



**MODIFIKASI SELULOSA BAKTERI MENGGUNAKAN
METODE HIDROLISIS ASAM UNTUK ADSORPSI BSA**

SKRIPSI

Oleh

**Ardi Budianto
NIM 131810301038**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**MODIFIKASI SELULOSA BAKTERI MENGGUNAKAN
METODE HIDROLISIS ASAM UNTUK ADSORPSI BSA**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

Ardi Budianto
NIM 131810301038

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Ibunda Kaswati dan Ayahanda Bambang Tri Ekodjuni, serta kedua kakak tersayang Irwan Budi Sukarno dan Arif Budi Setiawan yang senantiasa memberikan do'a dan semangat, selalu memberikan segala bentuk nasehat dan menjadi teladan terbaik untuk selalu sabar, bersyukur, tidak mudah patah semangat, dan menjadi pribadi yang lebih baik lagi untuk menggapai masa depan yang gemilang dan segala kesuksesan yang ada di masa mendatang;
2. Bapak-ibu guru di TK Dharma Wanita, SDN 1 Parelor, SMPN 1 Kunjang, MAN Jombang serta dosen-dosen di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember yang mendidik dengan penuh kesabaran, memberikan ilmunya dengan ikhlas, dan memberikan arahan serta nasehat hidup yang baik;
3. Almamater Tercinta, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

Boleh kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagi kamu. Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah Maha Mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui.

(Al-Baqarah: 216)^{*)}

The important thing in science is not so much to obtain new fact as to discover new ways of thinking about them.

(Sir William Bragg)^{**)}

A person who never made a mistake never try anythings new.

(Albert Einstein dalam Salajkova, 2013)^{***)}

* Departemen Agama Proyek Pengadaan Al-Quran.1975. Al-Quran dan Terjemahannya. Jakarta: PT. Bumi Restu.

** Welsch, N. 2012. Interaction of Protein with Soft Polymerics Surface: Driving Forces and Kinetics. *Dissertation*. Berlin: Humboldt-Universitat.

*** Salajková, M. 2013. Wood Nanocellulose Materials dan Effect from Surface Modification on Nanoparticle. *Doctoral Thesis*. Stockholm: KTH Royal Institue of Technology.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Ardi Budianto

NIM : 131810301038

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “*Modifikasi Selulosa Bakteri Menggunakan Metode Hidrolisis Asam untuk Adsorpsi BSA*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini Saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 11 Juli 2017

Yang menyatakan,

Ardi Budianto
NIM 131810301038

SKRIPSI

**MODIFIKASI SELULOSA BAKTERI MENGGUNAKAN
METODE HIDROLISIS ASAM UNTUK ADSORPSI BSA**

Oleh

Ardi Budianto
NIM 131810301038

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Dwi Indarti, S.Si., M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “*Modifikasi Selulosa Bakteri Menggunakan Metode Hidrolisis Asam untuk Adsorpsi BSA*” karya Ardi Budianto Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si.
NIP. 197107031997021001

Dwi Indarti, S.Si., M.Si.
NIP. 197409012000032004

Anggota II,

Anggota III,

Tri Mulyono, S.Si., M.Si.
NIP. 196810021998021001

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D.
NIP. 195910091986021001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Drs. Sujito, Ph.D.
NIP. 196102041987111001

RINGKASAN

Modifikasi Selulosa Bakteri Menggunakan Metode Hidrolisis Asam untuk Adsorpsi BSA; Ardi Budianto, 131810301038; 2017: 59 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Selulosa bakteri (BC) dapat dimodifikasi melalui proses kimia dan fisik untuk meningkatkan nilai kegunaannya dalam aplikasi yang lebih luas. Metode hidrolisis asam sulfat dipilih dalam penelitian ini, dikarenakan hasil dari proses tersebut akan memiliki kestabilan dalam suspensi yang lebih tinggi, metodenya lebih sederhana, dan lebih baik dalam menghilangkan bagian amorf. Muatan negatif pada selulosa bakteri termodifikasi akan membuat suspensi bersifat lebih stabil dan merupakan salah satu faktor terpenting dalam interaksi protein terkait dengan sifat adsorpsi. Proses adsorpsi sangat bergantung pada kondisi larutan seperti pH dan kekuatan ionik. Proses adsorpsi BSA dengan selulosa bakteri melalui modifikasi fosforilasi diperoleh data optimum adsorpsi pada pH 3,8-4,8. Modifikasi menggunakan asam sulfat pada selulosa bakteri perlu dilakukan optimasi untuk pH dan kekuatan ionik. Hal ini dikarenakan kedua faktor tersebut berpengaruh dalam proses adsorpsi BSA. Modifikasi selulosa bakteri menggunakan asam sulfat diharapkan akan memberikan nilai adsorpsi terhadap BSA lebih baik karena adanya penambahan gugus ester-sulfat yang bermuatan negatif.

Modifikasi selulosa bakteri dilakukan dengan metode hidrolisis asam. Proses hidrolisis asam dilakukan menggunakan larutan asam sulfat 50% selama 90 menit. Metode hidrolisis asam akan memutus bagian amorf pada ikatan glikosidik rantai selulosa. Modifikasi selulosa bakteri secara fisik menggunakan ultrasonikasi dengan *output* 3 dan *duty cycle* 30% pada tegangan 100 V selama 5 menit. Selulosa bakteri (BC) dan selulosa bakteri termodifikasi (BC-m) dikarakterisasi menggunakan FTIR dan XRD untuk menentukan perbedaan gugus fungsi dan derajat kristalinitas. BC-m ditentukan jumlah gugus muatan negatif

menggunakan metode titrasi konduktometri. Kemampuan BC dan BC-m dalam mengadsorpsi BSA diukur menggunakan metode spektrofotometri untuk mendapatkan nilai adsorpsi BSA dengan variasi pH 3, 4, 5, dan 6, serta konsentrasi NaCl 0,02; 0,04; 0,06; dan 0,08 M.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, modifikasi selulosa bakteri menggunakan asam sulfat menghasilkan perbedaan spektrum serapan pada IR dan XRD. Analisis FTIR pada BC-m menunjukkan perbedaan dengan hilangnya puncak serapan pada bilangan gelombang $896,93\text{ cm}^{-1}$ yaitu serapan CH, C-O-C ikatan glikosidik dan munculnya puncak serapan baru pada bilangan gelombang $796,63\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan serapan dari gugus tiosulfat. Hasil analisis XRD juga menunjukkan perbedaan derajat kristalinitas pada kedua sampel, masing-masing adalah 77,71% (BC) dan 84,04% (BC-m). Jumlah gugus muatan tiosulfat yang dihasilkan untuk BC-m adalah $15,66\text{ mmol.Kg}^{-1}$. Adsorpsi pada BC dan BC-m untuk variasi pH sama-sama menunjukkan nilai optimum pada pH 3. Akan tetapi nilai adsorpsi BC-m lebih tinggi yaitu $150,35\text{ mg/g}$ jika dibandingkan dengan BC yaitu $99,160\text{ mg/g}$. Variasi kekuatan ionik juga menunjukkan nilai optimum yang sama pada konsentrasi NaCl 0,02M. Nilai adsorpsi untuk BC-m sebesar $169,48\text{ mg/g}$ sedangkan untuk BC sebesar $145,82\text{ mg/g}$. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi garam 0,02 M protein memiliki kelarutan yang tinggi, serta BC-m memiliki gugus muatan negatif untuk interaksi secara elektrostatis dengan BSA. Modifikasi selulosa bakteri menggunakan asam sulfat mampu meningkatkan nilai adsorpsi pada variasi pH dan kekuatan ionik masing-masing sebesar 27,44% dan 13,96%.

PRAKATA

Alhamdulillah atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Modifikasi Selulosa Bakteri Menggunakan Metode Hidrolisis Asam untuk Adsorpsi BSA*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dwi Indarti, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, kasih sayang dan do'a dalam membimbing dengan penuh kesabaran untuk menyelesaikan penulisan skripsi ini;
4. Tri Mulyono, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji I dan Drs. Achmad Sjaifullah M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya untuk menguji serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Agung Budi Santoso, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberikan nasihat, dan arahan serta beberapa kritikan bagi penulis selama menjadi mahasiswa;
6. Serta pihak-pihak yang turut membantu dalam penulisan skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 11 Juli 2017

Penulis

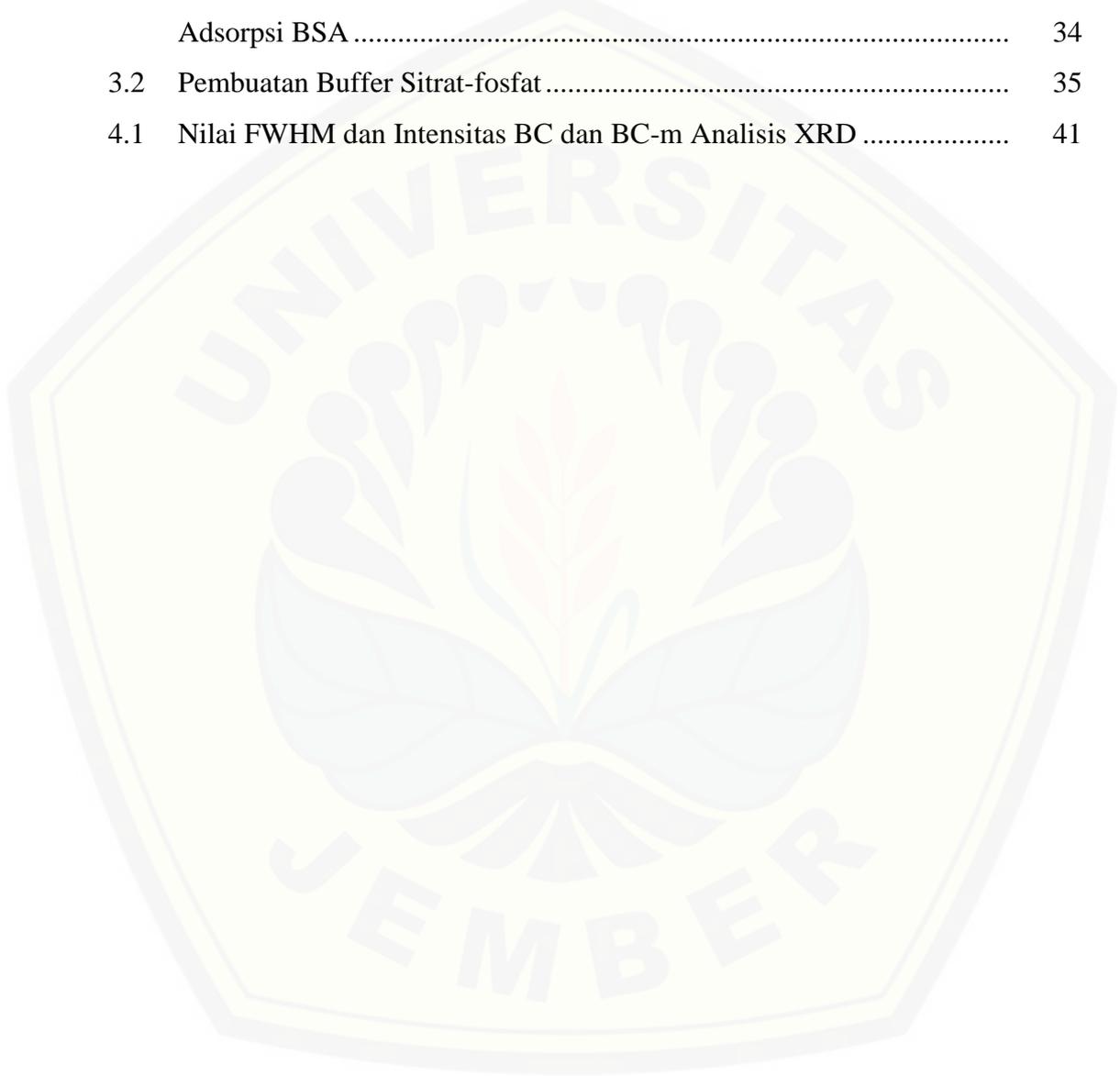
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
HALAMAN PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Selulosa	5
2.2 Selulosa Bakterial	7
2.3 <i>Bacterial Cellulose Nanocrystalline (BCNC)</i>	9
2.4 Hidrolisis Asam	10
2.5 Biosintesis Selulosa	12
2.6 <i>Nata de Coco</i>	14
2.7 Protein	16
2.7.1 Albumin.....	17
2.7.2 Adsorpsi Protein	18
2.8 Spektrofotometer UV-vis	20
2.9 Metode Karakterisasi BCNC	21
2.9.1 Titrasi Konduktometri	21
2.9.2 <i>X-ray Diffraction (XRD)</i>	22
2.9.3 <i>Fourier Transform Infrared (FTIR)</i>	24
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	25
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.2 Alat dan Bahan	25
3.2.1 Alat	25
3.2.2 Bahan.....	25
3.3 Diagram Alir Penelitian	26

3.4 Prosedur Penelitian	27
3.4.1 Pemurnian Selulosa Bakterial.....	27
3.4.2 Pembuatan Asam Sulfat 50%	27
3.4.3 Hidrolisis Asam	28
3.4.4 Titrasi Konduktometri	29
3.4.5 Pembuatan Reagen Bradford.....	31
3.4.6 Pembuatan Larutan Standar BSA	31
3.4.7 <i>Scanning</i> Panjang Gelombang BSA.....	32
3.4.8 Pembuatan Kurva Kalibrasi BSA	33
3.4.9 Penentuan Nilai Adsorpsi BSA	33
3.4.10 Karakterisasi BC dan BC-m	36
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Karakteristik BC dan BC-m	38
4.1.1 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR)	40
4.1.2 <i>X-ray Diffraction</i> (XRD)	42
4.1.3 Titrasi Konduktometri	43
4.2 Adsorpsi BC dan BC-m	45
4.2.1 Pengaruh Variasi pH pada Adsorpsi BSA.....	45
4.2.2 Pengaruh Variasi Kekuatan Ionik pada Adsorpsi BSA	48
BAB 5. PENUTUP	51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Sifat Protein yang Mempengaruhi Interaksi dengan Permukaan	17
3.1 Rancangan Percobaan Variasi pH dan Kekuatan Ionik Larutan NaCl	
Adsorpsi BSA	34
3.2 Pembuatan Buffer Sitrat-fosfat	35
4.1 Nilai FWHM dan Intensitas BC dan BC-m Analisis XRD	41

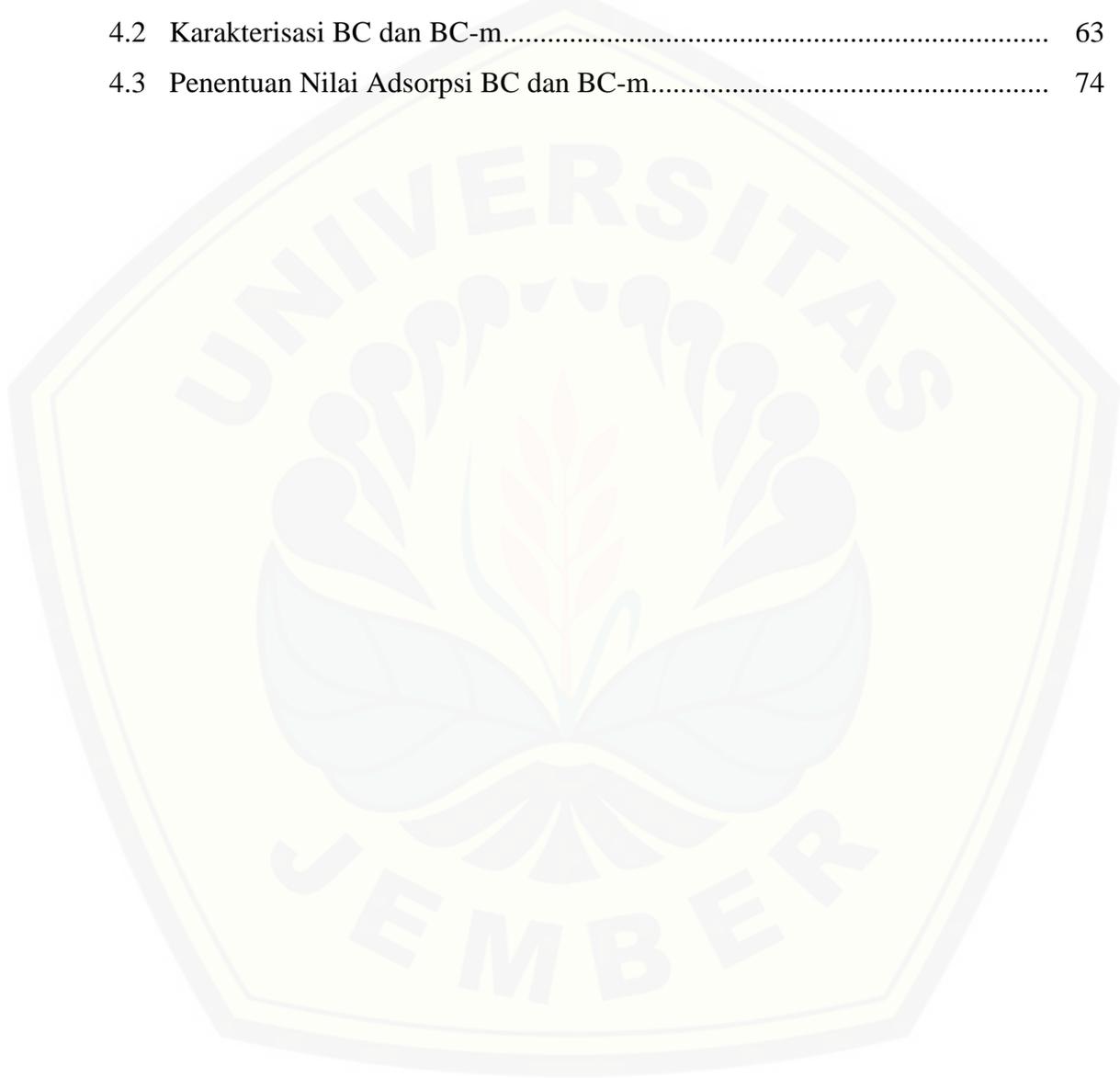


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur Dinding Sel Tanaman dan Bagian Menylang Serat Mikro	5
2.2 Struktur Molekul Polimer Selulosa dari Unit Terkecil Selobios	5
2.3 Bioselulosa dan Selulosa Tanaman	8
2.4 Bagian Serat Selulosa yang Tersusun Atas Daerah Kristalin dan Non-kristalin	9
2.5 Reaksi Esterifikasi Gugus Hidroksil pada Selulosa Selama Proses Hidrolisis Asam Sulfat.....	11
2.6 Modifikasi Permukaan BCNC dengan Gugus Fungsi yang Berbeda Berdasarkan Penggunaan Jenis Asam	11
2.7 Depolimerisasi Selulosa Menjadi Nanoselulosa.....	12
2.8 Sintesis Selulosa Bakterial.....	13
2.9 Keadaan Ionisasi Protein sebagai Fungsi pH.....	18
2.10 Kurva Titrasi Konduktometri	22
2.11 Pola Difraksi X-ray dari MCC dan Nanoselulosa	23
3.1 Diagram Alir Preparasi BC, Modifikasi BC, dan Proses Adsorpsi BSA	26
4.1 Modifikasi BC Melalui Hidrolisis Asam Sulfat	38
4.2 Karakterisasi BC dan BC-m Menggunakan FTIR.....	39
4.3 Pola XRD pada BC dan BC-m	43
4.4 Titrasi Konduktometri BC-m	44
4.5 Nilai Adsorpsi BSA pada BC dan BC-m untuk Variasi pH.....	46
4.6 Nilai Adsorpsi BSA pada BC dan BC-m untuk Variasi Kekuatan Ionik	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Pembuatan Larutan	60
4.1 <i>Recovery</i> BC-m Proses Hidrolisis Asam Sulfat.....	63
4.2 Karakterisasi BC dan BC-m.....	63
4.3 Penentuan Nilai Adsorpsi BC dan BC-m.....	74



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selulosa bakteri (BC) dapat dimodifikasi melalui beberapa proses kimia dan fisik yang mampu meningkatkan nilai kegunaannya pada aplikasi yang lebih luas. Salah satu bentuk modifikasi selulosa bakteri adalah *Cellulose Nanocrystals*. *Bacterial Cellulose Nanocrystals* (BCNC) memiliki beberapa keunggulan, antara lain derajat polimerisasi yang rendah serta derajat kristalinitas dan luas permukaan yang tinggi (Yu *et al.*, 2012). Selain itu, BCNC juga memiliki kekuatan mekanik dan stabilitas termal yang tinggi (Ahola, 2008), serta sifat *biodegradable* dan *natural biocompatible* (Fritz *et al.*, 2015). Secara umum, beberapa metode yang digunakan dalam modifikasi selulosa bakteri bertujuan untuk meningkatkan derajat kristalinitas polimer melalui depolimerisasi bagian amorf pada selulosa serta meningkatkan luas permukaan *biomaterial*.

Metode pembuatan *cellulose nanocrystals* dalam penelitian ini menggunakan hidrolisis asam sulfat. Hidrolisis asam sering digunakan dalam modifikasi selulosa dikarenakan memiliki kestabilan dalam suspensi yang lebih tinggi, metodenya lebih sederhana, dan lebih baik dalam menghilangkan bagian amorf (Reiniati *et al.*, 2016). Penggunaan asam sulfat dalam proses hidrolisis asam membutuhkan suhu, rasio asam/selulosa, dan waktu produksi *nanocrystalline cellulose* yang lebih rendah jika dibandingkan dengan penggunaan jenis asam yang lainnya (Li and Ragauskas, 2011). Fajardo *et al.* (2015) melaporkan bahwa, hidrolisis menggunakan asam sulfat pada rasio perbandingan berat dan volume untuk selulosa dan asam (1:10) selama satu jam akan menghasilkan BCNC dengan panjang 149 ± 40 nm dan lebar 9 ± 2 nm. Derajat kristalinitas yang dihasilkan dari proses hidrolisis asam sulfat 50% pada suhu 50°C adalah 94,2% (Pratama, 2016).

Menurut Ahola (2008) mengatakan bahwa, perlakuan hidrolisis asam dapat meningkatkan stabilisasi elektrostatis partikel dalam suspensi karena adanya gugus muatan pada permukaan. Jumlah gugus muatan negatif yang dihasilkan dari hidrolisis asam sulfat lebih banyak dibandingkan dengan penggunaan jenis asam

lainnya, seperti asam klorida dan asam fosfat. Hasil penelitian Lin dan Dufresne (2014) menunjukkan bahwa, gugus muatan sulfat yang terdapat dalam selulosa bakteri termodifikasi dapat digunakan sebagai adsorpsi protein dalam biomedis. Muatan negatif pada permukaan selulosa bakteri termodifikasi merupakan salah satu faktor yang sangat penting dalam interaksi protein. Hal tersebut berkaitan dengan sifat adsorpsi, selain luas permukaan dan derajat kristalinitas yang dimiliki oleh adsorben (Rahman *et al.*, 2013).

Proses adsorpsi protein BSA oleh *biomaterial* sangat bergantung pada kondisi larutan, seperti pH dan konsentrasi garam (Berg *et al.*, 2005). Jumlah BSA yang teradsorpsi akan semakin meningkat seiring dengan peningkatan nilai kesetimbangan pH hingga tercapai nilai optimum (Anirudhin *et al.*, 2012). Adsorpsi protein BSA diperoleh data optimum pada pH 3,8-4,8 untuk *biometarial* PBC (*Phosporilated Bacterial Cellulose*) karena adanya interaksi muatan positif dari protein dengan muatan negatif dari PBC (Oshima *et al.*, 2011). Oleh karena itu, diperlukan optimasi pH pada adsorpsi BSA oleh selulosa bakteri termodifikasi dengan gugus sulfat. Sedangkan untuk penambahan larutan ionik akan mempengaruhi interaksi elektrostatis diantara penukar ion dan protein (Skoog *et al.*, 2004). Menurut Akgül *et al.* (2008) mengatakan bahwa, proses adsorpsi protein BSA pada selulosa bakteri termodifikasi mencapai kondisi optimum untuk waktu 90 menit.

Berdasarkan pada uraian di atas, dalam penelitian ini akan dilakukan optimasi adsorpsi BSA oleh selulosa bakteri dan selulosa bakteri termodifikasi terhadap pH larutan sistem dan kekuatan ionik. Variasi pH larutan sistem dilakukan pada rentang 3, 4, 5, 6 serta kekuatan ionik NaCl pada pH optimum dengan konsentrasi 0,02; 0,04; 0,06; dan 0,08 M. Analisis pada proses adsorpsi protein BSA mencakup pengaruh pada perbedaan sifat permukaan dari kedua *biomaterial* meliputi perbedaan gugus muatan, kristalinitas, dan gugus fungsi melalui karakterisasi menggunakan titrasi konduktometri, *X-ray Diffraction* (XRD), dan *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh modifikasi hidrolisis asam terhadap perbedaan karakterisasi gugus fungsi dan derajat kristalinitas pada BC dan BC-m?
2. Bagaimana pengaruh variasi pH sistem larutan dan kekuatan ionik terhadap nilai adsorpsi BSA pada BC dibandingkan dengan BC-m?

1.3 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Selulosa bakteri (*nata de coco*) dibeli dari SMKN 5 Jember pada usia panen 10 hari.
2. Proses hidrolisis dilakukan menggunakan H₂SO₄ 50% selama 90 menit pada 50°C.
3. Variasi pH proses adsorpsi 3-6.
4. Variasi kekuatan ionik NaCl, yaitu 0,02-0,08 M.
5. Massa adsorben 0,1 g.
6. Protein model yang digunakan adalah BSA 67 kD pada konsentrasi 400 ppm.
7. Proses adsorpsi dilakukan selama 90 menit pada suhu 28°C dengan kecepatan *shaker* 100 rpm.
8. Ukuran serbuk BC dan BC-m adalah 60 mesh.

1.4 Tujuan Penelitian

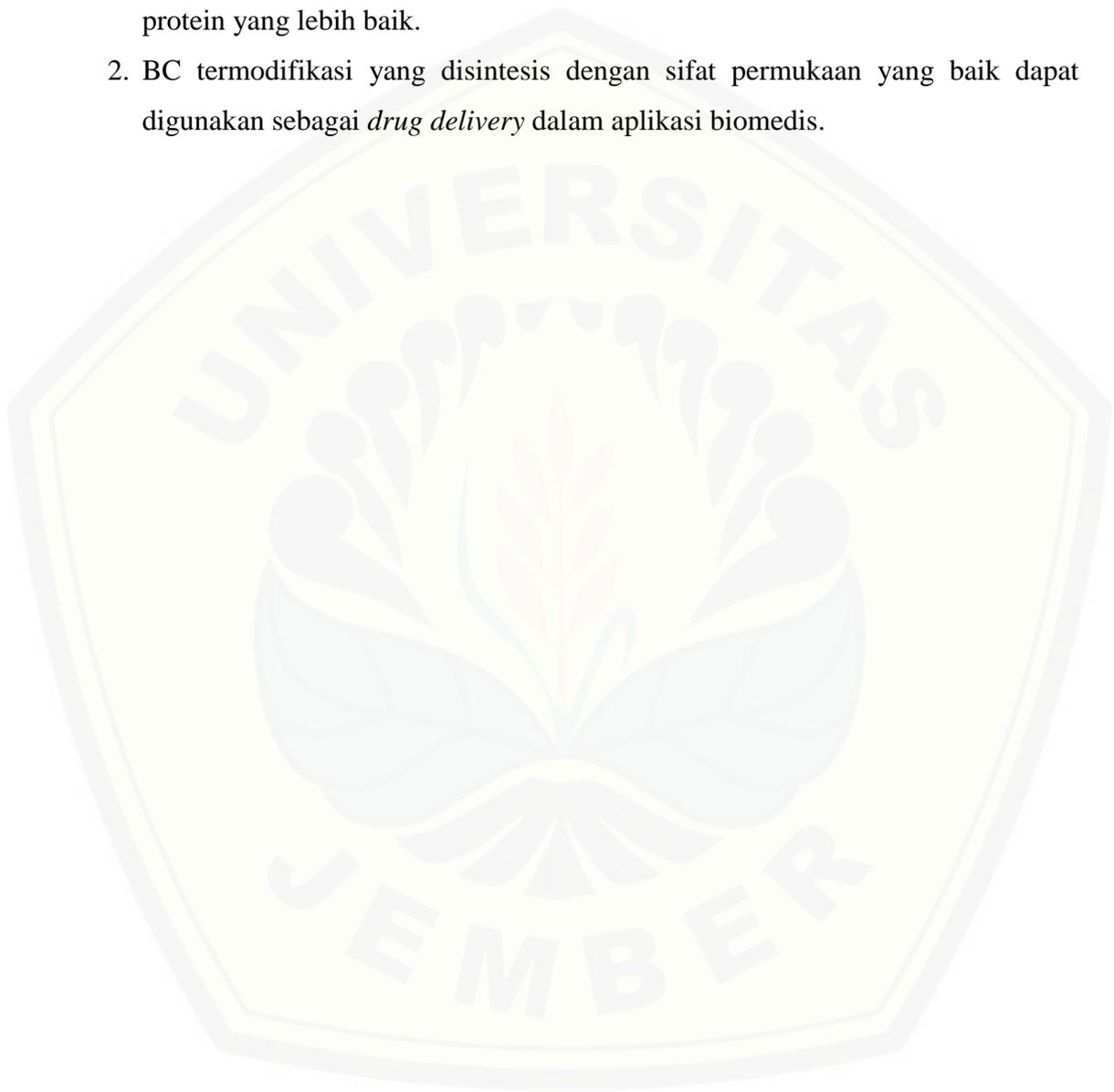
Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh modifikasi hidrolisis asam terhadap perbedaan karakteristik gugus fungsi dan derajat kristalinitas pada BC dan BC-m.
2. Mengetahui pengaruh variasi pH sistem larutan dan kekuatan ionik terhadap nilai adsorpsi BSA pada BC dibandingkan dengan BC-m.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dalam penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai sintesis BC termodifikasi yang dapat menghasilkan muatan negatif, sehingga memberikan daya adsorpsi terhadap protein yang lebih baik.
2. BC termodifikasi yang disintesis dengan sifat permukaan yang baik dapat digunakan sebagai *drug delivery* dalam aplikasi biomedis.

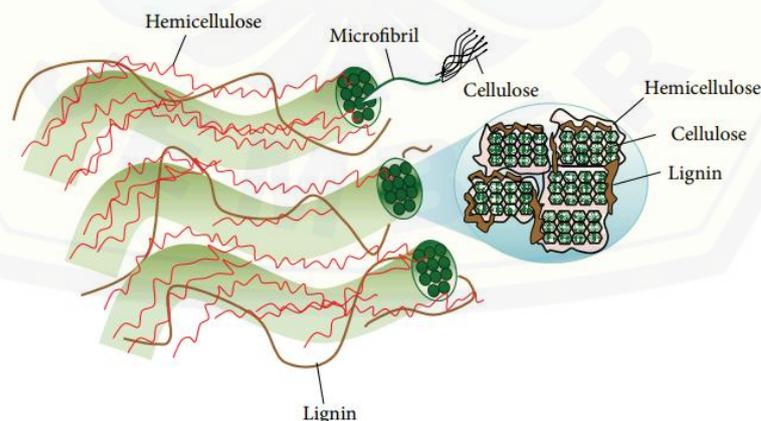


BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Selulosa

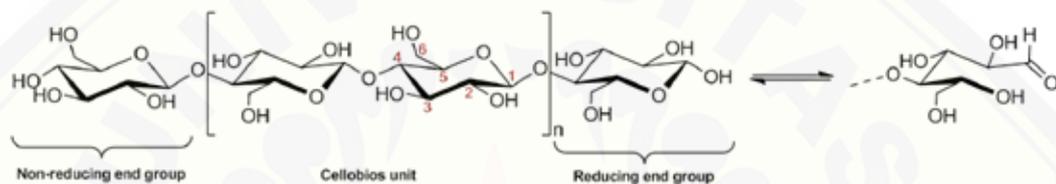
Selulosa merupakan suatu jenis polimer hidrofilik yang tersusun dari monomer glukosa. Selulosa merupakan material penyusun utama pada dinding sel tumbuhan (Suka, 2010). Berdasarkan pada gambar 2.1, diketahui bahwa keberadaan selulosa akan selalu ditemukan juga bagian polisakarida lainnya, yaitu hemiselulosa dan lignin. Akan tetapi kedua jenis polisakarida tersebut hanya ditemukan dalam bagian menyilang serat mikro pada tanaman saja. Selulosa yang terdapat pada dinding sel merupakan hasil sintesis dari kompleks enzim terminal (TCs).

Selulosa hasil sintesis kemudian disimpan di bagian dalam dinding sel yang tersusun secara rapi dan kuat (Tokoh *et al.*, 1998). Selulosa memiliki dua struktur unit sel yang berbeda, yaitu selulosa I_{α} dan I_{β} . Masing-masing bentuk tersebut memiliki satu rantai triklinik dan dua monoklinik pada unit sel. Serat mikro selulosa tersusun atas kelompok polisakarida secara paralel. Serat tersebut kemudian akan saling berikatan untuk membentuk serat makro. Molekul selulosa tersusun atas 14.000 unit dari rantai serat mikro D-glukosa dengan bentuk ikatan yang melilit dalam ikatan hidrogen (Mohammad *et al.*, 2014).



Gambar 2.1 Struktur Dinding Sel Tanaman dan Bagian Menyilang Serat Mikro (Lee *et al.*, 2014).

Polimer selulosa merupakan homo-polisakarida linear yang tersusun atas molekul *D-anhydroglucopyranose unit* (AGU) terikat secara bersama melalui ikatan β -1,4-glikosidik. Setiap AGU akan berputar pada sudut 180° terhadap molekul tetangganya, serta dua AGU yang lain akan saling berikatan membentuk selobios (Gambar 2.2). Selobios merupakan suatu unit terkecil atau monomer dari polimer selulosa. Derajat polimer dari selulosa dapat ditentukan berdasarkan pada banyaknya unit ulangan molekul AGU yang merupakan unit penyusun polimer (Börjesson dan Westman, 2015).



Gambar 2.2 Struktur Molekul Polimer Selulosa dari Unit Terkecil Selobiosa (Börjesson dan Westman, 2015).

Selulosa merupakan material biopolimer di alam yang paling banyak dan memiliki nilai ekonomis yang sangat besar. Selulosa merupakan salah satu material yang terdapat di dalam biomass yang memiliki potensi besar dalam menghasilkan energi, yaitu etanol. Selulosa dapat dijumpai pada kapas dan kayu sebagai material penyusunnya dengan persentasi masing-masing adalah 94% dan 50% (Keshk dan Sherif, 2014). Selain dapat dijumpai pada kayu dan tanaman, selulosa juga dapat ditemukan dalam berbagai jenis bakteri, algae, dan hewan laut yang terdiri dari protein dan karbohidrat (Börjesson dan Westman, 2015). Selulosa dibagi atas tiga jenis berdasarkan pada derajat polimerisasi dan tingkat kelarutannya di dalam NaOH, diantaranya α -selulosa, β -selulosa, dan γ -selulosa. α -selulosa sering digunakan sebagai parameter dalam menentukan tingkat kemurnian selulosa, di mana semakin tinggi kadar α -selulosa ($\alpha > 92\%$) maka tingkat kemurniannya terhadap selulosa semakin tinggi (Sumada *et al.*, 2011).

2.2 Selulosa bakteri

Selulosa bakteri merupakan salah satu jenis selulosa yang spesial karena diproduksi dengan bantuan mikroorganisme, yaitu bakteri *Acetobacter xylinum* (Trovatti dan Eliane, 2013). Produksi selulosa bakteri secara tidak konvensional dari air kelapa berasal dari Filipina, pertama kali dikembangkan pada tahun 1949. Produksi selulosa bakteri kemudian terus berkembang dan populer di beberapa negara, seperti Jepang, Korea dan Amerika (Jagannath *et al.*, 2008). Selulosa yang dihasilkan oleh *Acetobacter xylinum* memiliki komposisi serat yang lebih baik jika dibandingkan dengan selulosa yang terdapat pada tanaman. Setiap serat pada selulosa bakteri memiliki diameter lebih dari 50 nm (Mohammad *et al.*, 2014). Selulosa bakteri merupakan eksopolisakarida yang memiliki tingkat kemurnian yang lebih tinggi. Hal ini dikarenakan pada selulosa bakteri tidak lagi ditemukan senyawa lignin, pektin, dan hemiselulosa yang biasanya dijumpai di dalam selulosa tanaman (Sukara dan Meliawati, 2014).

Selulosa bakteri memiliki beberapa keunggulan jika dibandingkan dengan selulosa yang dihasilkan oleh tanaman, diantaranya derajat kristalinitas polimer dan derajat polimerisasi yang tinggi, serta tingkat kekuatan mekanik dan daya tampung air yang lebih tinggi (Tsuchida dan Yoshinaga, 1997). Menurut Almeida *et al.* (2013) mengatakan bahwa, selulosa bakteri juga memiliki gaya regangan dan elastisitas yang tinggi serta bersifat *biodegradable*. Selulosa bakteri memiliki indeks kristalinitas sekitar 75-80%, sehingga dapat dibedakan dengan selulosa dari tanaman (Li dan Ragauskas, 2011). Selulosa bakteri dan selulosa pada tanaman memiliki perbedaan yang unik, yaitu adanya pita-pita kecil (*ribbons*) yang dapat dijumpai pada selulosa bakteri (Gambar 2.3). *Ribbons* memiliki peranan yang cukup penting dalam memperkuat struktur selulosa bakteri. Derajat polimerisasi pada selulosa bakaterial (16.000-20.000) lebih tinggi dibandingkan dengan selulosa tanaman (13.000-14.000).



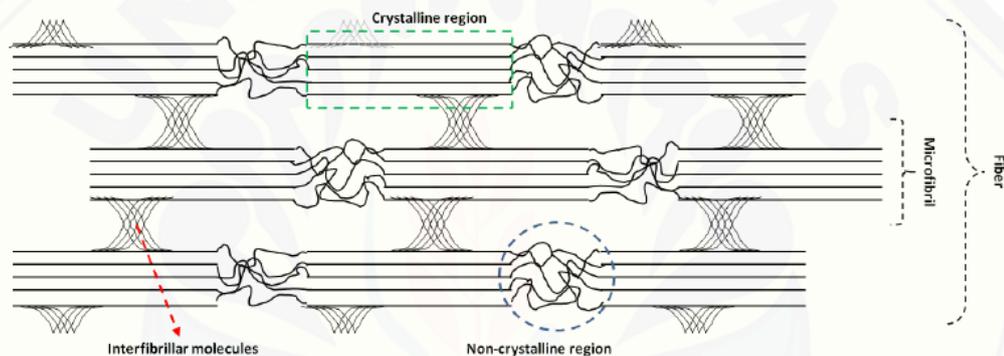
Gambar 2.3 Bioselulosa (kiri) dan Selulosa Tanaman (kanan) (Mohammad *et al.*, 2014).

Produksi selulosa bakteri lebih menguntungkan, karena tidak menimbulkan polusi dan biaya yang dikeluarkan lebih murah. Hal ini didasarkan pada kemurnian selulosa yang dihasilkan serta bebas dari lignin yang dapat membentuk lignoselulosa sehingga dibutuhkan biaya lebih tinggi untuk proses pemisahan. Pemisahan selulosa dari lignin membutuhkan teknologi yang lebih canggih dan membutuhkan energi (Sukara dan Meliawati, 2014). Media kultur bagi produksi selulosa bakteri membutuhkan senyawa karbohidrat, protein, garam-garam anorganik, dan vitamin untuk menghasilkan kualitas yang baik. Keberadaan mineral tersebut sangat mempengaruhi proses pertumbuhan dan produksi selulosa bakteri yang merupakan sumber makanan kedua bagi bakteri setelah sukrosa (Almeida *et al.*, 2013).

Selulosa bakteri dapat digunakan dalam industri makanan, kertas, tekstil, obat-obatan, komposit membran (Oshima *et al.*, 2011), perawatan pada penderita penyakit ginjal, dan *implant* sebagai benang jahit dalam proses pembedahan (Rahayu dan Rohaeti, 2014). Selain itu, selulosa bakteri juga merupakan suatu material yang baik untuk digunakan sebagai matriks suatu komposit. Hal ini dikarenakan pada selulosa bakteri dijumpai benang-benang halus (serat-serat fibril) yang dapat berperan dalam meningkatkan aktivitas permukaan material komposit yang tinggi (Windarti dan Astuti, 2006).

2.3 Bacterial Cellulose Nanocrystalline (BCNC)

Bacterial nanocellulose merupakan hasil sintesis dari bakteri khusus dan tumbuh sebagai serat mikro (*microfibrils*) dalam suatu medium kultur. BCNC memiliki ukuran panjang 50-500 nm dengan lebar 3-5 nm dan mengandung fraksi struktur kristal $I\beta$ 68-94% (Moon *et al.*, 2011). *Microfibrils* dari BNC dapat dihidrolisis menjadi suatu *bacteria nanocrystals* melalui reaksi hidrolisis asam dan dengan menggunakan alat sonikasi (Li *et al.*, 2011). Menurut Li dan Ragauskas (2011) mengatakan bahwa, produk *nanocrystalline cellulose* sangat dipengaruhi oleh waktu untuk proses hidrolisis asam dan ultrasonikasi, konsentrasi asam, dan temperatur.



Gambar 2.4 Bagian Serat Selulosa yang Tersusun dari Daerah Kristalin dan Non Kristalin (Börjesson dan Westman, 2015).

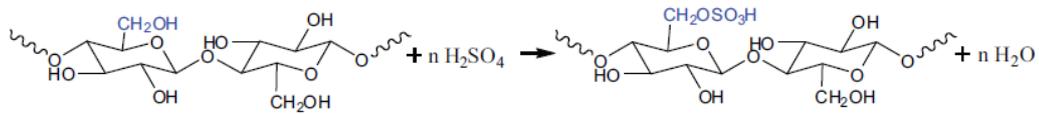
Biosintesis serat pada selulosa terjadi akibat gaya *van der waals* dan intermolekuler ikatan hidrogen. Serat dalam selulosa terdiri atas dua bagian, yaitu daerah kristalin dan daerah amorf (Gambar 2.4) (Moon *et al.*, 2011). BCNC memiliki derajat kristalinitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakterial selulosa (BC). Hal ini dikarenakan bagian amorf seperti pada gambar 2.4 akan semakin sedikit jumlahnya setelah mengalami depolimerisasi melalui proses hidrolisis asam. Proses hidrolisis asam akan memindahkan bagian non-kristalin dari selulosa, sehingga yang tersisa setelah proses hidrolisis asam hanya bagian-bagian kristalin sebagai *Bacterial Cellulose Nanocrystalline* (BCNC) (Yue *et al.*, 2012). Sifat dari nano kristal yang dihasilkan bergantung pada sumber selulosa yang digunakan dan proses degradasi. BCNC memiliki lebar sekitar 2-30 nm

dengan panjang ratusan nanometer. Bagian non-kristalin pada selulosa merupakan struktur yang rusak dalam *microfibrils*. Proses ultrasonikasi juga akan berperan penting dalam meningkatkan derajat kristalinitas nano selulosa yang dihasilkan. Oleh karena itu, kombinasi proses hidrolisis asam dengan ultrasonikasi merupakan kombinasi yang baik dalam menghasilkan BCNC (Li *et al.*, 2011).

BCNC memiliki beberapa keunggulan, sehingga dapat digunakan sebagai material nanokomposit polimer diantaranya: memiliki kristalinitas yang tinggi, modulus yang tinggi, dan kekuatan sebagai sifat superior. Beberapa sifat keunggulan tersebut yang membuat BCNC memiliki stabilitas termal yang tinggi pada nanokomposit polimer dan digunakan sebagai adsorben protein maupun mineral logam berat (George *et al.*, 2011). Selain itu menurut Calashnikova *et al.* (2011) mengatakan bahwa, BCNC juga dapat digunakan sebagai stabilitas emulsi. Hal tersebut ditunjukkan ketika BCNC diberi perlakuan mekanik seperti sentrifugasi, filtrasi, *shaking/stirrer*, pemanasan, *vortex* dan *rotor stator blender* pada 1500 rpm. Perlakuan tersebut tidak merubah kestabilan emulsinya dengan menunjukkan kestabilannya tanpa berubah bentuk dalam ukuran semula.

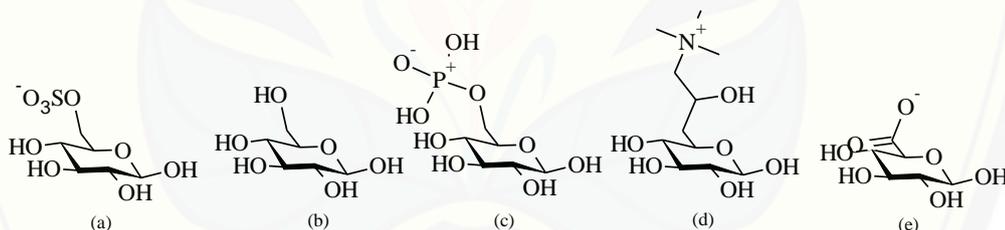
2.4 Hidrolisis Asam

Hidrolisis asam merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mendapatkan bagian kristalin dari serat mikro selulosa (Moon *et al.*, 2011). Proses hidrolisis asam dapat dilakukan dengan berbagai jenis asam, seperti asam pospat, asam sulfat, asam klorida, dan asam asetat. Hidrolisis asam akan memutus ikatan glikosidik pada polimer dan reaksi hidrolisis juga berlangsung pada ujung gugus pereduksi (Gambar 2.5). Tahap pertama yang terjadi adalah pemutusan ikatan glikosidik pada bagian non-kristal (amorf) pada serat selulosa. Berdasarkan pada gambar tersebut, selulosa setelah mengalami proses hidrolisis akan memiliki gugus tiosulfat (R-OSO₃H). Gugus tiosulfat yang terbentuk dikarenakan, proses hidrolisis menggunakan asam sulfat, sehingga untuk jenis penggunaan asam berbeda akan menghasilkan gugus fungsi yang berbeda pula. Reaksi hidrolisis juga terjadi pada permukaan nano kristal, sehingga akan membuat material nano kristal menjadi bermuatan (Börjesson dan Westman, 2015).



Gambar 2.5 Reaksi Esterifikasi Gugus Hidroksil pada Selulosa Selama Proses Hidrolisis Asam Sulfat (Li dan Ragauskas, 2011).

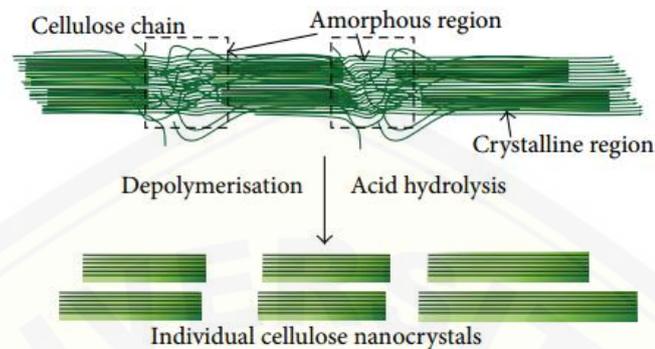
Muatan yang terdapat pada nano kristal akan sangat bergantung pada jenis asam yang digunakan untuk proses hidrolisis asam (Gambar 2.6). Larutan asam sulfat dengan konsentrasi 64% yang digunakan dalam proses hidrolisis, akan membuat nano kristal yang dihasilkan mengandung gugus sulfat 0,5-2%. Menurut Yu *et al.* (2012), hidrolisis dengan asam sulfat akan menghasilkan gugus sulfat bermuatan negatif yang terikat pada gugus hidroksil pada permukaan kristal. Hidrolisis asam klorida akan menghasilkan gugus hidroksil. Berdasarkan pada gambar 2.6, jenis gugus fungsi yang dihasilkan pada proses hidrolisis asam adalah bermuatan negatif. Jumlah dari keberadaan gugus muatan tersebut akan sangat bergantung pada jenis asam dan konsentrasi larutan asam.



Gambar 2.6 Modifikasi Permukaan BCNC dengan Gugus Fungsi yang Berbeda Berdasarkan Penggunaan Jenis Asam (Börjesson dan Westman, 2015).

Proses hidrolisis asam akan memutus ikatan glikosidik (β -1,4) pada selulosa. Depolimerisasi selulosa akan sangat bergantung pada penggunaan jenis asam, waktu hidrolisis, konsentrasi, dan temperatur. Bagian amorf dari selulosa akan dipecah, sehingga melepaskan bagian kristalin yang kemudian akan bereaksi dengan asam melalui gugus hidroksil (esterifikasi). Gambar 2.7 mengilustrasikan proses tentang depolimerisasi bagian amorf dari rantai polimer selulosa setelah pelakuan hidrolisis asam, sehingga yang dihasilkan pada proses tersebut adalah

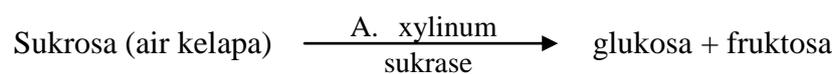
bagian kristalin. Oleh karena itu, BCNC akan memiliki derajat polimerasi yang rendah dan derajat kristalinitas yang tinggi.

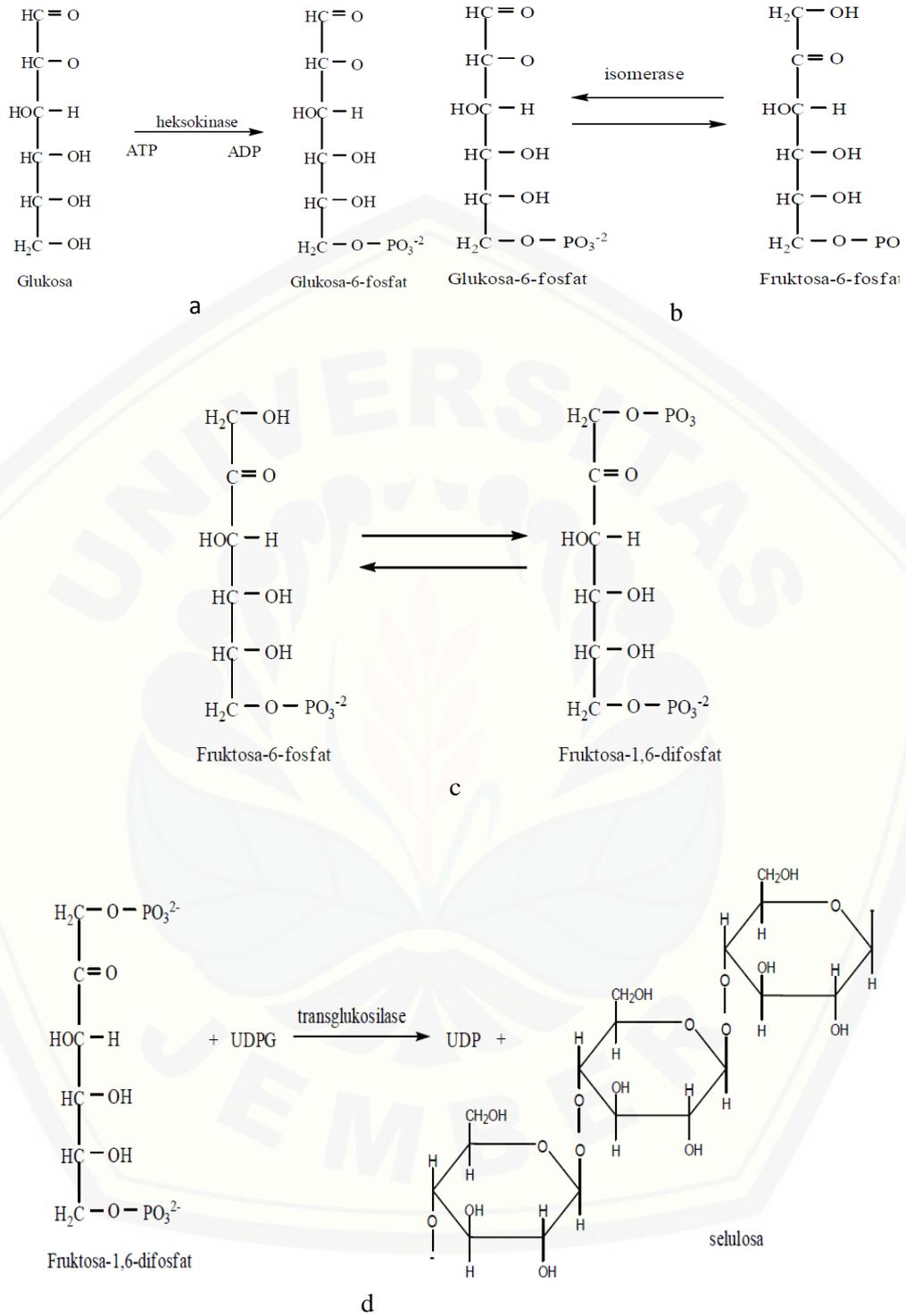


Gambar 2.7 Depolimerisasi Selulosa Menjadi Nanoselulosa (Lee *et al.*, 2014).

2.5 Biosintesis Selulosa

Sintesis selulosa yang dilakukan dengan menggunakan bantuan bakteri disebut sebagai biosintesis selulosa. Glukosa merupakan sumber karbon yang digunakan bakteri *A. xylinum* dalam memproduksi selulosa. Selulosa juga dapat disintesis dari molekul yang lainnya, seperti fruktosa, galaktosa, xilosa, oligosakarida, dan gliserol (Keshk, 2014). Selulosa dihasilkan melalui empat tahapan enzimatik (Gambar 2.8). Pertama, glukosa akan ditransfer melewati membran dari sel bakteri. Tahapan kedua yaitu proses fosforilasi dengan menggunakan enzim *glucose kinase* untuk menghasilkan glukosa 6-fosfat. Produk tersebut kemudian terisomerisasi menjadi glukosa 1-fosfat menggunakan enzim *phosphoglucomutase*. Glukosa 1-fosfat kemudian dirubah menjadi *uridine 5'-diphosphate glucose (UDPG)* menggunakan enzim *UDPG pyrophosphorylase*. Tahapan terakhir, *UDPG* dipolimerisasi menggunakan enzim *cellulose syhnthase* untuk menjadi selulosa (Wong *et al.*, 1990).





Gambar 2.8 Sintesis Selulosa bakteri, a. Fosforilasi Glukosa, b. Reaksi Isomerisasi dari Glukosa-6-Fosfat, c. Reaksi Pemindahan Fosfat Baru, d. Reaksi Pembentukan Selulosa (Rahayu dan Rohaeti, 2014).

2.6 *Nata de Coco*

Nata de coco merupakan hasil fermentasi air kelapa menggunakan bantuan *Acetobacter xylinum*. *Nata de coco* sering dimanfaatkan dalam bidang kimia, seperti penggunaannya sebagai membran, bahan diafragma transducer, adsorben logam, dan sensor glukosa (Mulyono *et al.*, 2007). *Nata de coco* juga merupakan salah satu jenis produk pangan di Indonesia. *Nata de coco* dapat dijadikan sebagai sumber makanan diet dan bahan aditif (Melliawati, 2008). Adapun faktor yang mempengaruhi pembentukan *nata de coco* adalah:

1. Sumber Karbon

Fermentasi pada bioselulosa (*nata de coco*) membutuhkan sumber karbon sebagai makanan sekaligus pertumbuhan pada bakteri. Sumber karbon tersebut dapat berupa senyawa monosakarida dan disakarida. Penggunaan sumber karbon berupa sukrosa yang terlalu berlebihan tidak akan mempengaruhi tekstur maupun berat basah dari nata (Jagannath *et al.*, 2008). Hal tersebut justru akan meningkatkan limbah residu sukrosa. Akan tetapi penambahan sukrosa dalam jumlah yang sedikit, mempengaruhi jumlah produk nata yang dihasilkan (semakin rendah). Hal ini dikarenakan pertumbuhan bakteri yang menghasilkan nata terganggu akibat dari nutrisi yang semakin berkurang (Mohammad *et al.*, 2014).

2. Sumber Nitrogen

Sumber nitrogen yang dapat digunakan selama proses fermentasi dapat berasal dari senyawa organik maupun anorganik. Sumber nitrogen yang dapat digunakan berasal dari ekstrak ragi, kasein, *ammonium sulphate* dan *ammonium phosphate*, serta urea. Akan tetapi, jenis sumber nitrogen yang sering digunakan untuk proses fermentasi yang mampu menghasilkan produk selulosa bakteri dengan kualitas yang baik berasal dari *ammonium sulphate* dan *ammonium phosphate* (Mohammad *et al.*, 2014).

3. Tempat Fermentasi

Media inokulasi untuk selulosa bakteri harus steril. Hal ini dikarenakan *Acetobacter xylinum* sangat sensitif terhadap perubahan sifat-sifat kimia dan fisika pada sistem dan lingkungannya. Selain itu, penggunaan wadah inokulasi dengan luas permukaan yang lebar juga akan menguntungkan. Hal ini dikarenakan *Acetobacter xylinum* merupakan jenis bakteri aerob, sehingga proses sirkulasi oksigen yang ada dapat berlangsung dengan baik (Widyaningsih dan Purwati, 2013). Proses sterilisasi alat yang digunakan dalam penumbuhan *Acetobacter xylinum* dapat dilakukan menggunakan oven pada suhu 160°C-170°C selama 1 jam. Proses tersebut dilakukan untuk menghilangkan kontaminan dari mikroorganisme yang tidak diinginkan (Budiarti, 2008).

4. pH

Tingkat keasaman atau pH merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam keberhasilan proses fermentasi. Pengaturan pH dilakukan bertujuan untuk menghambat pertumbuhan ragi yang sering menghambat pertumbuhan selulosa bakteri. *Acetobacter xylinum* akan tumbuh dan berkembang dengan baik pada pH asam (4-5) (Rahayu dan Rohaeti, 2014).

5. Suhu

Pertumbuhan dari *Acetobacter xylinum* sangat dipengaruhi oleh temperatur sistem. Bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada temperatur 28°C - 31°C (suhu kamar). Pertumbuhan bakteri di bawah suhu 28°C akan terhambat. Suhu media inokulum dari bakteri melebihi 31°C, maka akan menyebabkan kerusakan bahkan sampai pada kematian (Mohammad *et al.*, 2014).

6. Waktu Fermentasi

Lama waktu pada proses fermentasi selulosa bakteri (*nata de coco*) akan mempengaruhi ketebalan produk yang dihasilkan. Selulosa bakteri yang dihasilkan akan semakin tebal seiring dengan lamanya waktu fermentasi yang dibutuhkan. Proses fermentasi selulosa bakteri pada umumnya dilakukan selama

7-14 hari. Waktu fermentasi yang digunakan semakin lama maka akan membuat jumlah glukosa yang dipintal oleh *Acetobacter xylinum* juga akan semakin banyak (Widyaningsih *et al.*, 2014).

2.7 Protein

Protein merupakan suatu biomakromolekul yang mengandung beberapa gugus fungsi dengan perbedaan pada ukuran, bentuk, muatan, dan kemampuan dalam membentuk ikatan hidrogen. Perbedaan gugus fungsi timbul karena terdapat dua jenis asam amino yang dapat membentuk ikatan bersama dalam suatu rantai polipeptida (Latour, 2005). Protein terdiri dari unit ulangan asam amino yang berbeda, oleh karena itu protein bukan merupakan suatu polimer. Beberapa asam amino penyusun protein membawa rantai samping karboksil dan gugus amina. Kedua jenis gugus tersebut bebas dan tidak mengalami perubahan dalam pelarut ketika protein berada di dalam larutan. Gugus tersebut akan terdisosiasi dalam larutan dengan pH yang sesuai, dengan menghasilkan spesi ion $-\text{COO}^-$ dan $-\text{NH}_3^+$ yang menempel pada protein. Gugus karboksilat akan terionisasi pada pH di atas 4, sedangkan gugus amonium pada pH di bawah 12 (Hamid *et al.*, 2010).

Stabilitas konformasi dari protein dapat dijelaskan melalui perubahan energi bebas untuk reaksi denaturasi protein. Masing-masing protein memiliki nilai titik isoelektrik yang berbeda dan merupakan keadaan yang paling stabil (Pasche, 2004). Protein juga memiliki empat tingkatan struktur yang berbeda, di antara struktur primer, sekunder, tersier, dan kuarterner. Struktur protein secara umum memiliki residu gugus hidrofobik pada permukaan dan residu gugus hidrofilik yang terpendam didalam inti protein (Latour, 2005). Struktur primer dari protein akan menentukan sifat protein yang mempengaruhi aktivitas permukaan. Hal tersebut berkaitan dengan interaksi permukaan pada protein yang dipengaruhi oleh susunan urutan asam amino (Dee, 2002). Interaksi suatu protein dengan permukaan adsorben juga akan sangat dipengaruhi oleh sifat dari protein itu sendiri yang meliputi: ukuran, muatan, stabilitas struktur, dan laju *unfolding* dari protein (Tabel 2.1). Keempat jenis sifat protein yang menentukan banyaknya

protein yang mampu teradsorp oleh adsorben, sehingga akan dapat ditentukan nilai kapasitas adsorpsi dari BCNC.

Tabel 2.1 Sifat Protein yang Mempengaruhi Interaksi dengan Permukaan

Sifat	Pengaruh
Ukuran	Molekul dengan ukuran yang besar akan memiliki banyak sisi yang dapat digunakan untuk terjadinya kontak dengan permukaan.
Muatan	Molekul yang mendekati titik isoelektrik secara umum mengadsorb lebih mudah.
Stabilitas Struktur	Protein yang kurang stabil, seperti gaya intramolekuler yang rendah, kemungkinan terjadi <i>unfolding</i> jauh lebih tinggi dan kontak dengan permukaan.
Laju <i>Unfolding</i>	Molekul yang mengalami proses <i>unfolding</i> lebih cepat dapat kontak dengan permukaan lebih cepat.

(Dee, 2002).

2.7.1 Albumin

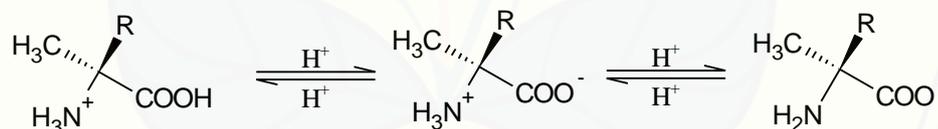
Albumin merupakan protein dengan kelimpahan paling banyak didalam plasma. Albumin mengandung beberapa residu asam amino, di mana keberadaan triptofan dan metionin sangat sedikit sedangkan sistein dengan kadar yang tinggi. Selain itu, jumlah muatan asam dan basa dari asam amino juga lebih banyak (Quiming *et al.*, 2005). Albumin didalam plasma dalam keadaan normal jumlahnya lebih dari 50% dengan konsentrasi yang mendekati 0,6 mmol/L (Quinlan *et al.*, 2005). Serum albumin memiliki stabilitas yang baik dan keberadaannya pada kemurnian yang tinggi dan murah. Selain itu, tidak ditemukannya gugus prostetik atau karbohidrat membuat penggunaannya semakin luas. Albumin sering digunakan dalam berbagai bidang, salah satunya dalam penelitian sebagai model protein, reagen diagnostik, kimia pangan, dan larutan standar dalam analisis kimia (Atmeh *et al.*, 2007).

Albumin memiliki sifat yang unik, yaitu kemampuannya dalam mengikat secara reversibel dari berbagai ligan. Albumin memiliki afinitas yang baik pada asam lemak, hematin, bilirubin, dan afinitas yang luas untuk muatan negatif yang kecil pada senyawa aromatik (Quiming *et al.*, 2005). Monomer albumin terdiri dari 3 domain homolog mencakup urutan yang lengkap dengan struktur bentuk

hati. Struktur tersebut ditopang oleh interaksi hidrofobik, ikatan hidrogen, dan jembatan disulfida (Escudeiro *et al.*, 2014). Masing-masing domain memiliki peranan yang spesifik terhadap karakteristik struktur fungsionalnya, di mana setiap domain tersusun atas 2 subdomain (Atmeh *et al.*, 2007).

2.7.2 Adsorpsi Protein

Perilaku adsorpsi pada protein dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya protein, substrat, pelarut, elektrolit dengan berat molekul yang kecil, dan surfaktan. Akan tetapi, tiga komponen yang sangat berpengaruh terhadap proses adsorpsi adalah protein, substrat, dan pelarut (Felsevalyi, 2012). Mekanisme adsorpsi bergantung pada derajat interaksi adsorbat-adsorbat dan interaksi adsorbat-pelarut. Proses adsorpsi meliputi adsorpsi kimia dan fisika, seperti pertukaran ion dan kompleksasi kimia (Soupajärvi, 2015). Konformasi yang sedikit stabil pada protein akan meningkatkan daya adsorpsinya terhadap permukaan material. Hal ini dikarenakan terjadinya peningkatan nilai entropi (Berg *et al.*, 2005).



Gambar 2.9 Keadaan Ionisasi Protein sebagai Fungsi pH (Berg *et al.*, 2005).

Berdasarkan pada gambar 2.9, terdapat dua gugus utama pada setiap protein, yaitu gugus karboksilat dan amina. Kedua gugus tersebut sangat dipengaruhi oleh keadaan pH, di mana masing-masing gugus tersebut bisa mengalami protonasi maupun deprotonasi. Keadaan protein yang semacam itu akan sangat mempengaruhi proses adsorpsi, di mana gugus muatan total pada protein harus berlawanan dengan adsorben supaya interaksi yang terjadi akan lebih sering melalui interaksi elektrostatik. Interaksi diantara protein dengan selulosa bakteri termodifikasi meliputi interaksi elektrostatik, interaksi hidrogen, dan juga interaksi kimia yang lainnya (Epaillard *et al.*, 2012). Selain itu, interaksi protein

dengan adsorben juga akan dipengaruhi oleh kekuatan ionik larutan. Menurut Skoog *et al.* (2004) mengatakan bahwa, semakin tinggi konsentrasi garam yang ada pada sistem larutan, maka kelarutan protein akan semakin rendah.

$$\log S = C - K\mu \quad (2.1)$$

S merupakan kelarutan protein, C merupakan konstanta fungsi dari pH, suhu, dan protein, K merupakan konstanta *salting-out* fungsi dari protein dan garam yang digunakan, μ merupakan kekuatan ionik.

Interaksi elektrostatik akan sangat dipengaruhi oleh keberadaan gugus muatan diantara kedua material, yaitu adsorben (BC termodifikasi) dan adsorbat (protein). Interaksi hidrogen terjadi pada atom nitrogen (N) pada protein dengan atom hidrogen (H) pada selulosa. Sedangkan, bagian permukaan hidrofobik pada protein akan teradsorpsi dengan bagian hidrofobik permukaan material. Protein yang akan teradsorpsi pada permukaan akan melepaskan molekul air untuk meningkatkan entropi sistem. Bagian luas permukaan sisi hidrofobik dan densitas permukaannya akan sangat mempengaruhi daya adsorpsi terhadap protein (Ostuni *et al.*, 2003).

Adsorpsi protein pada permukaan polimer disebabkan karena adanya gaya interaksi yang terjadi diantara kedua molekul. Interaksi tersebut timbul akibat adanya muatan yang dimiliki oleh adsorben (polimer) dan adsorbat (protein). Sedangkan untuk tahapan proses adsorpsi dibagi atas tiga bagian, antara lain: transfer protein menuju permukaan, penempelan protein pada permukaan, perubahan konformasi pada protein (Epaillard *et al.*, 2012). Adapun jenis interaksi yang mungkin terjadi diantara keduanya adalah sebagai berikut:

1. Interaksi Hidrofobik
2. Ikatan Ionik (elektrostatik)
3. Ikatan Hidrogen
4. Interaksi *Van der Waals*

(Pasche, 2004).

Jumlah protein yang teradsorpsi pada permukaan *biomaterial* dapat ditentukan dari penurunan konsentrasi BSA yang terdapat di dalam medium

larutan. Hal tersebut tetap mempertimbangkan volume adsorpsi dan jumlah adsorben dalam adsorpsi:

$$q = [(C_i - C_e) \cdot V] / m \quad (2.2)$$

q merupakan jumlah BSA yang teradsorpsi pada permukaan adsorben (mgBSA/g adsorben), C_i dan C_e merupakan konsentrasi protein di dalam larutan mula-mula dan fase akuos setelah perlakuan pada waktu adsorpsi selama 1,5 jam (ppm BSA), m merupakan jumlah adsorben yang digunakan, dan V merupakan volume larutan BSA (L) (Akgül *et al.*, 2008).

2.8 Spektrofotometer UV-vis

Spektroskopi merupakan cabang disiplin kimia analitik yang mempelajari tentang interaksi suatu materi dan radiasi. Analisis pada metode spektroskopi berdasarkan pada jumlah radiasi yang dihasilkan atau diserap oleh suatu molekul (Skoog *et al.*, 2004). Analisis tersebut lebih memperhatikan pada identifikasi dan kualifikasi suatu spesies analit dari sifat optisnya. Spektrum radiasi elektromagnetik digunakan sebagai entitas perantara sebagai pengukuran analisis kimia secara kualitatif dan kuantitatif. Pengukuran intensitas radiasi elektromagnetik tersebut dapat terjadi pada satu jenis panjang gelombang atau lebih (Siswoyo dan Asnawati, 2007).

Interaksi yang terjadi di dalam spektroskopi melibatkan transisi akibat adanya perbedaan tingkatan energi pada suatu spesies kimia. Sampel kimia yang akan di analisis selalu berada pada keadaan dasar (*ground state*). Keadaan tersebut merupakan keadaan di mana sampel kimia memiliki energi terendah dan akan mengalami transisi menuju keadaan tereksitasi (*excited state*) ketika diberikan suatu stimulus. Stimulus tersebut dapat berupa panas, energi listrik, cahaya ataupun reaksi kimia. Informasi mengenai sampel dapat diperoleh melalui pengukuran emisi radiasi elektromagnetik saat kembali menuju keadaan dasar (Skoog *et al.*, 2004).

Suatu berkas cahaya yang dilewatkan pada suatu medium homogen, maka akan terjadi proses absorpsi dan transmisi dari cahaya yang datang (Siswoyo dan Asnawati, 2007). Kekuatan radian dari cahaya yang datang akan semakin

menurun dari P_0 menuju P yang dikarenakan adanya interaksi diantara foton dan partikel absorben. Transmittan (T) dari larutan merupakan jumlah fraksi kejadian transmisi radiasi oleh larutan, sering dinyatakan sebagai persen transmitansi,

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (2.3)$$

(Skoog *et al.*, 2004).

Absorbansi larutan berhubungan dengan nilai transmitansi dalam persamaan logaritma. Nilai absorbansi suatu larutan akan meningkat seiring dengan penurunan nilai transmitansi.

$$A = -\log T = -\log \frac{P_0}{P} \quad (2.4)$$

Nilai absorbansi sangat dipengaruhi oleh tiga faktor utama, yaitu konsentrasi larutan (C), panjang unit sel sebagai medium absorpsi (b), dan absorptivitas molar (ϵ).

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C \quad (2.5)$$

(Skoog *et al.*, 2004).

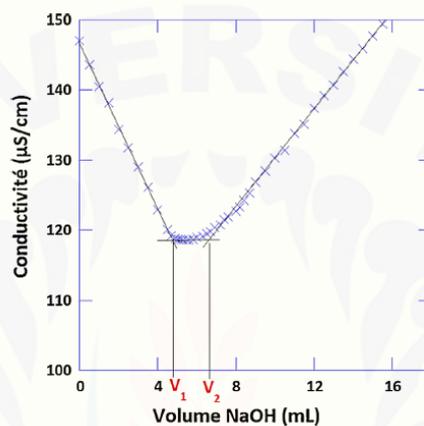
2.9 Metode Karakterisasi BCNC

2.9.1 Titrasi Konduktometri

Titrasi konduktometri merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam mendeteksi keberadaan gugus muatan pada *cellulose nanocrystalline* (CNC). Sampel yang akan dianalisis harus dibuat dalam bentuk suspensi. Suspensi CNC mengandung massa serbuk nano kristal dan pelarut yang mengandung kekuatan ionik. Keberadaan gugus bermuatan seperti tiosulfat dalam kristal selulosa dapat diidentifikasi menggunakan larutan basa seperti NaOH untuk melarutkan partikel asam. Gugus sulfat terprotonasi selama proses hidrolisis asam yang terdapat pada permukaan *bacterial cellulose nanocrystal* dapat diketahui jumlahnya dengan menggunakan metode titrasi konduktometri (Abitbol dan Kloser, 2013).

Atom sulfur dalam CNC berada dalam bentuk anion tiosulfat (gugus tiosulfat) pada permukaan nanokristal. Prinsip metode titrasi konduktometri merupakan teknik pengukuran sederhana secara tidak langsung dalam mendeteksi

gugus tiosulfat yang kuantitasnya sebanding dengan banyaknya ion hidronium yang dikonsumsi. Jumlah gugus muatan yang terbentuk dapat dianalisis dari hasil kurvasi titrasi yang disajikan pada gambar 2.10. Berdasarkan pada kurva tersebut, sumbu x merupakan jumlah volume NaOH yang dibutuhkan untuk menetralkan seluruh muatan yang ada pada permukaan nanokristal yang dinyatakan dalam konduktivitasnya sebagai sumbu y. Adapun bentuk kurva titrasi konduktometri dapat dilihat pada gambar 2.10.



Gambar 2.10 Kurva Titrasi Konduktometri (Romdhane *et al.*, 2015).

Titrasi konduktometri sangat bergantung pada preparasi dan purifikasi dari suspensi (Romdhane *et al.*, 2015). Metode titrasi konduktometri gugus tiosulfat dengan NaOH memiliki beberapa keuntungan, diantaranya adalah sebagai berikut:

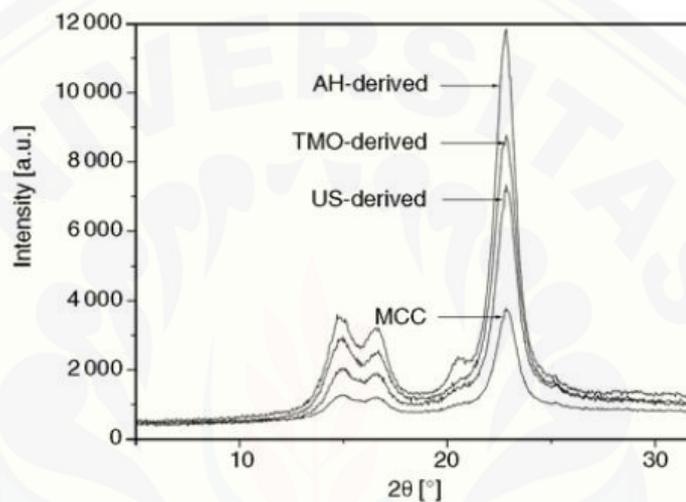
- Preparasi dan analisis sampel yang lebih cepat,
- Sederhana dan murah,
- Kemampuannya dalam membedakan gugus asam kuat dan asam lemah

(Beck *et al.*, 2014).

2.9.2 X-Ray Diffraction (XRD)

XRD merupakan alat yang digunakan untuk menentukan derajat kristalinitas dari sampel yang diamati. Hasil analisa yang dihasilkan dari XRD berupa puncak difraktogram dengan intensitas tertentu. Menurut Rahayu dan Rohaeti (2014) mengatakan bahwa, selulosa bakteri merupakan polimer kristalin yang akan

menghasilkan puncak serapan pada *range* sudut 2θ antara 200-400. Puncak serapan yang dihasilkan merupakan puncak dari dua jenis selulosa yang berbeda, yaitu $I\alpha$ dan $I\beta$ (amorf dan kristalin). Perbedaan intensitas dari beberapa sampel yang diamati akan menunjukkan perbedaan kristalinitas yang jelas. Semakin tinggi nilai intensitas yang dihasilkan dari analisis XRD, maka sampel tersebut memiliki derajat kristalinitas yang semakin baik. Berdasarkan pada perbedaan tersebut, maka dapat diketahui perbedaan pada sifat mekaniknya.



Gambar 2.11 Pola Difraksi X-ray dari MCC dan Nanoselulosa (Isolasi dari perlakuan yang berbeda) (Zhou *et al.*, 2012).

Berdasarkan gambar 2.11, diketahui bahwa analisis menggunakan XRD dalam menentukan derajat kristalinitas sampel menghasilkan beberapa puncak pada sudut 2θ , yaitu 14,8; 16,6; dan 22,9°. Intensitas puncak daerah kristal ditunjukkan pada 22,9° dan puncak amorf pada 16,6°. Perbedaan pada isolasi *Micro-Crystalline Cellulose* (MCC) akan menghasilkan derajat kristalinitas yang berbeda pula (hidrolisis asam, oksidasi, dan ultrasonikasi). Nanoselulosa memiliki derajat kristalinitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan MCC, sedangkan dari perlakuan isolasi untuk nanoselulosa yang memiliki derajat kristalinitas tertinggi adalah hidrolisis asam.

2.9.3 Fourier Transform Infrared (FTIR)

FTIR merupakan alat yang sering digunakan untuk identifikasi gugus fungsi dalam suatu molekul tertentu. Mekanisme kerja dari FTIR adalah terjadinya vibrasi yang diakibatkan oleh penyerapan sejumlah radiasi *infrared* dari suatu molekul yang mengenainya. Vibrasi tersebut menunjukkan keberadaan gugus fungsi dalam suatu molekul kimia yang akan menghasilkan suatu pita serapan pada bilangan gelombang tertentu. Analisis menggunakan FTIR merupakan suatu jenis analisis secara kualitatif dalam mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam sampel yang diamati (Rahayu dan Rohaeti, 2014). Masing-masing panjang bilangan gelombang memiliki makna berbeda, karena menunjukkan jenis gugus fungsi yang berbeda pula. Beberapa jenis gugus fungsi yang pada umumnya dapat terdeteksi pada FTIR, diantaranya adalah eter (C-O), hidroksil (-OH), keton (C=O), aldehyd (-CHO), amina (-NH₂), dan hidrokarbon lainnya (Afrizal, 2008).

Menurut Rahayu dan Rohaeti (2014) mengatakan bahwa, vibrasi yang dihasilkan saat dilakukan analisis dengan FTIR pada sampel selulosa bakteri akan memberikan hasil pita serapan dari regang -OH alkohol, cincin aromatik dari glukosa, C-O-C dari ikatan β-1,4-glikosidik, dan vibrasi cincin piranosa. Pita serapan yang dihasilkan akan muncul pada bilangan gelombang 3422,48 cm⁻¹, 2898,33 cm⁻¹, 1068,18 cm⁻¹, 1429,35-1281,84 cm⁻¹ (Afrizal, 2008). Proses hidrolisis asam akan menghasilkan bilangan gelombang baru untuk gugus pada C6 menjadi gugus tiosulfat pada bilangan gelombang 950-1150 cm⁻¹. Gugus yang ada pada C6 akan memberikan nilai bilangan gelombang berbeda untuk penggunaan larutan asam yang berbeda pula (Lin, 2014).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Fisik, Laboratorium Biokimia, Laboratorium Kimia Organik, Laboratorium Kimia Analitik, Laboratorium Instrumen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan *Centre for Development of Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai April 2017.

3.2 Alat dan Bahan

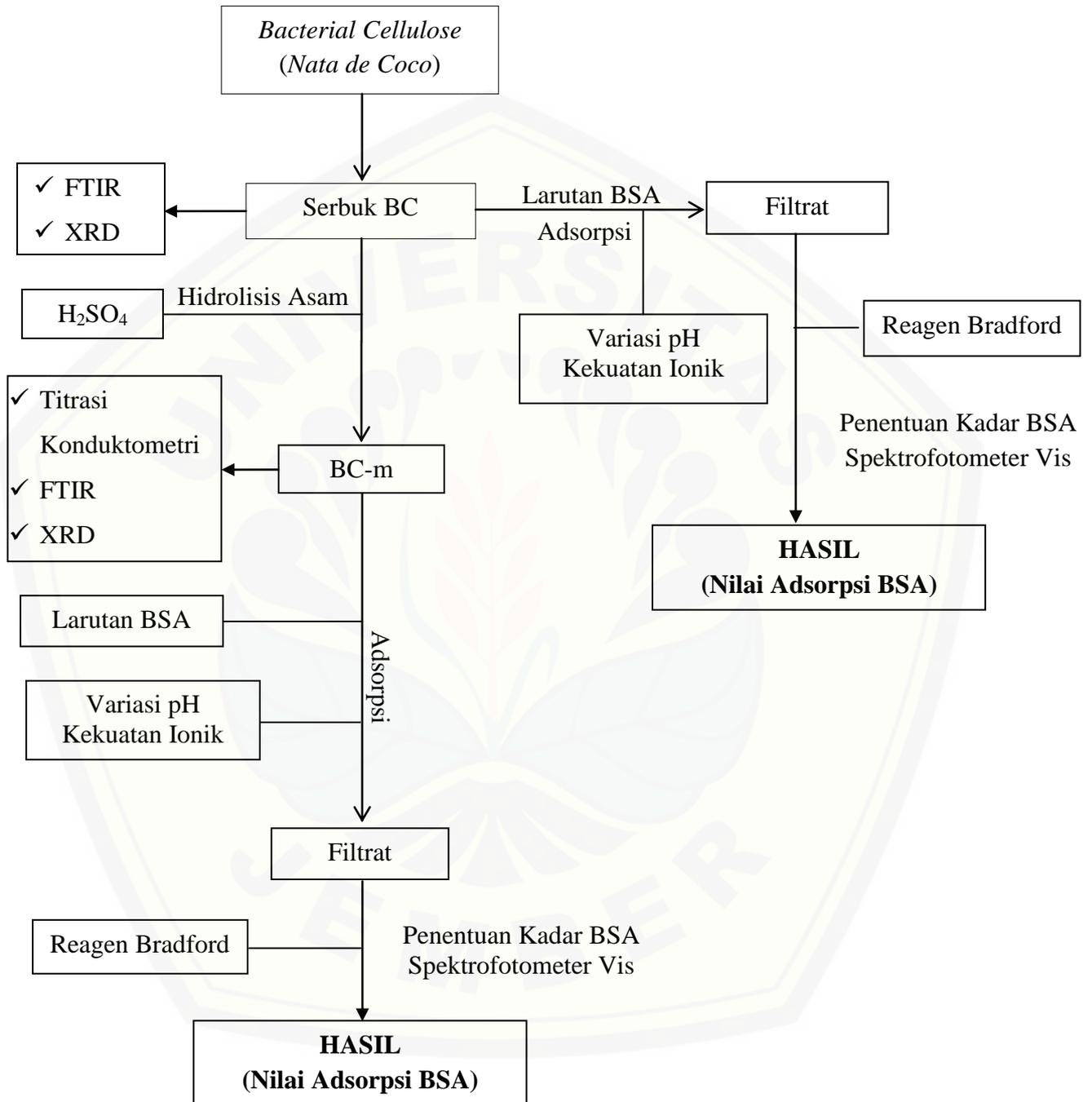
3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas kimia, gelas ukur, labu erlenmeyer, labu ukur, corong gelas, oven, termometer, pH-meter (Jenway), batang pengaduk, botol, kondensor refluks, mantel pemanas, selang air, labu leher tiga, statif, ayakan ukuran 60 mesh, pipet tetes, buret, pipet mohr, pipet volum, neraca analitik (Merck OHAOUS), cawan petri, tabung gas nitrogen, pH indikator universal, *magnetic stirrer* dan anak *stirrer*, blender, sentrifugator, tabung sentrifuse, kuvet, seperangkat alat ultrasonikasi (Branson Ultrasonics Sonifier S-250A), satu set alat konduktometer, XRD (Merck PANanalytical, Type: E'xpert Pro), FTIR (Merck Shimadzu), Spektrofotometer visibel 756 CRT.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *nata de coco*, H₂SO₄ 98% (p.a), H₃PO₄ 85% (p.a), HCl 37% (p.a), kristal NaOH, kristal NaCl, kristal oksalat (H₂C₂O₄.2H₂O), *Bovin Serum Albumin* (BSA) (sigma aldrich), *coomasie brilliant blue* G-250 (C₄₇H₅₀N₃O₇S₂), asam sitrat (C₆H₈O₇.H₂O), dinatrium hidrogen fosfat (Na₂HPO₄.2H₂O), gas nitrogen (N₂), kertas saring, kertas watman no. 66, akuades (H₂O), etnaol (C₂H₅OH) (p.a), aseton (C₃H₆O) (p.a), dan n-heksana (C₆H₁₄) (p.a).

3.3 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Preparasi BC, Modifikasi BC, dan Proses Adsorpsi BSA.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pemurnian Selulosa Bakteri

Proses pemurnian selulosa bakteri dilakukan dalam tiga tahap, yaitu pencucian dengan air, pemanasan menggunakan larutan NaOH 2% serta pencucian dengan akuades kembali. Selulosa bakteri dimasukkan ke dalam bak cucian yang sebelumnya telah diisi dengan air dan dibersihkan sisa lendir yang terdapat dibagian atas permukaannya. Selulosa bakteri yang telah dibersihkan kemudian dipotong menjadi selebaran balok persegi panjang, kemudian dimasukan ke dalam panci yang telah diisi dengan larutan NaOH 2%. Proses pemanasan dilakukan menggunakan panci dan kompor dikarenakan jumlah selulosa bakteri yang dimurnikan adalah 15 kg, sehingga dibutuhkan wadah pemanasan dan nyala api yang cukup besar.

Pemanasan menggunakan NaOH 2% bertujuan untuk menghilangkan dan menetralkan sisa asam dan bakteri *Acetobacter xylinum* dari proses fermentasi (Widyaningsih dan Purwanti, 2013). Proses pemanasan dilakukan selama satu jam pada suhu 70°C (Kalashnikova *et al.*, 2011). Selulosa bakteri dimasukkan ke dalam bak cucian yang berisi air dan dibilas berulang-ulang sampai pH netral. Preparasi bahan meliputi selulosa bakteri dalam bentuk balok persegi panjang diblender sampai terbentuk menjadi bubur bertujuan untuk memisahkan kandungan air di dalam selulosa bakteri. Bubur yang terbentuk kemudian disaring untuk memisahkan komponen air dari sisa proses penggilingan. Bubur selulosa bakteri kemudian diletakkan di atas teflon supaya tidak lengket pada permukaan dan proses pengeringan didalam oven lebih cepat dihasilkan lembaran selulosa bakteri. Proses pemanasan menggunakan oven dilakukan selama 8 jam pada suhu 95°C (Afrizal, 2008). Serbuk selulosa bakteri diblender untuk menghasilkan serbuk dengan ukuran kecil, kemudian diayak menggunakan ayakan ukuran 60 mesh untuk menghasilkan ukuran serbuk yang seragam.

3.4.2 Pembuatan Asam Sulfat 50%

Asam sulfat pekat (98%) dituangkan ke dalam beaker gelas 100 mL dan dipipet sebanyak 51,0 mL. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam labu

ukur 100 mL yang telah ditambahkan sedikit air sebelumnya. Akuades ditambahkan ke dalam labu ukur sampai mencapai tanda batas pada labu ukur dan dikocok secara perlahan sampai larutan homogen.

3.4.3 Hidrolisis Asam

Serbuk selulosa bakteri (BC) yang telah diayak dengan ukuran 60 mesh ditimbang sebanyak 10 g dan dimasukkan ke dalam larutan asam sulfat 50% sebanyak 100 mL yang telah disiapkan di dalam labu leher tiga. Proses hidrolisis dilakukan selama 90 menit. Larutan tersebut kemudian dihomogenkan dengan menggunakan anak stirrer, supaya proses hidrolisis parsial berjalan secara sempurna. Suspensi (hasil modifikasi) yang dihasilkan dari proses hidrolisis asam kemudian ditambahkan akuades dingin sampai volume total akhir campuran mencapai sepuluh kali volume awal (Azizi *et al.*, 2013).

Endapan selulosa modifikasi (BC-m) dipisahkan dari fasa cair melalui proses sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Proses pencucian BC-m dilakukan melalui proses sentrifugasi sampai supernatan yang dihasilkan memiliki pH netral (Yu *et al.*, 2012). Selulosa bakteri yang telah dihidrolisis kemudian diultrasonikasi dengan *output* 3 dan *duty cycle* 30% pada tegangan 100V selama 5 menit (Salajková, 2013). Perlakuan selanjutnya adalah proses pencucian suspensi menggunakan larutan etanol, aseton, dan heksana secara berurutan melalui proses sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Pelet yang dihasilkan dari proses sentrifuse, kemudian dikeringkan di atas teflon pada suhu 60°C selama enam jam (Ioelovich, 2012).

BC termodifikasi (BC-m) yang telah dihasilkan kemudian ditimbang sebanyak 0,1 g untuk dilakukan karakterisasi FTIR dan XRD. Hasil tersebut akan dibandingkan dengan hasil karakterisasi pada BC, sehingga dapat diketahui perbedaan karakterisasinya berdasarkan pada perbedaan gugus fungsi dan derajat kristalinitas dari kedua *biomaterial*. BC termodifikasi maupun BC kemudian akan dilakukan uji sifat adsorpsi BSA dengan dua variasi, yaitu pH larutan sistem dan kekuatan ionik.

3.4.4 Titrasi Konduktometri

Gugus tiosulfat yang terprotonasi selama proses hidrolisis asam pada permukaan nanoselulosa dapat ditentukan kuantitasnya dengan menggunakan metode titrasi konduktometri (Abitbol dan Kloser, 2013). Dua macam tahapan yang dilakukan sebelum melakukan metode titrasi konduktometri adalah tahap preparasi bahan dan standarisasi NaOH. Tahapan preparasi bahan meliputi pembuatan beberapa jenis larutan, diantaranya NaCl 0,001 M, HCl 0,05 M, NaOH 0,01 M, dan H₂C₂O₄ 0,05 M. Asam oksalat digunakan pada proses standarisasi NaOH. Konsentrasi NaOH yang telah diketahui secara pasti kemudian digunakan untuk proses titrasi konduktometri dari sampel BC termodifikasi.

a. Preparasi Bahan

Penentuan jumlah gugus tiosulfat pada sampel BC termodifikasi membutuhkan beberapa larutan pendukung saat dilakukan proses titrasi konduktometri, adapun jenis larutan tersebut adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan Larutan NaCl 0,001 M

Kristal NaCl ditimbang sebanyak 0,030 gram dengan menggunakan neraca analitik digital. Kristal garam tersebut kemudian dimasukkan ke dalam gelas kimia dan dilarutkan dengan menggunakan akuades secukupnya sampai larut sempurna. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas pada labu ukur. Larutan kemudian dikocok secara perlahan sampai homogen.

2. Pembuatan Larutan HCl 0,05M

Larutan HCl 0,05 M dibuat dari larutan induk HCl 37%. Larutan induk dituangkan ke dalam gelas kimia dengan volume yang sedikit dan diambil sebanyak 1,0 mL menggunakan pipet volume 1 mL. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berukuran 250 mL dan diencerkan menggunakan akuades sampai tanda batas pada labu ukur. Larutan kemudian dikocok secara perlahan sampai homogen.

3. Pembuatan Larutan NaOH 0,01 M

Kristal NaOH ditimbang sebanyak 0,040 gram dengan menggunakan neraca analitik digital. Kristal NaOH kemudian dimasukkan ke dalam gelas

kimia dan dilarutkan dengan akuades secukupnya sampai larut sempurna. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas untuk menghasilkan larutan NaOH 0,01 M.

4. Pembuatan $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,05 M

Kristal asam oksalat ditimbang sebanyak 0,450 gram dengan menggunakan neraca analitik digital. Kristal asam oksalat dimasukkan ke dalam gelas kimia dan dilarutkan dengan akuades secukupnya sampai larut sempurna. Larutan, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas pada labu ukur. Larutan kemudian dikocok secara perlahan sampai homogen.

b. Standarisasi NaOH

Larutan NaOH dimasukkan ke dalam buret berukuran 50 mL menggunakan corong gelas (titran). Larutan asam oksalat 0,05 M dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer (titrat) sebanyak 10 mL dan ditambahkan indikator *phenolptalein* sebanyak 3 tetes. Proses titrasi dilakukan sampai terjadi perubahan warna merah muda pada titrat (Mulyono, 2009).

c. Titrasi Konduktometri

Titrasi konduktometri merupakan salah satu metode yang digunakan dalam menentukan jumlah gugus muatan pada suatu sampel. Jumlah gugus muatan yang terdapat permukaan BC termodifikasi akan sebanding dengan jumlah NaOH yang ditambahkan selama proses titrasi berlangsung. Preparasi sampel BC termodifikasi dengan cara menimbang sebanyak 1 gram menggunakan neraca analitik digital. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam gelas kimia dan ditambahkan dengan larutan NaCl 1 mM sebanyak 50 mL (Salajková, 2013).

Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL dan ditambahkan dengan larutan NaCl 0,001 M sampai tanda batas pada labu ukur. Larutan campuran kemudian dimasukkan ke dalam labu leher tiga berukuran 1 L dan

ditambahkan larutan HCl 0,05 M sebanyak 1 mL. Labu ditempatkan di atas *stirrer magnetic* dan diukur konduktivitasnya menggunakan konduktometer sambil dihomogenkan dengan anak *stirrer*. Proses titrasi dilakukan dengan menambahkan larutan NaOH yang telah distandarisasi pada prosedur kerja 3.4.6 b. Larutan NaOH ditambahkan setiap durasi 1 menit dengan penambahan masing-masing larutan NaOH sebanyak 0,5 mL sampai mendekati titik belok pada pengukuran konduktivitasnya. Proses tersebut berlangsung pada suhu 25°C dengan peningkatan suhu $\pm 1^\circ\text{C}$ serta dialiri gas nitrogen. Nilai konduktivitas yang dicatat pada konduktometer adalah nilai yang stabil (konstan saat dilakukan pengukuran).

Konsentrasi gugus muatan tiosulfat (OSO_3^-) yang terdapat pada permukaan BC-m dapat dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{mmol.kg}^{-1} = \frac{C(v_2 - v_1)}{m} \quad (3.1)$$

di mana, C merupakan konsentrasi larutan NaOH (mmol/L), m merupakan berat kering sampel BC termodifikasi, V_1 merupakan jumlah NaOH yang dikonsumsi pada titik persimpangan pertama, dan V_0 merupakan volume teoritis NaOH yang dibutuhkan untuk menetralkan adanya penambahan asam diawal perlakuan (Romdhane *et al.*, 2015).

3.4.5 Pembuatan Reagen Bradford

Comasie Brilliant Blue G-250 ditimbang sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam gelas beaker. Padatan kemudian dilarutkan dengan etanol 95% sebanyak 5 mL dan 10 mL asam fosfat 85% hingga larut sempurna. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan dengan akuades sampai tanda batas pada labu ukur. Larutan kemudian dikocok secara perlahan sampai homogen.

3.4.6 Pembuatan Larutan Standar BSA

Larutan standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) dibuat dengan lima variasi konsentrasi. Hal tersebut digunakan dalam pembuatan kurva kalibrasi. Adapun

konsentrasi larutan standar BSA yang dibuat adalah 40, 80, 120, 160, 200, 240, 280, 320, 360, dan 400 dalam satuan ppm. Larutan standar BSA tersebut dibuat dari pengenceran larutan induk BSA 1000 ppm.

a. Larutan BSA 1000 ppm

Bovine Serum Albumin (BSA) ditimbang sebanyak 0,1 gram dengan menggunakan neraca analitik digital. BSA kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker dan dilarutkan dengan menggunakan akuades secukupnya sampai larut sempurna. Larutan, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas pada labu ukur. Larutan kemudian dikocok secara perlahan sampai homogen.

b. Larutan BSA 40-400 ppm

Larutan induk BSA 1000 ppm dipipet sebanyak 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Larutan kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas pada labu ukur. Larutan kemudian dikocok secara perlahan sampai homogen dan diperoleh konsentrasi larutan BSA 40, 80, 120, 160, 200, 240, 280, 320, 360, dan 400 ppm.

3.4.7 Scanning Panjang Gelombang Larutan BSA

Penentuan panjang gelombang maksimum dapat diketahui melalui proses *scanning* panjang gelombang. Menurut Akgul *et al.* (2008) mengatakan bahwa, BSA memiliki panjang gelombang maksimum pada 595 nm, sehingga proses *scanning* panjang gelombang dilakukan di atas dan dibawah panjang gelombang tersebut yaitu 525-625 nm. Proses *scanning* panjang gelombang dilakukan menggunakan larutan BSA dengan konsentrasi 280 ppm. Larutan BSA diambil sebanyak 100 μ L dan ditambahkan dengan reagen bradford 2 mL di dalam kuvet. Larutan blanko yang digunakan merupakan campuran akuades dengan bradford masing-masing sebanyak 100 μ L dan 2 mL. Panjang gelombang maksimum akan menunjukkan nilai absorbansi tertinggi dan digunakan dalam pembuatan kurva kalibrasi larutan BSA pada tahapan 3.4.8. Penentuan panjang gelombang maksimum tersebut untuk memperoleh nilai absorbansi maksimum yang akan

digunakan dalam penentuan konsentrasi larutan BSA yang teradsorpsi pada permukaan adsorben.

3.4.8 Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan BSA

Kurva kalibrasi dibuat dengan pengukuran absorbansi larutan BSA pada konsentrasi 40, 80, 120, 160, 200, 240, 280, 320, 360, dan 400 dalam satuan ppm. Masing-masing larutan diambil sebanyak 100 μ L dan ditambahkan dengan reagen bradford 2 mL di dalam kuvet. Larutan diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh berdasarkan pada prosedur 3.4.7. Berdasarkan pada hasil pengukuran tersebut, maka diperoleh nilai absorbansi dari masing-masing konsentrasi larutan BSA. Kurva kalibrasi dibuat dengan cara mengeplotan nilai konsentrasi sebagai sumbu x terhadap nilai absorbansi sebagai sumbu y, sehingga diperoleh persamaan $y=mx+C$. Persamaan tersebut yang akan digunakan dalam menentukan konsentrasi BSA setelah dilakukan proses adsorpsi untuk kedua adsorben yang berbeda.

3.4.9 Penentuan Nilai Adsorpsi BSA

Proses adsorpsi BSA dilakukan dalam sistem *batch* dengan melibatkan dua adsorben yang berbeda, yaitu BC dan BC-m. Adsorpsi BSA dilakukan dengan menggunakan dua variasi, yaitu pH dan kekuatan ionik. Adsorpsi BSA yang pertama dilakukan tanpa adanya pengaruh variasi pH dan kekuatan ionik yang digunakan sebagai kontrol. Nilai adsorpsi yang dihasilkan akan digunakan sebagai pembanding untuk kedua perlakuan yang berbeda, sehingga pengaruh dari masing-masing perlakuan dapat dianalisis. Uji besarnya adsorpsi untuk variasi kekuatan ionik dilakukan pada pH optimum setelah dilakukan optimasi. Adapun rancangan percobaan dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Rancangan Percobaan Variasi pH dan Kekuatan Ionik Larutan NaCl pada Proses Adsorpsi BSA

No.	Adsorben	Parameter yang diamati	Konsentrasi BSA (ppm)
1.	BC dan BC-m	pH	400
		3	
		4	
		5	
2.	BC dan BC-m	Kekuatan ionik untuk konsentrasi NaCl (M) pada pH optimum	400
		0,02	
		0,04	
		0,06	
		0,08	

a. Pengaruh Variasi pH

Adsorpsi BSA terjadi pada bagian permukaan adsorben (selulosa bakteri dan selulosa bakteri termodifikasi). Proses adsorpsi berlangsung dalam sistem *batch* sesuai dengan penelitian Akgül *et al.* (2008), yaitu pada suhu 25°C selama 90 menit. Masing-masing sebanyak 100 mg serbuk selulosa bakteri dan selulosa bakteri termodifikasi ditambahkan ke dalam 50 mL larutan BSA 400 ppm yang telah disiapkan di dalam labu erlenmeyer. Labu erlenmeyer kemudian dimasukkan ke dalam *shaker* dengan kecepatan 100 rpm. Larutan BSA dibuat dengan variasi pH 3, 4, 5, dan 6 menggunakan larutan buffer. Larutan buffer dibuat dari buffer sitrat-fosfat pada rentang pH 3-6. Larutan buffer tersebut dibuat dari larutan asam sitrat 0,1 M dan dinatrium hidrogen fosfat 0,2 M. Adapun komposisi campuran larutan pembuatan buffer yang digunakan dapat dilihat pada tabel 3.2. Simbol X merupakan larutan asam sitrat dan Y merupakan larutan dinatrium hidrogen fosfat:

Tabel 3.2 Pembuatan Larutan Buffer Sitrat-fosfat

No.	pH	X (mL)	Y (mL)
1.	3	± 80	± 20
2.	4	± 61	± 39
3.	5	± 49	± 51
4.	6	± 37	± 63

(Shevla, 1985).

Percobaan pada prosedur poin (a) dilakukan untuk mengetahui pengaruh pH terhadap daya adsorpsi BC dan BC termodifikasi pada BSA. Larutan BSA dan adsorben kemudian dipisahkan dengan metode filtrasi menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh filtrat berupa larutan BSA dan residu serbuk adsorben. Filtrat hasil pemisahan diambil sebanyak 100 μ L dan ditambahkan dengan reagen bradford 2 mL di dalam kuvet. Konsentrasi BSA dapat ditentukan dengan cara mengukur adsorbansi larutan pada panjang gelombang maksimum yang telah dilakukan *scanning* pada prosedur 3.4.7 dengan menggunakan spektrofotometer visibel (Akgül *et al.*, 2008). Jumlah BSA yang teradsorp oleh BC dan BC termodifikasi dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan 2.2.

b. Pengaruh Variasi Kekuatan Ionik

Adsorpsi BSA terjadi pada bagian permukaan adsorben (BC dan BC termodifikasi). Proses adsorpsi dilakukan di atas shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 90 menit. Preparasi BC dan BC-m pada prosedur 3.4.1 dan 3.4.3 dalam bentuk serbuk kering ditimbang sebanyak 0,1 g. Larutan NaCl 1 M diambil masing-masing sebanyak 1, 2, 3, dan 4 mL ke dalam labu ukur 50 mL untuk memperoleh konsentrasi NaCl 0,02; 0,04; 0,06; dan 0,08 M. Larutan BSA induk 1000 ppm di pipet sebanyak 20 mL untuk mendapatkan konsentrasi 400 ppm dan ditambahkan larutan buffer dengan pH optimum sampai tanda batas pada labu ukur 50 mL. Larutan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan dimasukkan adsorben BC dan BC-m masing-masing 0,1 g, kemudian dimasukkan ke dalam *shaker* dengan kecepatan 100 rpm.

Percobaan pada prosedur poin (b) dilakukan untuk mengetahui pengaruh kekuatan ionik NaCl terhadap daya adsorpsi BC dan BC termodifikasi pada BSA. Larutan BSA dan adsorben kemudian dipisahkan dengan metode filtrasi menggunakan kertas saring untuk BC dan kertas whatman untuk BC-m, sehingga diperoleh filtrat berupa larutan BSA dan residu serbuk adsorben. Filtrat hasil pemisahan diambil sebanyak 100 μ L dan ditambahkan dengan reagen bradford 2 mL di dalam kuvet. Konsentrasi BSA dapat ditentukan dengan cara mengukur adsorbansi larutan pada panjang gelombang maksimum yang telah dilakukan *scanning* pada prosedur 3.4.7 dengan menggunakan spektrofotometer visibel (Akgül *et al.*, 2008). Jumlah BSA yang teradsorp oleh BC dan BC-m dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan 2.2.

3.4.10 Karakterisasi BC dan BC-m

Karakterisasi selulosa bakteri yang termodifikasi dilakukan menggunakan XRD dan FTIR. Karakterisasi tersebut dilakukan untuk mengetahui indeks kristalinitas selulosa bakteri yang dihasilkan dari proses hidrolisis asam dan nonhidrolisis asam. Selain itu, karakterisasi juga dilakukan untuk menentukan adanya perbedaan gugus fungsi pada *biomaterial* BC dan BC-m.

a. XRD

Analisis XRD dilakukan dalam suhu ruang pada *range* 5-50° 2 θ . Sampel yang digunakan untuk analisis XRD dalam bentuk serbuk. Analisis menggunakan XRD untuk menentukan indeks kristalinitas melalui persamaan Scherrer sebagai berikut:

$$Cr.I = \frac{A_{cryst}}{A_{total}} \times 100\% \quad (3.2)$$

di mana,

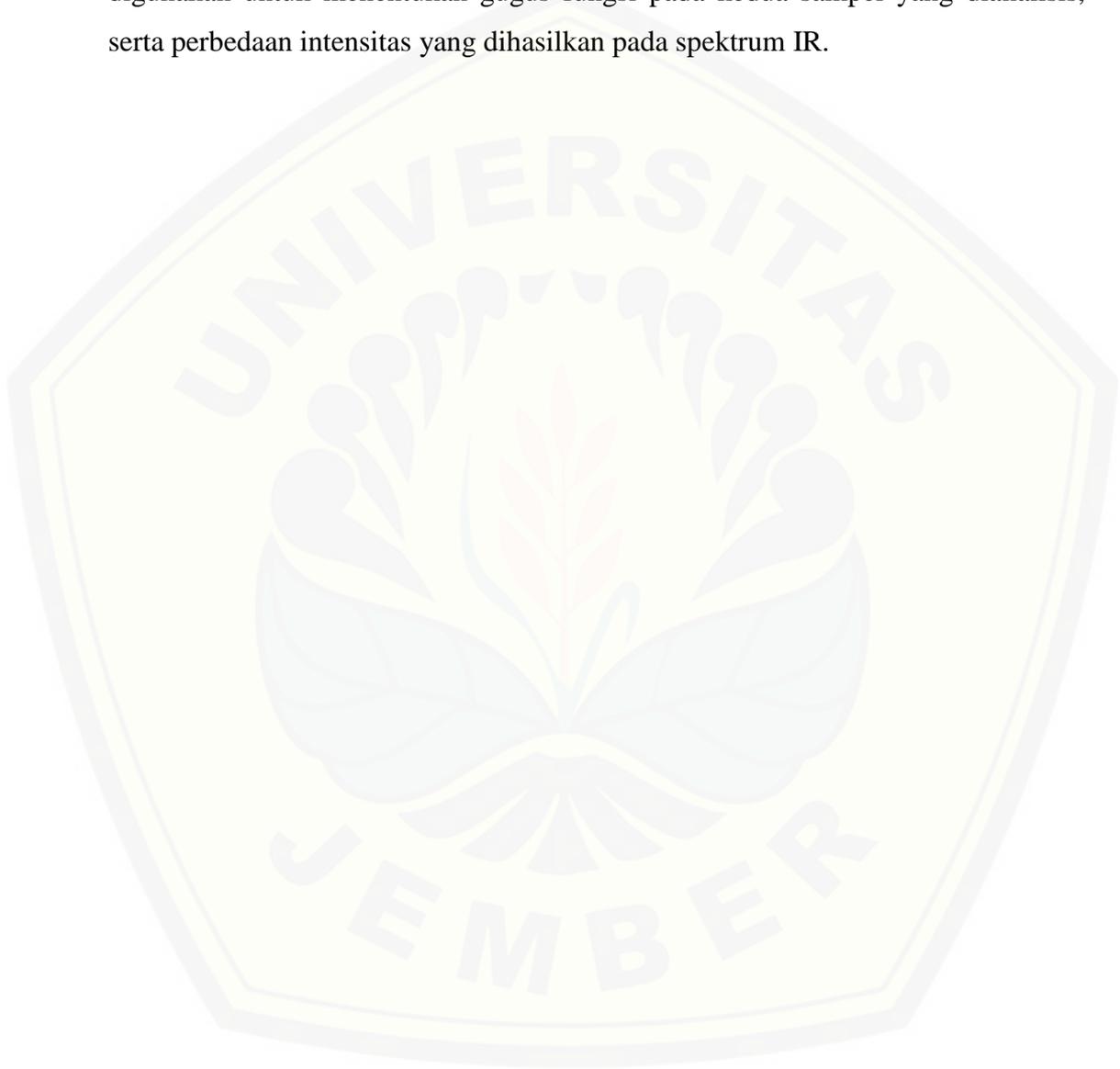
A_{cryst} : luas fraksi kristal

A_{total} : luas total di bawah difraktogram (kristal dan amorf)

(Poletto *et al.*, 2014).

b. FTIR

Analisis BC dan BC-m menggunakan FTIR dilakukan dalam bentuk serbuk. Proses analisis menggunakan FTIR dilakukan pada suhu ruang dan *range* analisis pada bilangan gelombang $500\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ (Johari *et al.*, 2012). Analisis FTIR digunakan untuk menentukan gugus fungsi pada kedua sampel yang dianalisis, serta perbedaan intensitas yang dihasilkan pada spektrum IR.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perbedaan BC setelah modifikasi terlihat jelas pada analisis FTIR yaitu munculnya spektrum serapan gugus tiosulfat pada bilangan gelombang $796,63 \text{ cm}^{-1}$, serta adanya penurunan intensitas serapan gugus eter dan hidroksil pada alkohol. Derajat kristalinitas dari BC dan BC-m masing-masing adalah 77,72% dan 84,04%.
2. Peningkatan pH sistem larutan BSA mengakibatkan terjadinya penurunan nilai adsorpsi pada BC dan BC-m. Perlakuan penambahan konsentrasi garam yang semakin kecil mengakibatkan kelarutan protein semakin baik, sehingga nilai adsorpsi BC dan BC-m semakin tinggi pada konsentrasi garam yang rendah.

5.2 Saran

Modifikasi selulosa bakteri perlu dilakukan kembali untuk optimasi pengaruh waktu dan temperatur pada proses hidrolisis asam lebih lanjut kembali. Hal ini dikarenakan jumlah *recovery* yang dihasilkan sangatlah kecil dengan perbedaan derajat kristalinitas yang tidak terlalu tinggi. Waktu hidrolisis asam dapat dibuat lebih cepat dari waktu yang telah digunakan dalam proses hidrolisis sebelumnya. Durasi waktu proses ultrasonikasi dilakukan lebih lama dari penelitian sebelumnya. Hal ini bertujuan supaya material modifikasi yang dihasilkan bisa memiliki ukuran partikel yang lebih kecil.

DAFTAR PUSTAKA

- Abitbol, T., E. Kloser, dan D. G. Gray. 2013. Estimation of the Surface Sulfur Content of Cellulose Nanocrystals Prepared by Sulfuric Acid Hydrolysis. *Cellulose*. 20: 785-794.
- Aditiwati, P. dan Kusnadi. 2003. Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganisme yang Berperan dalam Fermentasi "Tea-Cider". *PROC. ITB Sains & Teknologi*. 35(2): 147-162.
- Afrizal. 2008. Selulosa Bakterial *Nata de Coco* sebagai Adsorben pada Proses Adsorpsi Logam Cr(III). *Jurnal Gradien*. 4(1): 308-313.
- Akerholm, M. 2003. Ultrastructural Aspect of Pulp Fibers as Studied by Dynamics FT-IR Spectroscopy. *Doctoral Thesis*. Sweden: Royal Institute of Technology.
- Akgül, M., N. B. Savak, M. Özmak, A. G. Dumanli, Y. Yürüm, dan A. Karabakan. 2008. Adsorption of Bovine Serum Albumin (BSA) on Clinoptilolite. *Hacettepe Journal of Biology dan Chemistry*. 36(1): 21-29.
- Almeida, D. M., *et al.* 2013. Minerals Consumption by *Acetobacter xylinum* on Cultivation Medium on Coconut Water. *Brazilian Journal of Microbiology*. 44(1): 197-206.
- Anirudhan, T. S., S. R. Rejeena, dan A. R. Tharun. 2012. Preparation, Characterization, and Adsorption Behavior of Tannin-modified Poly(glycidylmethacrylate)-grafted Zirconium Oxide-densified Cellulose for the Selective Separation of Bovine Serum Albumin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 93: 49-58.
- Anwar, B., B. Bundjali, dan I. M. Arcana. 2015. Isolation of Cellulose Nanocrystals from Bacterial Cellulose Produced from Pineapple Peel Waste Juice as Culture Medium. *Procedia Chemistry*. 16: 279-284.
- Atmeh, R. F., I. M. Araf, dan M. Al-Khateeb. 2007. Albumin Aggregate: Hydrodynamic Shape dan Physico-Chemical Properties. *Jordan Journal of Chemistry*. 2(2): 169-182.
- Azizi, S., M. B. Ahmad, M. Z. Hussein, dan N. A. Ibrahim. 2013. Synthesis, Antibacterial, dan Thermal Studies of Cellulose Nanocrystal Stabilized ZnO-Ag Heterostructure Nanoparticles. *Molecules*. 18: 6269-6280.

- Beck, S., M. Méhot, dan J. Bouchard. 2014. General Procedure for Determining Cellulose Nanocrystal Sulphate Half-ester Content by Conductometric Titration. *Cellulose*.
- Berg, J. M., J. L. Tymoczko, dan L. Stryer. 2005. *Biochemistry*. Fifth Edition. USA: W. H. Freeman dan Company.
- Börjesson, M. dan G. Westman. 2015. *Crystalline Nanocellulose - Preparation, Modification, dan Properties, Chapter 7*. Spain: INTECH.
- Budiarti, R. S. 2008. Pengaruh Konsentrasi *Starter Acetobacter xylinum* terhadap Ketebalan dan Rendemen Selulosa *Nata de Soya*. 1(1): 19-24.
- Calashnikova, I., H. Bizot, B. Cathala, dan I. Capron. 2011. New Pickering Emulsions Stabilized by Bacterial Cellulose Nanocrystals. *Langmuir*. 27: 7471-7479.
- Chawla, P. R., I. B. Bajaj, S. A. Survase, dan R. S. Singhal. 2009. Microbial Cellulose: Fermentative Production dan Application. *Food Technol. Biotechnol.* 47(2): 107-124.
- Chirayil, C. J., L. Mathew, dan S. Thomas. 2014. Review of Recent Research in Nano Cellulose Preparation from Different Lignocellulosic Fibers. *Rev. Adv. Mater. Sci.* 37: 20-28.
- Ciolacu, D., F. Ciolacu, dan V. I. Popa. 2011. Amorphous Cellulose – Structured and Characterization. *Cellulose Chem. Technol.* 45: 13-21.
- Damanik, S. 2000. Keterkaitan Penawaran Kelapa untuk Memenuhi Permintaan Industri Minyak Kelapa dan Industri Makanan-Minuman. *Info Sosial Ekonomi*. 1(1): 1-20.
- Dee, K. C., D. A. Puleo, dan R. Bizios. 2002. *Protein-surface Interactions*. ISBN: 978-0-471-25394-5.
- Du, L., J. Wang, Y. Zhang, C. Qi, M. P. Wolcott, dan Z. Yu. 2017. Preparation and Characterization of Cellulose Nanocrystals from the Bio-ethanol Residuals. *Nanomaterials*. 7(51): 1-12.
- Epaillard, F. P., T. Vrlinic, D. Debarnot, M. Mozetic, A. Codreuse, G. Legeay, B. E. Moulaj, dan W. Zorzi. 2012. Surface Treatment of Polymeric Materials Controlling the Adhesion of Biomolecules. *J. Funct. Biomater.* 3: 528-543.
- Felsovalyi, F. 2012. Mechanistic Study of the Adsorption dan Desorption of Protein on Silica. *Dissertation*. Columbia: Columbia University.

- Fritz, C., B. Jeuck, C. Salas, R. Gonzales, H. Jameel, dan O. J. Rojas. 2015. Nanocellulose dan Proteins: Exploiting Their Interaction for Production, Immobilization, and Synthesis of Biocompatible Material. *Adv. Poly. Sci.* 1-18.
- George, J., K. V. Ramana, A. S. Bawa, dan Siddaramaiah. 2011. Bacterial Cellulose Nanocrystals Exhibiting High Thermal Stability dan Their Polymer Nanocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules.* 48: 50-57.
- Halib, N. dan M. C. I. Amin. 2012. Physicochemical Properties dan Characterization of Nata de Coco from Local Food Industries as a Source of Cellulose. *Sains Malaysiana.* 41(2): 205-211.
- Hamid, M., M. N. Mohsen, dan A. Leila. 2010. Adsorption of Bovine Serum Albumin onto Hydroxylapatite: Theoretical Modeling dan Measurements. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* 29(4): 125-133.
- Hielscher, T. 2005. *Ultrasonic Production of Nano-Size Distributions and Emulsions.* ENS'05. Paris: France.
- Hua, K. 2015. Nanocellulose for Biomedical Application: Modification, Characterisation, dan Biopatibility Study. *Dissertation.* Uppsala: Acta Uppsala University.
- Ioelovich, M. 2012. Optimal Conditions for Isolation of Nanocrystalline Cellulose Particles. *Nanoscience dan Nanotechnology.* 2(2): 9-13.
- Jagannath, A., A. Kalaiselvan, dan S. S. Manjunatha. 2008. The Effect of pH, Sucrose dan Ammonium Sulphate Concentrations on the Production of Bacterial Cellulose (Nata de Coco). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 2593-2599.
- Johari, N. S., I. Ahmad, dan N. Halib. 2012. Comparasion Study of Hydrogels Properties with Micro- dan Nano- Size Bacterial Cellulose Particles Extracted from Nata de Coco. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 26(4): 399-404.
- Kargarzadeh, H., I. Ahmad, I. Abdullah, A. Dufresne, S. Y. Zainudin, R. M. Shiltami. 2012. Effect of Hydrolysis Condition on the Morphology, Crystallinity, and Thermal Stability of Cellulose Nanocrystals Extracted from Kenaf Bast Fibers. *Cellulose.* 19: 855-866.
- Kementerian Pertanian. 2014. *Statistik Perkebunan Indonesia 2013-2015, Kelapa.* Jakarta: Direktorat Jenderal Perkebunan.

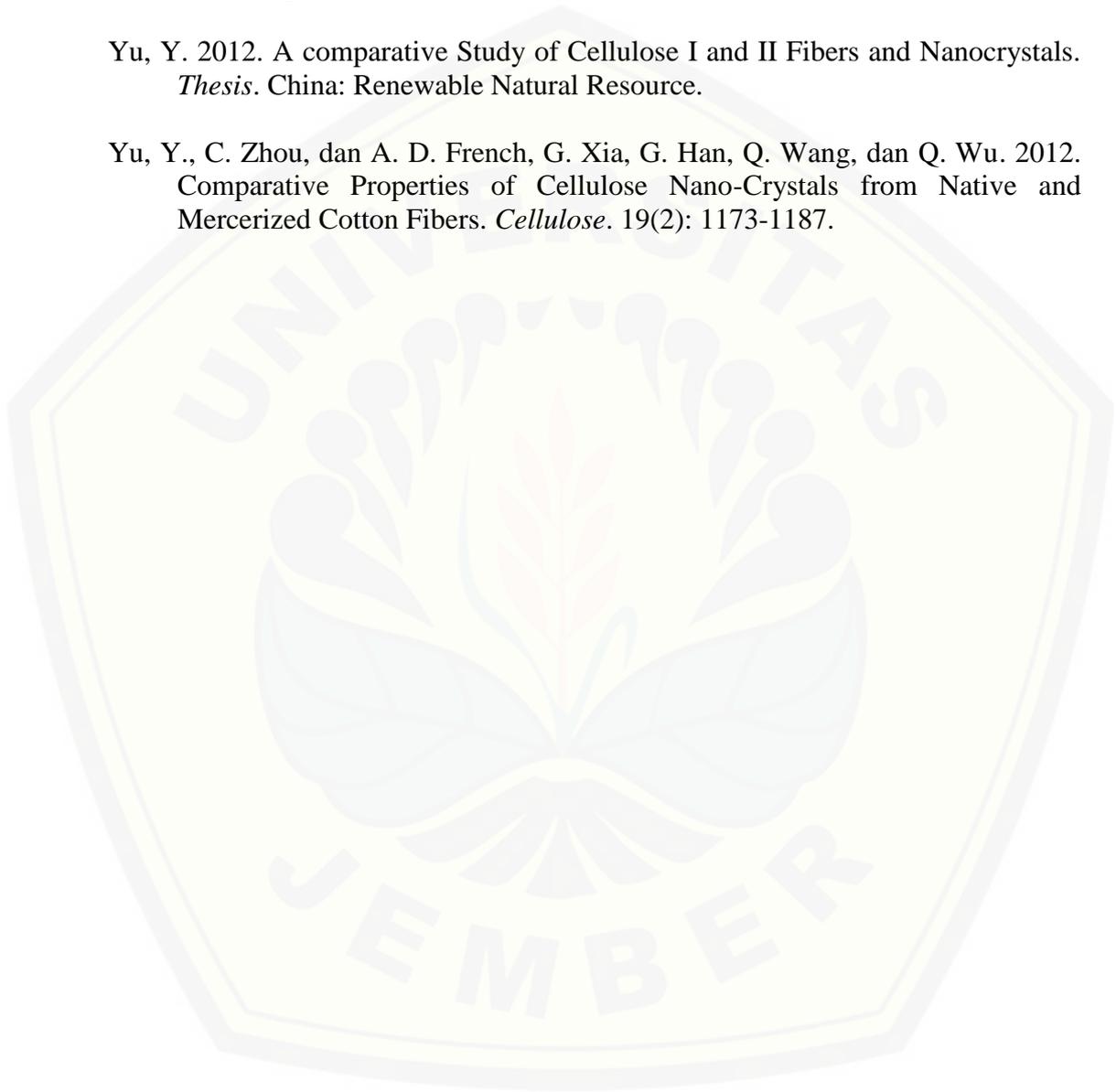
- Keshk, M. dan Sherif. 2014. Bacterial Cellulose Production dan Its Industrial Applications. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*. 4(2): 1-10.
- Kim, J. H. dan J. Y. Yoon. 2002. Encyclopedia of Surface dan Colloid Science: Protein Adsorption on Polymer Particles. Latour, R. A. 2005. Biomaterials: *Protein-Surface Interaction*. USA: Clemson University.
- Lee, H.V., S. B. A. Hamid, dan S. K. Zain. 2014. Conversion of Lignocellulosic Biomass to Nanocellulose: Structure dan Chemical Process. *The Scientific World Journal*. 1-20.
- Li, W., R. Wang, dan S. Liu. 2011. Nanocrystalline Cellulose Prepared from Softwood Kraft Pulp Via Ultrasonic-Assisted Acid Hydrolysis. *BioResources*. 6(4): 4271-4281.
- Li, W. dan A. J. Ragauskas. 2011. *Advance in Diverse Industrial Application of Nanocomposite, "Cellulose Nanowhiskers as a Reinforcing Filler in Polyurethanes"*. USA: InTech.
- Lin, N. 2014. Cellulose Nanocrystals: Surface Modification and Advanced Materials. *Thesis*. France: Universite de Grenoble.
- Lin, N. dan A. Dufresne. 2014. Nanocellulose in Biomedicine: Current Status dan Future Prospect. *European Polymer Journal*. 59: 302-325.
- Masaoka, S., T. Ohe, dan N. Sakota. 1993. Production of Cellulose from Glucose by *Acetobacter xylinum*. *Journal of Fermentation dan Bioengineering*. 75(1): 18-22.
- Melliawati, R. 2008. Kajian Bahan Pembawa untuk Meningkatkan Kualitas Inokulum Pasta Nata de Coco. *BIODIVERSITAS*. 9(4): 255-258.
- Melliawati, R., Nuryati, dan L. Magfiroh. 2015. Pengolahan Limbah Kulit Buah-buahan Menjadi Selulosa oleh Bakteri *Acetobacter sp.* RMG-2. *Biodiversitas*. 1(2): 300-305.
- Moerz, S. T. dan P. Huber. 2015. Protein Adsorption into Mesopores: A Combination of Electrostatic Interaction, Counterion Release, and van der Waals Forces. *Langmuir*. 30(2729): 1-27.
- Mohammad, S. M., N. A. Rahman, M. S. Khalil, dan R. S. Abdullah. An Overview of Biocellulose Production Using *Acetobacter xylinum* Culture. *Advances in Biological Research*. 8(6): 307-313.

- Moon, R. J., A. Martini, J. Nairin, J. Simonsen, dan J. Youngblood. 2011. Cellulose Nanomaterial Review: Structure, Properties, and Nanocomposites. *Chem. Sos. Rev.* 40: 3941-3994.
- Mulheran, P. dan K. Kubiak. 2009. Protein Adsorption Mechanism on Solid Surface: Lysozyme-on-Mica. *Molecular Simulation.* 35(7): 561-566.
- Mulyono, T., Asnawati, I. Novidanri, dan Buchari. 2007. Potensi Membran *Nata de Coco* sebagai Material Biosensor. *Jurnal ILMU DASAR.* 8(2): 128-134.
- Nelson, M. L. 1964. Relation of Certain Infrared Bands to Cellulose Crystallinity and Crystal Lattice Type. Part I. Spectra of Lattice Type I, II, III and Amorphous Cellulose. *Journal of Applied Polymer Science.* 8: 1311-1324.
- Neto, W. P. F., H. A. Silverio, N. O. Dantas, dan D. Pasquini. 2013. Extraction and Characterization of Cellulose Nanocrystals from Agro-industrial Residue-soil hulls. *Industrial Crops and Products.* 42: 480-488.
- Oshima, T., S. Taguchi, K. Ohe, dan Y. Baba. 2011. Phosphorylated Bacterial Cellulose for Adsorption of Proteins. *Carbohydrate Polymers.* 83: 953-958.
- Ostuni, E., B. A. Grzybowski, M. Mrksich, C. S. Roberts, dan G. M. Whitesides. 2003. Adsorption of Protein to Hydrophobic Site on Mixed Self-Assembled Monolayers. *Langmuir.* 19(5): 1861-1872.
- Pasche, S. 2004. Mechanism of Protein Resistance of Adsorbed PEG-Graft Copolymers. *Dissertation.* Zurich: Swiss Federal Institute of Technology Zurich.
- Pratama, A. W. 2016. Preparasi dan Karakterisasi Nanoselulosa secara Hidrolisis dengan Variasi Konsentrasi Asam. *Skripsi.* Jember: Universitas Jember.
- Purwanto, M. G. M. 2014. Perbandingan Analisis Kadar Protein Terlarut dengan Berbagai Metode Spektroskopi UV-vis. *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi.* 7(2): 64-71.
- Quiming, N. S., R. B. Vergel, M. G. Nicolas, dan J. A. Villanueva. 2005. Interaction of Bovine Serum Albumine and Methallotionein. *Journal of Health Science.* 51(1): 8-15.
- Quinlan, G. J., G. S. Martin, dan T. W. Evans. 2005. Albumin: Biochemical Properties dan Therapeutic Potential. *Hepatology.* 41(1): 1211-1219.
- Rahayu, T. dan E. Rohaeti. 2014. Sifat Mekanik Selulosa Bakteri dari Air Kelapa dengan Penambahan Kitosan. *Jurnal Penelitian Saintek.* 19(2): 1-13.

- Reiniati, I., A. N. Hrymak, dan A. Margaritis. 2016. Recent Developments in the Production and Applications of Bacterial Cellulose Fibers dan Nanocrystals. *Critical Review in Biotechnology*. ISSN: 0738-8551.
- Romdhane, A., *et al.* 2015. Effect Of pH dan Ionic Strength on Electrical Charge dan Particle Size Distribution of Starch Nanocrystals Suspensions. *Starch/stärke*. 67: 319-327.
- Salajková, M. 2013. Wood Nanocellulose Materials dan Effect from Surface Modification on Nanoparticle. *Doctoral Thesis*. Stockholm: KTH Royal Institute of Technology.
- Salgin, S., U. Salgun, dan S. Bahadir. 2012. Zeta Potentials and Isoelectric Points of Biomolecules: The Effect of Ion Types and Ionic Strength. *Int. J. Electrochem. Sci.* 7: 12404-12414.
- Skoog, D.A., D. M. West, F. J. Holler, dan S. R. Crouch. 2004. *Fundanmental of Analytical Chemistry, Eighth Edition*. Canada: Thomson Learning Inc.
- Shevla, G. 1979. *Textbook of Macro dan Semimicro Qualitative Inorganic Analysis. Fifth Edition*. Jakarta: PT. Kalman Media Pusaka. Terjemahan oleh Aloysius Hadjana Pujaatmaka. 1985. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*.
- Siswoyo dan Asnawati. 2007. *Analisis Spektrometri*. Jember: Universitas Jember.
- Sofla, M. R. K., R. J. Brown, T. Tsuzuki, dan T. J. Rainey. 2016. A Comparassion of Cellulose Nanocrystals and Cellulose Nanofibers Extracted from Bagasse Using Acid and Ball Milling Methods. *Adv. Nat. Sci.: Nanocellulose and Nanotechnology*. 7: 1-9.
- Soupajärvi, T. 2015. *Functionalized Nanocelluloses in Wastewater Treatment Applications*. OULO: University of OULO.
- Suka, I.G. 2010. Kopolimerisasi Cangkok (*Graft Copolymerization*) N-isopropilakrilamida pada Film Selulosa yang di Induksi oleh Sinar Ultraviolet dan Karakterisasinya. *MAKARA*. 14(1): 1-6.
- Sukara, E. dan R. Meliawati. 2014. Potential Values of Bacterial Cellulose for Industrial Applications. *Jurnal Selulosa*. 4(1): 7-16.
- Sumada, K., P. E. Tamara, dan F. Alqani. 2011. Kajian Proses Isolasi α -selulosa dari Limbah Batang Tanaman *Manihot esculenta C.* yang Efisien. *Jurnal Teknik Kimia*. 5(2): 434-438.

- Tammarate, P., W. Krusong, A. Phunsri, dan S. Tantratian. 2003. The Liquid/Air Interface Area and Depth of Liquid Medium Suitable for Cellulose Production from *Acetobacter TISTR 975*. *J. Sci. Res. Chula. Univ.* 28(1): 35-43.
- Tokoh, C., K. Takabe, M. Fujita, dan H. Saiki. 1998. Cellulose Synthesized by *Acetobacter xylinum* in The Presence of Acetyl Glucosaminan. *Cellulose*. 5(4): 249-261.
- Trovatti dan Eliane. 2013. The Future of Bacterial Cellulose and Other Microbial Polysaccharides. *Journal of Renewable Materials*. 14(1): 28-41.
- Tsuchida, T. dan F. Yoshinaga. 1997. Production of Bacterial Cellulose by Agitation Culture System. *Pure & Appl. Chem.* 69(11): 2453-2458.
- Tsumoto, K., D. Ejima, A. M. Senczuk, Y. Kita, dan T. Arakawa. 2006. Effect of Salts on Protein-Surface Interaction: Application for Column Chromatography. *Journal of Pharmaceutical Science*. 96(7): 1677-1690.
- Vasconcelos, N. F., J. P. A. Feitosa, F. M. P. de Gama, J. P. S. Morais, F. K. Andrade, M. D. S. M. D. S. Filho, M. D. F. Rosa. 2017. Bacterial Cellulose Nanocrystals Produced Under Different Hydrolysis Conditions: Properties and Morphological Features. *Carbohydrate Polymers*. 155: 425-431.
- Widyaningsih, S., D. W. Dwiasih, dan D. Hidayati. 2014. Penurunan Konsentrasi Zat Warna Menggunakan Membran dari *Sargassum sp.* *Molekul*. 9(2): 166-174.
- Widyaningsih, S. dan Purwati. 2013. Pemanfaatan Membran *Nata de Coco* sebagai Media Filtrasi untuk Rekoveri Minyak Jelantah. *Molekul*. 8(1): 20-30.
- Windarti, T. dan Y. Astuti. 2006. Pengaruh Konsentrasi Ca^{2+} dan $(\text{PO}_4)^{3-}$ pada Pembentukan Hidroksiapatit di dalam Matriks Selulosa Bakterial. *JSKA*. 9(3): 1-4.
- Wong, C., A. L. Fear, R. D. Calhoon, G. H. Eichinger, R. Mayer, D. Amikam, M. Benziman, D. H. Gelfand, J. H. Meade, A. W. Emerick, R. Bruner, A. B. Bassat, dan R. Tal. 1990. Genetic Organization of The Cellulose Synthase Operon in *Acetobacter xylinum*. *Genetic*. 87(1990): 8130-8134.
- Wrsiati, L. P., I. W. Arnata., I. W. G. S. Yoga, dan I. M. M. Wijaya. 2013. Pemanfaatan Limbah Air Kelapa menjadi Produk *Coco Cider*: Kajian Penambahan Gula dan Waktu Fermentasi. *Jurnal Bumi Lestari*. 13(1): 106-114.

- Yigit, C. 2015. Theoretical Modeling and Computer Simulation of Protein Adsorption onto Soft Polymeric Layers. *Dissertation*. Berlin: Humboldt University.
- Yoldana, H. dan Y. Mulyana. 2011. Uji Coba Penggunaan Limbah Air Kelapa Tua sebagai Bahan Dasar Media Isolasi. *MKB*. 43(3): 117-121.
- Yu, Y. 2012. A comparative Study of Cellulose I and II Fibers and Nanocrystals. *Thesis*. China: Renewable Natural Resource.
- Yu, Y., C. Zhou, dan A. D. French, G. Xia, G. Han, Q. Wang, dan Q. Wu. 2012. Comparative Properties of Cellulose Nano-Crystals from Native and Mercerized Cotton Fibers. *Cellulose*. 19(2): 1173-1187.



LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Pembuatan Larutan

1. Larutan NaOH 2% (b/v)

Pembuatan larutan NaOH 2%, dibuat dari perbandingan massa zat terlarut dengan larutan.

$$\text{Massa NaOH} = 20 \text{ g}$$

$$\text{Volume larutan} = 1000 \text{ mL}$$

Volume larutan merupakan campuran dari massa kristal NaOH dan akuades di dalam labu ukur 1 L.

2. Larutan H₂SO₄ 50%

Pengenceran H₂SO₄ dari larutan induk (H₂SO₄ 98%), di mana volume yang diambil dalam pembuatan 100 mL adalah 51 mL.

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$98\% \times 51 \text{ mL} = M_2 \times 100 \text{ mL}$$

$$M_2 = 50\%$$

3. Larutan NaOH 0,01 M

Diketahui:

$$\text{Mr NaOH} = 40 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa NaOH} = 0,04 \text{ g (yang ditimbang)}$$

$$V. \text{ NaOH} = 100 \text{ mL}$$

maka,

$$M = \frac{n}{V}$$

$$M = \frac{m}{\text{Mr}} \times \frac{1}{V(\text{L})}$$

$$M = \frac{0,04 \text{ g}}{40,0 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{0,1 \text{ L}}$$

$$M = 0,01 \text{ mol/L}$$

4. Larutan NaCl

Diketahui:

$$M_r \text{ NaCl} = 58,5 \text{ g/mol}$$

$$M = \frac{n}{V}$$

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1}{V(L)}$$

a. NaCl 0,001 M

$$m \text{ NaCl} = 0,0586 \text{ g (yang ditimbang)}$$

$$V. \text{ Larutan} = 1000 \text{ mL}$$

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1}{V(L)}$$

$$M = \frac{0,0586 \text{ g}}{58,5 \text{ g. mol}^{-1}} \times \frac{1}{1 \text{ L}}$$

$$M = 0,001 \text{ mol/L}$$

b. NaCl 0,1 M

$$m \text{ NaCl} = 0,585 \text{ g (yang ditimbang)}$$

$$V. \text{ Larutan} = 100 \text{ mL}$$

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1}{V(L)}$$

$$M = \frac{0,585 \text{ g}}{58,5 \text{ g. mol}^{-1}} \times \frac{1}{0,1 \text{ L}}$$

$$M = 0,001 \text{ mol/L}$$

5. Larutan $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,05 M

Diketahui:

$$M_r \text{ H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 126 \text{ g/mol}$$

$$m \text{ NaCl} = 0,629 \text{ g (yang ditimbang)}$$

$$V. \text{ Larutan} = 100 \text{ mL}$$

$$M = \frac{n}{V}$$

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1}{V(L)}$$

$$M = \frac{0,629 \text{ g}}{126 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}} \times \frac{1}{0,1 \text{ L}}$$

$$M = 0,05 \text{ mol/L}$$

6. Larutan HCl 0,05 M

Diketahui:

$$\rho \text{ HCl}(37\%) = 1,19 \text{ g/mL}$$

$$M_r \text{ HCl} = 36,5 \text{ g/mol}$$

a. Massa HCl 100%

$$\rho = \frac{m}{V}$$

$$m = \rho \times V$$

Jika dimasukkan volume larutan adalah 100 mL, maka:

$$m = 1,19 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1} \times 100 \text{ mL}$$

$$m = 119 \text{ g}$$

sehingga, pada konsentrasi HCl 37% adalah:

$$m = \frac{37}{100} \times 119 \text{ g}$$

$$m = 44,03 \text{ g}$$

b. Mol HCl 37%

$$n = \frac{m}{M_r}$$

$$n = \frac{44,03 \text{ g}}{36,5 \text{ g/mol}}$$

$$n = 1,206 \text{ mol}$$

c. Molaritas HCl 37%

$$M = \frac{n}{V}$$

$$M = \frac{1,206 \text{ mol}}{0,1 \text{ L}}$$

$$M = 12,06 \text{ mol/L}$$

d. Pembuatan Larutan HCl 0,05 M

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$12,06 \text{ M} \times V = 0,05 \text{ M} \times 100 \text{ mL}$$

$$V = \frac{0,05 \text{ M} \times 100 \text{ mL}}{12,06 \text{ M}}$$

$$V = 0,41 \text{ mL}$$

Lampiran 4.1 Recovery BC-m Proses Hidrolisis Asam Sulfat

No.	Massa BC (g)	Massa BC-m (g)	Persen <i>recovery</i> (%)	Rata-rata <i>recovery</i> (%)
1.	15,00	0,68	4,53	
2.	10,00	0,48	4,80	
3.	10,00	0,46	4,60	4,63
4.	10,00	0,47	4,70	
5.	10,00	0,45	4,50	

Contoh perhitungan *recovery* BC-m,

$$\text{Massa BC} = 10,0 \text{ g}$$

$$\text{Massa BC-m} = 0,48 \text{ g}$$

$$\% \text{yield} = \frac{\text{massa BCm}}{\text{massa BC}} \times 100\%$$

$$\% \text{yield} = \frac{0,48 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\% \text{yield} = 4,80\%$$

Lampiran 4.2 Karakterisasi BC dan BC-m

1. Titrasi Konduktometri Sampel BC-m

a. Titrasi Konduktometri BC-m

(Ulangan 1)

No.	V. NaOH (mL)	δ ($\mu\text{S/cm}$)	No.	V. NaOH (mL)	δ ($\mu\text{S/cm}$)
1.	1	237,72	12.	12	167,34
2.	2	233,64	13.	13	160,14
3.	3	230,43	14.	14	153,27
4.	4	224,21	15.	15	145,75
5.	5	217,50	16.	16	138,98
6.	6	210,20	17.	17	132,67
7.	7	202,21	18.	18	126,15
8.	8	195,04	19.	18,8	120,62
9.	9	187,55	20.	19,4	115,25
10.	10	180,55	21.	20,0	111,47
11.	11	173,91	22.	20,6	109,23

No.	V. NaOH (mL)	δ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	No.	V. NaOH (mL)	δ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
23.	21,2	108,45	45.	37,2	119,79
24.	21,8	107,96	46.	38,2	121,63
25.	22,4	107,66	47.	39,2	123,61
26.	23,0	107,38	48.	40,2	125,60
27.	23,6	107,19	49.	41,2	127,41
28.	24,2	107,12	50.	42,2	129,24
29.	24,8	107,17	51.	43,2	131,31
30.	24,8	107,17	52.	44,2	133,20
31.	25,4	107,19	53.	45,2	135,15
32.	26,0	107,38	54.	46,2	137,10
33.	26,6	107,59	55.	47,2	139,05
34.	27,2	107,96	56.	48,2	141,12
35.	28,2	108,65	57.	49,2	143,11
36.	28,2	108,65	58.	50,2	145,02
37.	29,2	109,45	59.	51,2	148,12
38.	30,2	110,30	60.	53,2	150,01
39.	31,2	111,27	61.	54,2	151,71
40.	32,2	112,34	62.	55,2	153,53
41.	33,2	113,50	63.	56,2	155,28
42.	34,2	114,97	64.	57,2	157,11
43.	35,2	116,53			
44.	36,2	118,47			

δ = Konduktivitas

b. Titrasi Konduktometri BC-m

(Ulangan 2)

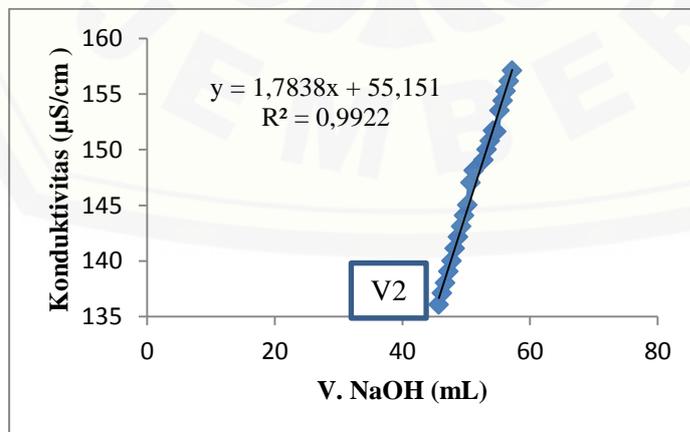
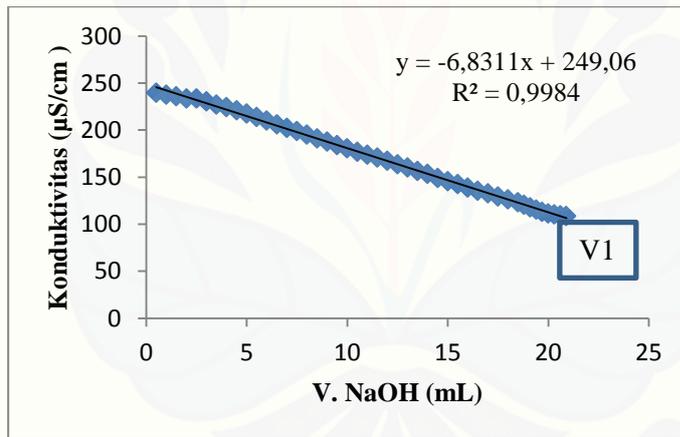
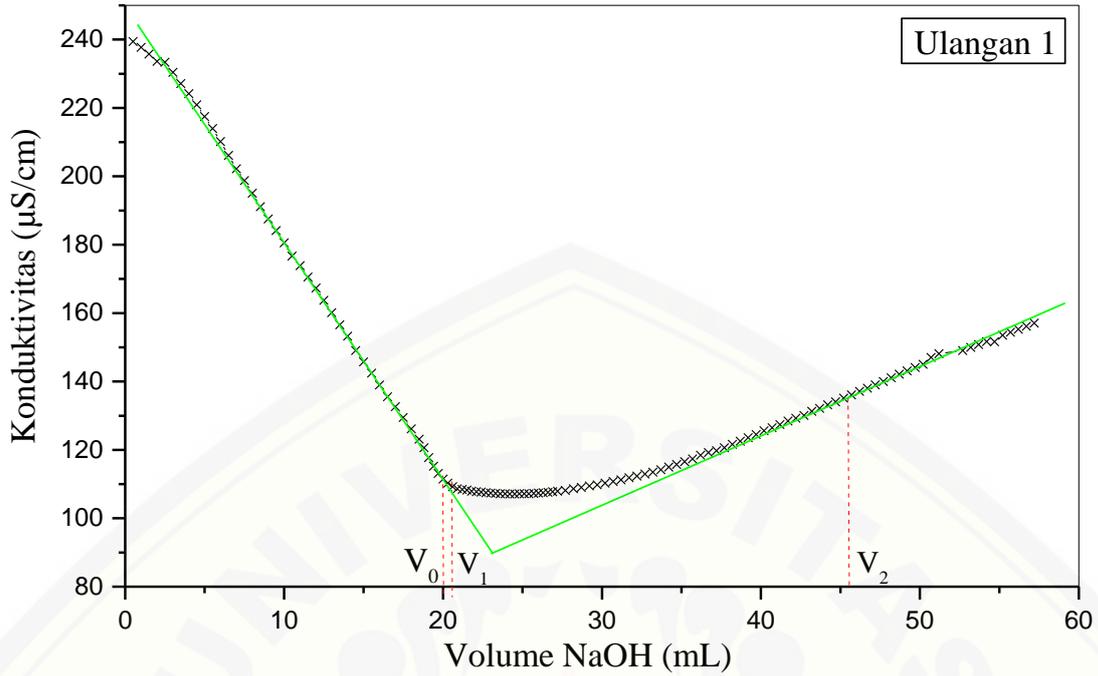
No.	V. NaOH (mL)	δ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	No.	V. NaOH (mL)	δ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
1.	0	229,69	18.	8,5	187,74
2.	0,5	228,49	19.	9,0	184,60
3.	1,0	227,11	20.	9,5	181,41
4.	1,5	225,55	21.	10,0	178,06
5.	2,0	223,90	22.	10,5	175,17
6.	2,5	222,33	23.	11,0	172,12
7.	3,0	220,12	24.	11,5	169,21
8.	3,5	217,77	25.	12,0	166,40
9.	4,0	215,21	26.	12,5	162,94
10.	4,5	212,57	27.	13,0	159,80
11.	5,0	209,77	28.	13,5	156,89
12.	5,5	206,77	29.	14,0	153,77
13.	6,0	203,62	30.	14,5	150,92
14.	6,5	200,41	31.	15,0	147,94
15.	7,0	197,11	32.	15,5	145,01
16.	7,5	193,86	33.	16,0	142,16
17.	8,0	190,47	34.	16,5	139,40

No.	V. NaOH (mL)	δ ($\mu\text{S/cm}$)	No.	V. NaOH (mL)	δ ($\mu\text{S/cm}$)
35.	17,0	136,75	80.	39,5	118,32
36.	17,5	133,79	81.	40,0	118,74
37.	18,0	131,06	82.	40,5	119,15
38.	18,5	128,50	83.	41,0	119,64
39.	19,0	125,61	84.	41,5	120,14
40.	19,5	123,04	85.	42,0	120,71
41.	20,0	120,64	86.	42,5	121,20
42.	20,5	118,41	87.	43,0	121,63
43.	21,0	116,49	88.	43,5	122,2
44.	21,5	114,68	89.	44,0	122,67
45.	22,0	113,44	90.	44,5	123,37
46.	22,5	112,61	91.	45,0	123,86
47.	23,0	111,88	92.	45,5	124,47
48.	23,5	111,45	93.	46,0	125,03
49.	24,0	111,08	94.	46,5	125,64
50.	24,5	110,87	95.	47,0	126,28
51.	25,0	110,71	96.	47,5	126,84
52.	25,5	110,63	97.	48,0	127,43
53.	26,0	110,63	98.	48,5	128,08
54.	26,5	110,64	99.	49,0	128,74
55.	27,0	110,71	100.	49,5	129,31
56.	27,5	110,79	101.	50,0	130,03
57.	28,0	110,96	102.	50,5	130,63
58.	28,5	111,12	103.	51,0	131,30
59.	29,0	111,29	104.	51,5	131,96
60.	29,5	111,45	105.	52,0	132,54
61.	30,0	111,70	106.	52,5	133,26
62.	30,5	111,95	107.	53,0	133,91
63.	31,0	112,28	108.	53,5	134,57
64.	31,5	112,53	109.	54,0	135,31
65.	32,0	112,61	110.	54,5	136,00
66.	32,5	112,78	111.	55,0	136,77
67.	33,0	112,86	112.	55,5	138,23
68.	33,5	113,19	113.	56,0	138,91
69.	34,0	113,53	114.	56,5	139,63
70.	34,5	113,93	115.	57,0	140,33
71.	35,0	114,35	116.	57,5	140,99
72.	35,5	114,76	117.	58,0	141,57
73.	36,0	115,18	118.	58,5	142,28
74.	36,5	115,67	119.	59,0	143,73
75.	37,0	116,08	120.	59,5	144,41
76.	37,5	116,57	121.	60,0	145,13
77.	38,0	117,00	122.	60,5	145,84
78.	38,5	117,41	123.	61,0	146,58
79.	39,0	117,89	124.	61,5	147,27

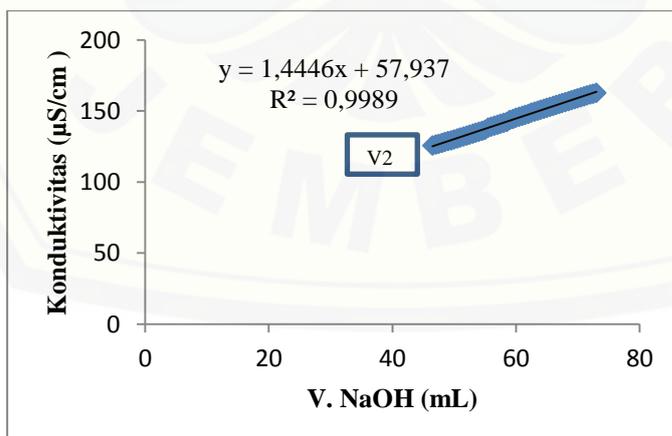
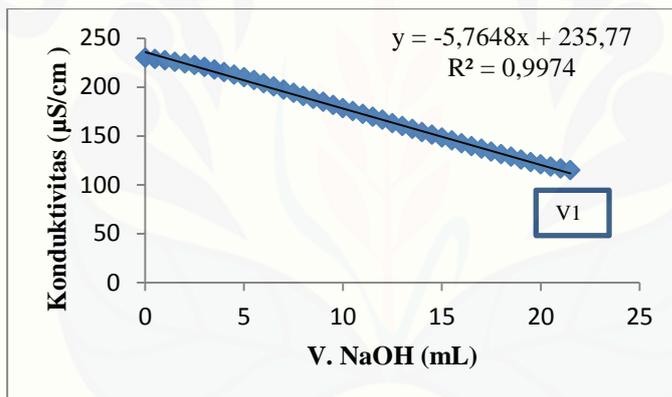
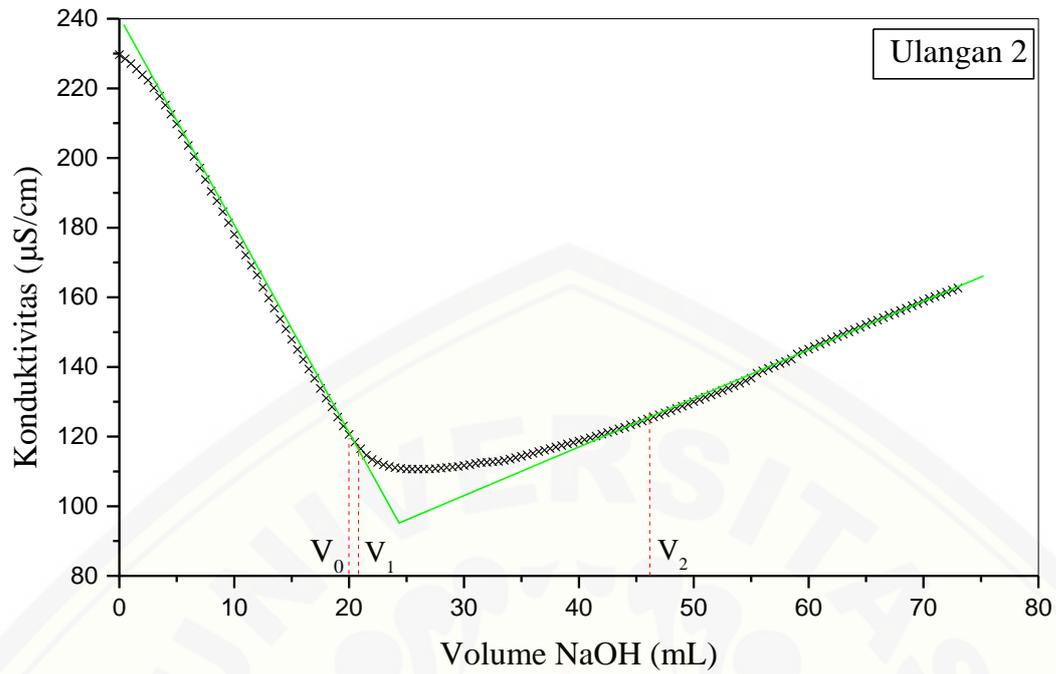
No.	V. NaOH (mL)	δ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
125.	62,0	147,99
126.	62,5	148,71
127.	63,0	149,41
128.	63,5	150,08
129.	64,0	150,74
130.	64,5	151,44
131.	65,0	152,20
132.	65,5	152,87
133.	66,0	153,44
134.	66,5	154,17
135.	67,0	154,84
136.	67,5	155,50
137.	68,0	156,21
138.	68,5	156,89
139.	69,0	157,57
140.	69,5	158,18
141.	70,0	158,90
142.	70,5	159,63
143.	71,0	160,22
144.	71,5	160,88
145.	72,0	161,51
146.	72,5	162,10
147.	73,0	162,69

δ = Konduktivitas

c. Grafik Titrasi Konduktometri BC-m



d. Titrasi Konduktometri BC-m



e. Standardisasi NaOH

Ulangan ke-	V.H ₂ C ₂ O ₄ .2H ₂ O (mL)	V.NaOH (mL)	[H ₂ C ₂ O ₄ .2H ₂ O] (mM)	[NaOH] (mM)	Rata-rata [NaOH] (mM)
1	5	39,8	25	6,28	6,265
2	5	40,0	25	6,25	

f. Penentuan Jumlah Gugus Muatan pada BC-m

Ulangan ke-	V ₁ NaOH (mL)	V ₀ NaOH (mL)	[−OSO ₃ [−]] (mmol/Kg)	Rata-rata [−OSO ₃ [−]] (mmol/Kg)
1	20,9	19,95	11,90	15,66
2	21,5	19,95	19,42	

Contoh perhitungan dalam menentukan jumlah gugus muatan pada sampel BC-m,

$$[-OSO_3^-] = \frac{c(V_1 - V_0)}{m}$$

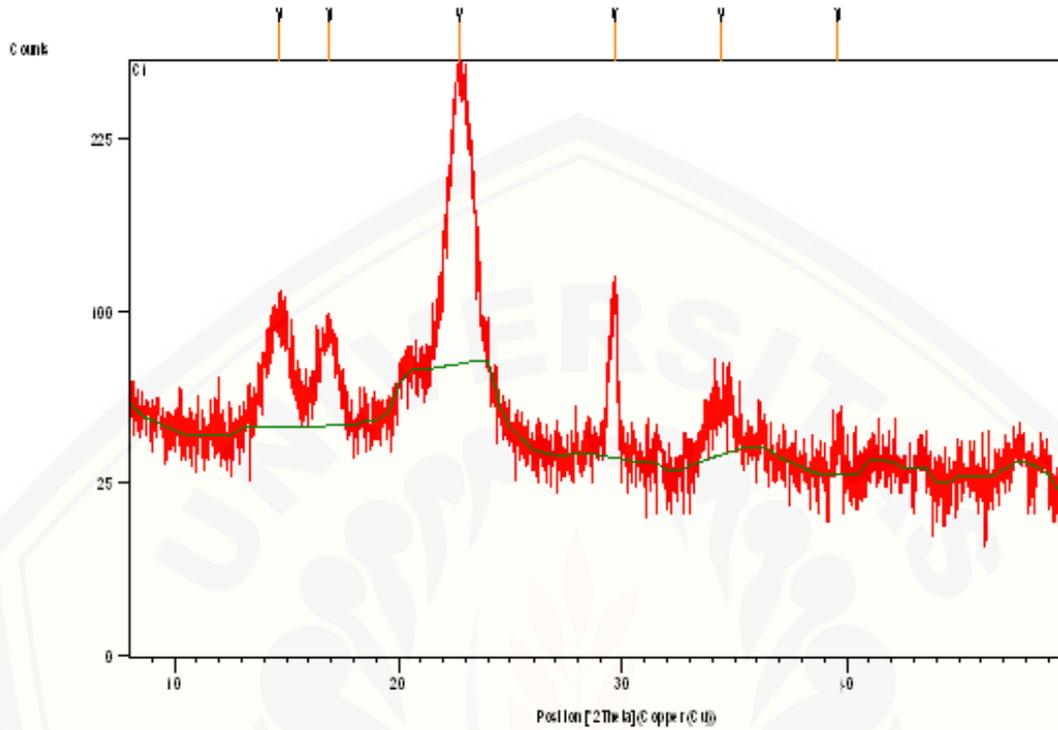
$$[-OSO_3^-] = \frac{6,265 \text{ mmol/L} \times (20,9 - 19,95) 10^{-3} \text{ L}}{0,5 \times 10^{-3} \text{ Kg}}$$

$$[-OSO_3^-] = \frac{6,265(0,95) \text{ mmol}}{0,5 \text{ Kg}}$$

$$[-OSO_3^-] = 11,90 \text{ mmol} \cdot \text{Kg}^{-1}$$

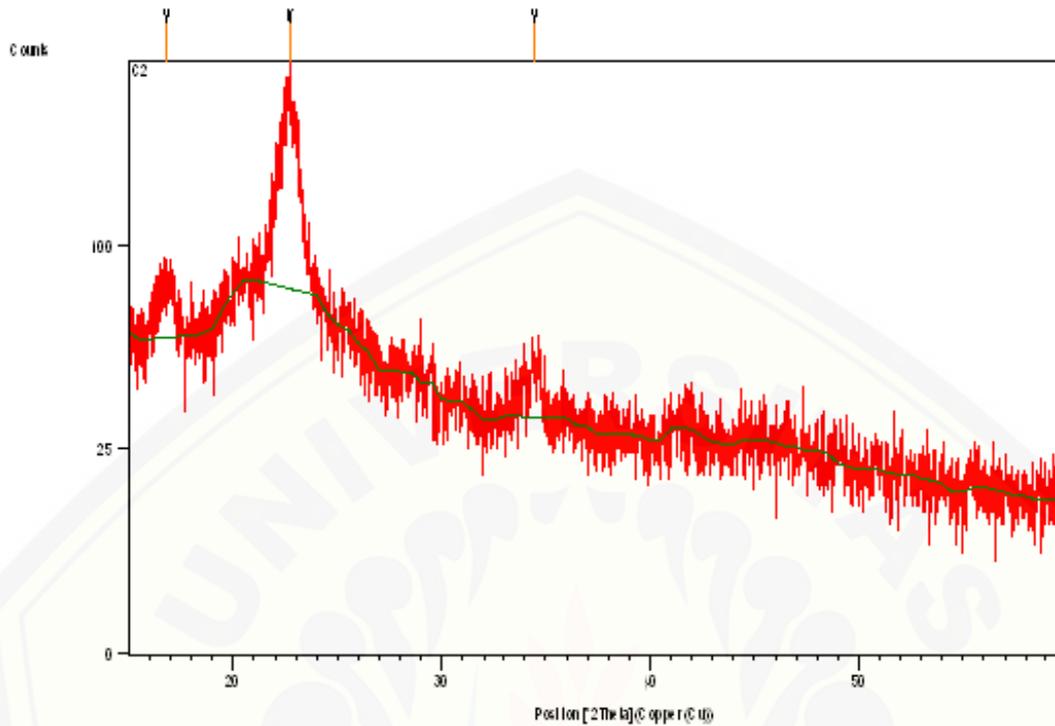
2. Analisis XRD

a. Analisis BC (*Bacterial Cellulose*)



Pos. [°2Th.]	Height [cts]	FWHM [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
14.6814	53.18	0.9446	6.03381	24.65
16.9149	46.95	0.6298	5.24181	21.77
22.7033	215.69	0.4723	3.91677	100.00
29.6385	75.36	0.2755	3.01418	34.94
34.3768	20.48	0.9446	2.60879	9.49
39.6304	11.50	0.4723	2.27424	5.33

b. Analisis BC-m (*Bacterial Cellulose modified*)



Pos. [°2Th.]	Height [cts]	FWHM [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
16.8075	20.54	0.9446	5.27506	19.00
22.6820	108.11	0.9446	3.92039	100.00
34.4596	17.54	0.6298	2.60272	16.22

c. Perhitungan Derajat Kristalinitas BC dan BC-m

No.	Sampel	FWHM		Intensitas	
		Kristal	Amorf	Kristal	Amorf
1.	BC	0,4723	0,6298	215,69	46,95
2.	BC-m	0,9446	0,9446	108,11	20,54

Derajat kristalinitas dari sampel dapat ditentukan melalui perhitungan luas fraksi kristal dan amorf. Kedua luas fraksi tersebut diperoleh dari perkalian antara nilai FWHM dengan tingginya intensitas yang dihasilkan pada puncak:

$$\text{Luas fraksi kristal} = \text{FWHM}_{\text{kristal}} \times I_{\text{kristal}}$$

$$\text{Luas fraksi amorf} = \text{FWHM}_{\text{amorf}} \times I_{\text{amorf}}$$

Derajat kristalinitas (CrI), kemudian diperoleh dari rumus berikut:

$$\text{CrI} = \frac{\text{Luas fraksi kristal}}{\text{Luas fraksi kristal} + \text{Luas fraksi amorf}} \times 100\%$$

➤ Perhitungan untuk BC

a. Luas fraksi kristal = $0,4723 \times 215,69$

Luas fraksi kristal = 101,87

b. Luas fraksi amorf = $0,6298 \times 46,95$

Luas fraksi amorf = 29,527

$$\text{CrI} = \frac{101,87}{101,87 + 29,527} \times 100\%$$

$$= \frac{102,12}{131,40} \times 100\%$$

CrI = 77,72%

➤ Perhitungan untuk BC-m

a. Luas fraksi kristal = $0,9446 \times 108,11$

Luas fraksi kristal = 102,12

b. Luas fraksi amorf = $0,9446 \times 20,54$

Luas fraksi amorf = 19,402

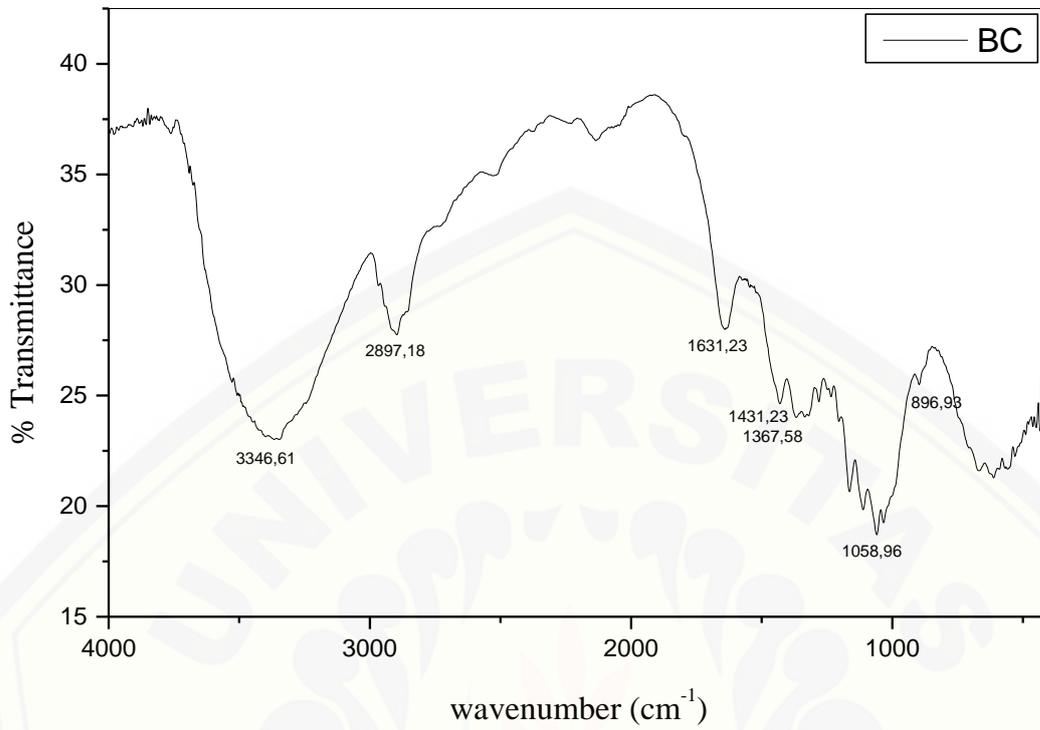
$$\text{CrI} = \frac{102,12}{102,12 + 19,402} \times 100\%$$

$$= \frac{102,12}{121,52} \times 100\%$$

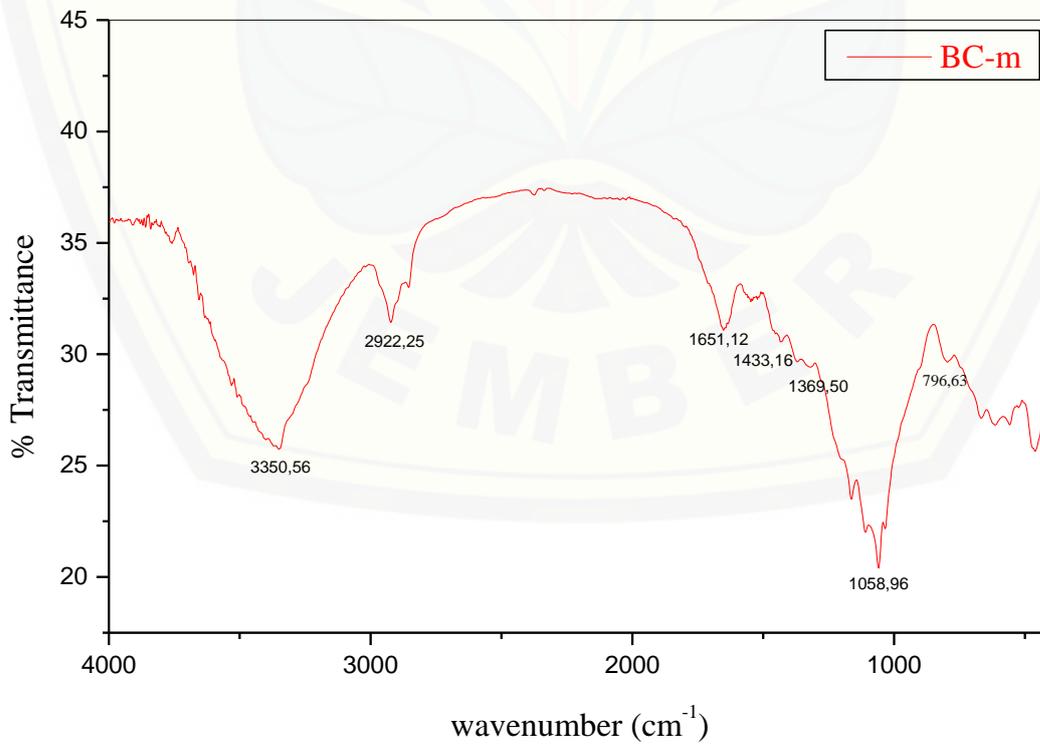
CrI = 84,04%

3. Analisis FTIR

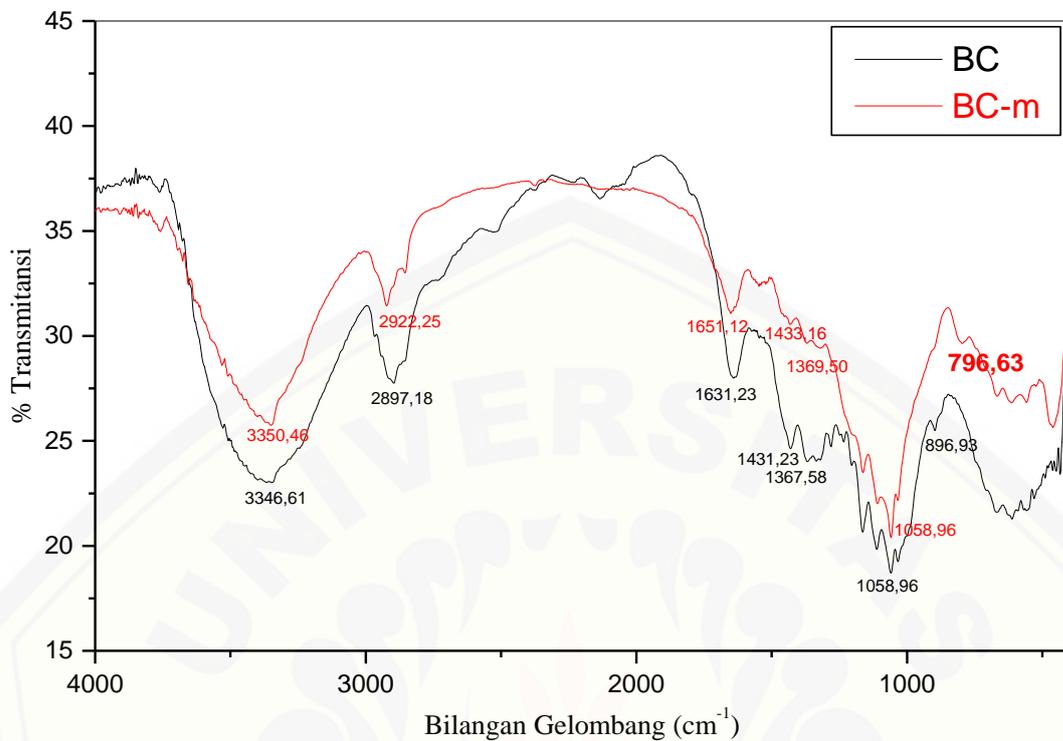
a. Spektrum IR BC



b. Spektrum IR BC-m

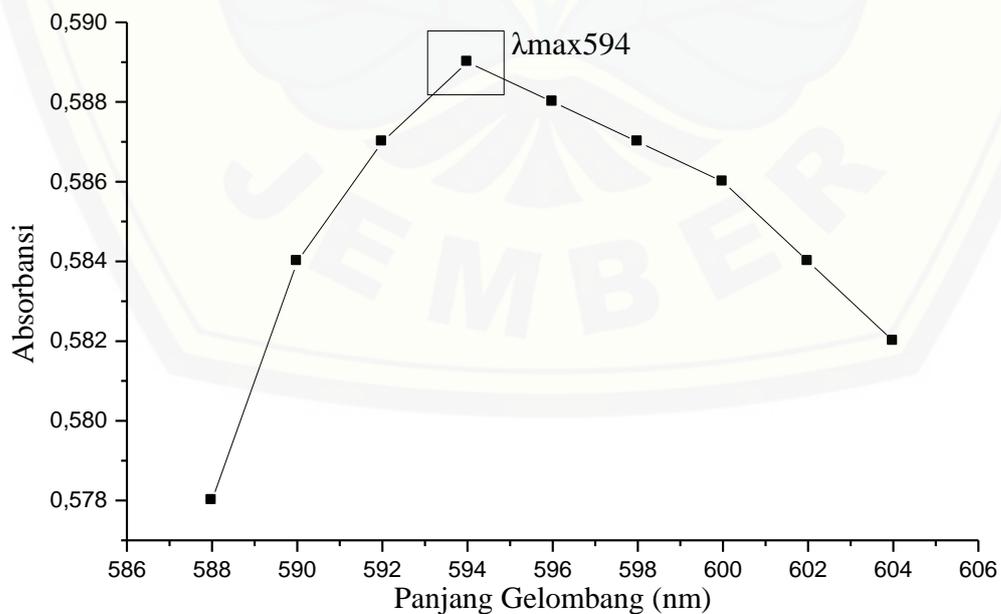


c. Spektrum Gabungan BC dan BC-m



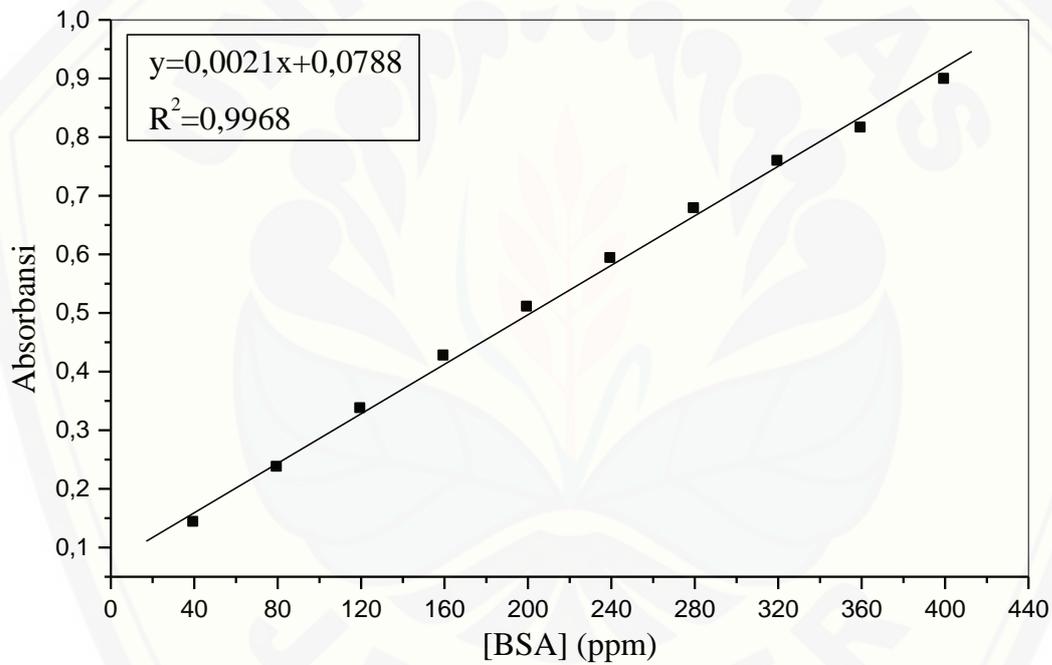
Lampiran 4.3 Penentuan Nilai Adsorpsi BC dan BC-m

1. Penentuan λ_{max} BSA, pada λ 588-604 nm dengan interval 2 nm



2. Penentuan Kurva Kalibrasi BSA

No.	[BSA] (ppm)	Absorbansi			Rata-rata Absorbansi
		U1	U2	U3	
1.	40	0,142	0,142	0,143	0,142
2.	80	0,236	0,237	0,236	0,236
3.	120	0,336	0,336	0,336	0,336
4.	160	0,426	0,428	0,426	0,427
5.	200	0,510	0,509	0,509	0,509
6.	240	0,592	0,589	0,589	0,590
7.	280	0,677	0,677	0,677	0,677
8.	320	0,758	0,758	0,757	0,758
9.	360	0,815	0,814	0,815	0,815
10.	400	0,897	0,897	0,898	0,897



3. Adsorpsi pada BC dan BC-m (Variasi pH)

a. Adsorpsi pada BC

pH	Ulangan ke-	A	C _i (ppm)	C _f (ppm)	V (mL)	m (g)	q (mg/g)	Rata-rata q (mg/g)	SD
3	1	0,502		201,52			99,240	99,160	0,207
	2	0,500		200,57			99,715		
	3	0,505		202,95			98,525		
4	1	0,527		213,43			93,285	92,968	0,076
	2	0,528		213,90			93,050		
	3	0,530		214,86			92,570		
5	1	0,540		219,62			90,190	88,285	1,703
	2	0,550	400	224,38	50	0,1	87,810		
	3	0,554		226,29			86,855		
6	1	0,577		237,24			81,380	82,650	0,732
	2	0,570		233,91			83,045		
	3	0,568		232,95			83,525		
Kontrol (7)	1	0,582		239,62			80,190	79,158	0,469
	2	0,588		242,48			78,760		
	3	0,589		242,95			78,525		

Keterangan:

A : absorbansi

C_i : konsentrasi awal BSAC_f : konsentrasi akhir BSA

V : volume larutan

m : massa adsorben

q : nilai adsorpsi BSA

SD : standar deviasi

b. Adsorpsi pada BC-m

pH	Ulangan ke-	A	C _i (ppm)	C _f (ppm)	V (mL)	m (g)	q (mg/g)	Rata-rata q (mg/g)	SD
3	1	0,290		100,57			149,72	150,35	0,723
	2	0,284		97,71			151,14		
	3	0,288		99,62			150,19		
4	1	0,347		127,71			136,14	136,22	0,367
	2	0,348		128,19			135,90		
	3	0,345		126,76			136,62		
5	1	0,407		156,29			121,86	121,94	0,361
	2	0,408	400	156,76	50	0,1	121,62		
	3	0,405		155,33			122,33		
6	1	0,488		175,81			112,10	111,70	0,367
	2	0,451		177,24			111,38		
	3	0,450		176,76			111,62		
Kontrol (7)	1	0,511		205,81			97,100	97,414	0,362
	2	0,507		204,38			97,810		
	3	0,510		205,33			97,333		

Keterangan:

- A : absorbansi
 C_i : konsentrasi awal BSA
 C_f : konsentrasi akhir BSA
 V : volume larutan
 m : massa adsorben
 q : nilai adsorpsi BSA
 SD : standar deviasi

4. Adsorpsi BSA pada BC (Variasi Kekuatan Ionik, NaCl)

a. Adsorpsi pada BC

Kekuatan Ionik (M)	Ulangan ke-	A	C _i (ppm)	C _f (ppm)	V (mL)	m (g)	q (mg/g)	Rata-rata q (mg/g)	SD
0,02	1	0,308	400	109,14	50	0,1	145,43	145,82	0,1304
	2	0,305		107,72			146,14		
	3	0,306		108,20			145,90		
0,04	1	0,431		167,72			116,14	116,78	0,3592
	2	0,428		166,28			116,86		
	3	0,426		165,34			117,33		
0,06	1	0,599		247,71			76,145	76,064	0,1320
	2	0,598		247,24			76,380		
	3	0,601		248,67			75,667		
0,08	1	0,696	293,90	53,050	52,493	1,9485			
	2	0,705	298,19	50,905					
	3	0,694	292,95	53,525					

Keterangan:

A : absorbansi

C_i : konsentrasi awal BSAC_f : konsentrasi akhir BSA

V : volume larutan

m : massa adsorben

q : nilai adsorpsi BSA

SD : standar deviasi

b. Adsorpsi pada BC-m

Kekuatan Ionik (M)	Ulangan ke-	A	C _i (ppm)	C _f (ppm)	V (mL)	m (g)	q (mg/g)	Rata-rata q (mg/g)	SD
0,02	1	0,209		62,00			169,00	169,48	0,629
	2	0,204		59,62			170,19		
	3	0,208		61,52			169,24		
0,04	1	0,334		121,52			139,24	139	0,416
	2	0,337		122,95			138,52		
	3	0,334		121,52			139,24		
0,06	1	0,379	400	142,95	50	0,1	128,52	127,41	0,988
	2	0,385		145,81			127,10		
	3	0,387		146,76			126,62		
0,08	1	0,420		162,48			118,76	117,89	0,833
	2	0,424		164,38			117,81		
	3	0,427		165,81			117,10		

Keterangan:

A : absorbansi

C_i : konsentrasi awal BSA

C_f : konsentrasi akhir BSA

V : volume larutan

m : massa adsorben

q : nilai adsorpsi BSA

SD : standar deviasi

Contoh Perhitungan Nilai Adsorpsi BSA

$$y = 0,0021x + 0,0788$$

di mana: y (absorbansi) dan x (konsentrasi, ppm)

Absorbansi 0,502 (pH = 3, sampel BC)

$$y = 0,0021x + 0,0788$$

$$0,502 = 0,0021x + 0,0788$$

$$x = 201,52 \text{ ppm}$$

Maka, jumlah BSA yang teradsorpsi adalah:

$$[\text{BSA}] = \text{konsentrasi awal} - \text{konsentrasi akhir}$$

$$= 400 \text{ ppm} - 201,52 \text{ ppm}$$

$$[\text{BSA}] = 198,48 \text{ ppm}$$

Nilai adsorpsi BSA

$$q = \frac{[C_i - C_f] \cdot V}{m}$$

di mana: q (nilai adsorpsi), C_i (konsentrasi awal), C_f (konsentrasi akhir), V (volume larutan, mL), m (massa adsorben, g)

$$q = \frac{[400 - 198,48] \text{mg/L} \cdot 5 \times 10^{-2} \text{L}}{0,1 \text{g}}$$

$$q = 99,240 \text{ mg/g}$$

