

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis, Lokasi, dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pusat Riset Agroindustri kawasan Sains dan Teknologi B.J. Habibie Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Setu, Kota Tangerang Selatan. Penelitian dimulai pada bulan Maret 2024 sampai dengan Juni 2024.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu spektrometer FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*) (*Thermo Scientific Nicolet iS-10*), SEM (*Scanning Electron Microscopy*) (Jeol JSM-IT200), *chromameter hunterlab* model 4500S mini scan EZ, oven (*Memmert*, model UN30), hotplate (*Heidolph, MR-Hei Standard*), neraca analitik (*Ohaus, Pioneer PA214C*), *waterbath shaker* (*Daihan, WSB18*), lemari asam (*bio clamb*), *viscometer brookfield*, blender (Miyako), pH meter (*Benchtop – OAKLON, PC 700 pH*), desikator, loyang, gelas beaker (*iwaki®*), gelas ukur (*pyrex®*), magnetik stirer, batang pengaduk, *thermometer*, desikator, ayakan 60 mesh, cawan aluminium, aluminium foil, pipet tetes, buret, klem dan statif, sudip, pisau, kain saring, gunting.

Bahan yang digunakan yaitu jerami padi varietas Ciherang yang diperoleh dari sawah Desa Ciagel, Kecamatan Kibin, Kabupaten Serang yang sudah kering, berumur 3-5 hari setelah panen, dan berwarna kuning kecoklatan, NaMCA (Merck), NaOH (Merck), NaCl (PT.Sarana Mitra Anugrah), NaOCl (PT.Sarana Mitra Anugrah), CH<sub>3</sub>COOH (Merck), isopropanol (Merck), etanol (PT.Sarana Mitra Anugrah), dan aquades.

#### **3.3 Metode Pengumpulan dan Pengolahan Data**

##### **3.3.1 Rancangan Model Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode optimasi *Response Surface Method* (RSM), dengan rancangan percobaan *Central Composite Design* (CCD) pada

*software Design Expert 13* (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA) untuk mengetahui formula optimal natrium monokloroasetat dan waktu reaksi terhadap karakteristik fisikokimia *carboxymethyl cellulose*.

### 3.3.2 Rancangan Perlakuan

Penelitian ini terdiri dari 2 variabel yaitu berat natrium monokloroasetat (X) dan waktu reaksi (Y). Batas bawah dan batas atas taraf penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Batas setiap variabel

Variabel		Taraf		
		Bawah	Tengah	Atas
Natrium monokloroasetat (Gram)	X	2	5	8
Waktu reaksi (Jam)	Y	1	2	3

Proses optimasi dilakukan dengan rancangan *Central Composite Design* (CCD) dengan metode *Response Surface Methodology* (RSM) menggunakan 5 *center point* dan menghasilkan 13 perlakuan percobaan setelah dioperasikan menggunakan *Design Expert 13*. Jumlah unit percobaan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rancangan perlakuan optimasi

Run	Faktor 1 NaMCA (X)	Faktor 2 Waktu reaksi (Y)
1	5	2
2	8	3
3	5	2
4	2	1
5	0,757359	2
6	2	3
7	8	1
8	9,24264	2
9	5	3,41421
10	5	2
11	5	0,585786
12	5	2
13	5	2

Berdasarkan Indrayani (2018), penentuan titik optimum dilakukan berdasarkan jumlah kuadrat dari urutan model (*sequential model sum of squares*), pengujian ketidaktepatan model (*lack of fit*), ringkasan model statistik (*model summary statistic*) dan ANOVA :

1) Berdasarkan *sequential model sum of squares*

Model terpilih berdasarkan uraian jumlah kuadrat adalah urutan *polynomial* dengan nilai tertinggi dimana syarat model yang diterima bernilai nyata jika p-value bernilai kurang dari 5% (0,05) yang berarti bahwa model tersebut dapat menggambarkan pengaruh signifikan terhadap respon.

2) Berdasarkan *lack of fit*

Dari keempat model, pemilihan model harus didasarkan pada hasil uji ketidaktepatan model (*lack of fit*) dengan model pemilihan berstatus “*suggested*”. Menurut Gasperz (1995), suatu model dianggap tepat untuk menjelaskan suatu permasalahan dari sistem yang dikaji jika ketidaktepatan dari model bersifat tidak berbeda nyata secara statistik.

3) Berdasarkan *model summary statistic*

Desain terbaik difokuskan pada nilai *adjusted R<sup>2</sup>* dan *predicted R<sup>2</sup>* yang maksimal. Selain itu parameter yang digunakan untuk memilih model yang terbaik adalah model yang memiliki standar deviasi dan PRESS (*Prediction Error Sum of Squares*) paling minimal (Draper and Smith, 1998).

Nilai *adjusted R<sup>2</sup>* dan *predicted R<sup>2</sup>* yang maksimal, hal ini dikarenakan semakin kecil nilai *R<sup>2</sup>* menunjukkan semakin lemahnya hubungan antara variabel *dependent* dan *independent* (Nisfianoor, 2009). Nilai *R<sup>2</sup>* berkisar pada angka 0 sampai 1. Semakin mendekati nilai 1 maka pengaruh variabel penduga (*independent*) terhadap variabel tergantung (*dependent*) semakin kuat (Nawari, 2010). Model terpilih didasarkan pada nilai standar deviasi dan PRESS terendah. Semakin besar nilai standar deviasi maka menunjukkan bahwa data semakin bervariasi, sehingga apabila nilai standar deviasi semakin kecil maka tingkat keseragaman data semakin besar (Santoso, 2009). Sedangkan nilai PRESS yang semakin kecil menunjukkan kesalahan data semakin kecil pula.

### 3.3.3 Rancangan Respon

Respon yang diamati untuk keseluruhan satuan percobaan meliputi respon rendemen, derajat keasaman (pH), kadar air, derajat putih, viskositas, kemurnian, dan kadar NaCl. Berdasarkan hasil analisis yang telah dilakukan, maka ditentukan sampel terpilih yang memiliki kemurnian tertinggi dan rendemen tertinggi. Sampel terpilih kemudian akan dilanjutkan analisis berupa FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*) dan analisis SEM (*Scanning Electron Microscopy*).

### 3.3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pada penelitian ini, melalui beberapa tahapan, adapun diagram alir tahapan penelitian dapat dilihat pada Gambar 5.

#### 3.3.4.1 Persiapan Sampel

Proses pembuatan sampel mengacu pada Nur *et al.* (2016), dengan modifikasi. Modifikasi dilakukan pada tahapan pengeringan, dan pengayakan. Prosedur persiapan sampel terlebih dahulu jerami padi dicuci dengan air bersih, kemudian jerami dikeringkan didalam oven suhu 60°C selama 24 jam, jerami dipotong menggunakan gunting kemudian dihancurkan menggunakan mesin blender lalu disaring dengan ayakan 60 mesh. Diagram alir persiapan sampel bubuk jerami padi varietas Ciherang dapat dilihat pada Gambar 6.

#### 3.3.4.2 Ekstraksi Selulosa

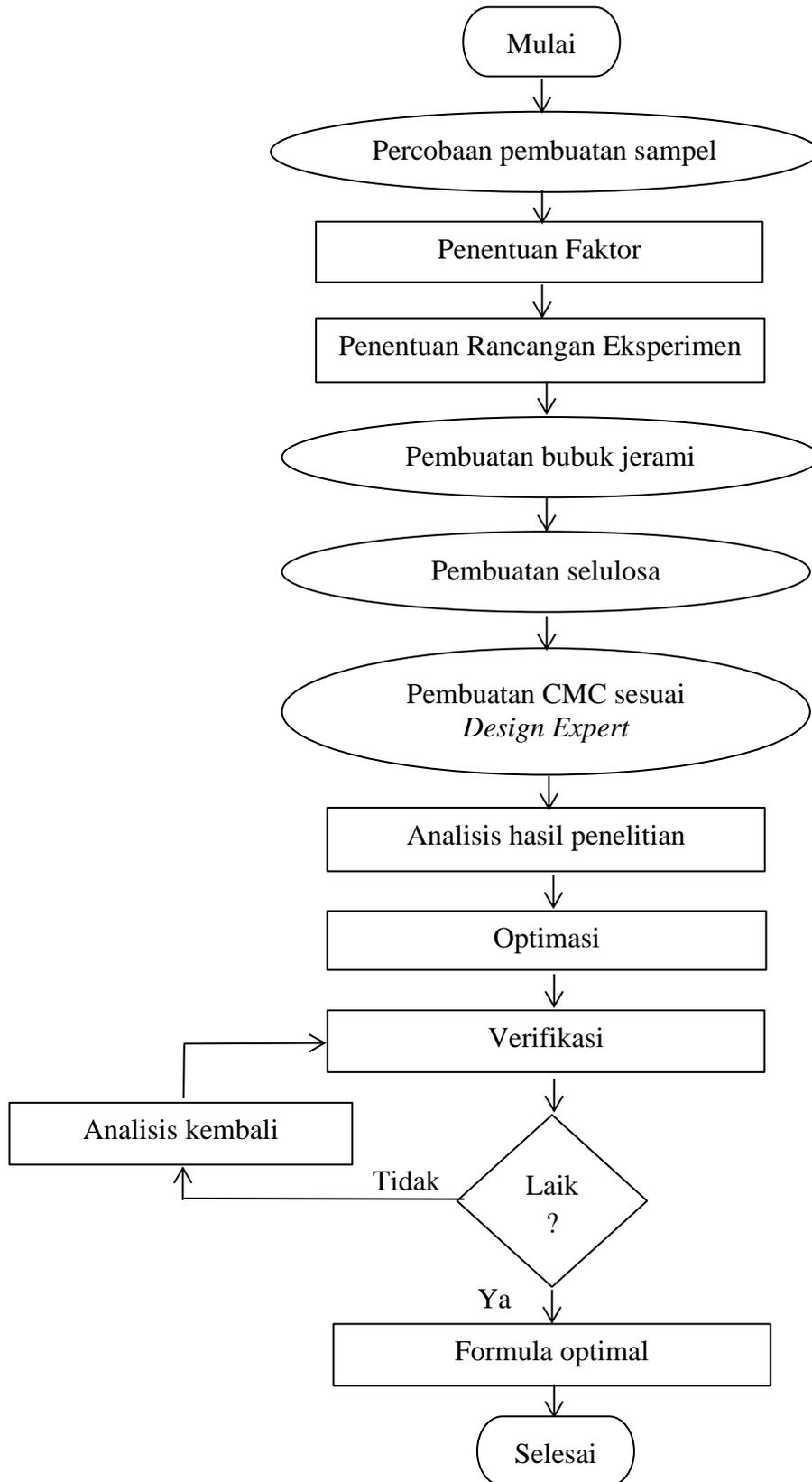
Proses ekstraksi selulosa jerami mengacu pada Masrullita *et al.* (2021), dengan modifikasi. Modifikasi dilakukan pada tahapan hidrolisis, pemutihan, dan pengeringan. Sampel bubuk jerami ditimbang sebanyak 25 gram kemudian dihidrolisis dengan menggunakan larutan NaOH 15% 125 mL pada suhu 100°C selama 3 jam. Hasil delignifikasi disaring kemudian ditambahkan 5 mL asam asetat glasial 10% dan 10 gram NaCl. Sampel disaring kembali dan dilakukan pencucian menggunakan aquades. Selulosa selanjutnya dilakukan proses pemutihan, proses ini melalui 2 tahap, pemutihan tahap pertama dilakukan dengan cara memasukkan sampel ke dalam oven pada suhu 60°C selama 3 jam dengan 125 mL NaOCl 15% dan 500 mL aquades kemudian disaring. Proses pemutihan tahap kedua dilakukan

dengan cara mencuci selulosa dengan 50 mL NaOCl 15% dan dibilas menggunakan aquades 250 mL. Setelah proses pemutihan selesai, selulosa basah dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Selulosa dihaluskan dengan menggunakan blender. Diagram alir ekstraksi selulosa jerami padi dapat dilihat pada Gambar 7.

#### **3.3.4.3 Pembuatan CMC**

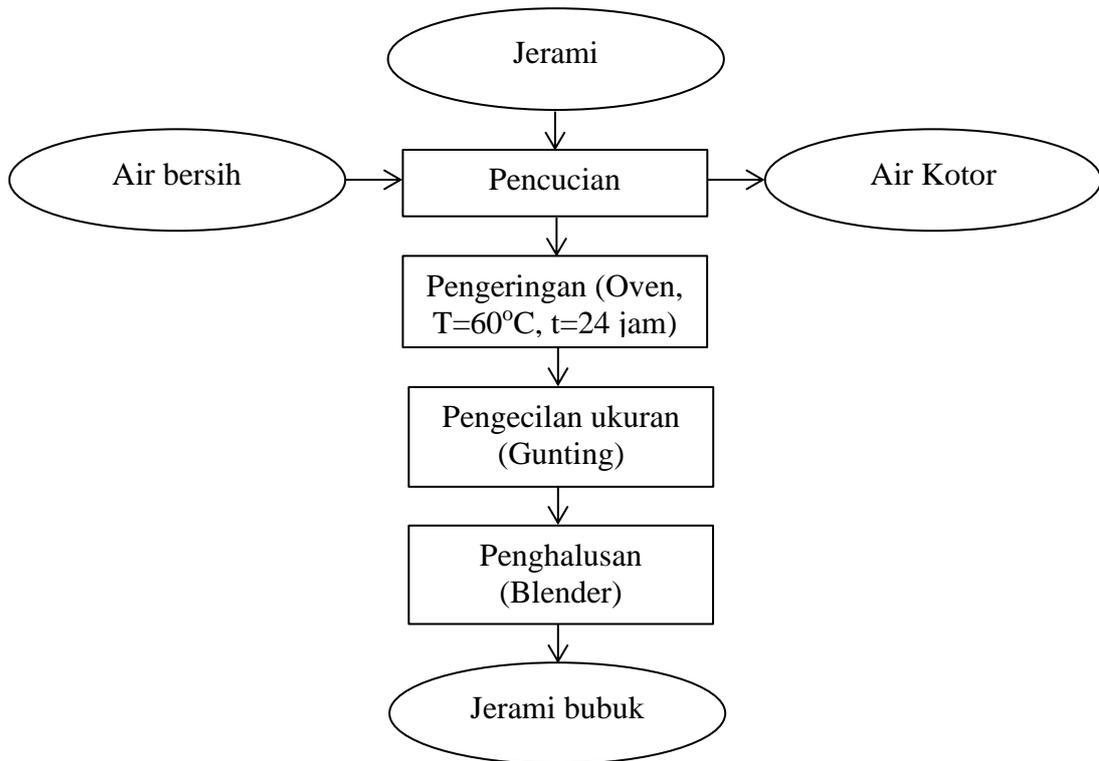
Proses pembuatan CMC jerami padi mengacu pada penelitian Yimlamai *et al.*, (2021) dan Dimawarnita dan Panji, (2018) dengan modifikasi. Modifikasi dilakukan pada tahap karboksimetilasi. Pembuatan CMC terdiri atas 2 proses, yaitu alkalisasi dan karboksimetilasi. Pada proses alkalisasi selulosa dari jerami diambil sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam gelas beaker lalu ditambah dengan 80 mL etanol, 20 mL isopropanol dan menambahkan 20 mL NaOH 10% secara perlahan-lahan, larutan didiamkan selama 1 jam pada suhu 25°C sambil diaduk dengan kecepatan 500 rpm. Proses karboksimetilasi dengan menambahkan 2-8 gram natrium monokloroasetat (NaMCA) yang dilarutkan dalam 60 mL etanol selama 1-3 jam pada suhu 55°C. Larutan kemudian dinetralkan dengan penambahan asam asetat glasial sebanyak 2 mL secara perlahan-lahan, lalu disaring dan dicuci dengan 50 mL etanol sebanyak 4 kali. CMC basah dikeringkan pada suhu 60°C selama 24 jam. Diagram alir pembuatan CMC jerami padi dapat dilihat pada Gambar 8.

Adapun diagram alir penelitian yaitu sebagai berikut :



Gambar 5. Diagram alir pelaksanaan penelitian

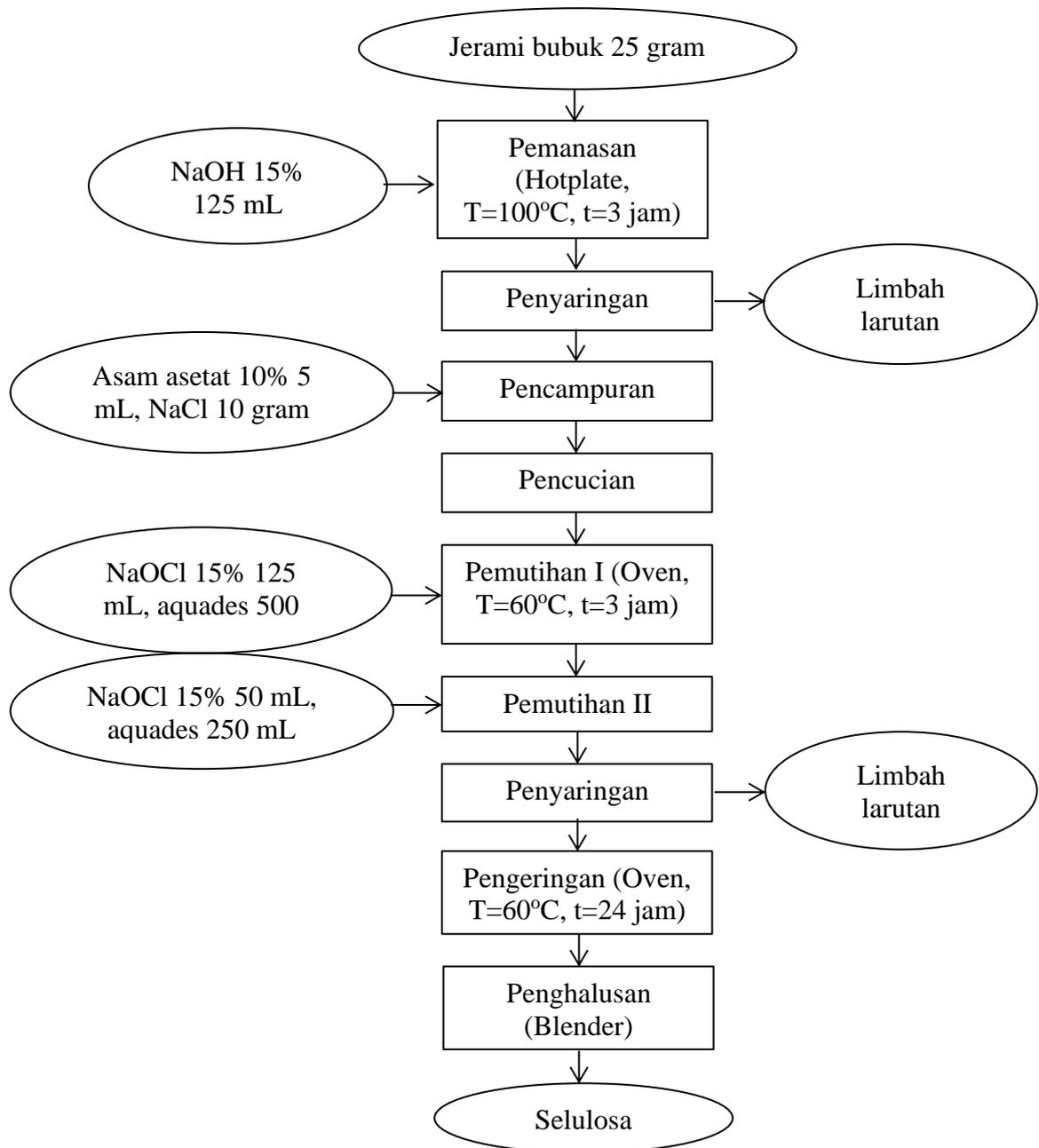
Adapun diagram alir persiapan sampel bubuk jerami yaitu sebagai berikut :



Gambar 6. Diagram alir persiapan sampel bubuk jerami

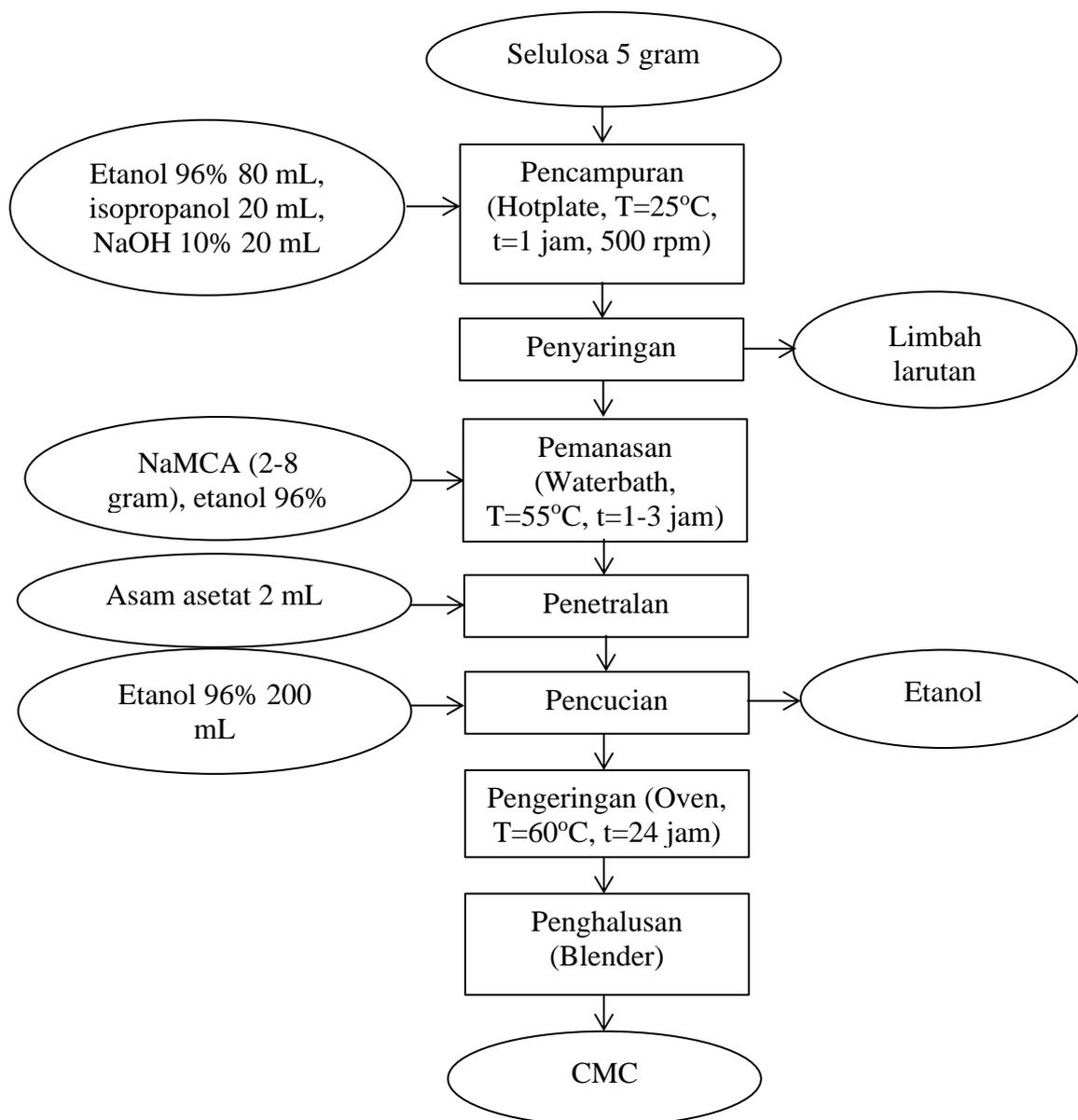
Sumber : Nur *et al.*, (2016) dengan modifikasi

Adapun diagram alir pembuatan selulosa jerami yaitu sebagai berikut :



Gambar 7. Diagram alir ekstraksi selulosa jerami  
Sumber : Masrullita *et al.*, (2021) dengan modifikasi

Adapun diagram alir pembuatan CMC jerami yaitu sebagai berikut :



Gambar 8. Diagram alir pembuatan CMC jerami

Sumber : Dimawarnita dan Panji, (2018) dengan modifikasi

### 3.3.5 Metode Pengujian

#### a) Rendemen (Abdulhameed *et al.*, 2019)

Rendemen dihitung berdasarkan hasil perbandingan CMC yang diperoleh dengan berat awal jerami yang dinyatakan dalam persen (%). Rendemen dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot CMC (gram)}}{\text{Bobot jerami padi (gram)}} \times 100\%$$

**b) Derajat Keasaman (pH) (SNI, 1995)**

CMC ditimbang 1 gram dan dilarutkan dalam aquades 100 mL dengan memanaskan pada suhu 60°C-70°C dan diaduk sampai larut. Setelah larut merata, didinginkan pada suhu ruang. Penetapan pH dilakukan dengan pH meter.

**c) Kadar Air (AOAC, 2005)**

Kadar air ditentukan secara langsung dengan menggunakan oven pada suhu 105°C. Cawan kosong di konstantkan terlebih dahulu dengan pengeringan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam dan didinginkan dalam desikator selama 30 menit kemudian ditimbang hingga memperoleh bobot konstan. Sampel CMC di timbang sebanyak 1 gram dalam cawan kosong yang telah diketahui bobotnya. Sampel dimasukan dalam oven pada suhu 105°C selama 6 jam. Selanjutnya didinginkan kembali dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang hingga memperoleh bobot konstan. Persen perhitungan kadar air dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{w1_{(gram)} - w2_{(gram)}}{w1_{(gram)}} \times 100 \%$$

Keterangan:

$w1$  = Bobot sampel awal sebelum dikeringkan (gram)

$w2$  = Bobot sampel akhir setelah dikeringkan (gram)

**d) Derajat Putih (Tarlak *et al.*, 2016)**

Pengukuran derajat putih dilakukan dengan menggunakan alat Chromameter, sebelum melakukan pengukuran derajat putih, alat Chromameter dikalibrasi terlebih dahulu kemudian pengukuran dilakukan dengan meletakan Chromameter tepat diatas CMC tanpa ada celah kemudian ditekan tombol pengukuran, sumber cahaya menyala dan reflektan terukur.

Hasil pengukuran derajat putih ini menggunakan notasi  $L^*$  (kecerahan),  $a^*$  (+ merah, - hijau),  $b^*$  (+ kuning, - biru). Hasil  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  dapat digunakan untuk

mengetahui derajat putih sampel CMC. Nilai derajat putih dapat diketahui dengan menggunakan rumus berikut:

$$W = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2}$$

Keterangan:

- W = Derajat putih
- L\* = Warna akromatik putih
- a\* = Warna akromatik campuran merah-hijau
- b\* = Warna akromatik campuran biru-kuning

**e) Viskositas (Shyni *et al.*, 2014)**

Sampel CMC ditimbang sebanyak 1 gram lalu dilarutkan dengan aquadest 100 mL pada *beaker glass* kemudian larutan dipanaskan hingga suhu tetap 80°C. Larutan diaduk sampai homogen selama 10 menit, kemudian larutan dianalisis menggunakan viskometer dengan memakai spindel sehingga diketahui besaran nilai viskositas dengan satuan cP pada setiap sampelnya.

**f) Kemurnian (Wijayani *et al.*, 2005)**

Kemurnian CMC dapat dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$\text{Kemurnian (\%)} = 100 \% - \text{Kadar NaCl (\%)}$$

**g) Kadar NaCl (SNI, 2004)**

Sampel CMC ditimbang sebanyak 0,5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer, diencerkan dengan 100 mL aquades lalu dipanaskan pada suhu 70°C. Kemudian ambil 10 mL aliquot kemudian masukkan kedalam erlenmeyer berukuran 250 mL dan tambahkan 5 tetes indikator K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> 5%, selanjutnya dititrasi menggunakan AgNO<sub>3</sub> 0,0105 N. Kemurnian CMC dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Kadar NaCl (\%)} = \frac{V_{(mL)} \times N_{(N)} \times 58,45 \times FP}{A_{(gram)} \times (100 - B_{(\%)})} \times 100$$

Keterangan:

- V = Volume AgNO<sub>3</sub> 0,0105 N (mL)
- N = Normalitas AgNO<sub>3</sub> (N)

Bobot molekul NaCl = 58,45  
A = Bobot sampel (gram)  
B = Kadar air (%)  
FP = Faktor pengenceran

### 3.3.6 Pengolahan Data

#### a. Tahap Analisis Respon

Data hasil penelitian diolah menggunakan bantuan *software* Design Expert 13.0 metode *Response Surface Methodology* (RSM) CCD berdasarkan nilai rata-rata pengukuran pada 13 unit percobaan analisis respon ditampilkan dalam *analysis of variance* (ANOVA), Model ANOVA yang digunakan dipilih sesuai dengan yang disarankan oleh program yaitu model yang memiliki level tertinggi dan menghasilkan nilai ANOVA yang signifikan. Model harus menunjukkan '*must be significant*' dan pada *lack of fit* harus menunjukkan '*must be not significant*', untuk mengetahui adanya pengaruh nyata dari tiap perlakuan yang diberikan terhadap respon (Azharini *et al.*, 2022). Uji signifikansi melalui ANOVA bertujuan untuk mengetahui apakah ada pengaruh dari berbagai faktor yang diuji terhadap respon. *R-square* atau  $R^2$  menunjukkan koefisien determinasi yang berkisar antara 0-1. Apabila nilai  $R^2$  semakin mendekati 1 maka hubungan antara variabel dependen semakin dekat dan berlaku sebaliknya.

#### b. Tahap Optimasi

Pada optimasi variabel respon digunakan sebagai model prediksi untuk menentukan formula optimal. Pada penelitian ini program akan melakukan optimasi berdasarkan pada parameter nilai rendemen, pH, kadar air, derajat putih, viskositas, kemurnian, dan kadar NaCl. Setelah dilakukan optimasi, program akan merekomendasikan beberapa formula yang optimal, berdasarkan nilai *desirability* maksimum (mendekati 1). Nilai target optimasi dinyatakan dengan *desirability* memiliki nilai diantara 0 hingga 1. Semakin mendekati nilai 1, suatu formula semakin mudah mencapai titik formula optimal berdasarkan variabel responnya. Optimalisasi dilakukan untuk mencapai nilai *desirability* yang maksimum dengan

tujuan utamanya untuk mencari kombinasi yang tepat dari berbagai komposisi bahan (Nurmiah *et al.*, 2013).

### c. Tahap Verifikasi

Tahap verifikasi dilakukan setelah formula optimum diperoleh, yaitu dengan membuat formula terbaik dari hasil optimasi *design expert* 13.0. Tujuan dari tahap verifikasi untuk melihat kesesuaian nilai respon prediksi yang dihasilkan program dengan nilai aktual yang didapatkan. Verifikasi dilakukan dengan dua ulangan dan hasilnya akan dibandingkan dengan nilai respon yang diprediksi oleh *Design Expert* 13. Setelah itu, akan dipilih satu formula terbaik dari hasil pembuatan CMC jerami (Nurmiah *et al.*, 2013).

#### 3.3.7 Analisis Sampel Terbaik

##### 1. FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*) (Indriyati *et al.*, 2016)

Karakterisasi dengan menggunakan instrumen *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) yaitu untuk melihat gugus fungsi penyusunnya. Pelet dibuat dari sampel CMC (2-5 mg) digerus bersama dengan KBr (200-250 mg). Spektrum inframerah dari sampel Na-CMC direkam dengan instrumen *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR). Transmisi diukur pada bilangan gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Pada analisis FTIR, sampel yang diuji hanya dua sampel yaitu sampel dengan rendemen tertinggi dan sampel dengan kemurnian tertinggi.

##### 2. SEM (*Scanning Electron Microscopy*) (Dimawarnita *et al.*, 2019)

Analisis menggunakan instrumen *Scanning Electron Microscopy* (SEM) bertujuan untuk melihat bentuk morfologi CMC. Sampel diletakkan dan ditempel di atas SEM spesimen holder dengan menggunakan *double tape* karbon dengan bagian penampang lintang mengarah vertikal ke atas atau menghadap lensa objektif. SEM dioperasikan dengan standar parameter operasi sebagai berikut: tegangan = 20 kV, ukuran titik = 50, dan jarak kerja setinggi 10 mm. Jarak 10 mm dipilih sebagai kompromi terhadap setingan untuk akuisisi sinyal sehingga pendeteksian X-Ray dan pencacahannya optimal. Sampel yang diuji SEM hanya sampel dengan rendemen tertinggi dan kemurnian tertinggi.