagram alir berikut ini. Tahapan-tahapan yang dilakukan adalah pembuatan Kitosan dan Nanokitosan dan analisa uji mutu

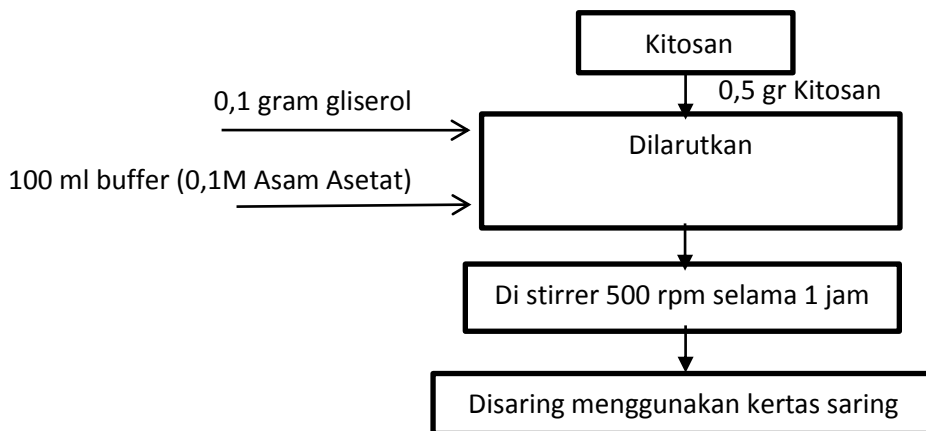
3.1.1 Pembentukan Kitosan dari jamur





Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Kitosan

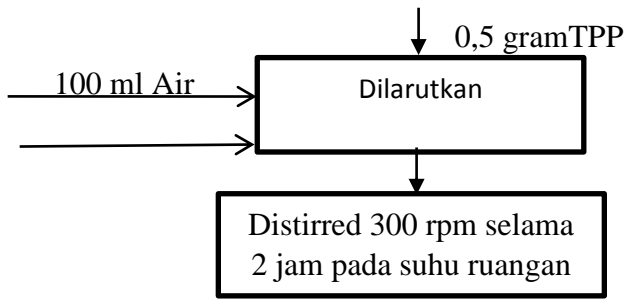
3.1.2 Pembuatan Larutan Kitosan



Gambar 3.2 Diagram alir pembuatan larutan kitosan

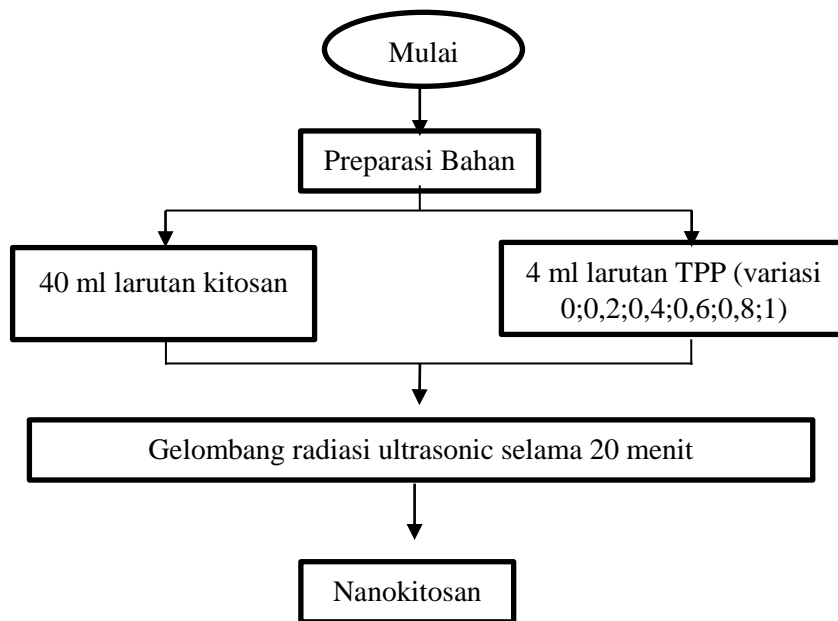
3.1.3 Pembuatan larutan TPP

Sodium tripolyphosphate (TPP).



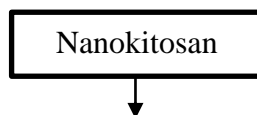
Gambar 3.3 Diagram alir pembuatan larutan TPP

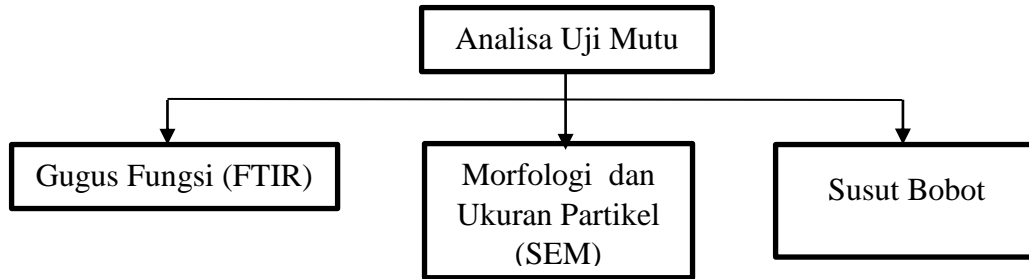
3.1.4 Pembuatan Nanokitosan



Gambar 3.4 Diagram Alir Pembuatan Nanokitosan

3.1.5 Analisa Uji Mutu

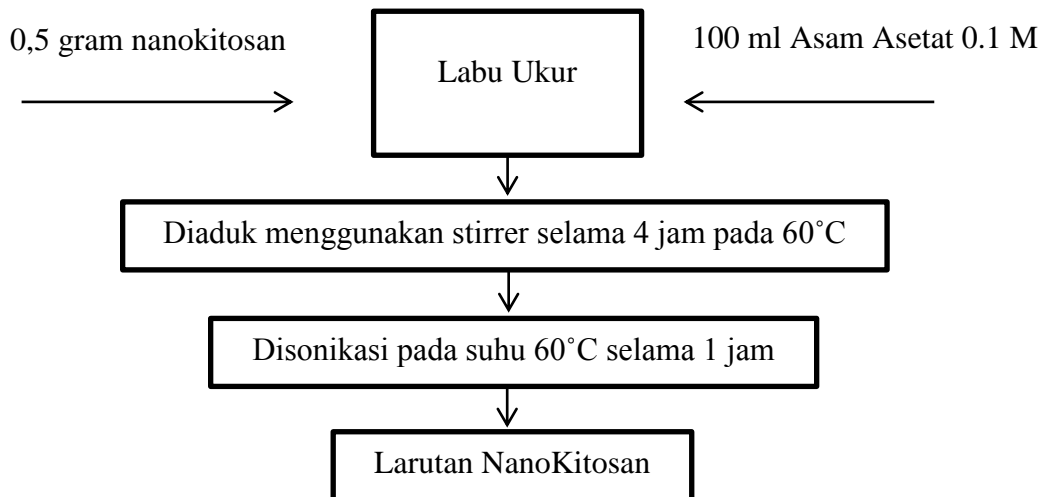




Gambar 3.5 Diagram Alir Analisa Uji Mutu

3.1.6 Pelarutan NanoKitosan Jamur Tiram

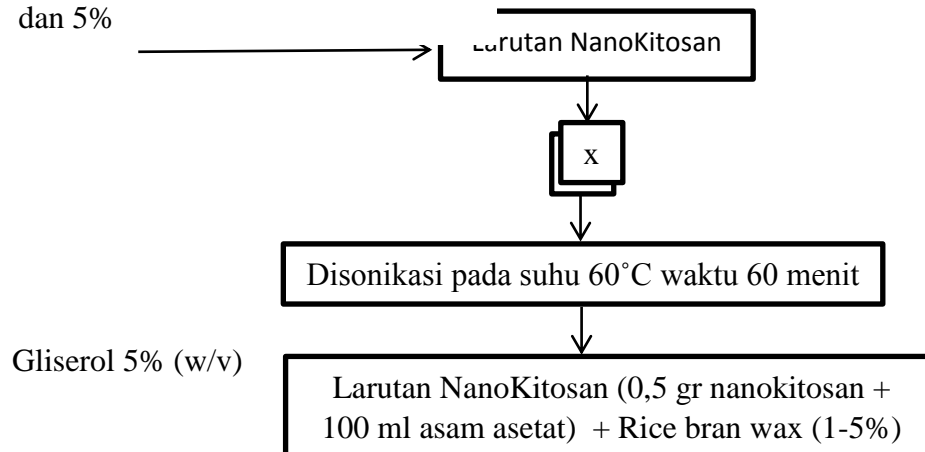
Berikut ini adalah diagram alir pada pelarutan kitosan jamur tiram

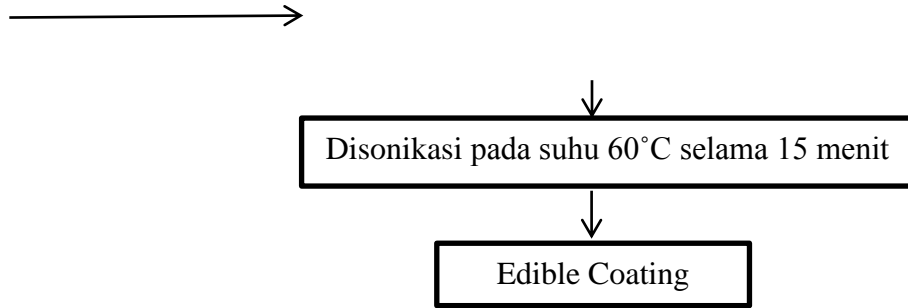


Gambar 3.6 Diagram Alir Pelarutan NanoKitosan Jamur Tiram

3.1.7 Pembentukan Edible Coating

Rice bran wax 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5%

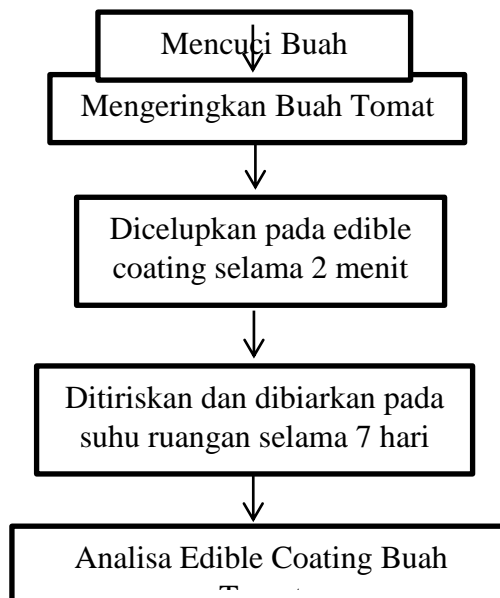




Gambar 3.7 Diagram Alir Pembentukan Edible Coating

3.1.8 Pengaplikasian Edible Coating pada Buah Tomat

Berikut ini adalah diagram alir pengaplikasian edible coating pada buah tomat



Gambar 3.8 Diagram Alir Pengaplikasian Edible Coating pada Buah Tomat

3.2 Prosedur Percobaan

3.2.1 Pembuatan Kitosan

Bahan yang digunakan yaitu jamur tiram sebanyak 8 gram kemudian diproteinasi dengan ditambahkan 2% NaOH untuk menghilangkan protein yang terkandung pada

jamur tiram dengan perbandingan 1:10 (w/v) dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam dalam microwave kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Residu yang dihasilkan, dicuci sampai netral dengan air 1:30 (w/v) (pH 7), mengekstraksi kitin dengan asam asetat 10% dengan perbandingan 1:40 (w/v) untuk menghilangkan kadar lain dan sisa protein yang terkandung dalam jamur tiram. Hasil ekstraksi dilakukan penyaringan dengan kertas saring. Setelah itu melakukan penambahan dengan Gliserol dan 2%NaOH yang berfungsi untuk menghilangkan gugus asetil pada kitin atau disebut proses deasetilasi dan masukkan ke dalam microwave kemudian melakukan penyaringan dengan kertas saring. Setelah itu Filtrat yang diperoleh dicuci dengan Aquades dan 2 kali menggunakan etanol 70%, 1:30 berturut-turut. Kemudian filtrat yang didapat dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 5 jam 30 menit dan terbentuklah kitosan.

3.2.2 Pembuatan Larutan Kitosan

Persiapkan 0,5 gram Kitosan, 0,1 gram gliserol dalam gelas beker yang berisi 100 ml buffer (mengandung 0,10 M Asam asetat) dan distirred dengan kecepatan 500 rpm hingga tercampur merata dengan menggunakan magnetic stirrer. Hasil kitosan selanjutnya disaring dengan kertas saring untuk menghilangkan impuritiesnya

3.2.3 Pembuatan Larutan TPP

Melarutkan TPP dengan variasi konsentrasi TPP 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 gram ke dalam gelas beker yang sudah berisi 100 ml air. Kemudian larutan distirred dengan kecepatan 300 rpm menggunakan magnetic stirrer pada suhu ruang selama 2 jam.

Fungsi dari stirrer sendiri yaitu untuk membuat beberapa larutan yang dicampurkan menjadi homogen

3.2.4 Pembuatan Nanokitosan

4 ml larutan TPP dengan variasi (0;0,2;0,4;0,6;0,8;1) dimasukkan pada gelas beker berisi 40 ml larutan kitosan kemudian distirred pada suhu ruang selama 5 menit,

kemudian larutan dimasukkan ke dalam alat sonikator sehingga terjadinya reaksi crosslinking TPP dan kitosan selama 60 menit. Larutan Nanokitosan kemudian disentrifugasi dan dikeringkan menggunakan oven.

Fungsi dari alat sonikator yaitu untuk memecah suatu senyawa yang ada di dalam wadah senyawanya yaitu kitosan dalam labu. Gelombang ultrasonik pada instrumen laboratorium ini akan menghasilkan getaran yang kuat sehingga kitosan menjadi pecah.

3.2.5 Pelarutan Kitosan Jamur Tiram

Larutan kitosan dari jamur tiram yang telah dibuat dilakukan dengan mencampurkan 0,5 gram kitosan dengan 100 mL asam asetat 0,1 M kemudian diaduk selama 4 jam pada suhu 60°C setelah itu dilakukan penyaringan kemudian larutan hasil penyaringan disonikasi pada suhu 60°C pada waktu 60 menit hingga didapat larutan Nanokitosan.

3.2.6 Pembentukan *Edible coating*

Proses pembentukan *edible coating* dilakukan dengan mencampurkan larutan kitosan dengan *rice bran wax* kemudian disonikasi pada suhu 60°C pada waktu 60 menit. Pada percobaan ini dilakukan variasi rasio antara kitosan dan *rice bran wax* yaitu 1%, 2%, 3%, 4% dan 5% (w/v). Setelah itu campuran tersebut kemudian ditambahkan gliserol sebanyak 5% (w/v) lalu disonikasi pada suhu 60 °C pada waktu 15 menit hingga didapatkan larutan *edible coating*.

3.2.7 Pengaplikasian *Edible coating* pada Buah Tomat

Edible coating yang telah dibuat kemudian diaplikasikan pada buah tomat. Sebelum diaplikasikan buah tomat terlebih dahulu dicuci menggunakan air sampai bersih lalu dikeringkan pada suhu ruangan. Setelah itu buah tomat dicelupkan pada *edible coating* selama 2 menit lalu diangkat dan ditiriskan serta dibiarkan pada suhu ruangan.

3.3 Bahan dan Alat

3.3.1 Bahan

- a. Aceton
- b. Asam asetat
- c. Aquades
- d. Etanol
- e. Gliserol
- f. Jamur Tiram
- g. STPP/TPP (Sodium Tripolifosfat)
- h. NaOH
- i. Rice bran wax

3.3.2 Alat

- a. Cawan Petri
- b. Gelas Beker
- c. Hotplate dan Magnetic Stirrer 1 set
- d. Microwave
- e. Timbangan Digital

3.4 Analisa Uji Mutu

3.4.1 Analisa Gugus Fungsi (FTIR)

Pada analisa ini dilakukan dengan menggunakan alat Fourier Transform Infrared Spectrophotometer untuk melihat gugus fungsi yang terdapat pada blend film tersebut dengan melihat frekuensi yang sesuai.

Analisis blend film dengan spektrofotometer FTIR diharapkan terlihat pita serapan melebar dengan intensitas pada daerah $3500-3000\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan karakteristik vibrasi ulur OH. Pita serapan lainnya pada daerah $3000-2850\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan karakteristik vibrasi ulur CH. Kemudian pita serapan lainnya pada daerah $1470-1350\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan vibrasi tekuk CH. Selain itu pita serapan pada daerah $1290-970\text{ cm}^{-1}$

yang menunjukkan vibrasi tekuk C-O-H. Terdapat pula pita serapan pada daerah 1730-1715 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi C=O karbonil.

3.4.2 Analisa Morfologi dan Ukuran Partikel (SEM)

Pada analisa ini dilakukan dengan menggunakan mikroskop elektron (SEM) JEOL JSM-6360LA pada penampang film dengan meletakkan film yang sudah dipotong sebagai preparat. Selanjutnya, film diamati menggunakan alat tersebut dan mengamati morfologi dari Nanokitosan tersebut pada perbesaran 5000 kali. Proses pemeriksaan dengan alat TEM sama halnya dengan SEM, perbedaannya prinsipnya adalah dimana alat TEM dapat melihat sampai ukuran nano dengan perbesaran sampai 150.000.000X.

3.4.3. Analisa Susut Bobot

Pada Analisa ini dilakukan dengan pengaplikasian dari Nanokitosan yang sudah dibuat dengan campuran Rice bran wax dan gliserol untuk mendapatkan edible coating yang kemudian diaplikasikan pada permukaan tomat. Tomat kemudian dibiarkan selama 7 hari untuk melihat penyusutan berat dari tomat.