BAB III
METODELOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan lebih kurang selama enam bulan. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Riau.

3.2. Alat dan Bahan

Pada proses deasetilasi kitin menjadi kitosan alat yang digunakan adalah gelombang mikro, magnetic stirrer, alat FT-IR, XRD, viscometer, spektrofotometri, aluminium foil, kertas saring, pengayak ukuran 50 mesh, 100 mesh dan peralatan laboratorium biokimia standar lainnya sesuai dengan prosedur kerja.

Kulit udang laut yang bersal dari Dumai dan bahan-bahan lainnya yang sesuai dengan prosedur kerja.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dimulai dari pengambilan sampel secara acak, yaitu udang laut yang berasal dari Dumai yang ada di Provinsi Riau. Sampel kulit udang dicuci dan dikeringkan sampai benar-benar kering dengan menggunakan oven pada suhu $60^{o}C$, setelah sampel kering dilakukan pelembutan dengan menggunakan blender agar sampel berbentuk serbuk. Sampel yang sudah berbentuk serbuk dilakukan penyaringan dengan menggunakan ayakan ukuran 50 dan 100 mesh. Sampel kulit udang dipersiapkan dibersihkan dari kotoran yang berupa protein dan lemak (deproteinasi) dengan menggunakan NaOH, mineral (demineralisasi) dengan menggunakan HCl, proses ini berfungsi untuk menjadikan kitin.

Kitin selanjutnya dideasetilasi menjadi kitosan atau derivatnya dengan menggunakan irradiasi gelombang mikro dengan variasi waktu antara 5,5 menit pada 900 watt, sedangkan NaOHnya 45% b/v. Deasetilasi gelombang mikro akan diperoleh kitosan dan turunanya dengan derajat deasetilasi yang berbeda, yang masing-masingnya mempunyai aktivitas yang berbeda, sebagai biofungisida, antibakteri, proses penjernihan air, penyerapan logam berat dan penyerapan lemak.

Kitosan dan derivatnya selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji ninhydrin untuk mengetahui adanya gugus asam amino bebas pada kitosan, FT-IR

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

untuk mengetahui gugus fungsi OH, NH_2 dan CO, kemudian untuk penentuan struktur dari suatu material padat kitosan menggunakan XRD dan untuk menentukan berat molekul dan derajat deasetilasinya dengan menggunakan Viskometer.

3.4. Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan sampel

Sampel udang laut yang bersal dari Dumai diperoleh dari pasar pagi panam, dengan berat perekornya 15-25 gr, udang dalam kondisi segar.

3.4.2 Pembersihan, pengeringan dan pengayakan

Sampel udang laut yang dibeli dari pasar kemudian dipisahkan kulit atau cangkangnya dengan daging udang tersebut, setelah itu kulit atau cangkang udang tersebut dibersihkan dengan menggunakan air keran, setelah bersih kulit atau cangkang udang dikeringkan dengan menggunakan oven selama 2 jam pada suhu 60^0 C sampai benar-benar kering, jika belum kering dapat ditambah waktu pengovenanya sampai berat konstan.

Kulit atau cangkang udang yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender, setelah itu dilakukan pengayakan pada ukuran 50 dan 100 mesh.

3.4.3 Deproteinasi

Proses ini dilakukan pada suhu 60-70^0C dengan menggunakan larutan NaOH 1 M dengan perbandingan serbuk udang dan NaOH 1:10 (gr serbuk/ml NaOH) dalam gelas piala sambil diaduk selama 60 menit dengan menggunakan *magnetic stirer*, kemudian campuran dipisahkan dengan disaring untuk diambil endapanya.

Endapan dicuci dengan menyemprotkan aquadest menggunakan pipet di dalam gelas piala sampai pH netral, endapan disaring dengan penyaring kemudian endapan dikeringkan dalam oven.

3.4.4 Demineralisasi

Penghilangan mineral dilakukan pada suhu 25-30^0C dengan menggunakan larutan HCL 1 M dengan perbandingan sampel dengan larutan HCl= 1:10 (gr

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

serbuk/ml) didalam gelas piala sambil diaduk selama 120 menit menggunakan *magnetic stirer*, kemudian disaring untuk diambil endapanya.

Endapan dicuci dengan menyemprotkan aquadest menggunakan pipet di dalam beaker glass sampai pH netral, endapan disaring dengan penyaring kemudian di keringkan endapan dalam oven. Maka akan didapat kitin.

3.4.5 *Deasetilasi dengan menggunakan irradiasi gelombang mikro*

Kitin dideasetilasi menjadi kitosan atau derivatnya dengan menggunakan irradiasi gelombang mikro dengan variasi waktu 5,5 menit pada 900 watt, sedangkan NaOH, CaO, MgO dan KOH 45% b/v.

3.4.6 Karakterisasi kitosan

a. Menentukan Kandungan Asam Amino Bebas Pada Kitosan

Pada uji ninhydrin disiapkan beberapa tabung reaksi yang sudah diisi dengan kitosan sesuai ukuran pengayakan yaitu 50 dan 100 mesh masing-masing sebanyak 0,5 gram, kemudian dilarutkan dengan menggunakan aquades sebanyak 5 ml, ditambahkan 5 tetes pereaksi ninhydrin dan diaduk sampai benar-benar tercampur, dipanaskan dengan menggunakan penangas air selama 5 menit dan diamati perubahanya. Tujuan uji ini adalah untuk menentukan ada atau tidaknya asam amino bebas pada kitosan.

b. Menentukan Berat Molekul Kitosan

Dalam menentukan berat molekul kitosan dengan menggunakan viscometer.

c.Menentukan Struktur Padatan Kitosan

Untuk menentukan struktur padatan kitosan menggunakan difraksi sinar-X (XRD), sampel yang akan di lakukan XRD dikirim ke IPB.

d. Menentukan Gugus Fungsi CO, OH, dan NH_2 Pada Kitosan

Gugus fungsi kitosan ditentukan dengan menggunakan FT-IR, sampel yang akan dikarakterisasi dikirimkan ke IPB.

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/