

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini meliputi penyiapan alat, preparasi bahan, biopolimerisasi bioselulosa Nata de Coco, biodegradasi bioselulosa Nata de Coco oleh bakteri *Clostridium Sp*, analisa bioselulosa hasil biopolimerisasi dan biodegradasi.

3.1. Peralatan dan Bahan

3.1.1. Peralatan

Penyiapan ruang biodegradasi berupa kotak kaca tertutup rapat untuk meminimalkan keberadaan oksigen didalam ruang tersebut. Alat timbang elektronik (Mettler AT200) dengan ketelitian sampai 0,1 mg untuk menentukan berat bioselulosa yang diperoleh dan berat kering bioselulosa sebelum dan sesudah biodegradasi. Spektroskopi FTIR untuk analisa bioselulosa hasil biopolimerisasi dan biodegradasi. Wadah atau nampan plastik sebagai tempat untuk media biopolimerisasi. Saringan, kompor gas, untuk preparasi media biopolimerisasi. Alat-alat gelas seperti tabung reaksi besar beserta sumbat karetinya sebagai tempat tumbuhnya bakteri *Clostridium sp* dalam media agar.

3.1.2. Bahan-bahan

Bahan yang digunakan meliputi air kelapa yang diperoleh dari pamarut kelapa dipasar Jatingaleh, gula pasir, ammonium sulfat, asam asetat glasial sebagai bahan pendukung pengkondisian media biopolimerisasi, Stater bakteri *Acetobacter xylinum* dari balai perindustrian Semarang, bahan pendukung preparasi media

agar-daging rebus Robertson seperti agar, daging sapi, glukosa, bactopecto, larutan 4 % NaOH, asam askorbat dan 0,1 % metil biru.

3.2. Prosedur Kerja

3.2.1. Biopolimerisasi Bioselulosa Nata de Coco

Biopolimerisasi meliputi persiapan media biopolimerisasi dan proses biopolimerisasi. Pertama, air kelapa disaring dengan kain saring, dipanaskan hingga mendidih (dibuang buihnya jika ada) dibiarkan selama 10 menit kemudian ditambahkan gula dan ammonium sulfat, dipanaskan sampai mendidih, dibiarkan 5 menit, ditambahkan asam asetat glasial hingga pH sebesar 4-5. Kemudian larutan air kelapa dituangkan kedalam wadah plastik dan didinginkan (sebagai media biopolimerisasi). Selanjutnya, untuk memulai proses biopolimerisasi, kedalam media biopolimerisasi yang sudah dingin ditambahkan stater *Acetobacter xylinum*. wadah plastik (media biopolimerisasi) ditutup kertas bersih, kemudian dibiarkan selama 1, 2, 4, 6, 8 dan 10 hari pada temperatur kamar. Selanjutnya hasil atau Nata de Coco yang diperoleh ditimbang. Nata de Coco dikeringkan dengan bantuan sinar matahari selama ± 3 hari sehingga diperoleh bioselulosa tanpa kandungan air. Bioselulosa yang dihasilkan pada 1, 2, 4, 6, 8 dan 10 hari ditimbang dan dianalisa dengan menggunakan metode spektroskopi FTIR untuk mengetahui perubahan pola spektra yang terjadi dengan adanya variasi waktu biopolimerisasi sedangkan sisa media biopolimerisasi dianalisa kadar gula reduksi dan kadar gula total.

Tabel 3.1. komposisi media biopolimerisasi

Bahan	Komposisi	Keterangan
Air kelapa	9 L	Setiap wadah plastik berisi
Amonium sulfat	32 g	1 liter media biopolimerisasi
Gula pasir	180 g	
Stater	100 mL / wadah plastik	

3.2.2. Biodegradasi bioselulosa Nata de Coco

Lembaran kering bioselulosa hasil biopolimerisasi selama 10 hari dipotong-potong berbentuk pita berukuran 3 x 1 cm dimasukkan kedalam ruang biodegradasi dan dibiarkan kontak dengan bakteri *Clostridium* pada media Agar-Daging rebus Robertson dalam tabung reaksi tertutup rapat selama 1, 5 dan 10 hari. Lembaran bioselulosa hasil biodegradasi ditimbang beratnya kemudian dianalisa dengan menggunakan shimadzu Hyper FTIR-820 IPC untuk kemudian dibandingkan perubahan pola spektranya dengan bioselulosa sebelum biodegradasi.

3.2.3. Karakterisasi bioselulosa Nata de Coco

3.2.3.1. Pola spektra IR

Untuk karakterisasi bioselulosa yang dihasilkan pada tiap variasi waktu biopolimerisasi dianalisis perubahan pola spektra dan interaksi-interaksi gugus-gugus yang ada dengan spektrofotometer FTIR-820 IPC merek Shimadzu.

3.2.3.2. Penentuan kadar Gula reduksi dan gula total

Untuk mengetahui apakah gula yang ada pada media biopolimerisasi telah berubah menjadi bioselulosa maka sisa media biopolimerisasi untuk tiap variasi waktu dianalisa kadar gula reduksi dan kadar gula total. Analisa dilakukan di laboratorium fakultas Teknologi Hasil Pertanian UGM Yogyakarta.

3.2.4. Penentuan tingkat Degradasi

3.2.4.1. Perubahan berat kering film Bioselulosa Nata de Coco

Film bioselulosa yang sudah dipotong-potong berbentuk pita, masing-masing ditimbang dengan alat elektronik (mettler) dengan ketelitian sampai 0,1 mg. Setelah itu pita-pita bioselulosa didegradasi selama waktu tertentu dan kemudian masing-masing ditimbang kembali. Dengan data berat awal pita bioselulosa dan berat pita bioselulosa setelah degradasi pada waktu tertentu maka dapat ditentukan persen penurunan berat kering bioselulosa, selengkapnya dapat dilihat pada lampiran.

3.2.4.2. Pola spektra FTIR

Spektrum IR diperoleh dengan menggunakan Shimadzu Hyper FTIR-820 IPC. Film sebelum dan sesudah degradasi ditempatkan dalam ruang sampel spektrofotometer FTIR kemudian dibuat spektrum IRnya, analisa dilakukan di laboratorium Kimia UGM Yogyakarta.