



ADSORPSI PROTEIN PADA *BEADS* ALGINAT/NANOSELULOSA

SKRIPSI

Oleh

**Ummu Salamah
NIM 141810301027**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



ADSORPSI PROTEIN PADA *BEADS* ALGINAT/NANOSELULOSA

SKRIPSI

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

Oleh
Ummu Salamah
NIM 141810301027

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2019

PERSEMBAHAN

Skripsi yang berjudul “*Adsorpsi Protein pada Beads Alginat/nanoselulosa*” ini Saya persembahkan kepada:

1. Ayahanda Supardi dan Ibunda Rodiyatul Munawaroh, serta kakak tersayang Sukron Ar-Rasyid dan Ahmad Taqi Yudin serta seluruh keluarga besar dari ayah dan ibu yang senantiasa memberikan doa 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 Siwi Peni, SDN Petunjungan 1, SMPN 1 Paiton, SMA Tunas Luhur 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 jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu. Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah Maha Mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui”
(Al-Baqarah: 216)^{*)}

“Tidak semua kebiasaan itu baik, tapi kebaikan harus dibiasakan”
(Ust. Mukhlas)^{**)}

“A person who never made a mistake, never try anything new”
(Albert Einstein dalam Salajkova, 2013)^{***)}

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

^{**)} Ust. Mukhlas. 2013. SMA Tunas Luhur.

^{***)} Salajková, M. 2013. Wood Nanocellulose Materials and Effect from Surface Modification on Nanoparticle. *Doctoral Thesis*. Stockholm: KTH Royal Institute of Technology.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ummu Salamah

NIM : 141810301027

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “*Adsorpsi Protein pada Beads Alginat/nanoselulosa*” 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, 28 Januari 2019

Yang menyatakan,

Ummu Salamah

NIM 141810301027

SKRIPSI

**ADSORPSI PROTEIN PADA *BEADS*
ALGINAT/NANOSELULOSA**

Oleh

Ummu Salamah
NIM 141810301027

Pembimbing

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “*Adsorpsi Protein pada Beads Alginat/nanoselulosa*” karya Ummu Salamah 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,

Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si.
NIP. 197012251997022001

Suwardiyanto, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 197501191998021001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Drs. Sujito, Ph.D.

NIP. 196102041987111001

RINGKASAN

Adsorpsi Protein pada Beads Alginat/nanoselulosa; Ummu Salamah, 141810301027; 2019: 60 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Protein adalah suatu biomakromolekul yang merupakan salah satu zat gizi penting dalam tubuh. Proses pemurnian protein dapat dilakukan dengan metode kromatografi yang memanfaatkan adsorpsi protein pada fasa diam dan fasa geraknya. Adsorpsi protein dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya interaksi elektrosatik, kekuatan ion, pH dan juga temperatur. Penelitian ini mengkaji tentang adsorpsi protein pada *beads* Alginat/nanoselulosa. Rasio komposisi antara Alginat dengan Nanoselulosa serta variasi pH digunakan sebagai bahan kajian untuk mengamati perilaku adsorpsi *beads* terhadap protein. *Beads* dikarakterisasi dengan daya serap air, kemudian diuji proses adsorpsinya pada variasi pH beserta isotherm adsorpsinya. Nanoselulosa yang digunakan diperoleh dari hasil hidrolisis selulosa dari tongkol jagung. Nanoselulosa dikarakterisasi dengan menggunakan Titrasi konduktometri, FTIR serta PSA.

Penelitian ini meliputi 5 tahapan yaitu: (1) preparasi nanoselulosa (2) karakterisasi nanoselulosa (3) pembuatan *beads* (4) uji daya serap air *beads* dan (5) adsorpsi *beads* terhadap protein. Tahapan pertama yaitu isolasi selulosa dari tongkol jagung, kemudian selulosa dihidrolisis menggunakan asam sulfat 9,2 M untuk memperoleh nanoselulosa. Tahapan kedua dilakukan dengan beberapa analisis antara lain yaitu analisis gugus fungsi dengan *Fourier Transmission Infra Red* (FTIR), penentuan jumlah gugus muatan pada permukaan nanoselulosa dilakukan dengan titrasi konduktometri dan analisis diameter partikel menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Tahapan ketiga dilakukan dengan mencampurkan alginat dengan nanoselulosa dengan berbagai variasi komposisi dan dilakukan *crosslink* dengan larutan CaCl_2 . Tahapan keempat dilakukan dengan merendam *beads* yang telah kering ke dalam akuades selama 60 jam dan ditimbang tiap 6 jam. Tahap kelima dilakukan dengan melakukan adsorpsi *beads*

terhadap protein pada variasi pH untuk mendapatkan pH optimum serta variasi konsentrasi untuk mendapatkan pola adsorpsi berdasarkan isotherm adsorpsi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nanoselulosa yang dihasilkan dalam bentuk suspensi memiliki kandungan padatan sebesar 0,543%. Hasil FTIR nanoselulosa menunjukkan adanya perbedaan struktur pada selulosa setelah hidrolisis dengan masuknya gugus sulfat. Jumlah gugus muatan sulfat hasil titrasi konduktometri diperoleh sebesar 14078,84 mmol/Kg. Hasil PSA menunjukkan rata-rata ukuran partikel sebesar $122,5 \pm 0,7$ nm. *Beads* yang dihasilkan berbentuk bulat dan sedikit berekor. Daya serap air optimum pada waktu 48 jam. Adsorpsi *beads* terhadap protein (BSA) optimum pada pH 4 dengan adsorpsi hampir mencapai 90% pada tiap komposisi *beads*. Isotherm adsorpsi yang sesuai dengan adsorpsi protein terhadap *beads* adalah isotherm lamuir dengan regresi $> 0,9$ pada tiap komposisi *beads* dengan jenis adsorpsi fisika. Kapasitas adsorpsi meningkat seiring meningkatnya komposisi nanoselulosa. Kapasitas adsorpsi optimum pada *beads* dengan komposisi 6 dan 10%.

PRAKATA

Alhamdulillah atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Adsorpsi Protein pada Beads Alginat/nanoselulosa*. 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:

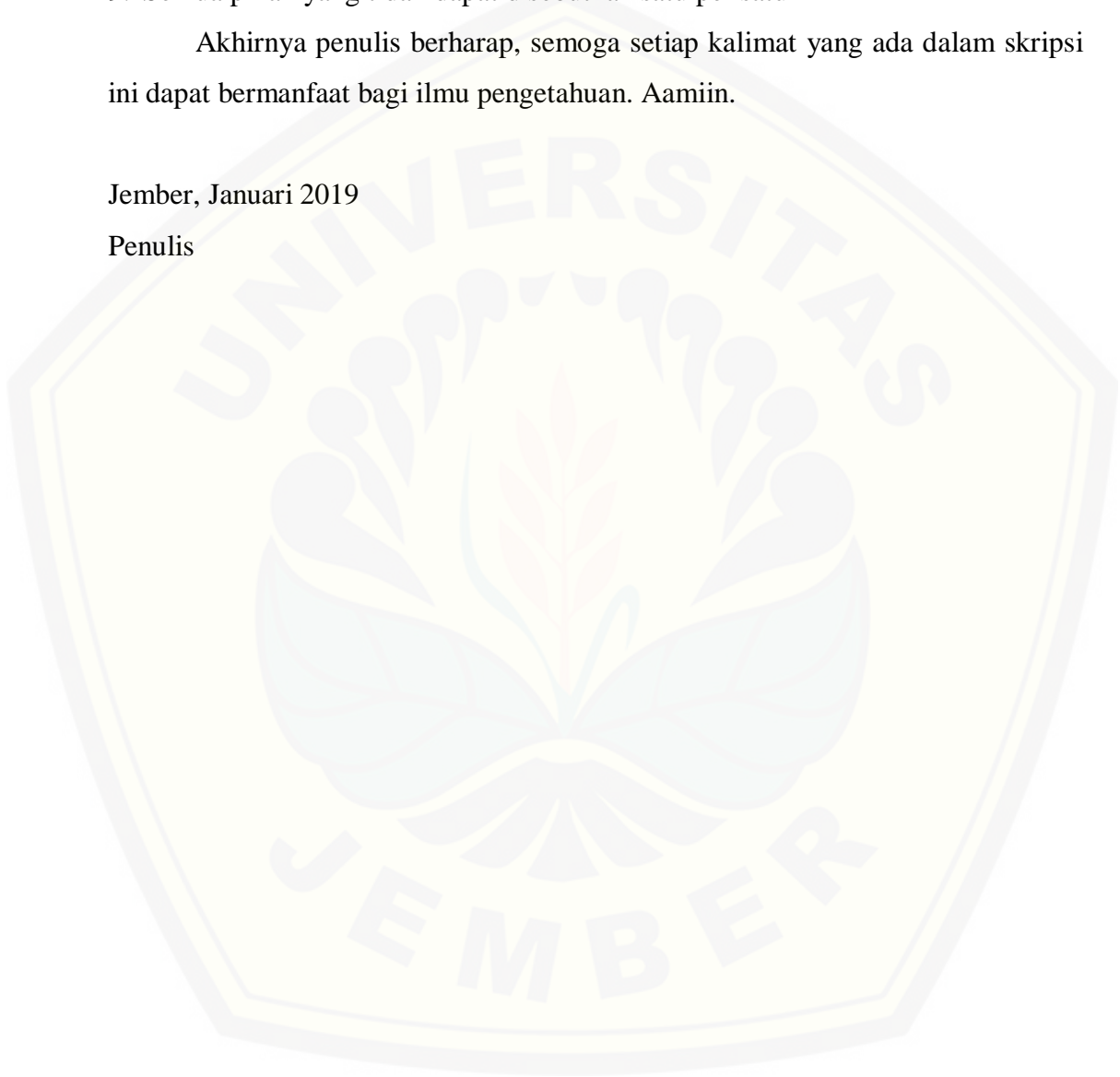
1. Drs. Sujito, Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. Kepala Laboratorium Kimia Fisik, Kimia Analitik dan Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dan Kepala Laboratorium CDAST Universitas Jember;
4. 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 serta doa dalam membimbing dengan penuh kesabaran untuk menyelesaikan penulisan skripsi ini;
5. Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji I dan Suwardiyanto, S.Si., M.Si., Ph.D., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya untuk menguji serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
6. Dwi Indarti, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberikan nasihat, dan arahan serta beberapa kritikan bagi penulis selama menjadi mahasiswa;
7. Rekan proyek penelitian CORN COBS TEAMS yaitu Farida Utami dan Nurul Zuhro'ul Vikriya yang selalu bekerjasama untuk terselesainya penelitian dengan baik;

8. Keluarga kedua UKMS TITIK, Teman-teman Majesty 2014, CIS a.k.a Anugerah Terindah, Pejuang S.Si, Khitab, WWBS, Mantap Soul, saudara KPM serta kost 57B yang selalu memberikan semangat selama masa kuliah hingga studi penulis terselesaikan dengan baik;
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu

Akhirnya penulis berharap, semoga setiap kalimat yang ada dalam skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan. Aamiin.

Jember, Januari 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN SAMPUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Batasan Masalah	3
1.5 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Protein	5
2.2 Adsorpsi	7
2.3 Alginat	10
2.4 Selulosa	11
2.4.1 Sumber Selulosa	13
2.4.2 Nanoselulosa	14
2.5 Beads Alginat/Nanoselulosa	15
2.6 Karakterisasi Nanoselulosa dan Beads ANC	16
2.6.1 Titrasi Konduktometri	16
2.6.2 Spektrofotometri FTIR.....	17
2.6.3 Particle Size Analyzer (PSA)	18
2.6.4 Spektrofotometer UV-VIS	19
2.6.5 Daya Serap Air (DSA)	20
BAB 3. METODE PENELITIAN	22
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.2 Alat dan Bahan	22
3.2.1 Alat	22

3.2.2 Bahan	22
3.3 Diagram Alir Penelitian	24
3.4 Prosedur Penelitian	25
3.4.1 Isolasi Selulosa dari Tongkol Jagung	25
3.4.2 Pembuatan Nanoselulosa dengan HidroisisAsam	25
3.4.3 Pembuatan Beads Alginat/Nanoselulosa (ANC).....	26
3.4.4 Karakterisasi Nanselulosa dan Beads	27
3.4.5 Adsorpsi Protein pada Beads Alginat/Nanoselulosa	28
3.4.6 Preparasi Bahan Sediaan	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1 Karakteristik Nanoselulosa Hasil Hidrolisis	38
4.1.1 Spektra Gugus Fungsi Hasil FTIR.....	38
4.1.2 Gugus Sulfat pada Naoselulosa	40
4.1.3 Distribusi Ukuran Partikel Nanoselulosa.....	41
4.2 Karakteristik Beads ANC	42
4.2.1 Karakteristik Daya Serap Air (DSA) Beads.....	43
4.3 Adsorpsi Protein	45
4.3.1 Pengaruh pH pada Adsorpsi Protein.....	45
4.3.2 Isoterm Adsorpsi.....	47
BAB 5. PENUTUP	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi Tongkol Jagung	14
3.1 Komposisi Pembuatan Beads	26
3.2 Komposisi Volume Larutan Asam Sitrat dan Larutan Dinatrium Hidrogen Fosfat yang Dibutuhkan untuk Pembuatan Buffer Sitrat-Fosfat.	34
4.1 Data Hasil Titrasi Konduktometri.....	41
4.2 Distribusi Ukuran Partikel Hasil PSA.....	41
4.3 Parameter Isoterm pada Kurva Langmuir	48
4.4 Parameter Isoterm pada Kurva Freundlich.....	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Keadaan Ionisasi Protein sebagai Fungsi pH.....	6
2.2 Struktur Alginat	10
2.3 Struktur Selulosa.....	12
2.4 Pembentukan Gel Alginat dengan Kation Kalsium dalam Gel Egg-Box	16
2.5 Kurva Titrasi Konduktometri	17
3.1 Diagram Alir Penelitian.....	24
4.1 Rangkaian Tahapan Isolasi Selulosa	35
4.2 Preparasi Nanoselulosa.....	36
4.3 Mekanisme reaksi Sulfatasi pada Selulosa.....	38
4.4 Spektra FTIR Serbuk Tongkol Jagung (CCC) Selulosa Tongkol Jagung (CC) dan Nanoselulosa Tongkol Jagung (NCC)	39
4.5 Rangkaian Proses Pembuatan Beads	43
4.6 Persentase DSA Beads pada Berbagai Variasi Komposisi.....	44
4.7 Adsorpsi Protein pada Variasi pH.....	45
4.8 Interaksi antara Protein dengan Permukaan Beads pada pH di bawah Titik Isoelektrik.....	46
4.9 Hubungan DSA dengan Adsorpsi Protein.....	47
4.10 Isoterm Langmuir pada berbagai Komposisi Nanoselulosa	49
4.11 Isoterm Freundlich pada berbagai Komposisi Nanoselulosa	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Preparasi Bahan Sediaan	61
4.1 Penentuan Solid Content (SC) Suspensi Nanoselulosa.....	66
4.2 Rendemen Nanoselulosa	67
4.3 Volume Nanoselulosa untuk Pembuatan Beads	68
4.4 Karakterisasi Nanoselulosa dan Beads ANC.....	69
4.4.1 Analisis Penentuan Jumlah Gugus Bermuatan Sulfat dengan Titrasi Konduktometri.....	69
4.4.2 Analisis Ukuran Partikel dengan PSA.....	71
4.4.3 Uji Daya Serap Air pada Beads Berbagai Variasi Komposisi.....	73
4.5 Scanning Panjang Gelombang	75
4.6 Kurva Standar BSA.....	76
4.7 Penentuan pH Optimum Adsorpsi Protein	77
4.8 Penentuan Isoterm Adsorpsi Beads ANC	78
4.8.1 Isoterm Langmuir	79
4.8.2 Isoterm Freundlich	80

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Protein adalah suatu biomakromolekul yang merupakan salah satu zat gizi yang penting dalam tubuh (Latour, 2005). Pemurnian protein dapat dilakukan dengan metode kromatografi. Fasa diam dan fasa gerak dalam metode kromatografi terjadi adsorpsi protein. Adsorpsi protein pada permukaan polimer terjadi karena adanya interaksi antara kedua molekul yang timbul karena adanya muatan yang dimiliki oleh adsorben (polimer) dan adsorbat (protein) (Epaillard *et al.*, 2012). Adsorpsi protein dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya interaksi elektrostatis, interaksi hidrofobik dan interaksi kimia antara protein dengan permukaan adsorben yang juga akan dipengaruhi oleh kekuatan ionik, pH dan temperatur (Dewald *et al.*, 2015). Perubahan pH pada proses adsorpsi dapat mengubah muatan pada adsorben dan adsorbat. Hal tersebut akan mempengaruhi interaksi antara adsorben dengan adsorbat yang dapat menentukan kapasitas adsorpsinya. Adsorpsi BSA pada titanium dioksida diperoleh optimum pada pH 4 dengan kapasitas adsorpsi BSA tertinggi (Kopac, 2007). Daya serap air juga dapat menjadi tolak ukur untuk adsorpsi. Daya serap air dipengaruhi oleh banyaknya jumlah gugus hidrofilik. Gugus hidrofilik yang semakin banyak akan meningkatkan daya serap air.

Adsorpsi protein dapat dilakukan dengan menggunakan material anorganik seperti silika dan karbon aktif serta material organik seperti alginat. Alginat banyak dimanfaatkan dalam bidang biomedis karena sifatnya yang *biodegradable*, biokompatibel, serta aman sebagai bahan tambahan makanan, kosmetik dan obat-obatan (Ibrahim dan Kariman, 2012). Alginat juga mudah dibuat gel sehingga dapat dijadikan *entrapment* atau hambatan obat. Stabilitas mekanik dari alginat masih lemah, sehingga memerlukan penambahan bahan penguat untuk meningkatkan kekuatannya tersebut, misalnya dengan penambahan nanokomposit. Alginat berbasis nanokomposit telah banyak dikembangkan. Komposit ini dibuat dari alginat dengan nanoselulosa.

Nanoselulosa merupakan modifikasi dari selulosa dengan partikel berukuran nano. Nanoselulosa memiliki beberapa keunggulan dibandingkan selulosa, diantaranya luas permukaan yang lebih besar serta kemampuan dispersi dan sifat mekanik yang lebih baik (Ioelovich, 2012). Hal tersebut menyebabkan nanoselulosa banyak digunakan sebagai bahan penguat untuk polimer dan adsorben (Effendi *et al.*, 2015).

Pemanfaatan nanoselulosa sebagai adsorben telah banyak dikembangkan pada adsorpsi protein (Lin dan Durfresne, 2014) serta untuk adsorpsi logam-logam (Liu, 2016). Alginat/Nanoselulosa yang digunakan dijadikan *beads* dengan metode gelasi dan *crosslink* menggunakan larutan CaCl_2 . Ion Ca^{2+} digunakan sebagai agen pengikat silang dalam pembuatan polimer jaringan hidrogel agar menghasilkan gel yang lebih kuat (Gülay, 2009). Penambahan nanoselulosa pada alginat dengan berbagai komposisi dilakukan untuk meningkatkan luas permukaan adsorben. Luas permukaan nanoselulosa yang semakin besar, diharapkan dapat menyerap protein lebih banyak. Shen (2017) melakukan variasi komposisi penambahan nanoselulosa ke dalam alginat, dimana komposisi Nanoselulosa sebesar 5% memiliki kekuatan mekanik yang paling baik. Komposisi selulosa terhidrolisis yang semakin besar pada *beads* meningkatkan adsorpsinya (Aini, 2017). Penelitian mengenai adsorpsi menggunakan Alginat berbasis nano komposit dilakukan juga oleh Lin dkk (2011), hasilnya menunjukkan adanya penambahan nanokristal polisakarida dapat meningkatkan kestabilan mekanik dan menghasilkan *slow release* pada bahan aktif teofilin dibandingkan dengan alginat itu sendiri.

Penentuan pola adsorpsi dapat dilakukan dengan menggunakan isoterm adsorpsi. Isoterm adsorpsi merupakan hubungan empiris yang digunakan untuk memprediksi berapa banyak solut yang dapat diadsorpsi oleh adsorben pada kesetimbangan. Persamaan yang sering dipakai untuk menggambarkan data isoterm adsorpsi yaitu persamaan Langmuir dan Freundlich (Desta, 2013).

Penelitian ini mengkaji tentang adsorpsi protein pada *beads* Alginat/nanoselulosa. Rasio komposisi antara Alginat dengan Nanoselulosa serta variasi pH digunakan sebagai bahan kajian untuk mengamati perilaku adsorpsi

beads terhadap protein. *Beads* dikarakterisasi dengan daya serap air, kemudian diuji proses adsorpsinya pada variasi pH beserta isoterm adsorpsinya. Nanoselulosa yang digunakan diperoleh dari hasil hidroisis selulosa dari tongkol jagung. Nanoselulosa dikarakterisasi dengan menggunakan Titrasi konduktometri, FTIR serta PSA.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik daya serap air *beads* Alginat/nanoselulosa pada berbagai variasi komposisi?
2. Bagaimana pengaruh pH terhadap adsorpsi protein oleh *beads* Alginat/nanoselulosa?
3. Bagaimana isoterm adsorpsi protein pada *beads* Alginat/nanoselulosa menggunakan persamaan Langmuir dan Freundlich?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan, tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui karakteristik daya serap air *beads* Alginat/nanoselulosa pada berbagai variasi komposisi
2. Mengetahui pengaruh pH terhadap adsorpsi protein oleh *Beads* Alginat/nanoselulosa
3. Mempelajari isoterm adsorpsi protein pada *beads* Alginat/nanoselulosa menggunakan persamaan Langmuir dan Freundlich

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Protein yang digunakan sebagai model adalah *Bovine Serum Albumin* (BSA) (BM = 68000 Da)

2. Sistem adsorpsi yang digunakan adalah metode *batch* (statik)
3. Massa *beads* pada proses adsorpsi sebesar 0,25 gram
4. *Beads* diadsorpsi dalam akuades pada waktu optimum terlebih dahulu sebelum digunakan untuk adsorpsi protein
5. Proses adsorpsi dilakukan selama 2 jam pada suhu ruang menggunakan *shaker* dengan kecepatan 100 rpm
6. Jarak antara ujung *syringe* dengan larutan CaCl_2 pada proses pembuatan *beads* adalah 10 cm dengan ukuran *syringe* 10cc/mL tanpa diberi tekanan dan homogenasi larutan selama 10 menit
7. Nanoselulosa yang digunakan berasal dari hidrolisis selulosa tongkol jagung
8. Serbuk tongkol jagung yang digunakan diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Mengembangkan material adsorben Alginat/Nanoselulosa
2. Memberikan informasi mengenai jenis isoterm adsorpsi pada adsorpsi protein menggunakan *Beads* Alginat/Nanoselulosa
3. Memberikan informasi mengenai *Beads* Alginat/Nanoselulosa dapat dijadikan sebagai material yang berpotensi pada aplikasi biomedis.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

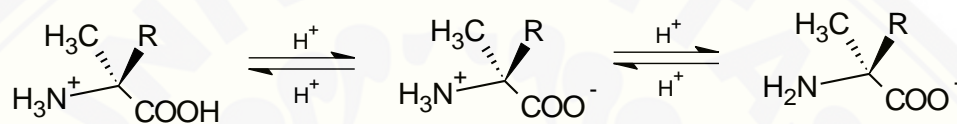
2.1 Protein

Protein merupakan suatu biomakromolekul dengan beberapa gugus fungsi yang berbeda. Protein tersusun dari beberapa asam amino yang bergabung melalui ikatan peptida. Satu molekul protein dapat tersusun dari 12 hingga 18 jenis asam amino dan dapat mencapai hingga ratusan asam amino (Latour, 2005). Protein tersusun dari beberapa unsur kimia seperti Karbon (55%), Hidrogen (7%), Oksigen (23%), Nitrogen (16%), Sulfur (1%) dan Fosfor (<1%) (Winarno, 1991). Struktur protein yaitu struktur primer, sekunder, tersier dan kuanterner. Gugus hidrofilik protein tersimpan dalam inti protein, sedangkan gugus hidrofobiknya berada di permukaan protein, hal tersebut menjadikan protein tidak larut dalam air (Lantour, 2005). Salah satu jenis protein adalah Albumin.

Albumin merupakan protein globular yang banyak terdapat dalam telur, plasma serta susu. Albumin memiliki stabilitas yang tinggi dan relatif murah. Kelarutan albumin dalam air dapat menurun dengan adanya pemanasan pada suhu 50-70⁰C. Albumin tersusun atas rantai tunggal polipeptida yang terdiri atas 585 asam amino dan terdapat 17 ikatan disulfida yang menghubungkan asam-asam amino yang mengandung sulfur (Evans, 2002). Pemanfaatan albumin banyak diterapkan pada dunia kesehatan sebagai antioksidan, senyawa proteksi hati, dan mempercepat penyembuhan luka pada pasien pasca operasi bedah (Santoso, 2009). Albumin dibedakan menjadi beberapa macam, yaitu *Human Serum Albumin* (HAS), *Equine Serum Albumin* (ESA), *Rat Serum Albumin* dan *Bovine Serum Albumin* (BSA). *Bovine serum albumin* (BSA) termasuk ke dalam kelompok protein globular. BSA dan Human serum albumin (HSA) memiliki urutan asam amino yang hampir mirip sekitar 76% asam amino (Huang dan Kim, 2004).

BSA adalah salah satu protein yang paling cocok dan sering digunakan dalam penelitian karena memiliki stabilitas dan kemurnian yang tinggi dan larut dalam air. Protein yang larut dalam air dapat berionisasi dan bermuatan positif

maupun negatif. Molekul protein akan membentuk ion positif pada kondisi asam dan membentuk ion negatif pada kondisi basa. Protein memiliki titik isoelektrik. Titik isoelektrik merupakan derajat keasaman ketika suatu makromolekul bermuatan nol karena bertambahnya proton atau kehilangan muatan akibat bereaksi dengan asam atau basa. Larutan dengan pH yang lebih kecil daripada titik isoelektrik akan mempunyai kapasitas adsorpsi yang tinggi, begitu pula sebaliknya (Oshima *et al.*, 2011). Titik isoelektrik protein berbeda-beda. Titik isoelektrik dari BSA berada pada pH 4,7 (Salgin, 2012). Keadaan protein pada saat terionisasi dapat digambarkan seperti pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Keadaan Ionisasi Protein sebagai Fungsi pH (Berg *et al.*, 2005)

Protein mempunyai dua gugus utama yaitu gugus amina dan karboksilat yang sangat dipengaruhi oleh keadaan pH. Gugus tersebut dapat mengalami protonasi dan juga deprotonasi. Keadaan protein pada titik isoelektrik dapat digambarkan seperti pada bagian tengah Gambar 2.1, dimana muatan positif dan negatif yang dimiliki oleh protein setara. Turunnya pH dalam sistem akan meningkatkan jumlah proton. Proton yang masuk pada sistem akan membuat protein bermuatan positif, karena proton akan berikatan dengan gugus karboksilat. Hal tersebut menyebabkan protein bermuatan positif pada pH dibawah titik isoelektriknya. Keadaan protein semacam ini sangat mempengaruhi proses adsorpsi. Secara umum, protein merupakan salah satu zat gizi yang penting dalam tubuh sebagai zat pembangun dan pendorong metabolisme dan terdapat sekitar 20% dalam tubuh. Proses pemurnian protein dapat dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi, filtrasi ataupun presipitasi. Metode kromatografi memanfaatkan proses adsorpsi di dalamnya yang terjadi antara fase diam dan fase geraknya. Adsorpsi protein juga dapat dimanfaatkan untuk menyerap protein yang berlebihan dan tidak dapat disimpan dalam tubuh.

2.2 Adsorpsi

Adsorpsi merupakan adesi dari substansi kimia (adsorbat) pada permukaan zat padat (adsorben) (Desta, 2013). Zat yang mengadsorpsi dinamakan dengan adsorben, sedangkan zat yang diserap merupakan adsorbat atau substrat. Hal tersebut yang menyebabkan proses adsorpsi karena gaya tarik antar atom atau molekul pada permukaan yang tidak seimbang. Gaya tersebut menyebabkan molekul-molekul yang bersentuhan cenderung tertarik ke permukaan, menyebabkan konsentrasi molekul pada permukaan adsorben menjadi lebih besar (Tandy *et al.*, 2012).

Jenis-jenis adsorpsi berdasarkan interaksinya dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu adsorpsi fisika dan adsorpsi kimia, yaitu:

a. Adsorpsi fisika

Adsorpsi fisika atau yang lebih dikenal dengan fisisorpsi terjadi karena adanya gaya *van der waals*. Gaya *van der waals* relatif lemah. Adsorbat dapat dengan mudah bergerak pada permukaan adsorben karena interaksi antara adsorbat dengan adsorben yang sangat lemah. Fisisorpsi dapat digunakan dalam penentuan luas permukaan dan ukuran pori suatu adsorben (Shofa, 2012).

b. Adsorpsi kimia

Adsorpsi kimia terjadi akibat adanya ikatan kimia baik ikatan ion ataupun ikatan kovalen antara molekul adsorbat dengan permukaan adsorben (Suryana, 2004). Ikatan kimia antara adsorbat dengan adsorben membuat keduanya sangat sulit untuk terdesorpsi. Proses pembentukan ikatannya diawali dengan pergerakan adsorbat menuju permukaan melalui gaya *van der waals*, kemudian adsorbat melekat pada permukaan adsorben dan membentuk ikatan kimia yang lebih kuat (Shofa, 2012).

Isoterm adsorpsi merupakan hubungan empiris untuk memprediksi seberapa banyak solut yang dapat diserap oleh adsorben. Isoterm adsorpsi menyatakan adsorbat pada adsorben sebagai fungsi dari tekanan atau konsentrasi dengan temperatur konstan. Isoterm adsorpsi ditunjukkan dalam grafik hubungan antara jumlah adsorben menggunakan massa adsorben dengan jumlah adsorbat berdasarkan pengujian pada keadaan kesetimbangan. Jumlah adsorbat yang

teradsorpsi akan bergantung pada massa adsorben. Berdasarkan hal tersebut dapat diprediksi setelah keadaan jenuh, adsorpsi tidak berjalan lagi. Keadaan tersebut merupakan kapasitas adsorpsi pada permukaan adsorben (Masel, 1996). Grafik menunjukkan distribusi antara solut yang dapat teradsorpsi antara fase padat dan liquid pada berbagai konsentrasi kesetimbangan. Persamaan yang sering digunakan pada isotherm adsorpsi yaitu persamaan Langmuir dan persamaan Freundlich (Desta, 2013). Pendekatan Langmuir mendefinisikan bahwa kapasitas adsorpsi maksimum terjadi akibat adanya lapisan tunggal (*monolayer*) adsorbat di permukaan adsorben (Handayani, 2013). Persamaan Langmuir dapat dituliskan pada persamaan 2.2, sedangkan untuk persamaan Freundlich dapat dituliskan pada persamaan 2.3.

$$q \left(\frac{mg}{g} \right) = \frac{C_0 - C_e}{W} \times V \quad (2.1)$$

Persamaan 2.1 kemudian digunakan untuk menentukan nilai adsorpsi maksimum (q_{max}) dari BSA yang diperoleh dari persamaan Langmuir (Persamaan 2.2).

$$\frac{C_e}{q} = \frac{C_e}{q_{max}} + \frac{1}{q_{max}K} \quad (2.2)$$

$$\ln q = \ln K_f - \frac{1}{n} \ln C_e \quad (2.3)$$

dimana, W merupakan massa adsorben kering dan V merupakan volume larutan, q merupakan jumlah BSA yang teradsorpsi (mol/g) dan K merupakan konstanta Langmuir (L/mol), K_f merupakan konstanta Freundlich yang sebanding dengan kapasitas adsorpsi (Desta, 2013).

Persamaan Freundlich (Persamaan 2.3) dapat digunakan untuk adsorpsi non-ideal pada permukaan heterogen seperti adsorpsi *multilayer*, sedangkan persamaan Langmuir dapat digunakan untuk sistem homogen, dimana proses adsorpsi akan sebanding dengan energi aktivasi berdasarkan asumsi: (a) molekul di adsorpsi dengan pembatas tempat pada keadaan yang sama, (b) masing-masing tempat dapat menahan satu molekul adsorbat, (c) semua tempat mempunyai energi yang ekuivalen, dan (d) tidak ada interaksi antara molekul dalam wadah tetangga. Persamaan Langmuir sebanding dengan afinitas dari situs pengikat dan energi ikatan dari adsorpsi antara adsorbat dan adsorben (Hokkanen, 2014).

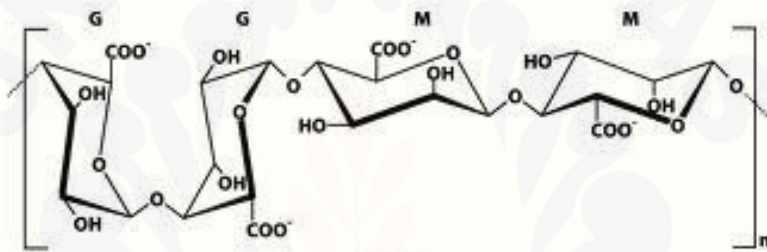
Faktor-faktor yang mempengaruhi adsorpsi pada protein diantaranya protein, substrat, pelarut, surfaktan dan berat molekul yang kecil. Faktor yang sangat mempengaruhi adsorpsi adalah protein, substrat serta pelarut (Fellovalyi, 2012). Kekuatan ionik akan mempengaruhi interaksi protein dengan adsorben, yang menyebabkan kelarutan protein akan semakin rendah apabila konsentrasi garam semakin tinggi pada sistem larutan (Skoog *et al.*, 2004). Pengendapan terjadi karena proses persaingan antara garam dan protein untuk mengikat air. Molekul air akan lebih terikat pada garam karena ion garam memiliki densitas yang lebih besar dibandingkan protein karena kekuatan ionik garam pada konsentrasi tinggi. Gaya tarik menarik antar protein akan semakin kuat dibandingkan gaya tarik antar protein dengan air, sehingga protein akan mengendap dari larutan.

Interaksi antara adsorbat dengan adsorben juga dapat dipengaruhi oleh sifat fisiko-kimia dari nanomaterial atau adsorben yang digunakan seperti stabilitas koloid serta muatan permukaan adsorben. Adsorpsi akan meningkat dengan meningkatnya luas permukaan karena interaksi antara adsorben dengan adsorbat akan semakin besar. Peningkatan polarisabilitas akan meningkatkan adsorpsi karena adanya tarik menarik antar molekul (Fellovalyi, 2012). Parameter fisiologis dari adsorbat (protein) diantaranya pH, kekuatan ionik, serta temperatur (Dewald *et al.*, 2015). Temperatur yang semakin tinggi akan menyebabkan protein globular akan terbuka sehingga gugus hidrofilik keluar protein dan terjadi perubahan konformasi.

Gugus muatan pada protein harus berlawanan dengan adsorben, sehingga interaksi antara protein dengan adsorben akan lebih sering terjadi melalui interaksi elektrostatik. Interaksi antara adsorben dengan adsorbat terjadi juga melalui ikatan lain seperti ikatan hidrogen. Jumlah protein yang terikat pada permukaan biomaterial dapat ditentukan dari penurunan konsentrasi BSA yang terdapat dalam medium larutan. Penurunan konsentrasi disebabkan karena terikatnya protein dengan biomaterial yang menyebabkan konsentrasinya tidak terbaca (Akgül *et al.*, 2008). Adsorpsi protein dapat dilakukan dengan menggunakan material anorganik seperti silika dan karbon aktif serta material organik seperti alginat.

2.3 Alginat

Menurut Mulguña *et al.*, (2016), alginat merupakan polisakarida yang berasal dari kelompok alga coklat dan bakteri. Alginat merupakan polisakarida yang umumnya menyusun dinding sel pada spesies alga coklat. Alginat dalam pasaran sering dijumpai dalam bentuk natrium alginat (*sodium alginate*, SA) yaitu suatu garam natrium dari asam alginat yang larut dalam air (Andrawina, 2012). Rumus molekul natrium alginat adalah $(C_6H_7O_6Na)_n$. Alginat mengandung 2 unit monomer yaitu asam 1,4-linked β -D-mannuronat (M) dan asam residu α -L-guluronat (G) yang dihubungkan oleh ikatan atom C1 dan C4 (Gambar 2.2) (Abdalla *et al*, 2015).



Gambar 2.2 Struktur Alginat (Sun and Huaping, 2013).

Alginat yang bersifat biokompatibel, ekonomis dan aman untuk dikonsumsi (Ibrahim dan Kariman, 2012) menyebabkan alginat banyak dimanfaatkan dan digunakan untuk berbagai keperluan. Pemanfaatan natrium alginat banyak digunakan pada bidang industri tekstil, pangan, dan farmasi salah satunya yaitu sebagai pengental, pensuspensi, pembentuk film, *stabilizer*, pembentuk gel dan bahan pengemulsi. Alginat dalam dunia pangan digunakan untuk menghasilkan dan memperkuat tekstur pada produk olahan seperti es krim, kue dan sari buah. Alginat pada bidang industri tekstil digunakan sebagai pengental bahan pewarna sehingga menghasilkan warna yang lebih tajam dan bentuk gambar yang lebih halus. Alginat dalam dunia farmasi digunakan sebagai enkapsulasi sel (Lim dan Sum, 1980). Alginat dalam bidang kosmetik, digunakan untuk pembuatan *lotion*, *shampoo*, dan pewarna rambut (Haerunnisa, 2008). Alginat juga dimanfaatkan dalam proses imobilisasi enzim atau sel serta pembentukan bahan biokompatibel (Jork *et al.*, 2000).

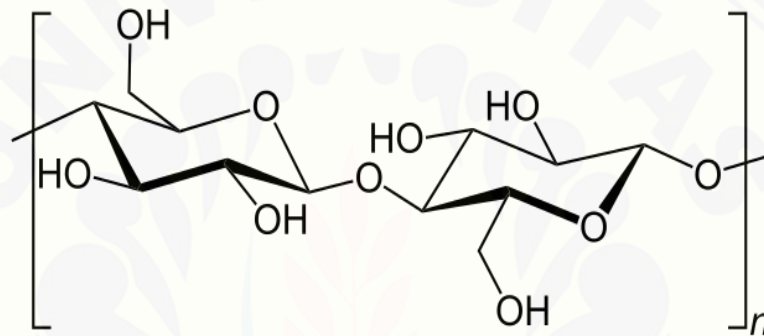
Sifat fungsionalis alginat alami masih mengalami kelemahan seperti kelarutannya yang rendah, stabilitas larutan yang tidak stabil, terjadinya pembentukan gel yang tidak diinginkan, viskositasnya yang rendah serta yang lainnya yang dapat menyebabkan keterbatasan dalam penggunaannya (Draget *et al.*, 1991). Kelemahan lain alginat yaitu keterbatasan dalam sifatnya yang hidrofilik dan sulit berasosiasi dengan material hidrofobik, sehingga memperlambat kemampuannya sebagai pelepasan material obat-obatan yang terbatas pada bahan yang larut terhadap air saja (Broderick *et al.*, 2006). Salah satu upaya untuk meningkatkan kelemahan alginat yaitu dengan memodifikasi alginat, baik dengan cara modifikasi struktur atau dengan memanfaatkan interaksinya dengan bahan lain yang dapat meningkatkan peluang penggunaannya.

Alginat sebagai adsorben dengan tambahan bahan penguat dapat menggunakan polimer seperti citosan, L-lisin, poliakrilat, dan yang lainnya digunakan untuk menstabilkan gel kalsium-alginat (Castro, 2009). Polimer seperti nanoselulosa juga dapat digunakan untuk menambah luas permukaan. Nanoselulosa hasil hidrolisis juga memiliki muatan yang terdapat pada permukaannya. Nanoselulosa merupakan material yang dapat dihidrolisis dari selulosa yang memiliki ukuran nano.

2.4 Selulosa

Selulosa tidak larut, namun masih dapat menyerap air, asam encer dan kebanyakan pelarut. Selulosa dapat mengalami hidrolisis serta oksidasi dalam keadaan basa pada temperatur yang tinggi. Degradasi secara mikrobiologi menggunakan enzim hidrolitik memutuskan ikatan β -1,4-glikosidik. Selulosa tersubstitusi relatif lebih stabil, sehingga selulosa amorf dapat lebih mudah diputuskan dibandingkan selulosa kristalin (Alistair *et al.*, 2006). Selulosa di alam banyak ditemukan dalam bentuk lignoselulosa dan hemiselulosa sebagai bahan pembentuk dinding sel tumbuhan (Holtzapple, 1993). Selulosa, hemiselulosa dan lignin dihasilkan dari proses fotosintesis (Enari, 1993).

Selulosa dapat dibedakan menjadi dua jenis berdasarkan proses pembentukannya, yaitu selulosa mikrofibril dan selulosa mikrokristalin. Umumnya, material selulosa membentuk lubang-lubang kecil pada kondisi pemisahan yang tinggi dan perbedaan tekanan yang baik. Kondisi tersebut menyebabkan selulosa yang terbentuk seperti fragmen mikrofibril. Selulosa mikrokristalin diproduksi dengan menghidrolisis selulosa dengan menggunakan asam klorida untuk melarutkan bagian amorf dari polisakarida. Bagian kristalin merupakan bagian yang lebih stabil (Alistair, et. al, 2006). Struktur selulosa dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur selulosa

Selulosa tersusun dari molekul-molekul glukosa dalam rantai panjang dan tidak bercabang. Molekul dari glukosa dalam selulosa tersebut terikat pada ikatan β -1,4-glikosidik. Isomer β tidak membentuk gulungan, namun sebaris seperti parallel oleh ikatan hydrogen dalam kelompok hidroksil yang berdekatan yang menyebabkan selulosa tidak larut dalam air dan memberikan struktur kaku pada dinding kayu. Ikatan hidrogen harus dihancurkan untuk memodifikasi selulosa dengan cara pembengkakan atau pemutusan (Setiyawan, 2010).

Selulosa tidak dapat dicerna dalam tubuh manusia karena tidak terdapat enzim yang dapat menguraikan selulosa dalam tubuh manusia. Selulosa terdapat dalam tumbuhan, sayur-sayuran serta buah-buahan sebagai serat tumbuhan yang berguna untuk memperlancar pencernaan makanan. Selulosa juga dapat dijumpai dalam bakteri dan hewan laut dalam bentuk protein dan karbohidrat. Hidrolisis selulosa dapat dilakukan oleh asam dengan konsentrasi tinggi menjadi selobiosa dan D-glukosa (Poedjadi, 2006).

Selulosa dalam tumbuhan terdapat pada dinding sel, terutama pada tangkai, batang, dan semua bahan kayu. Selulosa juga terdapat pada organisme seperti flagellata, rumput laut dan bakteri seperti *Acetobacter xylinum*. *Acetobacter xylinum* biasanya digunakan untuk proses pembuatan nata de coco. Bakteri tersebut menghasilkan selulosa melalui proses fermentasi glukosa dalam substrat air kelapa. Selulosa yang dihasilkan dari nata de coco tidak bercampur dengan lignin dan hemiselulosa (Saxena, 1995). Selulosa dibedakan menjadi tiga jenis berdasarkan derajat polimerisasi dan kelarutan dalam senyawa natrium hidroksida, yaitu α -selulosa, β -selulosa dan γ -selulosa. α -Selulosa sering digunakan sebagai penentu tingkat kemurnian selulosa (Sumada *et al.*, 2011).

2.4.1 Sumber Selulosa

Selulosa banyak terdapat pada serat kayu, kapas, serat batang serta serat buah. Jagung merupakan salah satu sumber selulosa. Jagung (*Zea mays L.*) merupakan salah satu tanaman yang mengandung karbohidrat dan banyak ditanam baik di pulau jawa maupun di luar pulau jawa. Masyarakat Indonesia yang merupakan Negara agraris dengan produksi pertanian yang cukup tinggi dan menghasilkan jagung dengan jumlah yang banyak. Klasifikasi jagung dalam taksonomi tumbuhan yaitu:

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Subdivisi : *Angiospermae*
Family : *Poaceae*
Genus : *Zea*
Spesies : *Zea mays L.*

(Warisno, 1998).

Jagung merupakan tanaman pangan yang banyak diproduksi dan dikonsumsi di Indonesia. Produksi jagung setiap tahunnya mengalami peningkatan yang signifikan sebesar 2 – 5 %. Produksi jagung meningkat tajam pada tahun 2016. Produksi jagung tahun 2013 sebesar 18,51 juta ton, tahun 2014 sebesar 19,00 juta ton, tahun 2015 sebesar 19,61 juta ton dan tahun 2016 sebesar

23,58 juta ton (Kementrian Pertanian RI, 2016). Jagung banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan pada bagian biji buahnya, sedangkan tongkol jagung menjadi limbah dari produksi jagung. Produksi jagung yang meningkat juga berbanding lurus dengan peningkatan jumlah limbah tongkol jagung yang dihasilkan.

Tongkol jagung merupakan tempat pembentukan lembaga dan tempat penyimpanan makanan untuk biji. Tongkol jagung selama ini banyak dimanfaatkan hanya sebagai pakan ternak atau briket, padahal tongkol jagung mengandung bahan-bahan seperti selulosa, hemiselulosa, xilan dan lignin. Selulosa sendiri dapat menjadi bahan utama dalam proses produksi bioetanol, sumber karbon serta bioplastik (Richana, 2010). Komposisi tongkol jagung dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi tongkol jagung

Kandungan	Persentase (%)
Selulosa	45
Hemiselulosa	35
Lignin	15

Sumber : Lee *et al.*, 2014

2.4.2 Nanoselulosa

Perkembangan teknologi berjalan semakin pesat. Nanoteknologi mulai dikembangkan. Nanoteknologi mengembangkan manipulasi materi dengan ukuran partikel nano dengan rentang dimensi fisik 1-100 nm (Biao *et al.*, 2011). Selulosa juga dikembangkan dalam partikel berukuran nano yang biasa disebut dengan nanoselulosa. Modifikasi selulosa dapat dilakukan dengan cara mekanik, kimia serta biologi. Modifikasi secara kimia salah satunya dapat dilakukan dengan metode hidrolisis asam. Hidrolisis selulosa dengan menggunakan asam kuat dengan konsentrasi yang tinggi merupakan cara kimia yang dapat dilakukan untuk memperoleh nanokristal selulosa. Hidrolisis asam merupakan proses utama yang sering dilakukan karena merupakan cara yang paling efektif serta membutuhkan energi yang sangat rendah. Daerah amorf pada selulosa akan lebih mudah terputus dan melepaskan daerah kristalin ketika dihidrolisis karena densitasnya yang lebih rendah. Asam yang sering digunakan untuk proses hidrolisis yaitu asam klorida

dan asam sulfat. Selulosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis dengan menggunakan asam klorida akan berbeda dengan yang menggunakan asam sulfat karena keduanya mempunyai kelimpahan ion pada permukaan yang berbeda. Nanoselulosa yang dihasilkan dari hidrolisis asam sulfat dapat terdispersi dengan mudah dalam air, sedangkan nanoselulosa hasil hidrolisis menggunakan asam klorida cenderung membentuk suspensi larutan yang terflokulasi (Peng, 2011).

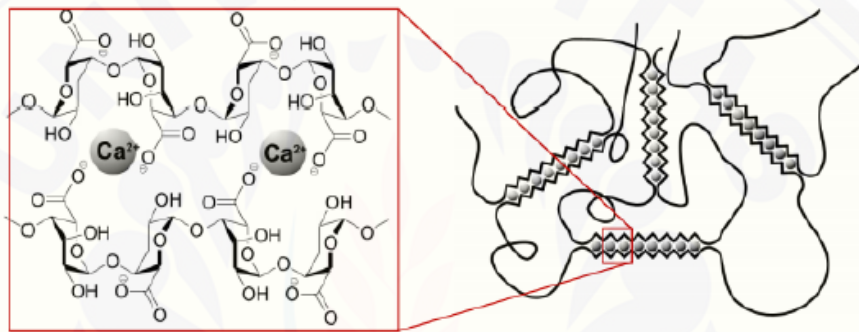
Penggunaan konsentrasi asam yang berbeda akan mempengaruhi proses hidrolisis. Konsentrasi asam sulfat yang semakin besar akan membuat gugus bermuatan pada nanoselulosa semakin besar, namun akan menurunkan kekristalannya apabila konsentrasinya terlalu tinggi. Adanya muatan pada permukaan nanoselulosa akan mempengaruhi kinerja nanopartikel. Waktu hidrolisis dan Konsentrasi asam sulfat yang digunakan pada proses hidrolisis juga dapat mempengaruhi jumlah gugus yang bermuatan pada permukaan nanoselulosa. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ioelovich (2012) konsentrasi asam sulfat yang lebih besar dari 63% (w/w) membuat nanoselulosa yang dihasilkan bersifat amorf dengan modulus Young 0,5-0,7 Gpa. Nanoselulosa banyak digunakan pada berbagai aplikasi, diantaranya sebagai penguat polimer, adsorben dan bahan *biodegradable* karena sifat biodegradasinya yang tinggi, luas permukaannya yang besar serta kemampuan dispersi dan kekuatan mekanik yang baik.

2.5 Beads Alginat/Nanoselulosa

Beads Alginat/Nanoselulosa dibuat dengan menggunakan metode gelasi dan *crosslink* dengan menggunakan ion Ca^{2+} dalam larutan CaCl_2 . Adsorben dalam bentuk serbuk pada proses adsorpsi akan menyebar dalam larutan, sehingga untuk memisahkannya akan membutuhkan metode yang lain. Penggunaan *beads* dapat mempermudah pemisahan setelah dilakukan adsorpsi. Alginat merupakan salah satu bahan yang dapat membentuk gel. Agen pengikat silang dibutuhkan untuk membuat polimer jaringan hidrogel menghasilkan gel yang lebih kuat. Agen pengikat silang yang dapat digunakan untuk mengikat silang alginat

dengan nanoselulosa antara lain CaCl_2 , MnCl_2 , CuCl_2 dan ZnCl_2 . Ion Ca^{2+} banyak digunakan karena kadar beracunnya yang lebih rendah dibandingkan dengan ion yang lainnya (Gülay, 2009).

Ikatan silang (*Crosslink*) merupakan suatu ikatan yang menghubungkan satu rantai polimer dengan rantai polimer yang lain, Pembentukan gel alginat terjadi setelah larutan alginat diteteskan ke dalam larutan CaCl_2 . Pengerasan tersebut terjadi karena adanya interaksi antara ion Ca^{2+} dengan blok G residu (gulunorat) yang menyebabkan terjadinya ikatan silang (*crosslink*) seperti pada gambar 2.4 model *egg-box*, ion Ca^{2+} masuk ke dalam *egg box* antara unit monomer.



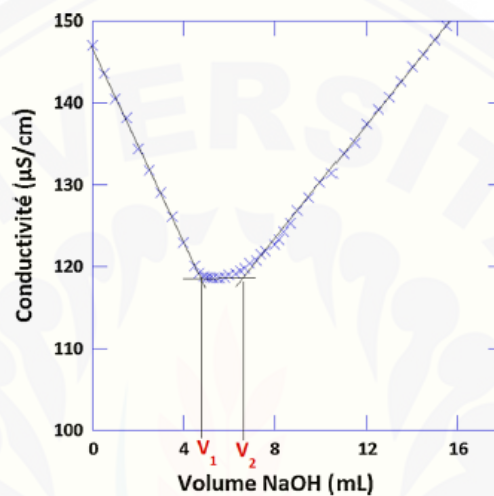
Gambar 2.4 Pembentukan gel alginat dengan kation kalsium dalam model *egg-box* (Sumber: Bruchet and Artem, 2015).

2.6 Karakterisasi Nanoselulosa dan *Beads*

2.6.1 Titrasi Konduktometri

Titrasi konduktometri merupakan metode analisis kuantitatif yang seringkali digunakan untuk mengetahui jumlah gugus bermuatan pada permukaan nanoselulosa. Prinsip analisis metode titrasi konduktometri didasarkan pada pemanfaatan daya hantar listrik dalam suatu larutan. Pergerakan ion dalam larutan yang semakin cepat menyebabkan daya hantar yang ditimbulkan juga semakin besar. Keberadaan gugus bermuatan seperti tiosulfat yang menempel pada permukaan kristal dapat diidentifikasi dengan menggunakan larutan basa seperti NaOH untuk melarutkan partikel asamnya. Gugus sulfat yang terprotonasi selama proses hidrolisis asam yang terdapat pada permukaan nanokristal dapat diketahui dengan menggunakan metode titrasi konduktometri (Abitbol dan Kloser, 2013).

Prinsip metode titrasi konduktometri yaitu pengukuran sederhana secara tidak langsung dalam mendeteksi gugus tiosulfat yang akan sebanding dengan banyaknya ion hidronium yang digunakan. Kurva titrasi konduktometri dapat dilihat pada gambar 2.5. Berdasarkan gambar 2.5, sumbu x merupakan volume NaOH yang dibutuhkan untuk menetralkan seluruh muatan yang ada pada permukaan nanokristal melawan konduktivitas sebagai sumbu y.



Gambar 2.5 Kurva Titrasi Konduktometri (Romdhane *et al.*, 2015).

Banyaknya gugus bermuatan pada nanoselulosa dapat ditentukan menggunakan kurva di atas dengan persamaan berikut:

$$-\text{OSO}_3^- \text{ (mmol.g}^{-1}\text{)} = \frac{(V_2 - V_1) \times M_{\text{NaOH}}}{m_{\text{suspensi}}} \quad (2.4)$$

Dengan, m merupakan massa suspensi nanoselulosa (g), V_1 merupakan volume awal titik belok pertama (mL), V_2 merupakan volume pada akhir titik belok (mL) dan M adalah konsentrasi dari NaOH (Masruchin *et al.*, 2015).

2.6.2 Spektrofotometri FTIR

Spektrofotometri FTIR digunakan untuk menganalisis senyawa kimia dalam nanoselulosa. Spektrofotometri FTIR adalah salah satu metode yang digunakan untuk analisis senyawa kimia secara kuantitatif dan kualitatif dengan menggunakan sinar infra merah pada bilangan gelombang antara 14.000 cm^{-1} sampai 10 cm^{-1} . Spektra yang dihasilkan dapat menggambarkan struktur molekul,

bentuk ikatan dan gugus fungsi dari senyawa yang dianalisis (Scechter, 1997). FTIR bekerja karena adanya vibrasi yang diakibatkan oleh penyerapan sejumlah radiasi infra merah dari suatu molekul yang mengenyainya. Vibrasi tersebut menunjukkan adanya gugus fungsi dalam senyawa yang akan menghasilkan pita serapan dengan panjang gelombang tertentu (Rahayu dan Rohaeti, 2014). Panjang gelombang yang berbeda memiliki makna yang berbeda pula, karena setiap gugus fungsi yang berbeda akan menghasilkan bilangan gelombang yang berbeda pula (Afrizal, 2008).

Komponen utama FTIR meliputi sumber sinar, *beam splitter*, interferometer, daerah cuplikan dan detektor. *Beam splitter* berguna untuk membagi sinar, dimana 50% radiasi direfleksikan dan sisanya diteruskan. Interferometer membentuk interferogram yang akan diteruskan menuju detektor. Daerah cuplikan merupakan tempat dimana sel acuan dan cuplikan akan dikenai berkas acuan dan cuplikan secara bersesuaian. Detektor akan mengukur pancaran energy yang lewat akibat panas yang dihasilkan (Griffith, 1975). Keunggulan metode FTIR dibanding IR biasa yaitu dapat mendeteksi sinyal-sinyal lemah, jumlah sampel yang diperlukan sedikit dan dapat mendeteksi sampel pada absorbansi yang tinggi (Khopkar, 1990).

2.6.3 Particle Size Analyzer (PSA)

Particle Size Analyzer (PSA) digunakan untuk mengetahui ukuran partikel nanoselulosa yang telah didapat. Metode yang dapat digunakan untuk menentukan ukuran partikel seperti metode ayakan, *laser diffraction* (LAS), sedimentasi ataupun analisa gambar (mikrografi). Perkembangan teknologi mengarah pada pengembangan nano partikel. Metode *laser diffraction* (LAS) banyak digunakan karena lebih akurat dibandingkan metode analisa gambar maupun metode ayakan. Metode ini menjadi prinsip dasar dari instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA). PSA digunakan untuk menganalisis ukuran partikel. PSA memiliki keunggulan dalam penentuan partikel dengan diameter dalam skala nano maupun submikro.

PSA dapat digunakan untuk material padat, suspensi, emulsi dan aerosol (Malven, 2012).

Prinsip dari *laser diffraction* yaitu penghamburan cahaya oleh partikel-partikel ketika partikel tersebut melewati berkas sinar laser. Distribusi cahaya yang dihamburkan kemudian dianalisis oleh computer sebagai hasil distribusi ukuran partikel. Pengukuran menggunakan PSA terdapat dua metode yaitu metode basah dan metode kering. Metode basah menggunakan media pendispersi untuk mendispersikan material uji. Metode kering memanfaatkan aliran udara yang berfungsi untuk melarutkan partikel dan membawanya ke sensing zone. Metode kering baik digunakan untuk sampel berukuran besar, karena kemungkinan untuk beraglomerasinya yang kecil. Metode basah seringkali digunakan karena lebih akurat jika dibandingkan metode kering terutama untuk sampel berukuran nano (Lusi, 2011).

2.6.4 Spektrofotometer UV-VIS

Spektrofotometer UV-VIS digunakan untuk mengetahui nilai absorbansi dari sampel setelah dilakukan adsorpsi protein. Spektrofotometri merupakan analisis yang sering digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kualitatif maupun kuantitatif dengan memanfaatkan sumber cahaya. Cahaya tersebut dapat berupa cahaya ultra violet, visible dan inframerah yang berasal dari sumber tertentu juga disebut radiasi elektromagnetik. Alat yang digunakan sering disebut dengan spektrofotometer. Salah satu alat yang sering digunakan dengan menggunakan sumber cahaya berupa sinar ultra violet dan sinar tampak dinamakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada banyaknya radiasi sinar yang diserap atau diabsorpsi oleh partikel dalam suatu senyawa yang terukur dalam fungsi berupa panjang gelombang. Spektrofotometri UV-Vis merupakan pengukuran serapan cahaya atau energi radiasi di daerah violet (200-400 nm) dan sinar tampak (400-800 nm). Absorpsi sinar UV oleh senyawa menyebabkan elektron dalam

senyawa akan dipromosikan dari keadaan dasar (*groundstate*) menuju keadaan tereksitasi pada tingkat yang energinya lebih tinggi (Khopkar, 1990).

Analisis kualitatif dilakukan melalui *scanning* panjang gelombang (λ) pada interval tertentu hingga diperoleh absorbansi pada panjang gelombang maksimum (λ_{max}) dengan syarat utama analit harus larut sempurna untuk memaksimalkan absorpsi sinar oleh molekul zat. Pengukuran analisa kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada hukum Lambert-Beers yang menyatakan hubungan empirik antara intensitas cahaya yang ditransmisikan (diteruskan) dengan konsentrasi zat (Hukum beers) dan tebalnya larutan (Hukum Lambert/Bouguer).

$$-\log T = A = \epsilon.b.c \quad (2.5)$$

dimana T adalah transmitansi, A adalah absorbansi, ϵ adalah koefisien ekstingsi molar, b adalah panjang jalan sinar dan c adalah konsentrasi. Persamaan tersebut dalam pengukuran kuantitatif dilaksanakan dengan cara komparatif menggunakan kurva kalibrasi antara hubungan konsentrasi larutan standar dengan nilai absorbansi (Khopkar, 1990). Kurva standar kemudian dibuat dengan melakukan pengukuran absorbansi pada rentang konsentrasi larutan standar pada panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan. Persamaan $y=mx+c$ yang didapatkan dari kurva kemudian digunakan untuk mengetahui konsentrasi sampel yang dianalisis, dimana y sebanding dengan absorbansi dan x sebanding dengan konsentrasi.

2.6.5 Daya Serap Air

Daya serap air atau *swelling* merupakan banyaknya air yang dapat diserap oleh hidrogel setelah perendaman dalam medium (pelarut). Faktor yang dapat mempengaruhi kemampuan daya serap air diantaranya adalah jumlah ikatan silang dan komposit atau zat lain yang ditambahkan. Polimer yang terikat silang akan mengembang tanpa larut dalam pelarutnya sehingga total volumenya bertambah. Peningkatan ikatan silang dapat menurunkan adsorpsi air ke dalam rongga-rongga polimer karena semakin banyak ikatan silang yang terbentuk struktur polimernya

akan semakin rapat sehingga kemampuan kemampuan difusi air ke dalam jaringan polimer semakin berkurang dan menyebabkan kemampuan daya serap airnya menurun (Permata, 2014).

Pengukuran kemampuan daya serap air dapat dilakukan dengan merendam *beads* ke dalam air selama 5 jam pada suhu ruang. *Beads* kering dan *beads* basah ditimbang, kemudian hasil yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan 2.6, sehingga didapatkan kemampuan daya serap air oleh *beads*.

$$\text{DSA (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100\% \quad (2.6)$$

W_1 merupakan massa *beads* kering dan W_2 merupakan massa *beads* basah (Maulida, 2016).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Fisik, Laboratorium Kimia Analitik, Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Instrumentasi Fakultas Farmasi, dan *Centre for Development of Advanced Science and Tecnology* (CDAST) Universitas Jember serta Laboratorium Fisika Bahan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Surabaya. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli sampai dengan bulan November 2018.

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, batang pengaduk, botol, kondensor refluks, mantel pemanas, selang air, labu leher tiga, statif, ayakan ukuran 60 mesh, pipet tetes, buret, pipet mohr, pipet volum, *ball* pipet, neraca analitik, cawan petri, *syringe*, *magnetic stirrer* dan anak *stirrer*, blender/grinder, *shaker*, seperangkat alat sentrifuge, kuvet, seperangkat alat ultrasonikasi (Branson Ultrasonics Sonifer S-250A), satu set alat konduktometer, FTIR, seperangkat alat Spektrofotometer *visible*.

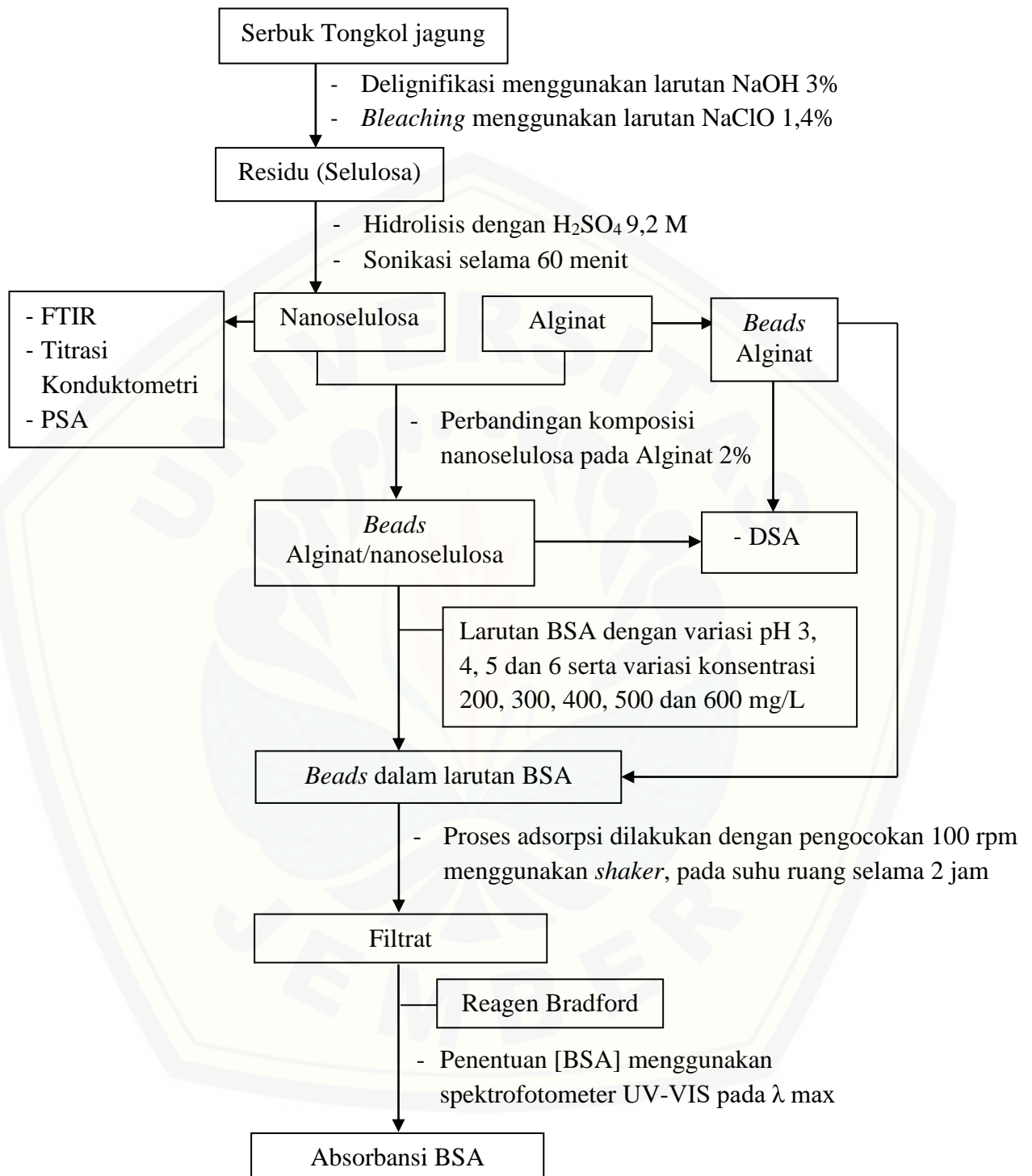
3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Akuades, Tongkol jagung, kertas saring, *sodium-alginat* (Sigma-Aldrich), Asam Sulfat (H_2SO_4) 98% (Merck), kristal Natrium Hidroksida (NaOH) (Merck), Natrium Hipoklorit teknis (NaClO), Asam Klorida (HCl) 37% (Merck), kristal Natrium Karbonat (Na_2CO_3) (Merck), kristal Natrium Klorida (NaCl) (Merck), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) 95% (Merck), kristal oksalat ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck), *Bovine Serum Albumin* (BSA) 68000 Da (Applichem), *Comasie brilliant blue* G-250

($C_{47}H_{50}N_3O_7S_2$) (Merck), kristal Kalsium Klorida ($CaCl_2$) (Merck), Asam Fosfat 85% (Merck), indikator phenolphthalein (pp) (Merck), Asam Sitrat ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) (Merck) dan Dinatrium Hidrogen Fosfat ($Na_2HPO_4 \cdot H_2O$) (Merck).



3.3 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram alir penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan, diantaranya ekstraksi selulosa, pembuatan nanoselulosa dengan hidrolisis asam, pembuatan *beads* Alginat/nanoselulosa, karakterisasi nanoselulosa berupa titrasi konduktometri, FTIR dan PSA. Karakterisasi *beads* Alginat/nanoselulosa berupa daya serap air serta adsorpsi protein oleh *beads* alginat dan Alginat/nanoselulosa.

3.4.1 Isolasi Selulosa dari Tongkol Jagung

Tongkol jagung dihaluskan menggunakan grinder dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Serbuk tongkol jagung sebanyak 20 gram diberi perlakuan dengan pemanasan menggunakan larutan NaOH 3% (b/v) sebanyak 500 mL pada suhu 100°C menggunakan *magnetic stirrer* selama 3 jam. Hasil pemanasan kemudian dicuci beberapa kali dengan akuades untuk menghilangkan kandungan alkali. Padatan yang dihasilkan kemudian didiamkan selama 24 jam di ruangan terbuka. Hasilnya kemudian di *bleaching* menggunakan 500 mL larutan NaClO 1,4 % pada suhu 80 °C selama 2 jam (Liu *et al.*, 2016). Padatan kemudian dicuci dengan akuades sampai pH netral. Hasil *bleaching* kemudian dikeringkan selama 24 jam pada suhu 40 °C menggunakan oven (Silverio *et al.*, 2013).

3.4.2 Pembuatan Nanoselulosa dengan Hidrolisis Asam

Serbuk selulosa ditimbang sebanyak 10 gram dan dimasukkan ke dalam labu leher tiga yang berisi 200 mL larutan H₂SO₄ 9,2 M. Kemudian dilakukan proses hidrolisis selama 60 menit pada suhu 45°C dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Suspensi yang dihasilkan dilarutkan dengan akuades dingin sebanyak 1600 mL untuk menghentikan reaksi hidrolisis (Liu *et al.*, 2016). Hasil hidrolisis kemudian dicuci dengan akuades sebanyak 3 kali dengan metode dekantasi, lalu ditambahkan dengan larutan Na₂CO₃ 5% (b/v) dengan pengadukan sampai pH netral. Campuran kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 8.000 rpm untuk memisahkan pelet dengan fasa cairnya (Ioelovich, 2012). Pelet hasil hidrolisis kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades disertai dengan pengadukan sampai terbentuk suspensi. Suspensi nanoselulosa kemudian disonikasi selama 60

menit menggunakan sonikator. Campuran hasil sonikasi selanjutnya disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 8.000 rpm untuk memisahkan pelet dan supernatannya. Supernatan yang diperoleh merupakan suspensi nanoselulosa, kemudian ditentukan kandungan padatannya (*solid content*) secara gravimetric dengan menggunakan persamaan 3.1 berikut:

$$\% \text{ Solid Content} = \left[\frac{(SK + W) - W}{(SB + W) - W} \right] \times 100 \quad (3.1)$$

Dimana SK merupakan massa sampel kering (g), SB merupakan sampel basah (g) dan W adalah massa wadah (g) (ASTM D2974, 1995).

3.4.3 Pembuatan *Beads* Alginat/Nanoselulosa (ANC)

Beads ANC dibuat dengan melarutkan 400 mg Alginat ke dalam suspensi Nanoselulosa yang telah dihomogenkan dengan akuades hingga diperoleh 20 mL volume. Konsentrasi sampel Alginat 20 mg/mL (2%) (Lin *et al.*, 2011). Nanoselulosa yang digunakan berupa suspensi yang telah diketahui persentase kandungan padatan terlarutnya. Penambahan Nanoselulosa dilakukan dengan variasi dari persentase massa Alginat dengan massa 400 mg seperti dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Komposisi Pembuatan *Beads* ANC

Sampel	Nanoselulosa (mL)	Alginat (mg)	Akuades (mL)	Total (mg/mL)
ANC 0%	0	400	20	
ANC 2%	1,7	400	18,3	±20
ANC 6%	5,1	400	14,9	
ANC 10%	8,5	400	11,5	

Variasi komposisi *beads* ANC yaitu, 0 mg Nanoselulosa (ANC 0%), 8 mg Nanoselulosa (ANC 2%), 24 mg Nanoselulosa (ANC 6%), serta 40 mg Nanoselulosa (ANC 10%). Massa tersebut kemudian dihubungkan dengan kandungan padatan pada suspensi nanoselulosa sehingga diperoleh data seperti tabel 3.1 untuk % *solid content* sampel sebesar 0,47 %. Penggunaan volume suspensi nanoselulosa selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 4.1 poin 2. Campuran kemudian diaduk menggunakan *stirrer* magnetik hingga homogen selama 10 menit. Campuran yang telah homogen selanjutnya dimasukkan ke

dalam jarum suntik 10 mL. Campuran kemudian dicetak dengan meneteskan campuran dari jarum suntik tanpa ditekan ke dalam larutan CaCl_2 5% (Shen *et al.*, 2017) dengan ketinggian 10 cm antara ujung *syringe* dengan larutan CaCl_2 (Li *et al.*, 2013) sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. *Beads* yang terbentuk didiamkan selama 10 menit, selanjutnya dikeringkan pada suhu ruang selama 24 jam.

3.4.4 Karakterisasi Nanoselulosa dan *Beads*

a. Titrasi Konduktometri Nanoselulosa

Suspensi Nanoselulosa yang telah diketahui persen padatan terlarutnya kemudian dilakukan karakterisasi dengan menggunakan titrasi konduktometri. Suspensi nanoselulosa dibuat konsentrasi 0,05% *solid content* dengan menambahkan 80 mL akuades. Suspensi kemudian ditambahkan dengan 5 mL larutan NaCl 0,01 M sambil diaduk hingga larut ke dalam gelas kimia 100 mL. Larutan kemudian ditambahkan HCl 0,1 M hingga pH nya 2,5-3 menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan kemudian dititrasi dengan menggunakan NaOH 0,01 M yang telah distandarisasi dan diamati setiap menit dengan kecepatan titrasi 0,5 mL/5 menit pada suhu kamar. Titrasi dihentikan setelah didapatkan kurva seperti pada gambar 2.4. Konsentrasi gugus muatannya dapat ditentukan dengan persamaan 2.4.

b. *Particle Size Analyzer* (PSA)

Nanoselulosa diukur ukurannya dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Pengukuran dilakukan di Laboratorium Jurusan Fisika Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

c. Analisis Gugus Fungsi menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Karakterisasi gugus fungsi suspensi Nanoselulosa dilakukan menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). Suspensi Nanoselulosa ini selanjutnya akan dianalisis pada panjang gelombang $370\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ (Husin *et al.*, 2017).

d. Daya Serap Air (DSA)

Daya serap air dilakukan untuk menentukan kapasitas air yang dapat diserap oleh *beads*. Uji DSA dilakukan menggunakan akuades. *Beads* diambil

$\pm 0,2$ gram (berat *beads* kering) kemudian dimasukkan ke dalam akuades selama 60 jam pada suhu ruang. Massa *Beads* ditimbang setiap 6 jam sebagai berat basah dengan diusap pada bagian permukaannya terlebih dahulu menggunakan tisu (Khames *et al.*, 2013). *Beads* yang telah ditimbang kemudian di rendam kembali ke dalam akuades. Persen DSA ditentukan menggunakan persamaan 2.6.

3.4.5 Adsorpsi Protein pada *Beads* Alginat/Nanoselulosa

a. Penentuan Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang dilakukan untuk memperoleh panjang gelombang maksimum untuk larutan BSA. *Scanning* panjang gelombang untuk larutan BSA dengan konsentrasi 400 mg/L dilakukan pada range 500 hingga 650 nm dengan interval 10 nm. Larutan BSA 400 mg/L diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, selanjutnya ditambahkan reagen Bradford 5 mL dan diencerkan hingga tanda batas hingga diperoleh konsentrasi 40 ppm, kemudian diukur nilai absorbansinya dengan melakukan *scanning* panjang gelombang pada range 500 hingga 650 nm, sehingga diperoleh panjang gelombang maksimum.

b. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Sebanyak 1 mL larutan standar BSA 100; 200 dan 300 mg/L dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, 1 mL larutan standar BSA 400; 500; dan 600 mg/L ke dalam labu ukur 25 mL selanjutnya ditambahkan 5 mL reagen Bradford diencerkan sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi 10, 16, 20, 24 dan 30 ppm, kemudian diukur adsorbansinya menggunakan spektrofotometer *visible* dengan panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari *scanning* panjang gelombang. Dari pengukuran menggunakan spektrofotometer ini akan diperoleh persamaan linier $y = mx + C$, dimana sumbu x merupakan konsentrasi larutan BSA, sedangkan sumbu y adalah absorbansinya.

c. Pengaruh pH terhadap Adsorpsi Protein

Sebanyak $\pm 0,25$ g *beads* Alginat dan Alginat/anoselulosa yang telah divariasi komposisinya dan direndam dalam akuades selama 48 jam (waktu

optimum DSA), kemudian dilap bagian permukaannya dengan tisu dan dimasukkan ke dalam 5 mL larutan BSA 400 mg/L yang telah dibuat dengan variasi pH 3, 4 5 dan 6 pada erlenmayer. Selanjutnya campuran dikocok dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang. *Beads* dapat disaring setelah mencapai kesetimbangan selama 2 jam (Anirudhan dan Rejeena, 2013). Sebanyak 1 mL filtrat kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan reagen Bradford sebanyak 5 mL lalu diencerkan hingga tanda batas. Campuran kemudian dikocok dan didiamkan selama 10 menit dan diukur adsorbansinya menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh dari penentuan panjang gelombang (λ) (Purwanto, 2014).

Besarnya adsorbansi kemudian dimasukkan ke dalam persamaan linier dari kurva kalibrasi, sehingga akan diperoleh konsentrasi BSA setelah diadsorpsi oleh *beads* ANC. Persentase adsorpsi (% Adsorpsi) ditentukan menggunakan persamaan 3.2.

$$\% \text{ Adsorpsi} = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100\% \quad (3.2)$$

dimana, C_0 merupakan konsentrasi awal dan C_e merupakan konsentrasi adsorpsi (mg/L) (Anirudhan dan Rejeena, 2013).

d. Isoterm Adsorpsi

Proses diawali dengan menentukan pH optimum. *Beads* ANC 10% sebanyak $\pm 0,25$ g digunakan untuk adsorpsi pada 5 mL larutan BSA konsentrasi 400 mg/L dengan pH 3, 4, 5 dan 6. *Beads* sebelumnya di adsorpsi terhadap akuades selama 48 jam (waktu optimum DSA), kemudian dikeringkan dengan tisu dan digunakan untuk adsorpsi larutan BSA. Campuran kemudian dikocok dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang. *Beads* disaring setelah 2 jam. Sebanyak 1 mL filtrat kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan reagen Bradford sebanyak 5 mL, kemudian diencerkan hingga tanda batas. Campuran kemudian dikocok dan didiamkan selama 10 menit dan diukur adsorbansinya menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang maksimal. Besarnya adsorbansi kemudian dimasukkan ke dalam persamaan linier

dari kurva kalibrasi, sehingga akan diperoleh nilai adsorpsi maksimal pada pH optimum.

Sebanyak $\pm 0,25$ g beads ANC pada masing-masing komposisi direndam dalam akuades selama 48 jam (waktu optimum DSA), kemudian dilap menggunakan tisu dan ditambahkan ke dalam 5 mL larutan BSA 200, 300, 400, 500 dan 600 mg/L pada pH optimum. Campuran kemudian dikocok dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang. *Beads* disaring setelah 2 jam. Sebanyak 1 mL filtrat kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan reagen Bradford sebanyak 5 mL, kemudian diencerkan hingga tanda batas. Campuran kemudian dikocok dan didiamkan selama 10 menit dan diukur adsorbansinya menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang maksimal. Besarnya adsorbansi kemudian dimasukkan ke dalam persamaan linier dari kurva kalibrasi, sehingga akan diperoleh konsentrasi BSA setelah diadsorpsi oleh *beads* ANC. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian digunakan untuk menentukan kurva Langmuir dan Freundlich yang diperoleh dengan menggunakan nilai C_0 dan C_e yang kemudian dimasukkan ke dalam persamaan 2.1 untuk menentukan nilai q . Kurva C_e banding C_e/q akan menghasilkan persamaan yang sebanding dengan persamaan Langmuir (2.2), dan kurva $\ln C_e$ banding $\ln q$ akan sebanding dengan persamaan Freundlich (2.3).

3.4.6 Preparasi Bahan sediaan

Bahan-bahan yang digunakan disiapkan dan distandarisasi terlebih dahulu. Preparasi bahan yang akan digunakan diantaranya:

a. Pembuatan larutan NaOH 3%

Pembuatan larutan NaOH 3% dilakukan dengan menimbang 15 gram kristal NaOH menggunakan neraca analitik. Kristal NaOH dimasukkan ke dalam gelas beker 100 mL dan ditambahkan sedikit akuades kemudian diaduk sampai homogen. Larutan NaOH kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL dan ditambahkan dengan akuades sampai tanda batas. Larutan dikocok secara perlahan sampai larutan homogen.

b. Pembuatan Larutan NaClO 1,4%

Pembuatan larutan NaClO dilakukan dengan melarutkan 60 mL larutan NaClO teknis dimasukkan ke dalam gelas beker 100 mL kemudian dilarutkan hingga 500 mL menggunakan labu ukur, lalu diaduk sampai homogen.

c. Pembuatan Larutan H₂SO₄ 9,2 M

Pembuatan larutan H₂SO₄ 9,2 M dilakukan dengan menuangkan larutan H₂SO₄ 9,2 M ke dalam beker gelas 100 mL dan dipipet sebanyak 50,3 mL. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang telah ditambahkan sedikit akuades sebelumnya. Akuades ditambahkan ke dalam labu ukur sampai mencapai tanda batas dan dikocok perlahan sampai larutan homogen.

d. Pembuatan Na₂CO₃ 5%

Pembuatan larutan Na₂CO₃ 5% (m/v) dilakukan dengan melarutkan kristal Na₂CO₃ sebanyak 5 gram ke dalam gelas beaker dengan sedikit akuades hingga larut, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas.

e. Pembuatan CaCl₂ 5%

Pembuatan CaCl₂ 5% (m/v) dilakukan dengan melarutkan bubuk CaCl₂ sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam gelas beker. Bubuk CaCl₂ kemudian di larutkan dengan sedikit akuades, dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan akuades hingga tanda batas.

f. Pembuatan Larutan untuk Titrasi Konduktometri

1) Larutan NaOH 0,01 M

Larutan NaOH 0,01 M dibuat dengan menimbang 0,40 gram kristal NaOH menggunakan neraca analitik. Kristal NaOH dimasukkan ke dalam gelas beker dan ditambahkan dengan sejumlah akuades kemudian diaduk sampai larut. Larutan NaOH kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dikocok sampai larutan homogen. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam gelas beker dan dipipet sebanyak 10 mL. Larutan selanjutnya dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas kemudian dikocok sampai larutan homogen.

2) Larutan NaCl 0,01 M

Larutan NaCl 0,01M dibuat dengan menimbang 0,058 gram kristal NaCl menggunakan neraca analitik. Kristal NaOH kemudian dimasukkan ke dalam gelas beker dan ditambahkan dengan sejumlah akuades dan diaduk sampai larut. Larutan NaCl dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambah akuades hingga tanda batas kemudian dikocok sampai larutan homogen.

3) Larutan HCl 0,01 M

Larutan HCl 0,01 M dibuat dengan mengambil 0,8 mL larutan HCl (37%) menggunakan pipet mohr 1 mL. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas, kemudian dikocok sampai larutan homogen.

4) Larutan asam oksalat 0,01 M

Pembuatan asam oksalat 0,01 M dilakukan dengan menimbang 0,063 gram kristal asam oksalat menggunakan neraca analitik. Kristal asam oksalat dimasukkan ke dalam gelas beker dan ditambahkan dengan sejumlah akuades sampai larut. Larutan asam oksalat kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambah akuades sampai tanda batas. Larutan asam oksalat dikocok sampai homogen.

g. Standarisasi larutan NaOH

Larutan NaOH 0,01 M dimasukkan ke dalam buret 50 mL menggunakan corong gelas. Selanjutnya, dimasukkan 10 mL asam oksalat 0,01 M kedalam erlenmeyer dan ditambahkan 3 tetes indikator *phenolphthalein*. Larutan asam oksalat kemudian dititrasi dengan menggunakan larutan NaOH 0,01 M dalam buret sedikit demi sedikit sampai terjadi perubahan warna dari tidak berwarna menjadi berwarna merah muda. Standarisasi larutan NaOH dilakukan dengan tiga kali pengulangan (triplo) (Mulyono, 2009).

h. Pembuatan Reagen Bradford

Comasie brilliant blue G-250 sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 5 mL etanol 95%, selanjutnya ditambahkan 10 mL asam fosfat 85%. Kemudian diencerkan dengan akuades sampai 100 mL (Bradford M., 1976).

i. Pembuatan Larutan Standar BSA

Tujuan pembuatan larutan standar BSA ini yaitu untuk membuat kurva kalibrasi serta variasi konsentrasi pada isoterm adsorpsi. Variasi konsentrasi yang digunakan dalam pembuatan kurva kalibrasi dari BSA ini yaitu 100; 200; 300; 400 dan 500 mg/L. Variasi konsentrasi pada isoterm adsorpsi yaitu 200, 300, 400, 500 dan 600 mg/L. Larutan standar ini dibuat dari larutan induk BSA 1000 mg/L, kemudian diencerkan menjadi variasi konsentrasi larutan standar tersebut.

1) Pembuatan Larutan induk BSA 1000 mg/L

BSA diambil sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan dengan akuades. Kemudian diencerkan menggunakan labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

2) Pembuatan Larutan Standar BSA 600 mg/L

Larutan standar BSA 600 mg/L dibuat dengan mengambil larutan induk BSA 1000 mg/L sebanyak 6 mL. Selanjutnya diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL hingga tanda batas.

3) Pembuatan Larutan Standar BSA 500 mg/L

Larutan standar BSA 500 mg/L dibuat dengan mengambil larutan induk BSA 1000 mg/L sebanyak 5 mL. Selanjutnya diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL hingga tanda batas.

4) Pembuatan Larutan standar BSA 400 mg/L

Larutan standar BSA 400 mg/L dibuat dengan mengambil larutan induk BSA 1000 mg/L sebanyak 4 mL. Selanjutnya diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL hingga tanda batas.

5) Pembuatan Larutan standar BSA 300 mg/L

Larutan standar BSA 300 mg/L dibuat dengan mengambil larutan induk BSA 1000 mg/L sebanyak 3 mL. Selanjutnya diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL hingga tanda batas.

6) Pembuatan Larutan standar 200 mg/L

Larutan standar BSA 200 mg/L dibuat dengan mengambil larutan induk BSA 1000 mg/L sebanyak 2 mL. Selanjutnya diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL hingga tanda batas.

7) Pembuatan Larutan standar 100 mg/L

Larutan standar BSA 100 mg/L dibuat dengan mengambil larutan induk BSA 1000 mg/L sebanyak 1 mL. Selanjutnya diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL hingga tanda batas.

j. Pembuatan Larutan BSA dengan variasi pH

Pembuatan larutan BSA dengan variasi pH dilakukan dengan penambahan larutan buffer sitrat-fosfat pH 3, 4, 5 dan 6. Pembuatan larutan buffer sitrat-fosfat dilakukan dengan penambahan larutan asam sitrat 0,1 M dan larutan dinatrium hidrogen fosfat 0,2 M. Komposisi pembuatan larutannya dapat dilihat pada tabel 3.2. Larutan induk BSA konsentrasi 1000 mg/L diambil sebanyak 20 mL dan diencerkan sampai 50 mL dengan menggunakan larutan buffer sitrat-fosfat pada pH 3, 4, 5 dan 6 untuk membuat larutan BSA dengan konsentrasi 400 mg/L dengan variasi pH (Anirhudan *et al.*, 2012).

Tabel 3.2 Komposisi Volume Larutan asam sitrat dan larutan dinatrium hidrogen fosfat yang dibutuhkan untuk pembuatan buffer sitrat-fosfat

No.	pH	Larutan Asam Sitrat 0,1 M (mL)	Larutan Dinatrium Hidrogen Fosfat 0,2 M (mL)
1.	3	± 40	± 10
2.	4	± 30	± 20
3.	5	± 25	± 25
4.	6	± 17	± 33

(Svehla, 1976).

k. Pembuatan Larutan BSA pada variasi konsentrasi dengan pH 4 (pH optimum)

Pembuatan Larutan BSA konsentrasi 200, 300, 400, 500 dan 600 mg/L pada pH 4 dilakukan dengan melarutkan larutan induk BSA konsentrasi 1000 mg/L sebanyak 10, 15, 20, 25 dan 30 mL ke dalam 50 mL larutan buffer sitrat-fosfat pada pH 4.

BAB 5 PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diperoleh kesimpulan berupa:

1. Daya serap air *beads* alginat/nanoselulosa optimum pada komposisi 2% dengan waktu optimum 48 jam. Komposisi nanoselulosa yang semakin besar akan mengurangi interaksinya dengan molekul air karena interaksi dengan molekul dalam *beads* semakin kuat, sehingga daya serap air akan menurun.
2. Adsorpsi protein optimum pada pH 4. Persentase adsorpsi pada pH 4 mendekati nilai 90% pada semua variasi komposisi *beads*. pH 4 berada dekat dibawah titik isoelektrik BSA, yang menyebabkan adsorpsinya akan lebih optimum pada pH tersebut.
3. Adsorpsi yang terjadi pada *beads* Alginat/nanoselulosa merupakan adsorpsi Langmuir dengan jenis adsorpsi fisika. Kapasitas adsorpsi maksimum pada *beads* dengan komposisi 6 dan 10%.

5.2 Saran

Setelah melakukan penelitian ini, saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya yaitu dilakukan karakterisasi yang lebih spesifik tentang daya serap *beads* terhadap protein. Penelitian lanjutan dapat dilakukan dengan menganalisis kinetika kimia yang terjadi pada adsorpsi protein oleh *beads* alginat/nanoselulosa. Aplikasi *beads* alginat/nanoselulosa juga dapat dilanjutkan sebagai entrapmen bahan aktif atau penghantar obat (*drug release*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalla, Karam F., Elabadawy & Gamal. 2015. Optimization of the Entrapment Efficiency and Release of Ambroxol Hydrochloride Alginate Beads. *Journal of applied pharmaceutical science*. 5(4):13.
- Aini, Andriana N. 2017. Komposisi Nanoselulosa-Alginat *Beads* untuk Adsorpsi *Bovine Serum Albumin* (BSA). *Skripsi*. Jember: Universitas Jember
- Akgül, M., N. B. Savak, M. Ömzak, A. G. Dumanli, Y. Yürüm, & A. Karabakan. 2008. Adsorption of Bovine Serum Albumin (BSA) on Clinoptilolite. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*. 36(1): 21-29.
- Alistair M. S., Glyn O. P. & Peter A. W. 2006. *Food Polysaccharides and Their Applications*. Second Edition. New York: CRC Press
- Andrawina, Luciana. 2012. Framework for Community of Practice based SECI Method and KM Cycle. *Tenth International Conference on ICT and Knowledge Engineering* 12: 189-193
- Anirudhan, T. S., S. R. Rejeena, & A. R. Tharun. 2012. Preparation, Characterization, and Adsorption Behavior of Tannin-modified Poly(glycidylmethacrylat)-grafted Zirconium Oxide-densified Cellulose for the Selective Separation of Bovine Serum Albumin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 93: 49-58.
- Anirudhan, T.S & Rejeena, S.R. 2013. Selective Adsorption of Hemoglobin Using Polimer-grafted-magnetite Nanocellulose Composite. *Carbohydrate Polymers*. 93(2): 518-527.
- Atkins, P. W. 1999. *Physical Chemistry*. Oxford University Press. Terjemahan oleh I. I. Kartohadiprodjo. 1999. *Kimia Fisika Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Azeredo H.M.C, Mattoso L.H.C, Wood D, Williams T.G, Bustills R.J.A. & McHugh T.H. 2009. Nanocomposite edible film from mango puree

reinforced with cellulose nanofibers. *Journal of Food Science*. 74(5):31-35.

Biao, H., Li-rong, T., Da-song, D., Wen, O., Tao, L., & Xue-rong, C. 2011. Preparation of Nanocellulose with Cation-Exchange Resin Catalysed Hydrolysis. *Biomaterials Science And Engineering*. 139-152.

Börjesson, M & Westman, G. 2015. Crystalline Nanocellulose — Preparation, Modification, And Properties. In M. Poletto & H. L. Ornaghi (Ed.). *Cellulose - Fundamental Aspects And Current Trends*. *Intech*. 7: 159-191.

Bradford, M. M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. 72(1-2): 248-254.

Broderick, E., Lyons, H., Pembroke, T., Byrne, H., Murray, B., & Hall, M., 2006. The Characterisation of a novel, covalently modified, amphiphilic alginate derivative which retains gelling and non-toxic properties. *Journal of Colloid and Interface Science* 298: 154-161.

Bruchet, M. & Artem M. 2015. *Fabrication of Patterned Calcium Cross-Linked Alginate Hydrogel Films and Coatings Through Reductive Cation Exchange*. Postdam New York: Clarkson University.

Castro, Guillermo R., Jingsong Chen, Bruce Panilaitis, & David L. Kaplan. 2009. Emulsan-Alginate Beads for Protein Adsorption. *Journals of Biomaterials Science*. 20(4): 411-426.

Ciolacu, D., C. Florin, & V. I. Popa. 2010. Amorphous Cellulose Structure and Characterization. *Cellulose Chemistry and Technology*. Romania: Technical University Iasi.

Desta, Mulu B. 2013. Batch Sorption Experiments: Langmuir and Freundlich Isotherm Studies for the Adsorption of Textile Metal Ions onto Teff Straw (Eragrostis tef) Agricultural Waste. *Journal of Thermodynamics*. 2013(1): 1-6.

- Dewald, Isakin, Schubert, Kraus, & Chanana. 2015. Protein Identity and Environmental Parameters Determine the Final Physico-Chemical Properties of Protein-Coated Metal Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*. 119 (45): 25482-25492.
- Draget, K. I., Steinsvag, K., Onsoyen, E., & Smidsrod, O. 1998. Na- and K-alginate; Effect on Ca²⁺-gelation. *Carbohydrate Polymers*. 35(1-2), 1-6.
- Effendi, Rosyid, Nandiyanto, & Mudzakir, A. 2015. Review: Sintesis Nanoselulosa. *Jurnal Integrasi Proses*. 5 (2): 61-74.
- Effendy, 2007. *Prespektid Baru Kimia Koordinasi, Jilid ke-1*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Eppailard, F. P., T. Vrlinic, D. Debarnot, M. Mozetic, A. Codreuse, G. Legeay, B. E. Moualij, dan W. Zorzi. 2012. Surface Treatment of Polymeric Materials Controlling the Adhesion of Biomolecules. *J. Funct. Biometer*. 3: 528-543.
- Evans WT. (2002) Review article: Albumin as a drug-biological effects of albumin unrelated to oncotic pressure. *Aliment Pharmacol Ther*. 16(Suppl.5): 6-11
- Felsovalyi, F. 2012. Mechanistic Study of the Adsorption and Desorption of Protein on Silica. *Dissertation*. Columbia: Columbia University.
- Gülay, S. 2009. Immobilization of Thermophilic Recombinant Esterase Enzyme by Entrapment in Coated Ca-Alginate Beads. M.Sc. *Thesis*. İzmir Institute of Technology.
- Handayani, M. & E. Sulistiyono. 2009. Uji Persamaan Langmuir dan Freundlich pada Penyerapan Limbah Chrom (VI) oleh Zeolit. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir*. 3 Juni 2009. PTNBR – Batan Bandung: 130-136.
- Hokkanen, Sonna. 2014. Modified nano- and microcellulose based adsorption materials in water treatment Lappeenranta. *Thesis*. Finland: Lappeenranta University of Technology.

- Holtzaple, M.T. 1993. *Encyclopedia of Food Science and Food Technology Nutrition*. London: Academic Press.
- Huang B. X., & Kim Hae-Yong. 2004. Probing Three-Dimensional Structure of Bovine Serum Albumin by Chemical Cross-Linking and Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom*. 15(8): 1237-1247.
- Huq, T., C. Fraschini, A. Khan, B. Riedl, J. Bouchard & M. Lacroix. 2017. Alginate based nanocomposite for microencapsulation of probiotic: Effect of cellulose nanocrystal (CNC) and lecithin. *Carbohydrate Polimers*. 168: 61-69.
- Husin, M. R.,Arsad.,Suradi, S.S., Alothman, O., Ngadi, N., & Kamaruddin M.J.2017. Fourier Transforms Infrared Spectroscopy And X-Ray Diffraction Investigation Of Recycled Polypropylene/Polyaniline Blends. *Chemical Engineering Transactions*. 56: 1015-1120.
- Ibrahim, Sayeda M., & Kariman M. El Salmawi. 2012. Preparation and Properties of Carboxymethyl Cellulose (CMC) / Sodium Alginate (SA) Blends Induced by Gamma Irradiation. *J Polymer Environ*. 21(1): 520-527.
- Ioelovich, M. 2012. Optimal Conditions for Isolation of Nanocrytalline Cellulose Particles.*Nanoscience and Nanotechnology*. 2(2): 9-13.
- Jork, A., Thurmer, F., Cramer, H., Zimmermann, G., Gessner, P., Hamel, K., Hofmann, G., Kuttler, B., Hahn, H.J., Josimovic Alasevic, O., Fritsch, K.G., and Zimmermann, U. 2000. Biocompatible Alginate from Freshly Collected Laminaria Pallid for Implantation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 53(2): 224–229.
- Kementrian Pertanian. 2016. *Statistik Perkebunan Indonesia 2014-2018*, Jagung. Jakarta: Direktorat Jendral Perkebunan.
- Khames, A., Ahmed H. A., Maha H., & Mutasem O. T. 2013. Preparation and In Vitro Characterization of Glibenclamide-Loaded Alginate Hexyl-Amide Beads: A Novel Drug Delivery System to Improve the Dissolution Rate. *Pharmaceutical Development and Technology*. 19(7):1-10.

- Khopkar, SM. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik, Terjemahan A. Saptorahardjo*. Jakarta: Penerbit UI.
- Kopac, T., Bozgeyik, K., & Yener, J. 2007. Effect of pH and temperature on the adsorption of bovine serum albumin onto titanium dioxide. *Colloid and surface*. 322(2008):19-28.
- Kusuma, D. P. 2016. Beads Nanoselulosa-Alginat untuk Adsorpsi Bovine Serum Albumin (BSA). *Skripsi*. Jember: Program Sarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Latour, Robert A. 2005. Protein-Surface Interaction. *Biomaterials*. 1: 1-15
- Li, Zhao Q., LiDa H., Zhen L., Wei Z., & Li L. 2013. Study on shape optimization of calcium-alginate beads. *Advanced Research on Material, Energy and Control Engineering*. 10(648):125-130.
- Lim F, & Sun AM. 1980. Microncapsulated Islets as Bioartificial Endocrine Pancreas. *Science*. 210(1): 908-910.
- Lin, N., and A. Dufresne. 2014. Nanocellulose in Biomedicine: Current status and Future Prospect. *European Polimer Journal*. 59, 302-325.
- Lin, N., J. Huang, P. R. Chang, L. Feng & J. Yu. 2011. Effect of polysaccharide nanocrustals on structure, properties, and drug release kinetics of alginate-based microspheres. *Colloids and Surface B: Biointerfaces*. 85(2011): 270-279.
- Liu, C., Li, B., Du, H., Lv, D., Zhang, Y., Yu, G., & Peng, H. 2016. Properties Of Nanocellulose Isolated From Corncob Residue Using Sulfuric Acid, Formic Acid, Oxidative And Mechanical Methods. *Carbohydrate Polymers*.151: 716–724.
- Lynch, I & Dawson, K.A. 2008. Protein-nanoparticle Interaction. *Nanotoday*. 3(1-2): 40-47.

- Masel, R.I. 1996. *Principle of Adsorption and Reaction on Solid Surfaces*. New York: A whiley interscience publication
- Maulida, Ida. 2016. Penggunaan Biopolimer Berbasis Kitosan sebagai Controlled Release Fosfat. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Mohite, B. V. & S. V. Patil. 2014. Bacterial Cellulose of *Gluconoacetobacter hansenii* as Potential Bioadsorption Agent for its Green Environment Application. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*. 25(18): 2053-2065.
- Mulyono, T., Asnawati, I. Novidanri, & Buchari. 2007. Potensi Membran *Nata de Coco* sebagai Material Biosensor. *Jurnal ILMU DASAR*. 8(2): 561-566.
- Murray, Robert K. 2006. *Biokimia Harper*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Oshima, Taguchi, Ohe, & Baba. 2011. Phosphorylated Bacterial Cellulose for Adsorption of Protein. *Carbohydrate Polymers*. 83 (2): 953-958.
- Özgün, S. 2013. *Nanoemulsions in Cosmetics*. Eskişehir: Anadolu University.
- Peng, Y.C., Gardner, D.J., & Han, Y. 2011. Drying Cellulose Nanofibrils: In Search og A Suitable Method. *Cellulose*. 19: 91-102.
- Poedjadi, A. 2006. *Dasar-dasar Biokimia Edisi Revisi*. Jakarta: UI-Press
- Prilia, S. M. 2012. Sintesis Polimer Superadsorben dari Hidrogel Kitosan Terikat Silang. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.
- Purwanto, M. G. M. 2014. Perbandingan Analisa Kadar Protein Terlarut dengan Berbagai Metode Spektroskopi UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*. 7 (2): 64-71.

- Richana N. 2010. Tepung Jagung termodifikasi sebagai Pengganti Terigu. *Jurnal Pascapanen*. 32 (6): 32.
- 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(2012): 12404-12414.
- Santoso, A. H. 2009. Uji Potensi Ekstrak Ikan Gabus (*Channa sriata*) sebagai Hepatoprotector pada Tikus yang Diinduksi dengan Parasetamol. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Saxena, I. M. & Brown, R. M. Jr. 1995. Identification of Second Cellulose Synthase Gene (acsAll) in *Acetobacter xylinum*. *Journal of Bacteriology*. 177(18): 5276-5283.
- Setiawan, Y. 2010. Peranan Polimer Selulosa Sebagai Bahan Baku dalam Pengembangan Produk Manufaktur Menuju Era Globalisasi. *Makalah Kuliah Umum*. Bandung: Kuliah Umum 2010. 29 Desember 2010.
- Shen, X. J., P. L. Huang, J. H. Chen, Y. Y. Wu, Q. Y. Liu, & R. C. Sun. 2017. Comparison of Acid-hydrolyzed and TEMPO-oxidized Nanocellulose for Reinforcing Alginate Fibers. *Bioresource*. 12(4): 8180-8198.
- Silverstein, R.M. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. USA: Lehigh Press
- Shofa. 2012. *Pembuatan Karbon Aktif Berbahan Baku Ampas Tebu dengan Aktivasi Kalium Hidroksida*. Tidak Diterbitkan. Depok: UI.
- Silvério, H. A., Flauzino Neto, W. P., Dantas, N. O., & Pasquini, D. 2013. Extraction And Characterization Of Cellulose Nanocrystals From Corn cob For Application As Reinforcing Agent In Nanocomposites. *Industrial Crops And Products*. 44: 427–436.
- Skoog, D. A., D. M. West, F. J. Holler, & S. R. Crouch. 2004. *Fundamental of Analytical Chemistry, Eighth Edition*. Canada: Thomson Learning Inc.

- Suhardjo & M. K., Clara. 1992. *Prinsip-Prinsip Ilmu Gizi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sumada, K., P. E. Tamara, & F. Alqani. 2011. Kajian Proses Isolasi α -selulosa dari Limbah Batang Tanaman *Manihot esculenta C.* yang efisien. *Jurnal Teknik Kimia*. 5(2): 434-438.
- Suryana, A. 2004. *Kemandirian Pangan Menuju Ketahanan Pangan Berkelanjutan*. Jakarta: Lembaga Informasi Dan Studi Pembangunan Indonesia.
- Sun, J. & Huaping T. 2013. Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. *Materials*. 6. 1285-1309.
- Svehla, G. 1985. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimakro Terjemahan Aloysius Hadjana Pujaatmika dan Textbook of Macro and Semimacro Qualitative Inorganic Analysis (1979) Fifth Edition*. Jakarta: PT Kalman Media Pustaka.
- Tandy, E., Hasibuan, I.F., & Harahap, H. 2012. Kemampuan Adsorben Limbah Lateks Karet Alam Terhadap Minyak Pelumas Dalam Air. *Jurnal Teknik Kimia USU*. Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik. USU.
- Wang L, Stegemann JP. 2010. Thermogelling chitosan & collagen composite hydrogels initiated with beta-glycerophosphate for bone tissue engineering. *Biomaterials* 31:3976–3985.
- Warisno. 1998. *Jagung hibrida*. Yogyakarta: Kanisius
- Winarno, FG. 1991. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Preparasi Larutan

1. Larutan NaOH 3% (b/v)

Larutan dibuat dari perbandingan massa zat terlarut dengan larutan

Volume larutan yang dibutuhkan = 500 mL

$$\begin{aligned}
 [C] &= \frac{m}{V} \times 100\% \\
 &= \frac{15,0051}{500 \text{ mL}} \times 100\% \\
 &= 3,00 \%
 \end{aligned}$$

Konsentrasi akhir larutan NaOH adalah 3,00 %

2. Larutan NaClO 1,4%

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

$$12\% \times 60 = M_2 \times 500 \text{ mL}$$

$$M_2 = \frac{12\% \times 60 \text{ mL}}{500 \text{ mL}}$$

$$M_2 = 1,44\%$$

Konsentrasi akhir NaClO adalah 1,44 %

3. Larutan H₂SO₄ 48,8% (b/v)

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

$$97 \% \times V_1 = 48,8 \% \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{48,8 \% \times 100 \text{ mL}}{97 \%}$$

$$V_1 = 50,3 \text{ mL}$$

Volume larutan H₂SO₄ yang dibutuhkan untuk membuat larutan H₂SO₄ 48,8 % adalah 50,3 mL

– Konsentrasi larutan 48,8%

$$m = \rho \times V$$

$$= 1,84 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \times 50,3 \text{ mL}$$

$$= 92,552 \text{ g}$$

Massa pada 48,8%

$$m = \% \times m$$

$$m = 97 \% \times 92,552 \text{ g}$$

$$m = 89,775 \text{ g}$$

Mol H_2SO_4 48,8%

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

$$n = \frac{89,775 \text{ g}}{98 \text{ g/mol}}$$

$$n = 0,92 \text{ mol}$$

Molaritas H_2SO_4 48,8%

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

$$M = \frac{0,92 \text{ mol}}{0,1 \text{ L}}$$

$$M = 9,2 \text{ mol/L}$$

Konsentrasi H_2SO_4 48,8% adalah sebesar 9,2 M

4. Larutan Na_2CO_3 5% (b/v)

$$\begin{aligned} [C] &= \frac{m}{V} \times 100\% \\ &= \frac{25,0062}{500 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 5,00 \% \end{aligned}$$

Konsentrasi akhir larutan Na_2CO_3 adalah 5,00 %

5. Larutan Natrium Hidroksida (NaOH) 0,01 M

$$Mr \text{ NaOH} = 40$$

$$\begin{aligned} n &= \frac{m}{Mr} \\ &= \frac{0,4008 \text{ g}}{40} \\ &= 0,01002 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} M &= \frac{n}{V} \\ &= \frac{0,01002}{1 \text{ L}} \\ &= 0,01002 \end{aligned}$$

Konsentrasi akhir larutan NaOH adalah 0,01002 M

6. Larutan Natrium Klorida (NaCl) 0,01 M

$$Mr \text{ NaCl} = 58,5$$

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

$$= \frac{0,0587 \text{ g}}{58,5}$$

$$= 0,001$$

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

$$= \frac{0,001003}{0,1 \text{ L}}$$

$$= 0,01003$$

Konsentrasi akhir larutan NaCl adalah 0,01003 M

7. Larutan Asam Klorida (HCl) 0,1 M

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

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

– Massa HCl 37%

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

$$m = \rho \times V$$

Misal, Volume larutan yang akan dibuat adalah 100 mL, maka:

$$m = 1,19 \text{ g/mol} \times 100 \text{ mL}$$

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

sehingga, massa pada HCl 37% adalah

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

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

– Mol HCl 37 %

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

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

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

– Molaritas HCl 37%

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

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

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

$$M = 12,06 \text{ M}$$

Untuk membuat larutan HCl 0,1 M, maka

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

$$12,06 \text{ M} \times V_1 = 0,1 \text{ M} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{0,1 \text{ M} \times 100 \text{ mL}}{12,06 \text{ M}}$$

$$V_1 = 0,83 \text{ mL}$$

Jadi, Volume larutan HCl 37% yang diperlukan untuk membuat 100 mL larutan HCl 0,1 M adalah 0,83 mL

8. Larutan Asam Oksalat ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) 0,01 M

$$M_r \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = 126$$

$$\begin{aligned} n &= \frac{m}{M_r} \\ &= \frac{0,1265 \text{ g}}{126} \\ &= 0,001004 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} M &= \frac{n}{V} \\ &= \frac{0,001004}{0,1 \text{ L}} \\ &= 0,01004 \end{aligned}$$

Konsentrasi akhir larutan $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ adalah 0,01004 M

9. Larutan CaCl_2 5%

$$\begin{aligned} [C] &= \frac{m}{V} \times 100\% \\ &= \frac{5,0073}{100 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 5,00\% \end{aligned}$$

Konsentrasi akhir larutan CaCl_2 adalah 5,00 %

10. Larutan induk BSA 1000 ppm

$$\begin{aligned} 1000 \text{ ppm} &= \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} = \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} \\ [C] &= \frac{m}{V} \times 1000 \text{ mL} \times 1000 \text{ mg} \\ &= \frac{0,1003}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL} \times 1000 \text{ mg} \\ &= 1003 \text{ mL} \end{aligned}$$

Konsentrasi akhir larutan BSA adalah 1003 ppm

11. Larutan Asam Sitrat ($C_6H_8O_7$) 0,1 M

$Mr C_6H_8O_7 \cdot H_2O = 210,14$

$$\begin{aligned}n &= \frac{m}{Mr} \\&= \frac{2,1023 \text{ g}}{210,14} \\&= 0,010004\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}M &= \frac{n}{V} \\&= \frac{0,010004}{0,1 \text{ L}} \\&= 0,10004\end{aligned}$$

Konsentrasi akhir larutan $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ adalah 0,10004 M

12. Larutan Dinatrium Hidrogen Fosfat (Na_2HPO_4) 0,2 M

$Mr Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O = 208,09$

$$\begin{aligned}n &= \frac{m}{Mr} \\&= \frac{4,1623 \text{ g}}{208,09} \\&= 0,020002\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}M &= \frac{n}{V} \\&= \frac{0,020002}{0,1 \text{ L}} \\&= 0,20002\end{aligned}$$

Konsentrasi akhir larutan $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ adalah 0,20002 M

Lampiran 4.1 Penentuan *Solid Content* (SC) Suspensi Nanoselulosa

NCC	Ulangan Ke-	SB (g)	SK ₁ (g)	SK ₂ (g)	SK Rata-rata	<i>Solid Content</i> (%)	Rata-rata <i>Solid Content</i> (%)	SD SC
1	1	1.1100	0.0051	0.0051	0.0051	0.460	0.470	0.010
	2	1.1896	0.0058	0.0054	0.0056	0.470		
	3	1.3056	0.0063	0.0063	0.0063	0.480		
2	1	1.3865	0.0099	0.0097	0.0098	0.700	0.697	0.006
	2	1.5409	0.0106	0.0106	0.0106	0.690		
	3	1.4555	0.0104	0.0102	0.0103	0.700		
3	1	1.0094	0.0041	0.0041	0.0041	0.400	0.560	0.277
	2	1.0260	0.0091	0.0091	0.0091	0.880		
	3	1.0348	0.0041	0.0039	0.0040	0.400		
4	1	1.0564	0.0068	0.0066	0.0067	0.630	0.650	0.026
	2	1.0290	0.0065	0.0067	0.0066	0.640		
	3	1.0607	0.0072	0.0072	0.0072	0.680		
5	1	1.0472	0.0064	0.0064	0.0064	0.610	0.597	0.032
	2	1.0837	0.0067	0.0067	0.0067	0.620		
	3	1.0472	0.0060	0.0058	0.0059	0.560		
6	1	1.0575	0.0046	0.0045	0.0045	0.430	0.418	0.011
	2	1.0349	0.0042	0.0043	0.0042	0.411		
	3	1.0446	0.0043	0.0043	0.0043	0.412		
7	1	1.0221	0.0045	0.0044	0.0044	0.435	0.407	0.027
	2	1.1326	0.0046	0.0045	0.0045	0.402		
	3	1.0312	0.0039	0.0040	0.0039	0.383		
Rata-Rata							0.543	

Keterangan :

SK₁ : Sampel pengeringan 2 jam

SK₂ : Sampel dengan tambahan pengeringan 1 jam

SB : Sampel basah

SD SC : Standart deviasi *solid content*

Contoh perhitungan *solid content*

$$\begin{aligned}
 \% \text{ solid content} &= \left[\frac{(SK + W) - W}{(SB + W) - W} \right] \times 100 \% \\
 &= \left[\frac{0.0051 \text{ g}}{1.1100 \text{ g}} \right] \times 100\% \\
 &= 0,46 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 4.2 Rendemen Nanoselulosa

SC (%)	Solid content (g/mL)	Volume suspensi (mL)	Massa Nanoselulosa (g)	Rendemen (%)
0.407	0.00407	58	0.236	2.4
0.418	0.00418	57	0.238	2.4
0.470	0.00470	53	0.249	2.5
0.560	0.00560	40	0.224	2.2
0.597	0.00597	33	0.197	2.0
0.650	0.00650	27	0.176	1.8
0.697	0.00697	36	0.251	2.5
Rata-rata		43.43	0.224	2.2

Contoh perhitungan Massa Nanoselulosa

$$\begin{aligned}
 m &= V \text{ (mL)} \times SC \left(\frac{g}{mL} \right) \\
 &= 58 \text{ mL} \times 0.00407 \frac{g}{mL} \\
 &= 0.236 \text{ g}
 \end{aligned}$$

Contoh perhitungan Rendemen

$$\begin{aligned}
 R &= \frac{\text{massa nanoselulosa (g)}}{\text{massa selulosa (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{0.236 \text{ g}}{10 \text{ g}} \\
 &= 2.4 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 4.3 Volume nanoselulosa untuk Pembuatan *Beads*.

SC (%)	SC (g/mL)	Volume yang digunakan pada komposisi ke- (mL)		
		2%	6%	10%
0.407	0.00407	2.0	5.9	9.8
0.418	0.00418	1.9	5.7	9.6
0.470	0.00470	1.7	5.1	8.5
0.560	0.00560	1.4	4.3	7.1
0.597	0.00597	1.3	4.0	6.7
0.650	0.00650	1.2	3.7	6.2
0.697	0.00697	1.1	3.4	5.7

Volume suspensi nanoselulosa yang digunakan untuk pembuatan beads

$$V = \frac{\text{Massa komposisi}}{\text{SC } \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}}\right)}$$

$$V = \frac{0,008 \text{ g}}{0,0047 \text{ g/mL}}$$

$$V = 1,7 \text{ mL}$$

Dimana massa komposisi pada ANC 2% adalah 8 mg, ANC 6% adalah 24 mg, dan ANC10% adalah 40 mg

Lampiran 4.4 Karakteristik Nanoselulosa dan *Beads* Alginat/Nanoselulosa

4.4.1 Analisis Penentuan Jumlah Gugus Bermuatan Sulfat dengan Titrasi Konduktometri

- Stantadrisasi NaOH

Ulangan	Volume $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (mL)	Volume NaOH (mL)	$[\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ (mM)	$[\text{NaOH}]$ (mM)	Rata-rata $[\text{NaOH}]$ (mM)
Ke-					
1	10	19,3	10	10,4	
2	10	19,2	10	10,4	10,4
3	10	19,2	10	10,4	

Contoh perhitungan penentuan molaritas larutan NaOH

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

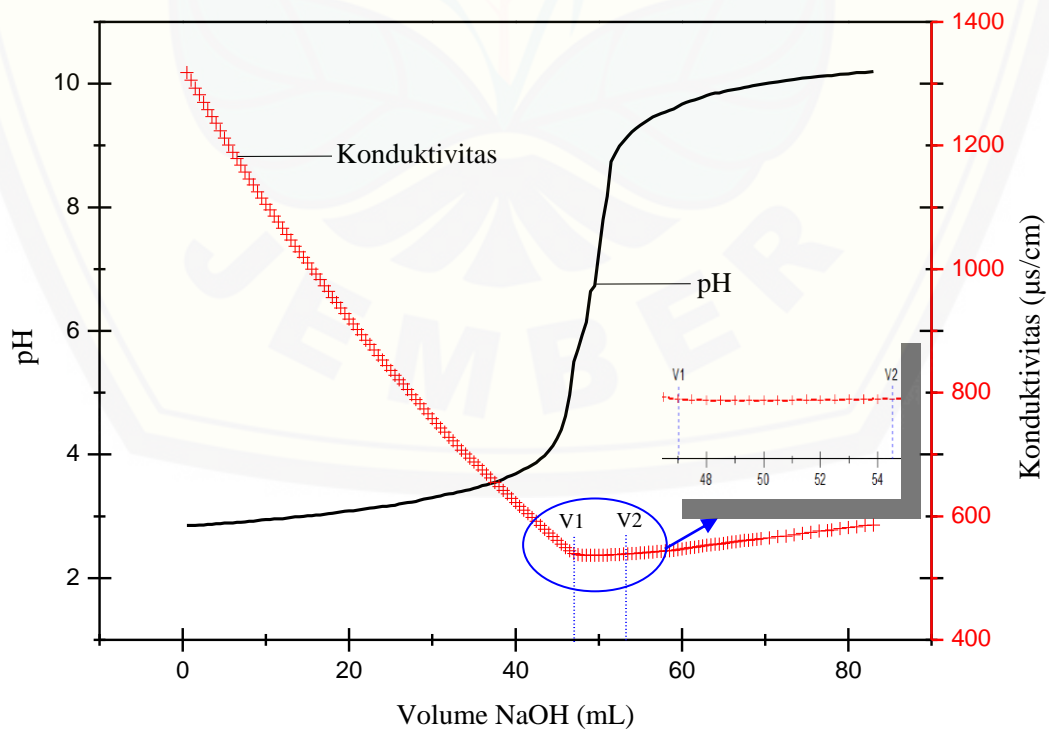
$$2 \times 10 \text{ mM} \times 10 \text{ mL} = 1 \times M_2 \times 19,3 \text{ mL}$$

$$M_2 = \frac{2 \times 10 \text{ mM} \times 10 \text{ mL}}{19,3 \text{ mL}}$$

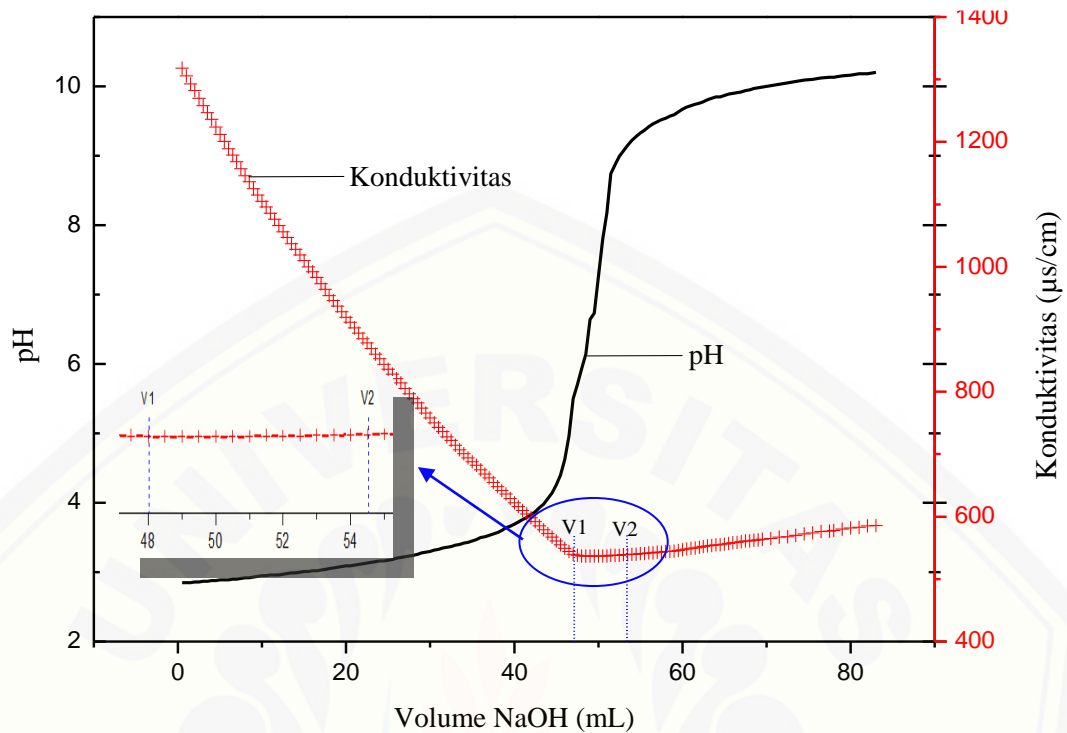
$$M_2 = 10,4 \text{ mM}$$

- Grafik Titrasi Konduktometri

a. Grafik Titrasi Konduktometri NCC (Ulangan 1)



b. Grafik Titrasi Konduktometri NCC (Ulangan 2)



- Penentuan Jumlah Gugus Sulfat NCC

Ulangan Ke-	Volume NaOH (mL)			Massa Suspensi (g)	$\Sigma [-OSO_3^-]$ (mmol/Kg)	Rata-rata $\Sigma [-OSO_3^-]$ (mmol/Kg)
	V ₁	V ₂	V ₂ -V ₁			
1	47	54,5	7,5	4,97	15084,47	14078,84
2	48	54,5	6,5	4,97	13073,21	

Contoh perhitungan jumlah gugus sulfat nanoselulosa

M NaOH = 10,4mM = 0,01 M (diperoleh dari hasil standarisasi NaOH)

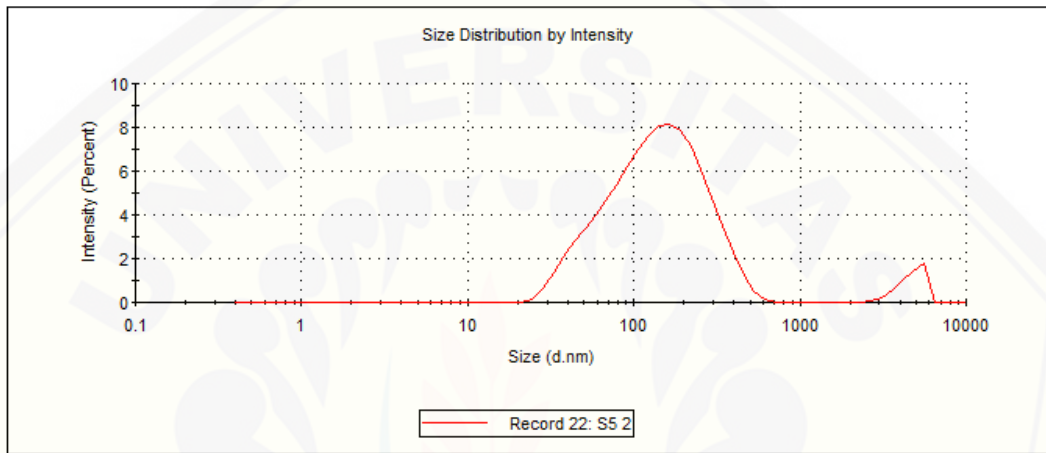
$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah gugus-OSO}_3^- \text{ (mmol. Kg}^{-1}\text{)} &= \frac{(V_2 - v_1) \times M \text{ NaOH}}{m \text{ suspensi}} \\
 &= \frac{7,5 \text{ mL} \times 0,01 \text{ M}}{4,97 \times 10^{-3} \text{ Kg}} \\
 &= 15084,47 \text{ mmol/Kg}
 \end{aligned}$$

4.4.2 Analisis Ukuran Partikel dengan PSA

– Grafik Distribusi PSA

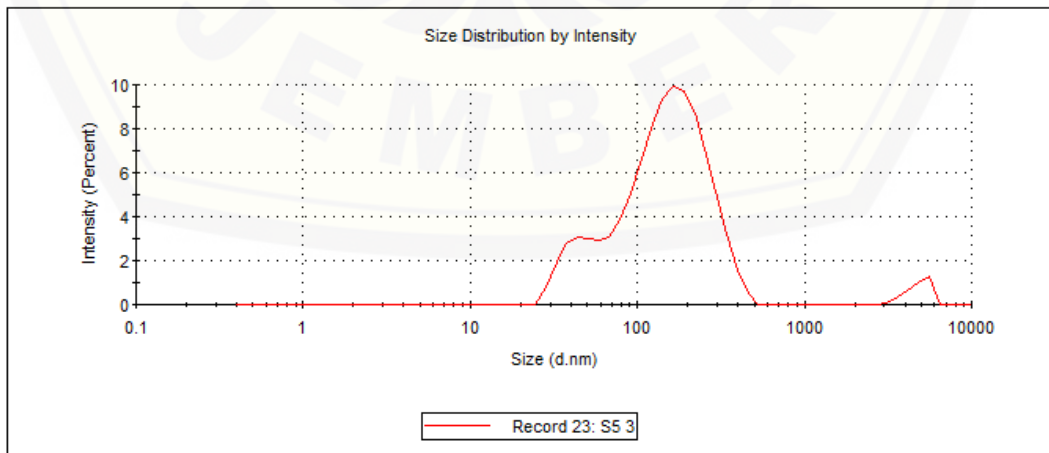
NCC (Ulangan 1)

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 123.3	Peak 1: 159.8	94.9	99.89
Pdl: 0.381	Peak 2: 4698	5.1	787.5
Intercept: 0.931	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality : Good			



NCC (Ulangan 2)

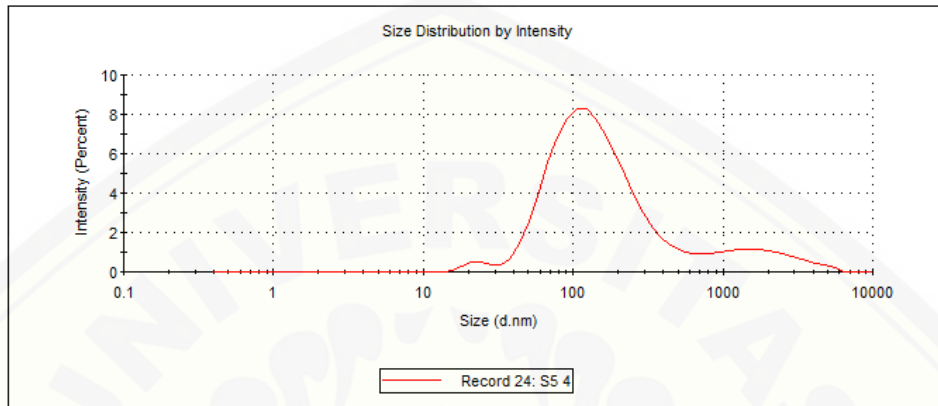
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 122.0	Peak 1: 174.9	82.5	81.43
Pdl: 0.354	Peak 2: 44.76	14.1	9.517
Intercept: 0.931	Peak 3: 4787	3.3	730.8
Result quality : Good			



NCC (Ulangan 3)

Z-Average (d.nm): 122.1
Pdl: 0.395
Intercept: 0.933
Result quality : Good

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Peak 1:	163.5	85.5	121.8
Peak 2:	1945	12.4	1139
Peak 3:	24.38	2.1	4.974



– Ukuran Rata-rata Partikel NCC

Ulangan Ke-	Ukuran Partikel (nm)	Ukuran Partikel <100 (nm)	Ukuran Partikel 100-10000 (nm)
1	123,3	64,80	536,73
2	122,0	61,33	408,26
3	122,1	68,68	517,79
Ukuran Rata-rata (nm)	122,5 ± 0,7	64,93 ± 3,0	487,60

4.4.3 Uji Daya Serap Air pada Beads berbagai variasi komposisi

Komposisi	Waktu (jam)	W Pengulangan ke- (g)			W (g)	%DSA	SD
		1	2	3			
0%	0	0.1038	0.1032	0.1018	0.1029		0.0010
	6	0.1174	0.1147	0.1156	0.1159	12.6	0.0014
	12	0.1180	0.1072	0.1152	0.1135	10.2	0.0056
	18	0.1168	0.1057	0.1144	0.1123	9.1	0.0058
	24	0.1181	0.1059	0.1145	0.1128	9.6	0.0063
	30	0.1142	0.1094	0.1154	0.1130	9.8	0.0032
	36	0.1181	0.1091	0.1200	0.1157	12.4	0.0058
	42	0.1145	0.1000	0.1202	0.1116	8.4	0.0104
	48	0.1161	0.1013	0.1255	0.1143	11.0	0.0122
	54	0.1185	0.1041	0.1268	0.1165	13.2	0.0115
	60	0.1166	0.1036	0.1288	0.1163	13.0	0.0126
2%	0	0.1050	0.1011	0.1052	0.1038		0.0023
	6	0.1203	0.1146	0.1187	0.1179	13.6	0.0029
	12	0.1224	0.1157	0.1185	0.1189	14.6	0.0034
	18	0.1228	0.1158	0.1190	0.1192	14.9	0.0035
	24	0.1210	0.1149	0.1178	0.1179	13.6	0.0031
	30	0.1251	0.1189	0.1202	0.1214	16.9	0.0033
	36	0.1260	0.1180	0.1250	0.1230	18.5	0.0044
	42	0.1276	0.1189	0.1228	0.1231	18.6	0.0044
	48	0.1272	0.1199	0.1238	0.1236	19.1	0.0037
	54	0.1275	0.1214	0.1237	0.1242	19.7	0.0031
	60	0.1289	0.1218	0.1236	0.1248	20.2	0.0037
6%	0	0.1050	0.1054	0.1012	0.1039		0.0023
	6	0.1193	0.1189	0.1038	0.1140	9.7	0.0088
	12	0.1193	0.1195	0.1049	0.1146	10.3	0.0084
	18	0.1193	0.1219	0.1056	0.1156	11.3	0.0088
	24	0.1210	0.1194	0.1049	0.1151	10.8	0.0089
	30	0.1241	0.1256	0.1075	0.1191	14.6	0.0100
	36	0.1284	0.1222	0.1077	0.1194	14.9	0.0106
	42	0.1224	0.1225	0.1073	0.1174	13.0	0.0087
	48	0.1228	0.1232	0.1067	0.1176	13.2	0.0094
	54	0.1236	0.1252	0.1092	0.1193	14.9	0.0088
	60	0.1244	0.1259	0.1072	0.1192	14.7	0.0104
10%	0	0.1093	0.1059	0.1021	0.1058		0.0036
	6	0.1173	0.1154	0.1102	0.1143	8.1	0.0037
	12	0.1120	0.1135	0.1127	0.1127	6.6	0.0008
	18	0.1142	0.1082	0.1152	0.1125	6.4	0.0038
	24	0.1105	0.1064	0.1142	0.1104	4.3	0.0039
	30	0.1180	0.1073	0.1157	0.1137	7.5	0.0056
	36	0.1124	0.1071	0.1179	0.1125	6.3	0.0054
	42	0.1117	0.1070	0.1145	0.1111	5.0	0.0038
	48	0.1104	0.1064	0.1152	0.1107	4.6	0.0044
	54	0.1084	0.1103	0.1168	0.1118	5.7	0.0044
	60	0.1083	0.1110	0.1144	0.1112	5.2	0.0031

- Contoh perhitungan persentase daya serap air pada beads dengan berbagai variasi komposisi

$$\% DSA = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100$$

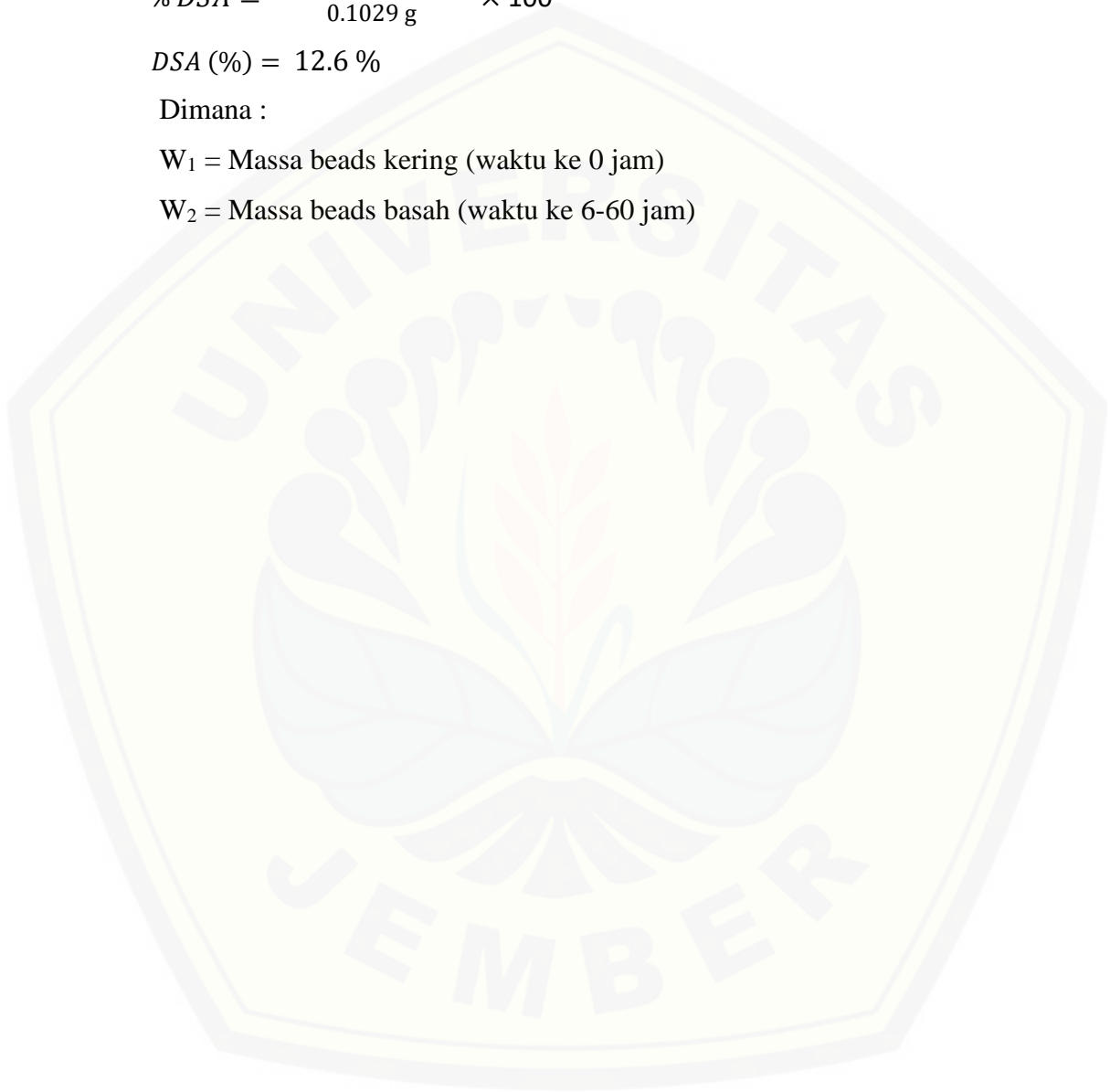
$$\% DSA = \frac{0.1159 \text{ g} - 0.1029 \text{ g}}{0.1029 \text{ g}} \times 100$$

$$DSA (\%) = 12.6 \%$$

Dimana :

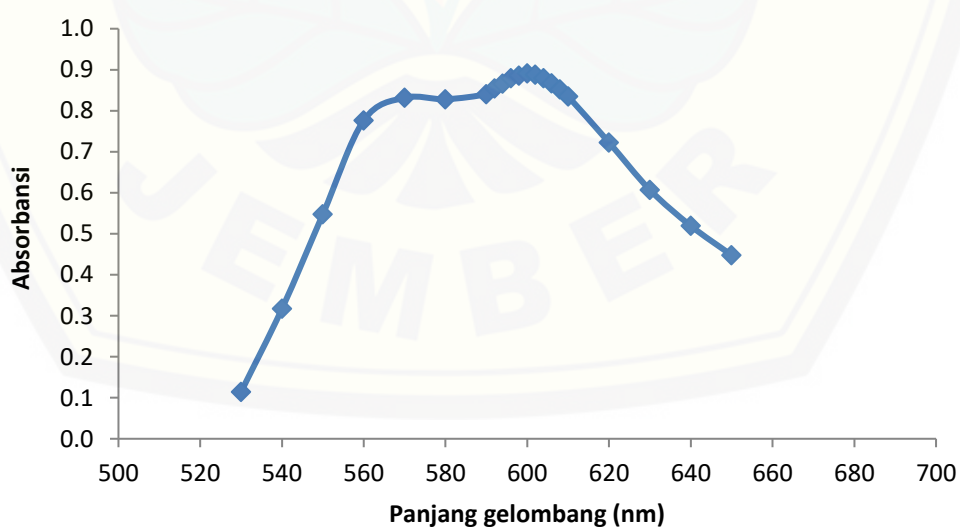
W_1 = Massa beads kering (waktu ke 0 jam)

W_2 = Massa beads basah (waktu ke 6-60 jam)



Lampiran 4.5 Scanning Panjang Gelombang

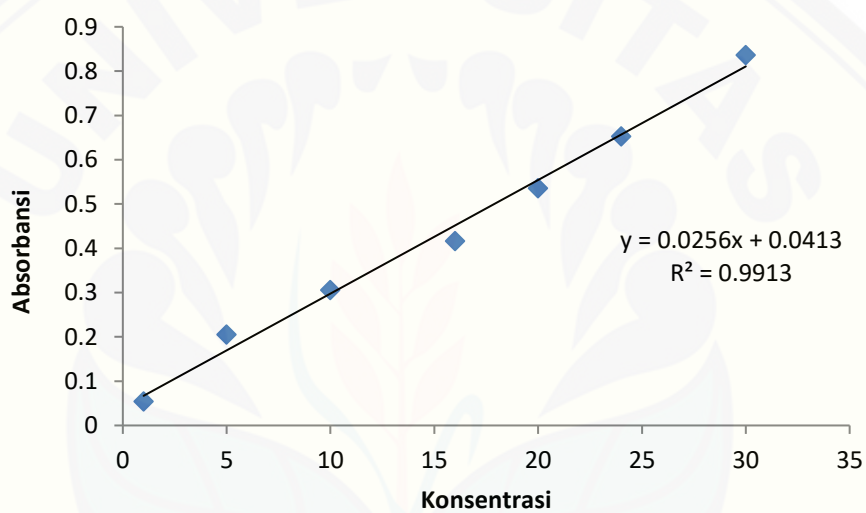
Panjang Gelombang	Absorbansi			Rata-rata	SD
	U1	U2	U3		
530	0.113	0.102	0.129	0.115	0.014
540	0.328	0.284	0.339	0.317	0.029
550	0.580	0.514	0.549	0.548	0.033
560	0.798	0.721	0.810	0.777	0.048
570	0.839	0.792	0.864	0.832	0.037
580	0.830	0.795	0.859	0.828	0.032
590	0.843	0.805	0.873	0.840	0.034
592	0.854	0.822	0.888	0.855	0.033
594	0.868	0.830	0.901	0.866	0.035
596	0.885	0.840	0.914	0.880	0.037
598	0.894	0.840	0.922	0.885	0.042
600	0.898	0.847	0.929	0.891	0.041
602	0.895	0.842	0.926	0.888	0.042
604	0.885	0.835	0.917	0.879	0.041
606	0.877	0.817	0.906	0.867	0.045
608	0.860	0.803	0.893	0.852	0.045
610	0.848	0.786	0.870	0.835	0.044
620	0.730	0.680	0.758	0.723	0.039
630	0.620	0.565	0.636	0.607	0.037
640	0.530	0.479	0.549	0.519	0.036
650	0.460	0.403	0.480	0.448	0.040



Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari scanning panjang gelombang yaitu pada panjang gelombang 600 nm

Lampiran 4.6 Kurva Standar BSA

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi			Rata-rata	SD
	U1	U2	U3		
1	0.068	0.050	0.045	0.054	0.012
5	0.209	0.202	0.206	0.206	0.004
10	0.305	0.293	0.319	0.306	0.013
16	0.417	0.413	0.420	0.417	0.004
20	0.521	0.537	0.549	0.536	0.014
24	0.649	0.673	0.637	0.653	0.018
30	0.835	0.835	0.839	0.836	0.002



Lampiran 4.7 Penentuan pH Optimum Adsorpsi Protein

pH	Komposisi	Absorbansi			Rata-rata	SD	C _e	Adsorpsi (%)
		U1	U2	U3				
6	0%	0.819	0.957	0.881	0.886	0.069	337.9	15.5
	2%	0.760	0.915	0.875	0.850	0.081	323.6	19.1
	6%	0.641	0.893	0.867	0.800	0.139	303.7	24.1
	10%	0.878	0.989	0.902	0.923	0.059	325.8	11.8
5	0%	0.890	0.824	0.893	0.869	0.039	342.0	14.5
	2%	0.826	0.777	0.833	0.812	0.031	308.4	22.9
	6%	0.857	0.817	0.855	0.843	0.022	320.8	19.8
	10%	0.870	0.867	0.839	0.859	0.017	327.1	18.2
4	0%	0.083	0.144	0.208	0.145	0.062	41.60	89.6
	2%	0.090	0.120	0.207	0.139	0.061	39.20	90.2
	6%	0.118	0.113	0.180	0.137	0.037	38.40	90.4
	10%	0.090	0.092	0.401	0.194	0.179	61.30	84.7
3	0%	0.100	0.436	0.405	0.314	0.186	109.1	72.7
	2%	0.108	0.417	0.724	0.416	0.308	149.5	62.6
	6%	0.330	0.414	0.618	0.454	0.148	165.2	58.7
	10%	0.274	0.317	0.508	0.366	0.125	130.1	67.5

- Contoh perhitungan nilai C_e

Berdasarkan persamaan yang diperoleh dari kurva standar BSA, dimana
 $y = 0,025x + 0,041$

$$y = mx + C$$

$$y - C = mx$$

$$x = \frac{y - C}{m}$$

$$x = \frac{0.314 - 0,041}{0,025}$$

$$x = 109,067$$

- Contoh perhitungan persen adsorpsi

C₀ yang digunakan sebesar 400 mg/L

$$\% \text{ Adsorpsi} = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100\%$$

Dimana :

C₀ = Konsentrasi mula-mula

C_e = Konsentrasi kesetimbangan

$$= \frac{400 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 337.9 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{400 \frac{\text{mg}}{\text{L}}} \times 100\%$$

$$= 15.5 \%$$

pH optimum adsorpsi protein pada beads ANC yaitu pada pH 4

Lampiran 4.8 Penentuan Isoterm Adsorpsi Beads ANC

Komposisi (%)	C_0 (mg/L)	Massa <i>beads</i> (g)	Absorbansi			Rata- rata	SD	C_e (mg/L)	q (mg/g)	C_e/q (g/L)	$\ln C_e$	$\ln q$
			U1	U2	U3							
0	200	0.2504	0.138	0.119	0.034	0.097	0.055	22.400	3.547	6.316	3.109	1.266
	300	0.2503	0.170	0.094	0.073	0.112	0.051	28.533	5.423	5.262	3.351	1.691
	400	0.2505	0.230	0.335	0.357	0.307	0.068	106.533	5.858	18.187	4.668	1.768
	500	0.2506	0.567	0.727	0.741	0.678	0.097	254.933	4.890	52.131	5.541	1.587
	600	0.2504	0.692	0.798	0.853	0.781	0.082	296.000	6.069	48.769	5.690	1.803
2	200	0.2506	0.105	0.159	0.156	0.140	0.030	39.600	3.200	12.375	3.679	1.163
	300	0.2506	0.111	0.232	0.148	0.164	0.062	49.067	5.007	9.800	3.893	1.611
	400	0.2506	0.303	0.470	0.345	0.373	0.087	132.667	5.335	24.869	4.888	1.674
	500	0.2507	0.509	0.660	0.730	0.633	0.113	254.933	4.888	52.159	5.541	1.587
	600	0.2505	0.725	0.829	0.845	0.800	0.065	303.467	5.920	51.265	5.715	1.778
6	200	0.2504	0.096	0.125	0.113	0.111	0.015	28.133	3.431	8.199	3.337	1.233
	300	0.2506	0.184	0.203	0.257	0.215	0.038	69.467	4.600	15.103	4.241	1.526
	400	0.2505	0.439	0.379	0.385	0.401	0.033	144.000	5.109	28.185	4.970	1.631
	500	0.2503	0.520	0.727	0.755	0.667	0.128	250.532	4.983	50.274	5.524	1.606
	600	0.2505	0.690	0.806	0.835	0.777	0.077	294.400	6.101	48.257	5.685	1.808
10	200	0.2503	0.136	0.106	0.086	0.109	0.025	27.333	3.450	7.923	3.308	1.238
	300	0.2504	0.121	0.211	0.262	0.198	0.071	62.800	4.736	13.261	4.140	1.555
	400	0.2504	0.273	0.518	0.495	0.429	0.135	155.067	4.891	31.706	5.044	1.587
	500	0.2504	0.518	0.738	0.704	0.653	0.118	244.932	5.093	48.096	5.501	1.628
	600	0.2502	0.687	0.820	0.849	0.785	0.086	297.733	6.041	49.289	5.696	1.798

Contoh perhitungan nilai q

$$q = \frac{C_0 - C_e}{w} \times V$$

$$q = \frac{200 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 22.400 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,2504 \text{ g}} \times 0,005 \text{ L}$$

$$q = 3.547 \frac{\text{mg}}{\text{g}}$$

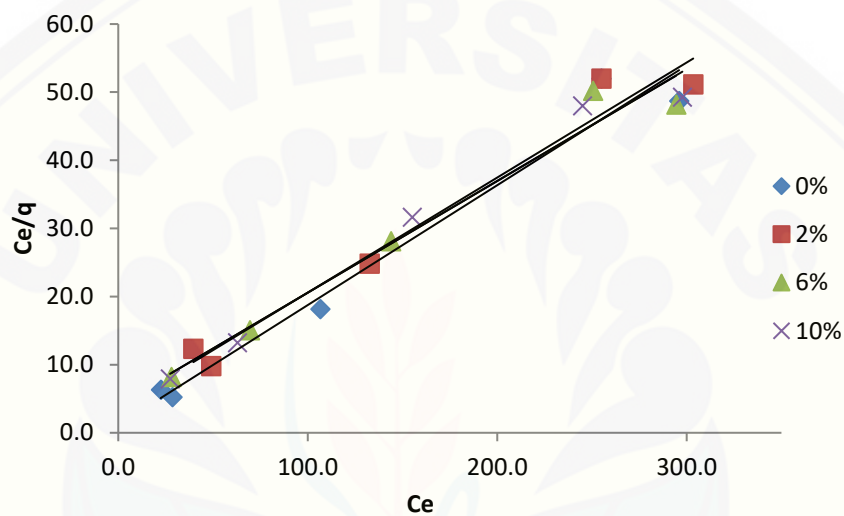
Dimana:

q = jumlah adsorbat per gram adsorben

w = Massa adsorben

V = volume adsorbat

4.8.1 Isoterm Langmuir



Komposisi (%)	m	C	q_{\max}	k	R^2
0	0.107	1.142	5.681	0.1522	0.969
2	0.182	0.699	5.917	0.0457	0.968
6	0.202	0.601	6.097	0.0391	0.969
10	0.188	0.670	6.097	0.0393	0.976

Contoh perhitungan

$$\frac{C_e}{q} = \frac{C_e}{q_{\max}} + \frac{1}{q_{\max}K}$$

$$\bullet \frac{C_e}{q_{\max}} = mx$$

$$\frac{1}{q_{\max}} = m$$

$$q_{\max} = \frac{1}{m}$$

$$q_{max} = \frac{1}{0.107}$$

$$q_{max} = 5.681$$

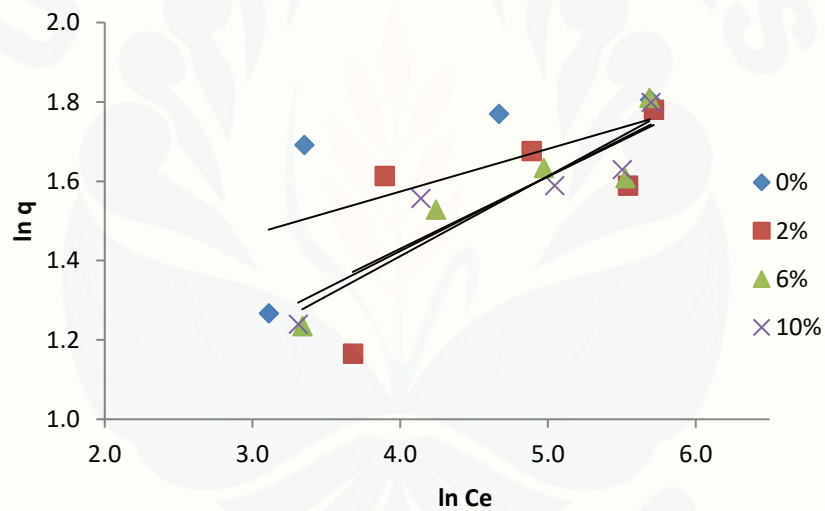
$$\bullet \frac{1}{q_{max}K} = C$$

$$K = \frac{1}{q_{max} C}$$

$$K = \frac{1}{5.681 \times 1.142}$$

$$K = 0.1522$$

4.8.2 Isoterm Freundlich



Komposisi (%)	m	C	K _f	n	R ²
0	0.176	1.156	3.133	9.346	0.358
2	0.169	3.695	2.012	5.495	0.517
6	0.164	4.195	1.824	4.951	0.869
10	0.164	4.175	1.954	5.319	0.852

Contoh perhitungan

$$\ln q = \ln K_f - \frac{1}{n} \ln C_e$$

- $\ln K_f = C$

$$\ln K_f = 1.156$$

$$K_f = 3.133$$

- $\frac{1}{n} = m$

$$\frac{1}{n} = 0.176$$

$$n = \frac{1}{0.176}$$

$$n = 9.346$$

Kurva yang diperoleh menghasilkan nilai regresi yang paling bagus pada kurva Langmuir, dimana nilai regresinya $> 0,9$. Sedangkan pada kurva Freundlich, nilai regresinya $< 0,8$. Berdasarkan hasil tersebut, jenis adsorpsi yang terjadi pada sampel merupakan adsorpsi Langmuir dengan lapisan monolayer.