



**KOMPOSISI SELULOSA TERHIDROLISIS-ALGINAT BEADS
UNTUK ADSORPSI *Bovine Serum Albumin (BSA)***

SKRIPSI

Oleh

**ANDRIANA NUR AINI
NIM 131810301010**

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



**KOMPOSISI SELULOSA TERHIDROLISIS-ALGINAT BEADS
UNTUK ADSORPSI *Bovine Serum Albumin* (BSA)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk
menyelesaikan program studi kimia (S1)
dan mencapai gelar sarjana sains

Oleh
Andriana Nur Aini
NIM 131810301010

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

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Ayah Agus Haryono dan Ibu Punijing Andayanik; kedua kakakku Alm. Anton Sholahuddin Rohman, Alfan Saiful Wathon dan Adikku Andriani Nur Laili yang tercinta;
2. Guru-guru TK Tunas Mulia, SDN I Tegalharjo, SMPN 3 Glenmore dan SMAN 1 Glenmore serta semua dosen di Fakultas MIPA Jurusan Kimia Universitas Jember yang telah banyak memberikan ilmu serta bimbingan tak ternilai;
3. Pengasuh PPIM ATH-Thoybah yang telah banyak memberikan ilmu dunia dan akhirat;
4. Teman-temanku MAVIA, Titanium '13, KKN 43, dan teman-teman di PPIM ATH-Thoybah;
5. Mr.Fach, yang selalu menyemangati dan membantu saat masalah datang;
6. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;

MOTTO

“Allah akan meninggikan derajat orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang memiliki ilmu pengetahuan”

(Al-Mujadillah:11)

لَيَبْيَسْ إِمَامَ جُرَاهُ أَوْ يُعْطَى مَسْنَدٌ لَا نُنْرُ : لِمَلْمَ أَلْبَ طَا ، حَمَّةَ الْبَ طَالِبُ : لِعَلْمَ الْبَ طَا

“Orang yang menuntut ilmu bearti menuntut rahmat; orang yang menuntut ilmu bearti menjalankan rukun Islam dan Pahala yang diberikan kepada sama dengan para Nabi”

(HR. Dailani dari Anas r.a)

سَبِيلٌ عَابِرٌ أَوْ غَرِيبٌ كَائِنٌ الْذِيَا فِي كُنْ

“jadilah seperti orang asing atau perantau di dunia ini”

(HR.al-Bukhari)

"If you set your goals ridiculously high and it's a failure, you will fail above everyone else's success"

(James Cameron)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andriana Nur Aini

NIM : 131810301010

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Komposisi Selulosa Terhidrolisis-Alginat Beads untuk Adsorpsi *Bovine Serum Albumin* (BSA)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 31 Oktober 2017

Yang Menyatakan

Andriana Nur Aini

NIM 131810301010

SKRIPSI

**KOMPOSISI SELULOSA TERHIDROLISIS-ALGINAT BEADS
UNTUK ADSORPSI *Bovine Serum Albumin (BSA)***

Oleh

Andriana Nur Aini
NIM 131810301010

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Tanti Haryati, S.Si., M.Si

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Komposisi Selulosa Terhidrolisis-Alginat *Beads* untuk Adsorpsi *Bovine Serum Albumin (BSA)*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada :

hari, Tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Pengaji

Ketua (DPU),

Sekretaris (DPA),

Tanti Haryati, S.Si., M.Si
NIP. 198010292005012002

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

Pengaji I,

Pengaji II,

Novita Andarini, S.Si., M.Si
NIP. 197211122000032001

Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc
NIP.198010012003122001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember,

Drs. Sujito, Ph.D
NIP. 196102041987111001

RINGKASAN

Komposisi Selulosa Terhidrolisis-Alginat Beads untuk Adsorpsi Bovine Serum Albumin (BSA); Andriana Nur Aini, 131810301010; 2017: 54 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Alginat merupakan polisakarida yang mampu membentuk hidrogel dengan kation bivalen seperti Ca^{2+} . Alginat dapat digunakan sebagai adsorben tetapi stabilitas mekanik dan kimia dari alginat tidak cukup baik, sehingga ditambahkan bahan penguat, yaitu selulosa terhidrolisis (StH) yang memiliki sifat mekanik yang lebih baik. Selulosa juga memiliki sisi negatif yang membuatnya mampu menjadi adsorben yang baik. Selulosa terhidrolisis dapat dihasilkan dari selulosa komersil maupun selulosa alam dengan berbagai metode. Metode pembuatan selulosa terhidrolisis diantaranya yaitu metode mekanik, kimia dan enzimatis, namun metode yang banyak digunakan yaitu metode kimia dengan hidrolisis menggunakan asam kuat. Penelitian ini membuat selulosa terhidrolisis dari selulosa mikrokristal komersil menggunakan metode hidrolisis asam. Asam yang digunakan yaitu asam sulfat 50%. Selulosa terhidrolisis kemudian akan ditambahkan ke alginat dan dibentuk *beads* dengan variasi komposisi diantara keduanya. *Beads* yang terbentuk akan digunakan sebagai adsorben untuk mengadsorpsi *Bovine Serum Albumin* (BSA). Penelitian ini akan mengkaji pengaruh komposisi adsorben dalam proses adsorpsi. Selain itu akan diketahui pula karakteristik dari *beads* selulosa terhidrolisis-alginat.

Penelitian ini terdiri dari empat tahapan diantaranya yaitu: (1) pembuatan selulosa terhidrolisis dari mikrokristal selulosa, (2) pembuatan *beads* selulosa terhidrolisis-alginat, (3) karakteristik *beads* selulosa terhidrolisis-alginat (StHA) meliputi karakteristik fisik dan kimia, (4) adsorpsi BSA. Tahap pertama yang dilakukan yaitu hidrolisis asam pada selulosa mikrokristal. Asam sulfat 50% digunakan dalam proses ini. Selulosa yang telah melalui tahap hidrolisis selanjutnya masuk dalam tahap ultrasonikasi, sehingga akan terbentuk selulosa terhidrolisis. Tahap kedua yaitu tahap pembuatan *beads*. Komposisi *beads* terdiri dari empat

variasi dengan total 400 mg/mL, yaitu StH sebanyak 0 gram dengan alginat sebanyak 400 mg (StHA 0), StH sebanyak 40 gram dengan alginat sebanyak 360 gram (StHA 40), StH sebanyak 80 gram dengan alginat sebanyak 320 gram (StH 80), dan StH sebanyak 200 gram dengan alginat sebanyak 200 gram (StHA 200). Tahap ketiga yaitu karakteristik *beads* StHA meliputi karakteristik fisik dan kimia. Karakteristik fisik diantaranya yaitu bentuk fisik serta ukuran *beads* dan *swelling*. Karakteristik kimia *beads* StHA meliputi analisis gugus fungsi dengan *Fourier Transmission Infra Red* (FTIR), dan titrasi konduktometri untuk menentukan gugus sulfat pada selulosa terhidrolisis (StH). Tahap keempat yaitu adsorpsi BSA yang dibagi menjadi dua yaitu adsorpsi BSA pada pH 3 dan adsorpsi BSA dengan penambahan NaCl pada pH 3.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa selulosa terhidrolisis (StH) diperoleh sebanyak 4,6 gram dari 10 gram selulosa mikrokristal dengan rendemen 46%. Ukuran *beads* semakin kecil seiring dengan penambahan StH, begitupula bentuk *beads* yang semakin tidak beraturan seiring dengan penambahan StH. *Swelling* menunjukkan bahwa *beads* dengan kandungan StH paling banyak, paling cepat mengalami *swelling* atau pembengkakan pada dengan perlakuan pada buffer pH 5. Karakteristik kimia *beads*, diketahui dari hasil titrasi konduktometri yang digunakan untuk mengetahui banyaknya gugus sulfat hasil dari reaksi sulfatasi (190 mmolKg^{-1} pada pengulangan pertama dan 165 mmolKg^{-1} pada pengulangan kedua). Hasil FTIR juga menunjukkan karakteristik kimia dari *beads* yaitu pada bilangan gelombang 3300 cm^{-1} (-OH), $2900-2950 \text{ cm}^{-1}$ (C-H), $1000-1100 \text{ cm}^{-1}$ (C-O piranosa), 1615 cm^{-1} (C=O karboksilat), serta pada 3392 cm^{-1} (O-H). Terlihat pada spektra StHA bahwa terdapat perbedaan puncak pada bilangan gelombang sekitar $1100-1300 \text{ cm}^{-1}$ yang disebabkan adanya gugus sulfat yang masuk pada StHA. Hasil adsorpsi BSA tertinggi pada variasi komposisi *beads* StHA yaitu pada beads StHA 200 sebesar 76,369% tanpa penambahan NaCl 0,06 M, dan 73,433% dengan penambahan NaCl 0,06 M.

Kesimpulan yang dipeoleh yaitu, karakteristik fisik dari *beads* diketahui dari bentuk fisik *beads* yang semakin mengecil seiring dengan kenaikan penambahan StH. Selain itu sifat fisik lainnya yaitu *swelling* menunjukkan bahwa semakin sedikit

komposisi alginat, maka *swelling* akan lebih cepat terjadi semakin banyak komposisi selulosa terhidrolisis (StH). Sedangkan sifat kimia diketahui dari titrasi konduktometri serta hasil ftir yang menunjukkan puncak-puncak khas dari seulosa dan alginat. Variasi komposisi selulosa terhidrolisis terhadap adsorpsi protein pada *beads* alginat, yaitu semakin banyak komposisi selulosa terhidrolisis, maka persen adsorpsi semakin besar. Sehingga semakin banyak selulosa terhidrolisis pada *beads* alginat, protein yang teradsorp juga semakin banyak.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat meyelesaikan skripsi yang berjudul “Komposisi Selulosa Terhidrolisis-Alginat Beads untuk Adsorpsi *Bovine Serum Albumin (BSA)*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Drs. Sujito, Ph.D selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Jember;
2. Bapak Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember;
3. Ibu Tanti Haryati, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama dan Bapak Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah memberikan bimbingan serta arahan demi terselesaikanya skripsi ini;
4. Ibu Novita Andarini, S.Si., M.Si selaku Dosen Pengaji I dan Ibu Ika Oktavianawati, S.Si., M.Si selaku Dosen Pengaji II, yang telah memberikan waktu untuk menguji serta memberikan kritik dan saran demi menyempurnakan skripsi ini;
5. Ibu Dr. A.A. Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing serta memotivasi penulis selama menjadi mahasiswa;
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menerima segala bentuk kritik dan saran yang sifatnya membangun. Akhirnya penulis berharap, semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan.

Jember, Oktober 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN BIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
HALAMAN PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
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 Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Nanoselulosa	4
2.2 Sintesis nanoselulosa	5
2.3 Alginat	6
2.4 Albumin	9
2.5 Adsorpsi	10
2.5.1 Jenis Adsorpsi	11

2.6 Adsorpsi Protein	12
2.7 Titrasi Konduktometri	14
2.8 Spektrofotometer Fourier Transform Inframerah (FTIR)	15
2.9 Spektrometer Visible	18
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.2 Alat dan Bahan	21
3.2.1 Alat Penelitian	21
3.2.2 Bahan Penelitian	21
3.3 Diagram Alir Penelitian	22
3.4 Prosedur Penelitian	23
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Karakteristik Fisik <i>Beads</i> Selulosa Terhidrolisis-Alginat (StHA) ...	31
4.1.1 Hasil Pembuatan Selulosa Terhidrolisis (StHA)	31
4.1.2 <i>Beads</i> Selulosa Tehidrolisis-Alginat	34
4.1.3 <i>Swelling Beads</i> Selulosa Terhidrolisis-Alginat	35
4.2 Karakteristik Kimia eads Selulosa Terhidrolisis-Alginat (StHA) ...	39
4.2.1 Produk Selulosa Terhidrolisis (StH)	39
4.2.2 Analisis Gugus Fungsi dengan FTIR	40
4.2.3 Titrasi Konduktometri	42
4.3 Adsorpsi BSA	43
4.3.1 Scanning Panjang Gelombang BSA dan Bradford	43
4.3.2 Pembuatan kurva Kalibrasi	44
4.3.3 Adsorpsi Bovine Serum Albumin (BSA)	45
BAB 5. PENUTUP	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Komposisi Pembuatan <i>Beads</i> StHA.....	26
4.1 Proses Hidrolisis Asam	32
4.2 Harga Momen Dipol	33

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur Selulosa	4
2.2 Penghilangan Bagian Amorf oleh Hidrolisis Asam	5
2.3 Mekanisme Hidrolisis Asam	6
2.4 Struktur Alginat	7
2.5 Komponen dari Alginat	7
2.6 Interaksi antara Ion Ca^{2+} dan gugus $-\text{COO}^-$ dalam Beads Kalsium Alginat ..	9
2.7 Struktur Bovine Serum Albumin	10
2.8 Proses Terjadinya Adsorpsi	11
2.9 Skema Interaksi Protein dengan Permukaan Padat	13
2.10 Kurva Titrasi Konduktometri	15
2.11 Sistem Optik Spektrofotometer FT-IR	16
2.12 Skema Pengukuran FT-IR	17
2.13 Skema Alat FT-IR	18
3.1 Diagram Alir Pembuatan <i>Beads</i> dan penentuan % Adsorpsi	22
4.1 Mekanisme Reaksi Hidrolisis Selulosa	32
4.2 Mekanisme reaksi Sulfatasi	32
4.3 Selulosa Terhidrolisis.....	34
4.4 <i>Beads</i> Selulosa Terhidrolisis-Alginat (StHA) Berbagai Komposisi	35
4.5 Ukuran <i>Beads</i> Selulosa Terhidrolisis-Alginat (StHA)	35
4.6 Interaksi Pembentukan <i>Beads</i>	35
4.8 <i>Swelling Beads</i> Masing-masing Komposisi <i>Beads</i>	36
4.9 <i>Swelling Beads</i> Masing-masing pH	38
4.9 Hasil XRD StH dan SbH	39
4.10 Hasil SEM StH dan SbH	39
4.11 Spektra FTIR	40

4.12 Interaksi alginat dan selulosa teroksidasi	41
4.13 Grafik Titrasi Konduktometri Selulosa Terhidrolisis	42
4.14 Hasil <i>Scanning</i> BSA+Bradford (500-650 nm)	43
4.15 Hasil <i>Scanning</i> BSA+Bradford (590-610 nm)	44
4.16 Kurva Kalibrasi BSA+Bradford	45
4.17 Hasil Adsorpsi Protein pada Masing-masing <i>Beads</i>	46

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

3.1 Pembuatan Larutan	51
3.1.1 Pembuatan Larutan H ₂ SO ₄ 50%	51
3.1.2 Pembuatan Larutan NaOH 0,01 M	51
3.1.3 Pembuatan Larutan NaCl 0,001 M	51
3.1.4 Pembuatan Larutan HCl 0,05 M.....	52
3.1.5 Pembuatan Larutan Asam Oksalat (C ₂ H ₂ O ₄) 0,01 M	52
3.1.6 Standarisasi Larutan NaOH 0,01 M dengan C ₂ H ₂ O ₄ 0,01 M	52
3.1.7 Pembuatan Larutan CaCl ₂ 2%	53
3.1.8 Pembuatan Larutan Induk BSA 1000 mg/L	53
3.1.9 Pembuatan Larutan Standar BSA	54
3.1.10 Pembuatan Larutan NaCl 0,06 M untuk Kekuatan Ionik	54
3.1.11 Pembuatan Buffer Sitrat-Fosfat pH 3, 4, dan 5	55
3.1.12 Pembuatan Buffer Amonia-Amonium Klorida pH 9	56
4.1 Perolehan Rendemen Selulosa Terhidrolisis	57
4.2 Karakteristik Fisik <i>Beads</i> Selulosa Terhidrolisis	57
4.2.1 Hasil <i>Swelling</i>	57
4.3 Karakteristik Kimia Beads Selulosa Terhidrolisis	62
4.3.1 Karakteristik FTIR	62
4.3.2 Titrasi Konduktometri Selulosa Terhidrolisis	64
4.4 Adsorpsi Protein	62
4.4.1 Scanning Panjang Gelombang	68
4.4.2 Kurva Kalibrasi	69
4.4.3 Adsorpsi Protein	69

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alginat merupakan biopolimer yang tersusun dari residu asam -D-manuronat dan α -L-guluronat dengan kation divalen seperti Ca^{2+} (Draget *et al.*, 1998). Alginat merupakan polisakarida linier yang dapat membentuk hidrogel dengan Ca^{2+} dan kation bivalent lainnya (Castro *et al.*, 2009). Alginat memiliki sifat hidrofilik, biokompatibel dan relatif ekonomis (Ibrahim *et al.*, 2012). Salah satu aplikasi alginat ini yaitu, pernah digunakan oleh Castro *et al.* (2009), dengan menambahkan emulsan sebagai campuran adsorben untuk adsorpsi *Bovine Serum Albumin* (BSA) dan menghasilkan adsorpsi yang lebih besar pada campuran emulsan-alginat *beads* dibandingkan alginat *beads*. Emulsan ini merupakan bioemulsifier heteropolisakarida polianionik yang diproduksi oleh *Acinetobacter calcoaceticus*. Hidrogel alginat memiliki sifat biokompatibilitas yang sangat tinggi, sehingga banyak digunakan untuk enkapsulasi sel (Park, 2014). Namun demikian, stabilitas mekanik dari alginat rendah, sehingga diperlukan modifikasi untuk mengatasi kelemahan tersebut.

Nanoselulosa adalah konversi dari selulosa menjadi nanoselulosa, yaitu partikel selulosa dengan ukuran nano, diameter sekitar 2-20 nm dan panjang hingga ribuan nanometer (Azeredo *et al.*, 2009). Nanoselulosa digunakan karena memiliki beberapa keunggulan sifat dibandingkan selulosa, diantaranya yaitu sifat biodegradasi yang tinggi, peningkatan luas permukaan, kemampuan dispersi yang lebih baik serta memiliki sifat mekanik yang lebih baik (Ioelovich, 2012). Berdasarkan keunggulan-keunggulan tersebut, nanoselulosa banyak digunakan dalam berbagai aplikasi antara lain penguat untuk polimer, bahan *biodegradable* dan adsorben (Ioelovich, 2012; dan Effendi *et al.*, 2015).

Produksi nanoselulosa baik dari bahan selulosa komersil maupun selulosa alam, dapat dilakukan dalam berbagai metode yaitu metode mekanik, kimia dan enzimatis (Effendi *et al.*, 2015). Salah satu metode yang banyak digunakan yaitu metode kimia dengan hidrolisis menggunakan asam kuat. Metode ini banyak

digunakan karena lebih mudah dalam prosesnya dan lebih ekonomis (Jati, 2006). Melalui metode ini, telah dihasilkan nanoselulosa yang berasal dari *microcrystalline cellulose* (MCC) dengan ukuran 115 nm dengan indeks kristalinitas sebesar 88,1% (Zhou, 2012). Metode menggunakan asam kuat sebagai agen penghidrolisis juga dilakukan oleh Ieolovich (2012) untuk mensintesis nanoselulosa dari mikrokristal selulosa (MCC) menggunakan asam sulfat dengan variasi konsentrasi 50% hingga 63%.

Dalam aplikasinya sebagai adsorben, nanoselulosa telah digunakan sebagai adsorben untuk adsorpsi logam dan protein. Sebagai adsorpsi protein, Anirudhan dan Rejeena (2012) menggunakan *poly(acrylic acid)-modified poly(glycidylmethacrylate)-grafted nanocellulose* (PAPGNC). Kemudian pada tahun 2013, Anirudhan dan Rejeena mengembangkan komposit berbasis nanoselulosa, yaitu *poly(methacrylic acid-co-vinyl sulfonic acid)-grafted-magnetite nanocellulose composite* (P(MAA-co-VSA)-g-MNCC) untuk adsorpsi hemoglobin dengan pH pada adsorpsi maksimum yaitu pH 6,5 dengan kapasitas monolayer 248,19 mg/g pada suhu 30°C. Hasil adsorpsi tersebut dipengaruhi oleh beberapa parameter. Menurut Coni Dietschweiler dan Dr. Michael Sander, parameter yang penting untuk adsorbsi yaitu pH, matriks komposisi absorben, suhu, kekuatan ionik, sifat-sifat protein dan permukaan, juga sifat pelarut.

Berdasarkan sifat mekanik dengan tingginya kristalinitas yang dimiliki nanoselulosa, nanoselulosa ini akan ditambahkan ke alginat untuk memperbaiki sifat mekanik dari alginat yang mudah rapuh. Penambahan nanoselulosa pada alginat ini diharapkan daya adsorpsi menjadi lebih baik dalam hal adsorben, serta imobilisasi sel ataupun enkapsulasi sel menjadi lebih tahan rapuh. Penggunaan *beads* sebagai adsorben diharapkan dapat meningkatkan hasil recovery daripada nanoselulosa dalam bentuk serbuk. Oleh karena itu, penelitian ini akan membuat *beads* dari nanoselulosa dan alginat untuk adsorpsi protein, yaitu *bovine serum albumin* (BSA). Rasio komposisi nanoselulosa dan alginat digunakan sebagai *variable* untuk mempelajari pengaruh komposisi pada kapasitas adsorpsi protein serta untuk mengetahui perbedaan karakterisasi. Analisis gugus fungsi yang

terdapat pada nanoselulosa-alginat dilakukan menggunakan FTIR. Selain itu akan dilakukan uji *swelling* untuk mengetahui karakter pembengkakan yang terjadi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah berdasarkan latar belakang tersebut, yaitu :

1. Bagaimana karakteristik fisik dan kimia dari *beads* nanoselulosa—alginat?
2. Bagaimana pengaruh variasi komposisi alginat terhadap adsorpsi protein (BSA) pada nanoselulosa—alginat?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui karakteristik fisik dan kimia *beads* nanoselulosa-alginat
2. Mengetahui pengaruh variasi komposisi alginat terhadap adsorpsi protein (BSA) pada nanoselulosa-alginat

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah pada penlitian ini yaitu :

1. Larutan BSA yang digunakan memiliki konsentrasi 400 mg/L (pH 3)
2. NaCl dengan konsentrasi 0,06 M

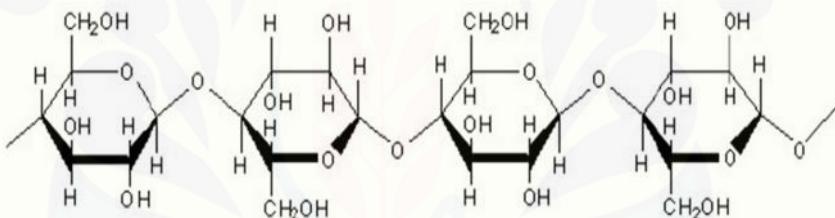
1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini secara umum yaitu untuk mengembangkan material berbasis alginat sebagai adsorpsi protein dan secara khusus untuk mengkaji pengaruh komposisi adsorben (nanoselulosa-alginat) dalam adsorpsi protein.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nanoselulosa

Nanoselulosa merupakan polimer turunan dari selulosa. Struktur nanoselulosa ini mirip dengan selulosa, yaitu terdiri dari rantai linier dengan ikatan (1 → 4) glikosidik yang berikatan antar unit D-glukosa dari beberapa ratus hingga lebih sepuluh ribu (Fransisco *et al.*, 2012). Selulosa sendiri merupakan salah satu senyawa organik yang memiliki rumus $(C_6H_{10}O_5)_n$ (gambar 2.1). Nanoselulosa memiliki permukaan yang lebih luas dan memiliki gugus hidroksil yang terbuka (tidak tersembunyi) daripada selulosa. Nanoselulosa diharapkan memiliki sifat yang lebih hidrofilik sehingga dapat biokompatibel dengan alam (Anirudhan *et al.*, 2013).



Gambar 2.1 Struktur Selulosa (Lehninger, 1993).

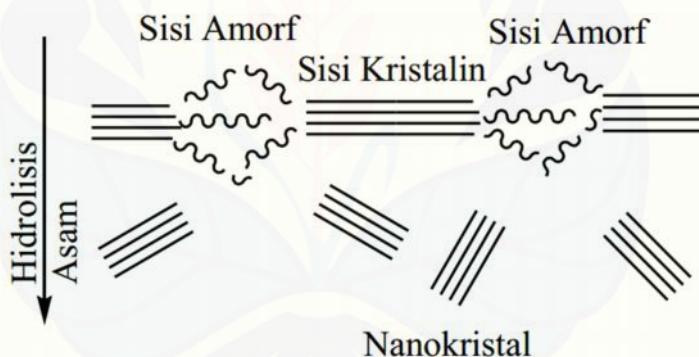
Nanoselulosa umumnya memiliki keluarga yang terdiri dari tiga jenis, yaitu nanokristal selulosa atau selulosa nanokristalin, nanofibril selulosa, dan nanoselulosa bakteri (Klemm *et al.*, 2011). Meskipun nanoselulosa memiliki struktur yang mirip dengan selulosa, akan tetapi sifat mekanik dari nanoselulosa berbeda dengan selulosa, yaitu nanoselulosa memiliki sifat kristalinitas yang tinggi, melebihi selulosa. Perbedaan lain yaitu, nanoselulosa memiliki sifat biodegradasi yang lebih tinggi, kemampuan dispersi serta adanya peningkatan luas permukaan. Nanoselulosa juga memiliki kekuatan tarik yang tinggi, jaringan yang halus, dan rasio permukaan terhadap volume besar (Ioelovich, 2012).

Nanoselulosa banyak dimanfaatkan pada bidang industri. Nanoselulosa digunakan sebagai penguat kertas pada industri kertas, sebagai pengental dan penstabil suspensi pangan pada industri pangan, sebagai bahan perban serta tablet

obat pada industri farmasi (Klemm *et al.*, 2011). Selain itu, nanoselulosa juga dapat digunakan sebagai pembawa obat dan implan serta sebagai bahan *biodegradable* (Ioelovich, 2012).

2.2 Sintesis Nanoselulosa

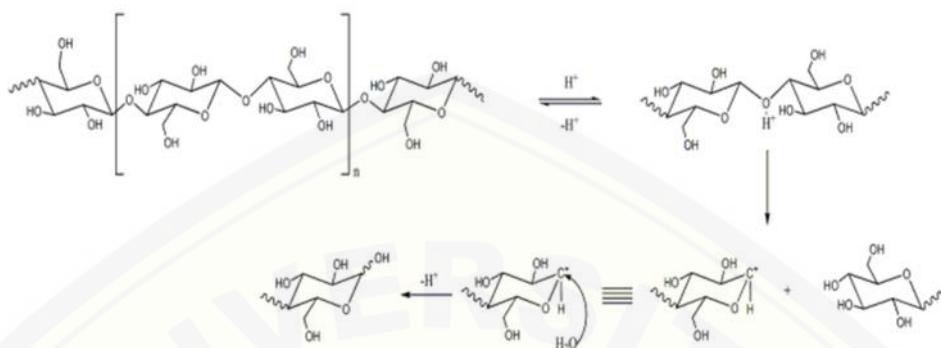
Metode dalam sentesis nanoselulosa terdiri dari tiga macam, yaitu metode kimia, metode biologis, dan metode mekanik. Metode sintesis nanoselulosa akan mempengaruhi kristalinitas, ukuran partikel, serta kemurnian nanoselulosa. Setiap metode akan menghasilkan jenis nanoselulosa yang berbeda. Metode kimia meliputi metode asam, pelarut alkali, oksidasi, cairan ionik, dan metode pelarut organik (*organosolv*). Pada metode hidrolisis asam, umumnya menggunakan asam kuat. Hal ini dikarenakan asam kuat mampu menghilangkan bagian amorf pada nanoselulosa (Oke, 2010). Hidrolisis menggunakan asam kuat digambarkan pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Penghilangan Bagian Amorf oleh Hidrolisis Asam (Oke, 2010).

Jenis asam, konsentrasi asam, waktu hidrolisis, dan suhu saat hidrolisis merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi produk hidrolisis. Asam akan berinteraksi terutama dengan bagian amorf pada selulosa karena bagian amorf adalah bagian yang paling mudah diakses dan memiliki luas permukaan yang besar. Oleh karena itu, daerah amorf yang pertama menjadi target dari asam kuat, diikuti dengan daerah kristalinitas secara meningkat. sehingga buat hidrolisis haruslah dikendalikan guna memperoleh produk yang diharapkan. Jenis asam kuat yang digunakan banyak peneliti diantaranya asam sulfat, asam klorida, dan asam nitrat. Asam sulfat dinilai lebih efisien untuk proses hidrolisis selulosa. Proses

hidrolisis terjadi saat asam berdifusi ke dalam selulosa dan terjadi pembelahan ikatan glikosidik (gambar 2.3) (Oke, 2010).



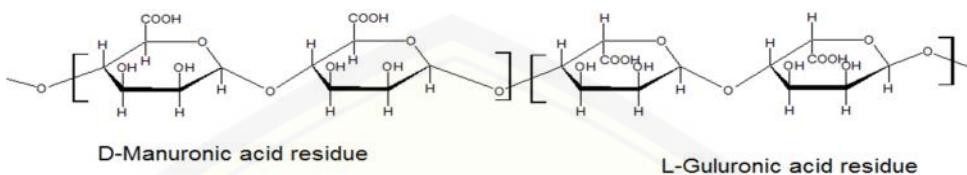
Gambar 2.3 Mekanisme Hidrolisis Asam (Effendi *et al.*, 2015).

Produksi nanoselulosa umumnya menggunakan asam sulfat dan asam klorida. Akan tetapi, nanoselulosa dari kedua jenis asam ini memiliki dispersabilitas yang berbeda. Hal ini dikarenakan kelimpahan dari gugus sulfat pada permukaan nanoselulosa. Penggunaan asam sulfat dalam proses hidrolisis akan menghasilkan nanoselulosa yang dapat terdispersi dengan mudah dalam air, sedangkan jika asam klorida yang digunakan, maka nanoselulosa yang dihasilkan tidak mampu terdispersi dengan mudah. Selain itu, suspensi larutan dari nanoselulosa ini cenderung akan terflokulasi (Peng, 2011). Terbentuknya partikel selulosa menggunakan metode sonifikasi, dimana ukuran dari partikel akan lebih kecil dari ukuran awalnya menggunakan bantuan sonikator. Sonikator akan memecah partikel dengan menggunakan bantuan panjang gelombang yang dihasilkan dari mesin sonikator sehingga partikel yang diperoleh berukuran nano (Özgün, 2013).

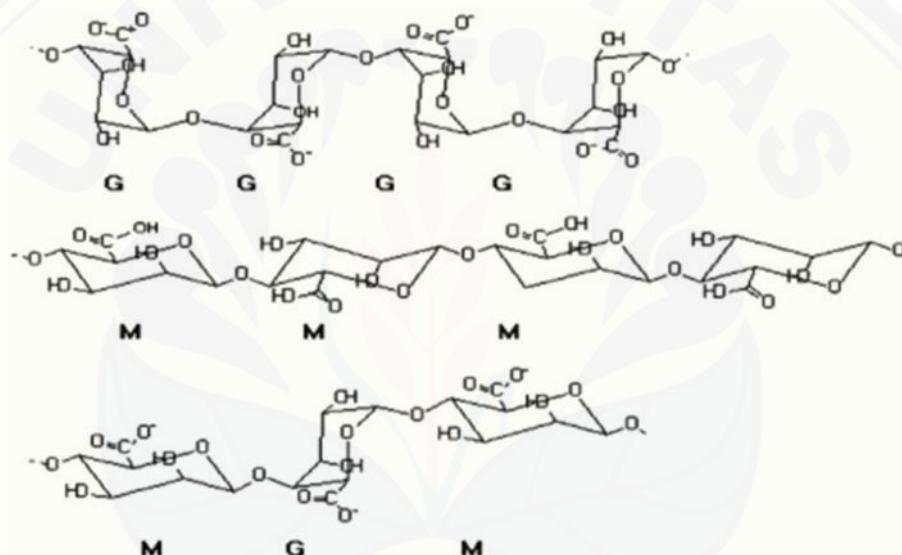
2.3 Alginat

Alginat umumnya disebut sebagai keluarga polianionik kopolimer yang berasal dari rumput laut, terutama ganggang laut cokelat. Alginat merupakan polisakarida linier dari asam -D-manuronat dan -L-guluronat yang dapat membentuk hidrogel dengan adanya kalsium dan kation bivalen lainnya. Alginat terdiri dari dua dasar yaitu asam L-guluronat dan asam D-Manuronat dengan

ikatan linier pada 1-4 (gambar 2.4). Bentuk ini merupakan konformasi dari residu isomer yang berbeda dalam susunan struktural cincin *hexopyranose*. Terdapat setidaknya tiga bentuk yaitu MM, GG dan MG (gambar 2.5). M merupakan residu asam Manuronat dan G merupakan residu asam Guluronat.



Gambar 2.4 Struktur Alginat



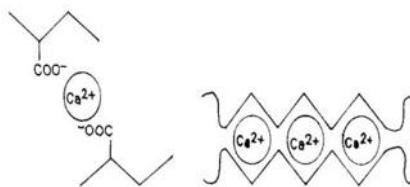
Gambar 2.5 Komponen dari Alginat (Goh *et al.*, 2012).

Alginat ini dapat dihasilkan dari dua sumber, yaitu ganggang dan bakteri. Alginat komersial yang tersedia, umumnya berasal dari ganggang cokelat. Jenis alga umumnya yang komersial meliputi *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* dan *Macrocystis pyrifera*. Alginat juga dapat diisolasi dari bakteri seperti jenis *Azotobacter* dan *Pseudomonas*. Akan tetapi, alginat yang dihasilkan dari bakteri ini biasanya tidak ekonomis untuk aplikasi komersial dan terbatas pada studi penelitian skala kecil. Produksi alginat komersial melibatkan alkali dan proses ekstraksi alkali. Ganggang cokelat dikumpulkan, dikeringkan dan menjalani berbagai perawatan kimia untuk menghilangkan kotoran (misalnya logam berat,

endotoksin, protein, karbohidrat dan polifenol) (Goh *et al.*, 2012). Untuk mencegah pembengkakan *swelling*, kalsium alginat umumnya ditambahkan polimer lain seperti kitosan, poli (L-lisin), poliakrilat, dan lain-lain. Penambahan ini dilakukan guna untuk menstabilkan gel kalsium alginat (Castro *et al.*, 2009).

Dalam industri makanan dan minuman, alginat tetap menjadi salah satu bahan yang paling penting dalam produk makanan. Alginat digunakan sebagai stabilisator dan pengental untuk berbagai makanan, seperti jelly, berbagai minuman seperti susu cokelat dan makan penutup seperti es krim. Alginat diketahui dapat menjadi logam sequestrant yang baik. Logam sequestrant terbentuk dikarenakan adanya interaksi dengan logam dan membentuk ikatan kompleks. Umumnya, sequestrant digunakan untuk pegawet makanan, dimana sequestrant ini akan mengikat logam yang terdapat pada makanan menggunakan ikatan kompleks. Alginat dapat menyaring kotoran dan dapat bereaksi secara selektif dengan ion logam beracun (misalnya Cd^{2+}) dalam limbah sehingga berpotensi dan berguna dalam sistem pengolahan air limbah. Alginat semakin penting dalam industri kesehatan dan farmasi. Hal ini dikarenakan proses enkapsulasi sel pertama yang dilakukan oleh Lim dan Sun (1980). Selain itu, matriks alginat digunakan secara luas digunakan untuk kultur sel dan transplantasi. Alginat juga dimasukkan ke dalam tablet untuk memperbaiki sifat *bioadhesive* pada tablet (Goh *et al.*, 2012).

Sebagian besar aplikasi yang menggunakan alginat didasarkan pada kemampuan pembentuk gel melalui kation yang mengikat. Model *egg-box* telah diterima sebagai model umum untuk menggambarkan pembentukan gel (Tsai *et al.*, 2013). Dalam kasus *beads* yang dibuat dengan menggunakan alginat, pembentukan beads diakibatkan adanya agen *crosslink*. Unit polyguluronat pada molekul alginat membentuk sebuah struktur khelat dengan ion metal yang disebut dengan *egg-box junction* dengan celah yang mana kation akan dibungkus oleh unit alginat (Gambar 2.6).



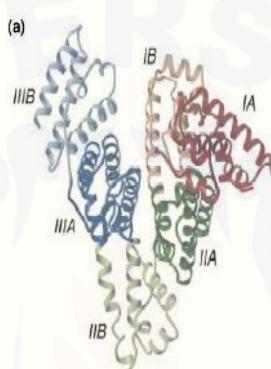
Gambar 2.6 Interaksi antara ion Ca^{2+} dan gugus $-\text{COO}^-$ dalam *beads* kalsium alginat (Bajpai dan Sharma., 2004).

2.4 Albumin

Protein erat kaitannya dengan proses-proses kehidupan, karena protein merupakan salah satu zat gizi paling penting. Nama protein itu sendiri berasal dari kata “proteus” yang merupakan bahasa Yunani dan berarti “pertama” atau “terpenting”. Mudler, seorang ahli kimia dari Belanda mengisolasi unsur nitrogen dari susunan tubuh dan memberikan nama protein. Protein ini tersusun dari asam amino. Protein ini merupakan polimer dari asam amino yang bergabung melalui ikatan peptida (CONH). Jenis asam amino yang terkandung biasanya sebanyak 12 hingga 18 dalam satu molekul protein, bahkan mampu mencapai ratusan asam amino (Suhardjo dan Clara, 1992). Protein ini terdiri dari unsur-unsur kimia, diantaranya yaitu karbon sebanyak 55%, hidrogen sebanyak 7%, oksigen sebanyak 23%, nitrogen sebanyak 16%, sulfur 1% dan fosfor <1% (Winamo, 1991). Protein ini secara umum berupa antibodi, serum protein, antigen asing, dan enzim.

Albumin memiliki berat molekul sebesar 66 kDa dan terdiri dari 585 asam amino dengan susunan rantai tunggal polipeptida (Uhing, 2004). Albumin merupakan protein plasma dengan jumlah sekitar 55% hingga 60% dalam tubuh manusia. Asam-asam amino dalam albumin ini saling berikatan menggunakan ikatan disulfida. ikatan disulfida yang dimiliki albumin ini sebanyak 17 ikatan. Sintesis albumin manusia dapat dilakukan dengan mengendapkan plasma darah menggunakan alkohol. Secara luas, albumin digunakan untuk mengganti volume hipoalbuminea serta mengobatinya (Uhing, 2004 dan Boldt, 2010). Selain dalam manusia, albumin juga dapat ditemukan dalam hewan ternak seperti sapi, yaitu *bovine serum albumin* (BSA).

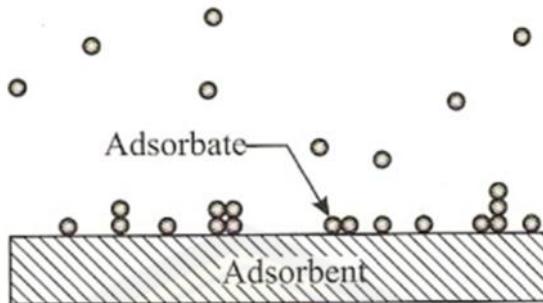
Bovine serum albumin (BSA) telah menarik banyak perhatian karena memiliki kesamaan dengan serum albumin manusia, memiliki stabilitas yang baik, kelarutan dalam air, murah dan ketersediaannya mudah (Mahadavinia et al., 2016). BSA ini termasuk jenis protein globular dimana berat molekul BSA yaitu 66000 Da. Sekitar 76% asam amino dari BSA ini serupa dengan HSA (*Human Serum Albumin*) serta urutan asam amino yang dimiliki BSA juga hampir serupa dengan HSA (Huang dan Kim, 2004).



Gambar 2.7 Struktur *Bovine Serum Albumin* (Huang dan Kim, 2004).

2.5 Adsorpsi

Adsorpsi merupakan proses dimana molekul dari fluida dapat menyentuh bahkan melekat di permukaan padatan (Ginting, 2008). Adsorpsi dapat terjadi saat molekul gas ataupun cair dikontakkan dengan permukaan dari padatan dan akan terbentuk embun pada permukaan padatan (Taufan, 2008). Adsorpsi ini terjadi pada permukaan padatan karena adanya gaya elektrostatik dan gaya van der waals antara molekul adsorbat dan molekul pada adsorben. Gaya van der waals ini merupakan gaya tarik antar molekul polar (relatif lemah) sehingga memiliki potensi untuk terlepas kembali. Saat molekul fluida mengalami interaksi dengan adsorben dalam komposisi yang tepat, maka adsorpsi akan terjadi dan setelah beberapa saat, adsorben dan molekul fluida akan mencapai kesetimbangan (Taufan, 2008). Adsorbsi ini berbeda dengan absorpsi. Adsorbsi merupakan proses terserapnya molekul fluida ke permukaan adsorben, sedangkan absorpsi merupakan proses terserapnya molekul fluida atau zat yang diserap ke dalam adsorben (Sukardjo, 1990). Ilustrasi terjadinya adsorpsi terdapat pada gambar 2.8.



Gambar 2.8 Proses Terjadinya Adsorpsi (Sukardjo, 1990).

Suatu adsorpsi mulai terjadi saat adanya difusi dari molekul adsorbat melalui permukaan adsorben, hanya sebagian kecil yang teradsorpsi dan sebagian besarnya akan berada di permukaan adsorben dan masuk ke dalam adsorben melalui pori adsorben (Rahmawati, 2006). Terjadinya interaksi antara adsorbat dan adsorben ini hanya terjadi pada permukaan adsorben dikarenakan adanya gaya tarik atom pada permukaan adsorben yang tidak seimbang dan menyebabkan terjadinya adsorpsi. Karena adanya gaya tarik inilah, partikel cair ataupun gas yang bersentuhan akan tertarik ke permukaan padatan (adsorben), sehingga konsentrasi permukaan adsorben akan semakin besar (Tandy *et al.*, 2012). Terdapat dua jenis adsorpsi, yaitu :

2.5.1 Jenis Adsorpsi

Terdapat dua jenis adsorpsi, yaitu

a. Adsorpsi kimia

Adsorpsi kimia merupakan adsorpsi yang diakibatkan adanya ikatan kimia antar molekul dari adsorbat dengan permukaan adsorben. menurut suryawan (2004), ikatan kimia yang terbentuk ini merupakan ikatan ion atau ikatan kovalen. Ikatan kimia yang terbentuk antara adsorbat dan adsorben ini memiliki kekuatan yang besar, sehingga terjadinya desorpsi akan sulit terjadi. Proses terbentuknya ikatan kimia ini berawal dari bergeraknya partikel adsorbat menuju permukaan adsorben menggunakan gaya van der waals, kemudian adsorbat melekat pada permukaan adsorben dan membentuk ikatan ion dan ikatan kovalen yang merupakan jenis ikatan kimia yang kuat (Shofa, 2012).

b. Adsorpsi Fisika

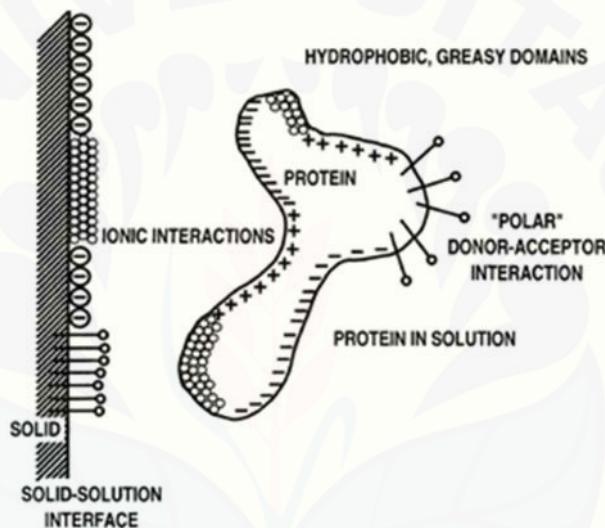
Adsorpsi fisika juga disebut fisisorpsi. Adsorpsi fisika ini terjadi diakibatkan adanya gaya *van der waals*. Gaya van der waals merupakan gaya yang sangat lemah dengan energi yang dikeluarkan saat terjadi fisisorpsi sangatlah rendah, yaitu ± 20 kJ/mol (Castellan, 1982). Gaya tarik yang terjadi diantara adsorbat dengan permukaan adsorben relatif lebih rendah daripada gaya tarik yang terjadi diantara molekul adsorbat, sehingga adsorbat akan mudah berpindah dari satu sisi ke sisi yang lain pada permukaan adsorben. Fungsi dari adsorpsi fisika ini yaitu digunakan dalam penentuan ukuran pori dan penentuan luas dari adsorben (Shofa, 2012).

2.6 Adsorpsi Protein

Protein adalah polimer dari asam amino yang bergabung menggunakan ikatan peptida (CONH). Protein dapat mengalami perubahan konformasi struktur proteinnya pada suhu tertentu. Interaksi dari protein dengan permukaan dapat merubah fungsi dari protein tersebut karena interaksi ini menyebabkan berubahnya konfremasi dari protein (Lynch dan Dawson, 2008). Adsorpsi protein ini didefinisikan sebagai peristiwa menempelnya protein pada permukaan adsorben. Partikel polimer berperan sebagai adsorben dan protein sebagai adsorbatnya. Faktor penting dalam adsorpsi protein yaitu struktur protein dan heterogenitasnya. Faktor ini dapat mempengaruhi kinetika adsorpsi dan termodinamika adsorpsi, dinamika adsorpsi multi-komponen dan reversibilitas adsorpsi (Chinn dan Slack, 2000).

Protein adalah molekul kompleks yang mana terdiri dari kopolimer rantai dari asam amino dan berinteraksi satu sama lain, sehingga membentuk struktur tiga dimensi. Asam amino ini mempengaruhi sifat kimia dan sifat fisika dari suatu protein (Stryer, 1995). Protein pada darah mengandung residu bermuatan, residu polar dan residu non polar. Pada medium polar, seperti garam buffer ataupun plasma darah, residu hidrofilik cenderung berada di sisi luar dari protein, sedangkan residu hidrofibik akan berada di sisi dalam dari protein. Hal ini yang menyebabkan terbentuknya domain yang berbeda (Gambar 2.9). Beberapa

material pada adsorpsi protein telah banyak dipelajari guna mengetahui faktor yang berperan penting pada adsorpsi protein, diantaranya yaitu interaksi elektrostatik, interaksi kimia spesifik diantara protein dan permukaan adsorben, serta interaksi hidrofobik (Dewald *et al*, 2015). Proses adsorpsi juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu pH, suhu, kekuatan ionik, sifat-sifat protein dan pemukaan, dan sifat pelarut. Adsorpsi protein merupakan proses yang sangat kompleks, dimana proses ini didorong oleh kekuatan antara protein dan pemukaan, termasuk gaya *van der waals*, gaya hidrofobik dan gaya elektrostatis (Dietschweiler dan Sander, Tanpa Tahun).



Gambar 2.9 Skema interaksi protein dengan permukaan padat
(Andrade dan Hlady, 1986).

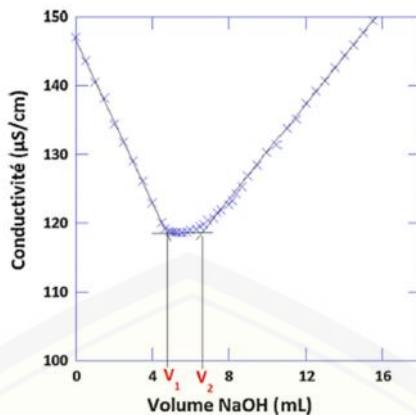
Temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar lebih dianjurkan dalam adsorpsi protein. Pada temperatur yang tinggi, protein cenderung akan mengalami denaturasi, sehingga akan terjadi perubahan konformasi pada strukturnya dan membentuk ikatan disulfida (S-S) dengan molekul lain dalam larutan, sehingga semakin tinggi temperatur pada proses adsorpsi, maka protein yang teradsorpsi semakin banyak. Molekul yang teradsorpsi ini dipengaruhi oleh keasaman atau pH larutan. Hal ini dikarenakan keasaman atau pH dari larutan erat kaitannya dengan titik isoelektrik (*pI*). Titik isoelektrik adalah titik dimana tingkat keasaman (*pH*) saat suatu makromolekul memiliki muatan nol (netral) yang diakibatkan bertambahnya atau berkurangnya muatan karena reaksi dengan

larutan asam maupun basa. Setiap makromolekul termasuk protein memiliki pI yang berbeda. Saat proses adsorpsi berlangsung, larutan adsorbat dengan pH yang lebih rendah dari pI akan memiliki kapasitas adsorpsi yang tinggi, sedangkan larutan adsorbat dengan pH yang lebih besar dari pI akan memiliki kapasitas adsorpsi yang lebih rendah (menurun) (Oshima *et al.*, 2011).

2.7 Titrasi Konduktometri

Titrasi konduktometri merupakan teknik analisis kuantitatif untuk mengetahui jumlah gugus bermuatan pada nanoselulosa. Analisis dengan titrasi konduktometri ini didasarkan pada analisis menggunakan daya hantar listrik dalam larutan. Daya hantar listrik ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu jenis ion, jarak elektroda yang digunakan, suhu, jumlah partikel bermuatan, dan kekutan tarik menarik ion. Daya hantar listrik yang dihasilkan akan bertambah besar apabila pergerakan ion dalam larutan semakin cepat (Lestari *et al.*, Tanpa Tahun).

Analisis dengan titrasi konduktometri ini dilakukan untuk mengetahui titik ekuivalen suatu titrasi (svehla, 1990). Titrasi konduktometri ini juga sama dengan titrasi asam basa dalam hal penentuan konsentrasi larutan dengan mengetahui titik ekuivalennya. Hanya saja, ada perbedaan antara titrasi konduktometri dengan titrasi asam basa, yaitu dalam hal penentuan titik ekuivalen. Pada titrasi konduktometri, penentuan titik ekuivalen menggunakan prinsip dari metode konduktometri. Pengukuran ini memerlukan dua elektroda inert, umumnya yang digunakan yaitu platinum untuk menghasilkan daya hantar listrik. Arus yang digunakan yaitu arus bolak-balik (Lestari *et al.*, Tanpa Tahun). Kurva dari titrasi konduktometri yang dihasilkan terdapat pada gambar 2.10



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

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

$$\text{Asam kuat (mmol kg}^{-1}) = \frac{Cx(V_1 - V_0)}{m} \quad (3)$$

$$\text{Asam lemah (mmol kg}^{-1}) = \frac{Cx(V_2 - V_1)}{nr} \quad (4)$$

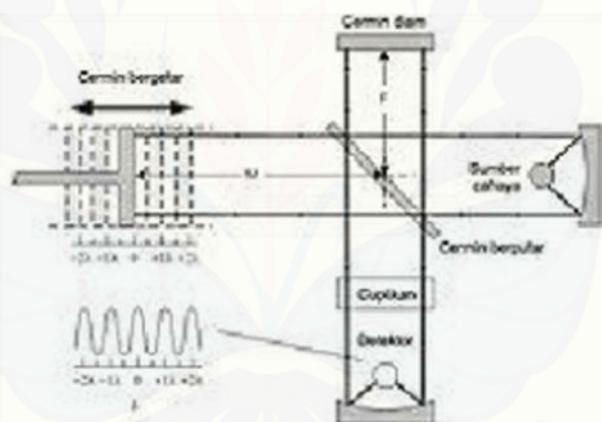
Dengan, C yaitu konsentrasi larutan NaOH (mmol L^{-1}), m yaitu berat kering sampel NC (kg), V_0 yaitu volume teori yang dibutuhkan untuk netralisasi asam (L), V_1 yaitu volume NaOH yang digunakan pada titik belokan pertama (L), V_2 merupakan volume NaOH yang digunakan pada titik belokan kedua (L) (Gambar 2.10) (Romdhane *et al*, 2015).

2.8 Spektrofotometer Fourier Transform Inframerah (FTIR)

FT-IR merupakan suatu instrumen yang menggunakan prinsip dari spektroskopi. Spektroskopi merupakan spektroskopi inframerah yang memiliki *fourier* dan bertujuan untuk deteksi dan analisis dari hasil spektrumnya (Anam, 2007). Spektroskopi inframerah ini berfungsi untuk mengidentifikasi senyawa organik dikarenakan spektrum yang dihasilkan sangat kompleks dan terdiri dari banyak puncak (Chusnul, 2011). Spektrum yang dihasilkan ini menggambarkan struktur molekul, gugus fungsi, dan bentuk ikatan dari senyawa yang diuji (Shechter, 1997). Spektroskopi inframerah juga mengamati interaksi dari suatu molekul dengan radiasi gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang antara $0,75 \mu\text{m}$ hingga $1.000 \mu\text{m}$, dan pada bilangan gelombang 13.000 cm^{-1} hingga 10 cm^{-1} (Yudhapratama *et al.*, 2010).

Metode spektroskopi inframerah meliputi teknik serapan, teknik emisi, dan teknik fluoresensi. Sebagian besar komponen medan listrik yang berperan dalam spektroskopi yaitu transmisi, pemantulan, pembiasan dan penyerapan. Adanya penyerapan suatu gelombang magnetik ini menyebabkan terjadinya peristiwa eksitasi tingkatan energi dalam suatu molekul. Eksitasi ini dapat berupa eksitasi elektronik, vibrasi dan rotasi (Yudhapratama *et al.*, 2010).

Spektroskopi FT-IR (spektroskopi transformasi fourier) pada dasarnya sama dengan spektroskopi IR. Perbedaan diantara keduanya terletak pada pengembangan pada sistem optiknya. Pada sistem optik FT-IR, digunakan sebuah radiasi LASER (Light Amplification by Simulated Emmision of Radiation). LASER ini berfungsi sebagai radiasi yang kemudian diinterferensikan dengan radasi inframerah. Hal ini ditujukan agar sinyal radiasi inframerah yang nantinya diterima detektor menjadi lebih baik dan utuh (Yudhapratama *et al.*, 2010).

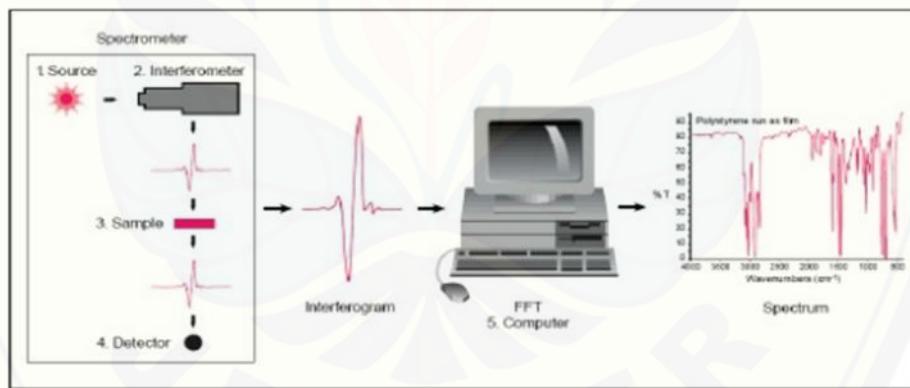


Gambar 2.11 Sistem optik Spektrofotometer FT-IR (Yudhapratama *et al.*, 2010).

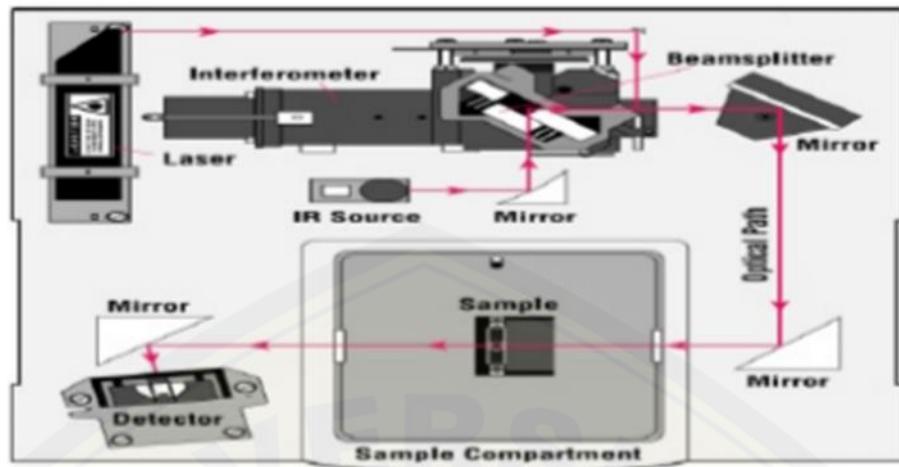
Spektroskopi FT-IR memiliki beberapa keunggulan dibandingkan spektroskopi inframerah. Keunggulan itu diantaranya yaitu spektroskopi FT-IR lebih cepat dalam hal pengukuran karena pengukuran dilakukan secara serentak atau simultan. Spektroskopi FT-IR juga memiliki mekanik optik yang lebih sederhana dan sedikitnya komponen yang bergerak (Rudhanto, 2009).

Prinsip kerja dari FT-IR yaitu sebuah sinar datang yang akan diteruskan, kemudian sinar ini akan dipantulkan melalui sebuah cermin. Sinar yang terkena cermin selanjutnya akan dipantulkan kembali menuju sebuah pemecah sinar agar

saling berinteraksi. Sinar akan terbagi menjadi dua arah tujuan, yaitu sebagian sinar akan menuju cuplikan dan sebagian yang lain akan menuju ke acuan. Sinar yang berasal dari gerakan cermin akan mengalami proses fluktuasi setelah sampai ke detektor. Sinyal akan saling menguatkan ketika jarak antara kedua cermin dengan detektor sama. Tetapi, apabila jarak antara dua cermin dengan detektor tidak sama, maka sinar tersebut akan saling melemahkan satu sama lain. Sinar yang lolos akan berupa interfogram pada detektor (Tahid, 1994). Detektor pada FT-IR dirancang khusus untuk mengukur sinar interfogram. Pada FT-IR, detektor yang digunakan yaitu *Tetra Glycerine Sulphate* (TGS) atau *Mercury Cadmium Telluride* (MCT). Detektor MCT umumnya lebih sering digunakan karena memiliki beberapa kelebihan daripada TGS, diantaranya yaitu detektor MCT memberikan respon yang lebih baik pada frekuensi modulasi tinggi. Selain itu, detektor MCT juga lebih sensitif, lebih cepat, dan tidak dipengaruhi oleh temperatur serta sangat selektif terhadap energi vibrasi yang diperoleh dari radiasi inframerah (Yudhapratama *et al.*, 2010).



Gambar 2.12 Skema pengukuran FT-IR (Yudhapratama *et al.*, 2010).



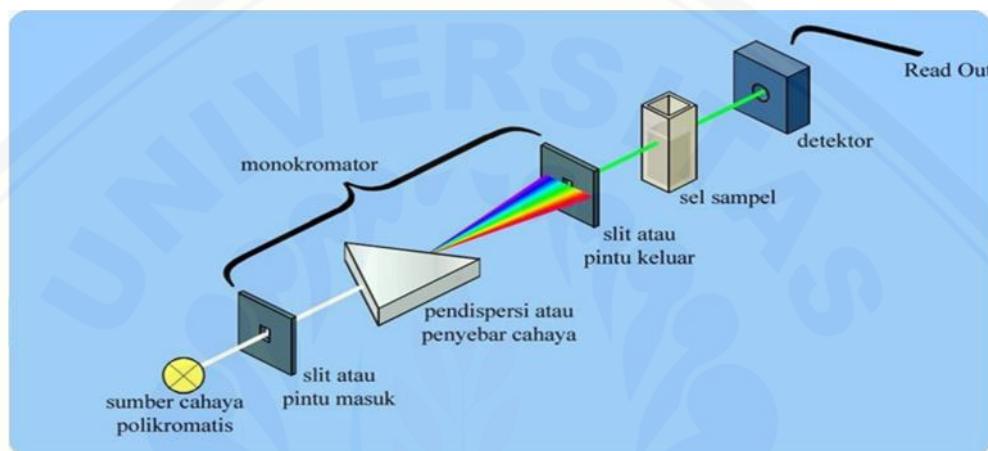
Gambar 2.12 Skema alat FT-IR (Yudhapratama *et al.*, 2010).

2.9 Spektrofotometer *Visible*

Spektrofotometri merupakan sebuah metode analisis untuk menentukan konsentrasi suatu senyawa dengan didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut dalam mengadsorpsi cahaya atau berkas sinar. Alat dengan metode spektrofotometri terdiri dari spektrofotometer dan fotometer. Spektrofotometer akan menghasilkan sinar yang dihasilkan dari panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer merupakan alat untuk mengukur intensitas cahaya yang diadsorsi atau ditransmisikan (Riyadi, 2009). Salah satu jenis dari spektrofotometer yaitu spektrofotometer *visible*. Spektrofotometer *visible* merupakan spektrofotometer yang menggunakan cahaya tampak atau visible sebagai sumber sinar atau energi utamanya. Cahaya tampak ini termasuk jenis spektrum elektromagnetik yang dapat ditangkap atau dilihat oleh mata manusia. Sinar tampak ini memiliki panjang gelombang 750-3880 nm (Bender, 1987).

Sumber cahaya pada spektrofotometer *visible* ini yaitu lampu Tungsten. Tungsten ini juga bisa diebut dengan nama Wolfram yang merupakan unsur kimia dengan simbol W dan nomor atom 74. Tungsten digunakan sebagai sumber lampu karena memiliki titik didih yang paling tinggi dibandingkan logam lain, yaitu 3422 °C. Alat ini bekerja dengan didasarkan pada hukum *Lamber-beer* (Fatimah, Tanpa Tahun).

Sampel yang dapat dianalisa menggunakan spektrofotometer *visible* merupakan sampel yang memiliki warna, sehingga untuk sampel yang tidak memiliki warna haruslah diberi reagen spesifik terlebih dahulu dan menghasilkan senyawa berwarna. Reagen yang digunakan haruslah bereaksi hanya dengan analit yang akan ditentukan konsentrasiannya (dianalisa). Selain itu, produk yang akan dihasilkan dari penambahan reagen haruslah stabil (Riyadi, 2009). Instrumen spektrofotometer secara sederhana dapat dilihat pada gambar 2.13.



Gambar 2.13 Instrumen spektrofotometer (Edwind dkk., 2013).

Fungsi dari sumber sinar polikromatis yaitu sebagai sumber cahaya dengan berbagai panjang gelombang, sedangkan fungsi monokromator yaitu sebagai penyeleksi panjang gelombang dengan mengubah cahaya dari sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Detektor berfungsi untuk menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan diubah menjadi arus listrik (Edwind dkk., 2013).

Cahaya yang diserap dinyatakan sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang dihamburkan dihitung sebagai transmitansi (T). Berdasarkan hukum Lambert-Beer, persamaan yang digunakan untuk menentukan banyaknya cahaya yang dihamburkan yaitu:

$$T = \frac{I_t}{I_o} \text{ atau } \%T = \frac{I_t}{I_o} \times 100\% \quad (5)$$

Dan penentuan absorbansi dinyatakan dalam pesamaan berikut:

$$A = -\log T = -\log \frac{I_t}{I_o} \quad (6)$$

Dimana, I_0 adalah intensitas cahaya datang dan I_t merupakan intensitas cahaya yang telah melewati sampel. Persamaan yang diturunkan dari hukum Beer yaitu:

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ atau } A = -\log_{10} \frac{I_t}{I_0} \quad (7)$$

(Edwind dkk., 2013).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian telah dilakukan pada bulan Februari sampai Mei di Laboratorium Kimia Organik, Kimia Fisik dan Laboratorium *Center for Development of Advanced Science and Technology* (C-DAST) Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

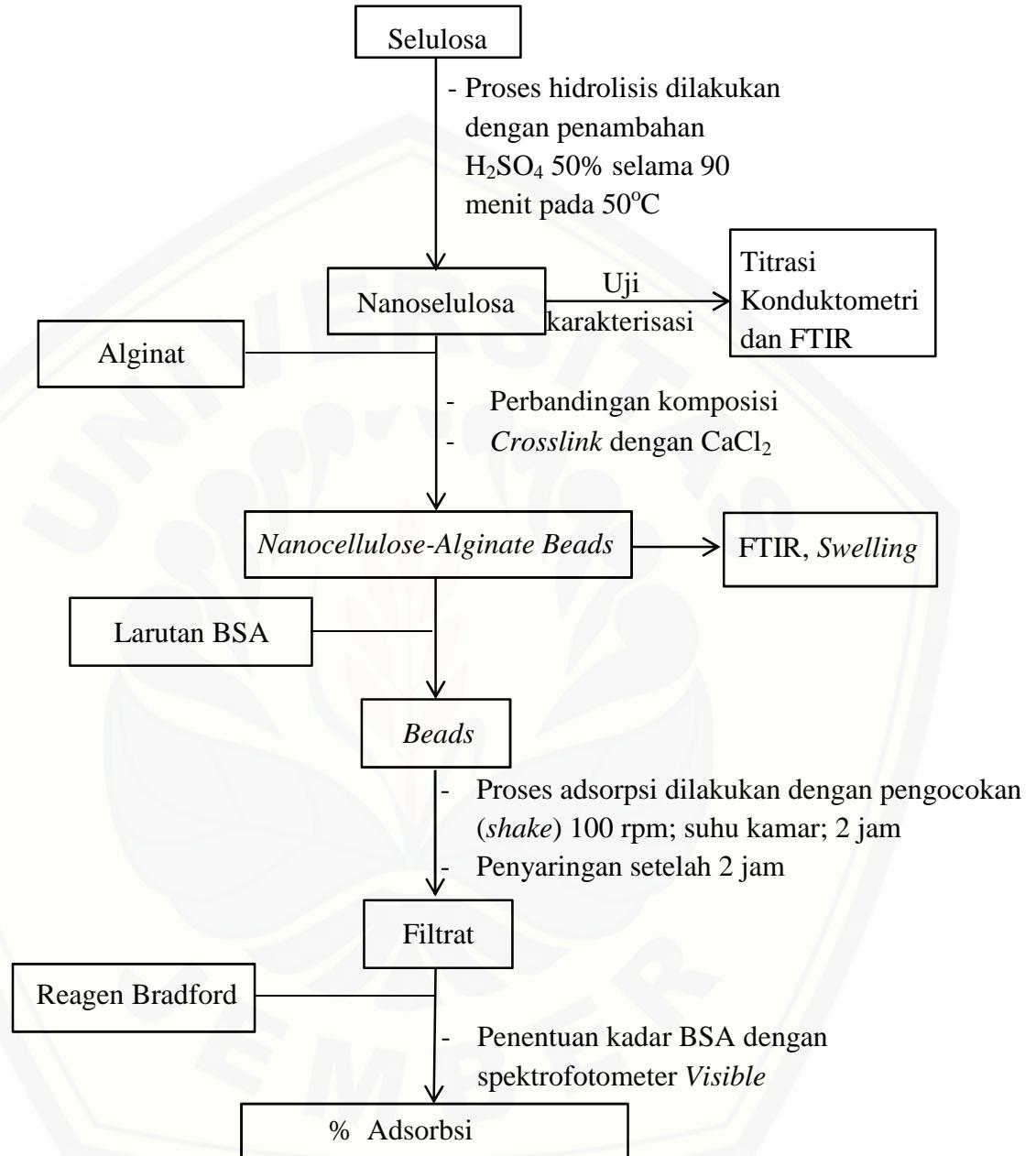
Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi, kaca arloji, tabung reaksi, gelas kimia, erlenmeyer, labu ukur, buret, pipet volume, pipet Mohr, dan pipet tetes, labu leher tiga, kondensor refluks, selang, termometer, alat suntik 10 mL, kertas saring, *ball* pipet, mikropipet, bak alat, botol semprot, tisu, statif, neraca analitik, konduktometer, sentrifugator, *Magnetic Stirrer*, oven, seperangkat alat FT-IR, seperangkat alat, dan seperangkat alat spektrofotometer *visible*.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini meliputi: mikrokristal selulosa (*Aldrich*) dan sodium-alginat (*Aldrich*). Sedangkan bahan kimia yang digunakan adalah H₂SO₄ 98% (pa. *merck*), CaCl₂ 2%, akuades, NaCl, HCl 98% (*merck*), NaOH (*merck*), asam oksalat (*merck*), indikator PP, *Bovine Serum Albumin* (BSA), aseton, etanol, heksana, *Comasie brilliant blue*, etanol 95%, dan asam fosfat 85%.

3.3 Diagram Alir

Diagram alir penelitian yaitu:



Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Beads dan Penentuan % Adsorpsinya

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pembuatan Nanoselulosa

Pembuatan nanoselulosa yang dilakukan menggunakan metode hidrolisis asam sulfat H_2SO_4 50% v/v (Pratama *et al.*, 2016).

1. Pembuatan Larutan H_2SO_4 50%

Larutan asam sulfat 50%(v/v) dibuat dengan mengambil larutan H_2SO_4 98% sebanyak 51 mL menggunakan gelas ukur 100 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Larutan asam sulfat (98%) yang telah dimasukkan ke dalam labu ukur kemudian diencerkan dengan akuades hingga tanda batas.

2. Hidrolisis Selulosa

Larutan asam sulfat 50% yang telah siap kemudian diambil sebanyak 80 mL dan dimasukkan ke dalam labu leher tiga, diaduk hingga homogen pada suhu 50°C. Setelah itu ditambahkan 8 gram serbuk selulosa (mikrokristal selulosa) sambil diaduk selama 90 menit. Hasil hidrolisis kemudian ditambah akuades sebanyak 400 mL. Selanjutnya campuran disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit pada suhu 25°C untuk memisahkan dari fasa cairnya. Bagian supernatan (fasa cair) di ukur menggunakan pH meter untuk mengetahui pH dari supernatan, sedangkan endapannya ditambahkan akuades kembali dan disentrifugasi kemudian akan diperoleh supernatan. Supernatan yang diperoleh kemudian di ukur kembali pH nya menggunakan pH meter. Proses pencucian ini diulangi hingga pH supernatan mendekati netral. Setelah proses pencucian, suspensi nanoselulosa di ultrasonikasi selama 5 menit menggunakan sonikator (Tang, 2013). Sonikator yang digunakan memiliki frekuensi 60 Hz dan daya sebesar 250 Watt.

Selulosa terhidrolisis (StH) kering diperoleh dengan mencuci suspensi selulosa terhidrolisis terlebih dahulu menggunakan etanol, aseton dan heksana secara berurutan. Setiap pencucian dengan pelarut, pemisahan dilakukan dengan proses sentrifugasi. Selanjutnya dikeringkan pada suhu 50°C semalam, kemudian didinginkan hingga suhu kamar dan berat konstan (Ioelovich, 2012).

3.4.2 Titrasi Konduktometri

Titrasi konduktometri digunakan untuk menentukan jumlah gugus bermuatan ($-\text{OSO}_3^{2-}$). Sebelum titrasi, ada beberapa tahap yang perlu dilakukan, antara lain yaitu preparasi bahan meliputi NaCl 0,001 M, larutan HCl 0,05 M larutan NaOH 0,01 M dan asam oksalat 0,05 M. Selanjutnya yaitu standarisasi NaOH menggunakan asam oksalat

1. Preparasi bahan

➤ Pembuatan larutan NaOH 0,01 M

NaOH ditimbang sebanyak 0,2 gram kemudian dilarutkan dengan sedikit akuades di dalam gelas beker. Selanjutnya larutan NaOH dimasukkan kedalam labu ukur 500 mL dan di tambahkan akuades hingga tanda batas.

➤ Pembuatan Larutan NaCl 0,001 M

Kristal NaCl diambil sebanyak 0,0292 g dan dilarutkan dengan akuades pada gelas kimia hingga larut sempurna. Kemudian larutan diencerkan dalam akuades 500 mL hingga tanda batas, dan diperoleh larutan NaCl dengan konsentrasi 0,001 M.

➤ Pembuatan HCl 0,05 M

Larutan HCl 0,05 M dibuat dengan mengambil 0,2 mL HCl 37% menggunakan pipet volume 1 mL. Selanjutnya diencerkan dalam labu ukur 100 mL dengan akuades hingga tanda batas.

➤ Pembuatan Asam Oksalat 0,01 M

Asam Oksalat 0,01 M dibuat dengan menimbang 0,063 gram kristal asam oksalat. Selanjutnya dimasukkan kedalam gelas kimia dan dilarutkan dengan sedikit akuades hingga larut sempurna. larutan asam oksalat yang telah larut selanjutnya dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dengan akuades hingga tanda batas.

2. Standarisasi Larutan NaOH

Larutan NaOH 0,01 M dimasukkan ke dalam buret 50 mL, kemudian dimasukkan asam oksalat 0,01 M sebanyak 10 mL ke dalam erlenmeyer. Setelah itu ditambahkan 3 tetes indikator *phenolphthalein* ke dalam erlenmeyer yang berisi larutan asam oksalat. Larutan asam oksalat kemudian dititrasi dengan NaOH 0,01

M sedikit demi sedikit hingga titrat mengalami perubahan warna menjadi merah muda. Standarisasi NaOH dilakukan dengan tiga kali pengulangan (*triplo*).

3. Titrasi Konduktometri Selulosa Terhidrolisis

Selulosa terhidrolisis sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam gelas beker dan ditambahkan 0,001 M Larutan NaCl sebanyak 50 mL. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL dan ditambahkan larutan NaCl 0,001 M hingga tanda batas. Larutan yang dihasilkan kemudian dipindahkan ke dalam labu leher tiga 1 L kemudian ditambahkan larutan HCl 0,05 M sebanyak 5 mL. Kemudian larutan diukur konduktivitasnya menggunakan konduktometer (*Thermo Scientific Orion bintang 4*), sambil diaduk dengan *stirrer* magnetik. Larutan kemudian dititrasi dengan NaOH 0,01 M yang sudah distandarisasi dan digunakan untuk semua percobaan. Penambahan NaOH dilakukan setiap 1 menit sebanyak 0,5 mL. Proses titrasi dilakukan dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dan dengan dialiri gas nitrogen pada suhu kamar (Romdhane *et al.*, 2014). Dari kurva (gambar 2.12), dengan pertimbangan jumlah tambahan HCl (5 mL) pada awal tahapan titrasi, konsentrasi gugus bermuatan dapat ditentukan dengan persamaan berikut:

$$-OSO_3^- = \frac{C X(V_1 - V_0)}{m} \quad (8)$$

Dengan, C merupakan konsentrasi larutan NaOH (mmol/L), m merupakan berat kering sampel selulosa terhidrolisis (StH) (kg), V_0 merupakan volume teoritis NaOH yang dibutuhkan untuk proses netralisasi asam bebas yang ditambahkan (L), V_1 merupakan volume larutan NaOH yang dikonsumsi pada titik persimpangan pertama (L) (Romdhane *et al.*, 2015).

3.4.3 Pembuatan *Beads* Selulosa Terhidrolisis-Alginat (StHA)

Beads StHA dibuat dengan membuat larutan StHA dengan total konsentrasi tiap sampel StHA yaitu 40 mg/mL. Variasi komposisi *beads* StHA yaitu, 400 mg natrium alginat (StHA 0), 360 mg natrium alginat dan 40 mg selulosa terhidrolisis (StHA 40), 320 mg natrium alginat dan 80 mg selulosa terhidrolisis (StHA 80), serta 200 mg natrium alginat dan 200 mg selulosa terhidrolisis (StHA 200) yang dilarutkan dalam 10 mL akuades. Campuran kemudian diaduk menggunakan *stirrer* magnetik hingga homogen. Campuran

yang terbentuk selanjutnya dimasukkan ke dalam jarum suntik 10 mL. Campuran kemudian dicetak dengan meneteskan campuran dari jarum suntik ke dalam larutan CaCl_2 2% (Park *et al.*, 2014). *Beads* yang terbentuk didiamkan selama 10 menit. Selanjutnya dikeringkan pada suhu kamar selama 24 jam (Liu *et al.*, 2006).

Tabel pembuatan matriks *beads* StHA dapat dilihat pada tabel 3.1

Tabel 3.1 Komposisi Pembuatan *Beads* StHA

Sampel	Nanoselulosa (mg)	Alginat (mg)	Akuades (mL)	Total (mg/mL)
StHA0	0	400	10	
StHA40	40	360	10	
StHA80	80	320	10	40
StHA200	200	200	10	

a. Pembuatan CaCl_2 2%

Pembuatan CaCl_2 2% (w/v) dilakukan dengan melarutkan bubuk CaCl_2 sebanyak 1,85 gram dan dimasukkan ke dalam gelas beker. Bubuk CaCl_2 kemudian di larutkan dengan sedikit akuades, dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan akuades hingga tanda batas.

3.4.4 Karakterisasi *Beads* StHA

a. Analisis Gugus Fungsi menggunakan FTIR

Karakterisasi gugus fungsi selulosa terhidrolisis dan *beads* selulosa terhidrolisis-alginat dilakukan menggunakan FTIR atau *Fourrier Transform Infra Red*. Selulosa terhidrolisis dan *beads* selulosa terhidrolisis-alginat ini akan dianalisis pada panjang gelombang 400-4000 cm^{-1} .

b. *Swelling*

Swelling digunakan untuk menentukan kapasitas air yang dapat diserap oleh *beads*. Uji swelling dilakukan menggunakan buffer pH 5, 7, dan 9. *Beads* diambil $\pm 0,1$ gram kemudian dimasukkan ke dalam buffer pH 5, 7, dan 9 selama

24 jam pada suhu ruang. Persen swelling ditentukan menggunakan persamaan berikut:

$$SW (\%) = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100\% \quad (9)$$

Dimana, W_1 merupakan berat *beads* kering dan W_2 merupakan berat *beads* basah (Ibrahim *et al.*, 2014).

3.4.5 Adsorbsi *Bovine Serum Albumin* (BSA)

Adsorpsi BSA dianalisis menggunakan spektrofotometer *visible*. Terdapat beberapa tahapan dalam analisis ini, yaitu pembuatan reagen bradford, pembuatan larutan standar, *scanning* panjang gelombang, pembuatan kurva kalibrasi dan adsorpsi BSA pada selulosa terhidrolisis-algnat *beads* serta alginat *beads* yang digunakan sebagai kontrol dengan variasi selulosa terhidrolisis-alginat.

a. Pembuatan Reagen Bradford

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

b. Pembuatan Larutan Standar BSA

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

1. Pembuatan Larutan induk BSA 1000 mg/mL

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 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.

3. 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.

4. 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.

5. 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.

6. 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.

3. *Scanning Panjang Gelombang*

Scanning 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/mL diambil sebanyak 100 μ L dan dimasukkan ke dalam kuvet, selanjutnya ditambahkan reagen Bradford 2 mL, dan diukur nilai absorbansinya dengan melakukan *scanning* panjang gelombang pada range 500 hingga 650 nm, sehingga diperoleh panjang gelombang maksimum.

4. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Sebanyak 1mL larutan standar BSA 100; 200; 300; 400; dan 500 mg/L diambil sebanyak 100 μ L dan dimasukkan ke dalam kuvet, selanjutnya ditambahkan 2 mL reagen Bradford dan 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.

3.4.6 Adsorbsi BSA pada *Beads* Selulosa Terhidrolisis-Alginat

Sebanyak ± 1 gram *beads* StHA disiapkan dalam erlenmeyer dan ditambahkan 20 mL larutan BSA 400 mg/L (pH 3), kemudian ditambahkan ke dalam erlenmeyer yang telah disiapkan sebelumnya, dicampur dengan cara dikocok pada kecepatan 150 rpm pada suhu ruang. Kesetimbangan adsorpsi diperoleh setelah 2 jam, kemudian *beads* disaring (Anirudhan dan Rejeena, 2013). Sebanyak 1 μ L filtrat diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet kemudian ditambahkan reagen Bradford sebanyak 2 mL dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh dari percobaan *scanning* panjang gelombang (Purwanto, 2014).

Besarnya adsorbansi kemudian dimasukkan ke dalam persamaan linier dari kurva kalibrasi, sehingga akan diperoleh konsentrasi BSA setelah diadsorbsi oleh *beads* nanoselulosa-alginat. Persentase adsorbsi (% Adsorbsi) ditentukan menggunakan persamaan berikut.

$$\% \text{ Adsorbsi} = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100\% \quad (10)$$

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

3.4.6 Penentuan Persen Adsorpsi dengan Kekuatan Ionik

Sebanyak ± 1 g *beads* Selulosa terhidrolisis-alginat yang telah divariasi komposisinya ditambahkan 20 mL larutan BSA 400 mg/L yang telah ditambahkan NaCl 0,06 M sebagai agen kekuatan ionik. Selanjutnya campuran dikocok dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang. Kesetimbangan akan diperoleh setelah 2 jam kemudian *beads* dapat disaring (Anirudhan dan Rejeena, 2013). Sebanyak 1 μ L filtrat diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet kemudian ditambahkan reagen

Bradford sebanyak 2 mL. Campuran kemudian diukur adsorbansinya menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh dari percobaan *scanning* panjang gelombang (Purwanto, 2014).

Besarnya adsorbansi kemudian dimasukkan ke dalam persamaan linier dari kurva kalibrasi, sehingga akan diperoleh konsentrasi BSA setelah diadsorbsi oleh *beads* StHA. Persentase adsorbsi (% Adsorbsi) ditentukan menggunakan persamaan berikut.

$$\% \text{ Adsorbsi} = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100\% \quad (11)$$

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

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu:

1. Karakteristik fisik dari *beads* diketahui dari bentuk fisik *beads* yang semakin mengecil seiring dengan kenaikan penambahan StH. Selain itu sifat fisik lainnya yaitu *swelling* menunjukkan bahwa semakin sedikit komposisi alginat, maka *swelling* akan lebih cepat terjadi, sehingga penurunan massa *beads* juga akan lebih cepat terjadi (StHA 0 > StHA 40 > StHA 80 > StHA 200). Karakteristik kimia *beads*, diketahui dari hasil titrasi konduktometri yang digunakan untuk mengetahui banyaknya gugus sulfat hasil dari reaksi sulfatasi. Hasil FTIR juga menunjukkan karakteristik kimia dari *beads*.
2. Variasi komposisi selulosa terhidrolisis terhadap adsorpsi protein pada *beads* alginat, yaitu semakin banyak komposisi selulosa terhidrolisis, maka persen adsorpsi semakin besar. Sehingga semakin banyak selulosa terhidrolisis pada *beads* alginat, protein yang teradsorp juga semakin banyak (StHA 200 > StHA 80 > StHA 40 > StHA 0).

5.2 Saran

Bentuk *beads* StHA dengan penambahan selulosa terhidrolisis yang dihasilkan dalam penelitian ini tidak membentuk bulatan (*spherical*), tidak seperti pada *beads* StHA 0 (tanpa penambahan alginat) yang memiliki bentuk bulat. Penelitian lebih lanjut perlu diarahkan untuk memperbaiki bentuk *beads* StHA, khususnya *beads* StHA 80 dan StHA 200, melalui penambahan bahan aditif atau jenis pengikat silang yang lain. Penelitian ini juga perlu diarahkan pada terbentuknya selulosa terhidrolisis melalui optimasi teknik sonikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abitbol, T., Kloser, E., Gray, D. 2013. Estimation of the surface sulfur content of cellulose nanocrystal prepared by sulfuric acid hydrolysis. *Springer Scince. Cellulose.* Vol 20 (2): 785-794.
- Anam, Choirul, Sirojudin, dan K. Sofjan Firdausi. 2007. Analisis Gugus Fungsi Pada Sampel Uji, Bensin dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FT-IR. *Berkala Fisika.* 10(1): 79-85.
- Andrade, J. D. dan Hlady, V. 1986. Protein Adsorption and Materials Biocompatibility: A Tutorial Review and Suggested Hypotheses. In *Advances in Polymer Science. Biopolymers/Non-Exclusion HPLC.* Berlin: Springer-Verlag. 79(1): 1-63.
- Anirudhan, T. S. dan Rejeena, S.R. 2012. Adsorption and Hydrolytic Activity of Trypsin on a Carboxylated-Functionalized Cation Exchanger Prepared from Nanocellulose. *Journal of Colloid and Interface Science.* 381 (1): 125-136.
- Anirudhan, T.S dan Rejeena, S.R. 2013. Selective Adsorption of Hemoglobin Using Polimer-grafted-magnetite Nanocellulose Composite. *Carbohydrate Polymers.* 93(2): 518-527.
- Azeredo, Mattoso, Wood, Williams, Bustillos, dan McHugh. 2009. Nanocomposite Edible Film from Mango Puree Reinforced with Cellulose Nanofibers. *Journal of Food Science.* 74 (5):31-35.
- Bajpai, S.K., dan Sharma Shubhra. 2004. Investigaion of Swelling/Degradation Behaviour of Alginate Beads Crosslinked with Ca^{2+} and Ba^{2+} ions. *Reactive & Functional Polymers.* 59(2): 129-140.
- Bender, A.E. 1982. *Dictionary Of Nutrition And Food Technology.* 6 th Edition. London : Butterworths.
- Bender, G. T. 1987. *Principles of Chemical Instrumentation.* Philadelphia. W.B Saunders Company.
- Boldt, J. 2010. Use of Albumin. *British Journal of Anaesthesia.* 104(3): 276-84.
- Bradford, M. Marion. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry.* 72:248-254.

- Brito B.S.L, Pereira F.V., Putaux J.L., Jean B. 2012. Preparation, morphology and structure of cellulose nanocrystals from bamboo fibers. *Cellulose.* 19(5): 1527–1536.
- Castellan, GW. 1982. Physical Chemistry. *Third Edition.* New York: General Graphic Servies.
- Castro, Guillermo R., Jingsong Chen, Bruce Panilaitis, and David L. Kaplan. 2009. Emulsan-Alginate Beads for Protein Adsorption. *Journals of Biomaterials Science.* 411-426.
- Chinn, J.A and Slack, S.M. 2000. Biomaterials: Protein-Surface Interaction. *The Biomedical Engineering Handbook: Second Edition.* Boca Raton: CRC Press LLC.
- Chusnul. 2011. Spektroskopi IR. [serial online]. www.scribd.com. Diakses Pada Tanggal 23 September 2016.
- Dewald, Isakin, Schubert, Kraus, and 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., and Smidsrod, O. 1998. Na- and K-alginate; Efekt on Ca^{2+} -gelation. *Carbohydrate Polymers.* 35(1-2), 1-6.
- Edwind, Ika reskia, dan Jeni Rustan. 2013. Spektrofotometer UV-Vis. *Laporan Kimia Farmasi.* Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Effendi, Rosyid, Nandiyanto, dan Mudzakir, A. 2015. Review: Sintesis Nanoselulosa. *Jurnal Integrasi Proses.* 5 (2): 61-74.
- Fatimah, Nur. Tanpa Tahun. *Uji Kuantitatif DNA.* PBT Ahli Pertama.
- Ginting, Deselev Ferdinand. 2008. Pengujian Alat Pendingin sistem Adsopsi Dua Adsorber dengan Menggunakan Metanol 1000 mL sebagai Refrigeran. *Skripsi.* Depok: Universitas Indonesia.
- Goh, Cheong Hian, Paul Wan Sia Heng, and Lai Wah Chan. 2012. Alginates as A Useful Natural Polymer for Microencapsulation and Therapeutic Applications. *Carbohydrate Polymers.* 88(1): 1-12.
- Huang B. X., and Kim Hae-Yong. 2004. Probing Three-Dimensional Structure of Bovine Serum Albumin by Chemical Cross-Linking and Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* Hal 15. 1237-1247.

- Ibrahim,Sayeda M., and 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.
- Ibrahim, Sayeda M., Faten I., dan Amal A. El-Naggar. 2014. Preparation and Characterization of Crosslinked Alginate-CMC Beadsfor Controled Release of Nitrate Salt. *J. Radioanal Nucl Chem.* 299(2):1531-1537.
- Ioelovich, M. 2012. Optimal Conditions for Isolation of Nanocrystalline Cellulose Particles. *Nanoscience and Nanotechnology.* 2(2): 9-13.
- Jati, Parmadi Waktya. 2006. Pengaruh Waktu Hidrolisis dan Konsentrasi HCl Terhadap Nilai Dextrose Equivalent (De) dan Karakterisasi Mutu Pati Termodifikasi dari Pati Tapioka Dengan Metode Hidrolisis Asam. *Skripsi.* Bogor: Institut Pertaian Bogor.
- Klemm, D., Philipp, B., Heinze, T., Heinze, U., dan Wagenknecht, W. 1998. Comprehensive Cellulose Chemistry. Volume 2: Functionalization of Cellulose. *Weinheim : Wiley-VCH Verlag GmbH.* Hal. 2-3.
- Klemm, Kramer, Moritz, dan Lindstrom. 2011. Nanocellulose: A New Family of Nature-Based Materials. *Angewandte Chemie International Edition.* 50(24): 5438-5466.
- Lee, H. V., S. B. A. Hamid, S. K. Zain. 2014. Conversion of Lignocellulosic Biomass to Nanocellulose : Structure and Chemical Process. Review Article. *Scientific World Journal 2014.* Vol 27 (2014): 631013.
- Lestari, Felina, Awaliah, dan Arif. (Tanpa Tahun). *Potensiometri dan Konduktometri.* Bogor: IPB.
- Lim F, and Sun AM. 1980. Microncapsulated Islets as Bioartificial Endocrine Pancreas. *Science.* 210(1): 908-910.
- Lin Ning, Alain dufresne, and Cecile Bruzzese. 2012. TEMPO-Oxidized Nanocellulose Participating as Crosslinking Aid for Alginate-Based Sponges. *ACS Applied Materials and Interfaces.* 4 (1) : 4948-4959.
- Liu Zonghua, Yanpeng Jiao, and Ziyong Zhang. 2006. Calsium-Carboxymethyl Chitosan Hydrogel Beads for Protein Drug Delivery System. *Wiley InterScience.*
- Lynch, I and Dawson, K.A. 2008. *Protein-nanoparticle Adsorption.* ISSN: 17480132. 3(1): 1-2.

- Mahdavinia Gholam Reza, Sedigheh Mousanezhad, Hamed Hosseinzadeh, Farshad Darvishi, and Mohammad Sabzi. 2016. Magnetic Hydrogel Beads based on PVA/Sodium Alginate/Laponite RD and Studying Their BSA Adsorption. *Carbohydrate Polymers*.
- Mandal, A. And C. Debrabrat. 2011. Isolation of Nanocellulose from Waste Sugarcane Bagasse (SCB) and its Characterization. Department of Polymer Science and Technology, Calcutta University. *Carbohydrate Polymers*. Vol 86: 1291– 1299.
- Nakauma Makoto, Takahiro Funami, Yapeng Fang, Katsuyo Nishinari, Kurt I. Draget, Glyn O. Phillips. 2016. Calcium Binding and Calcium-Induced Gelation of Sodium Alginate Modified by Low Molecular-Weight Polyuronate. *Food Hydrocolloids*. 55 : 65-76.
- Oke, I. 2010. Nanoscience in Nature: Cellulose Nanocrystals. *Studies by Undergraduate Researchers at Guelph*. 3 (2): 77-80.
- Oscik, J and Cooper, IL. 1994. *Adsorption*. Ellis Horwood Publisher, Ltd.Chichester.
- Oshima, Taguchi, Ohe, and Baba. 2011. Phosphorylated Bacterial Cellulose for Adsorption of Protein. *Carbohydrate Polymers*. 83 (2): 953-958.
- Özgün, S. 2013. *Nanoemulsions in Cosmetics*. Eski ehir: Anadolu University.
- Park Minsung, Dajung Lee, dan Jinho Hyun. 2014. Nanocellulose-Alginate Hydrogel for Cell Encapsulation. *Carbohydrate Polymers*. CARP-9115: 6.
- Peng, B., N. Dhar, and K.C. Tam. 2011. Chemistry and Applications of Nanocrystalline Cellulose and Its Derivatives: A Nanotechnology Perspective. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*. Vol 89 (5): 1191-1205.
- Peng, Y.C., Gardner, D.J., Han, Y. 2011. Drying Cellulose Nanofibrils: In Search of A Suitable Method[J]. *Cellulose*. 19: 91-102.
- Pratama, Wedi A. 2016. Preparasi dan Karakterisasi Nanoselulosa Secara Hidroisis dengan Variasi Konsentrasi Asam. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember.
- Purwanto, M. G. M. 2014. Perbandingan Analisa Kadar Protein Terlarut dengan Berbagai Metode Spektoskopi UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*. 7 (2): 64-71.

- Rahmawati, E. 2006. Adsorpsi Senyawa Residu Klorin pada Karbon Aktif Termodifikasi Zing Klorida. Tidak Diterbitkan. *Skripsi*. Bogor: IPB.
- Rais Ridwan I. 2014. Ekstraksi Andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness Menggunakan Ekstraktor Soxhlet. *Pharmaciana*. 4 (1) : 85-92.
- Riyadi, W. 2009. Macam Spektrofotometri dan Perbedaannya (Vis, UV dan IR). [serial online]. <http://wahyuriyado.blogspot.com>. Diakses Pada Tanggal 23 September 2016.
- Romdhane, Aurousseau, Guilet, Mauret, dan Evelyne. 2015. Effect of pH and Ionic Strength on The Electrical Charge and Particle Size Distribution of Starch Nanocrystal Suspensions. *Starch-Stärke*. 67 (3-4): 319-327.
- Rudhanto, Dony S. 2009. Pengkondisian Sinyal Pada Rancang Bangun Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared). *Undergraduated Thesis*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Shechter, E. 1997. In: Masson (Ed.), *Biochimie et Biophysique des Membranes. Aspects Structuraux et Fonctionnels*. Paris.
- Shofa. 2012. *Pembuatan Karbon Aktif Berbahan Baku Ampas Tebu dengan Aktivasi Kalium Hidroksida*. Tidak Diterbitkan. Depok: UI.
- Stryer L. 1995. *Biochemistry*, 4th ed. New York: W.H. Freeman.
- Suhardjo dan Clara, M.K. 1992. *Prinsip-Prinsip Ilmu Gizi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sukardjo. 1990. *Kimia Fisika*. Yogyakarta: Rineka Cipta.
- Svehla, G. 1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimakro*. Jakarta: PT Kalman Media Pustaka.
- Tahid. 1994. *Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier*. Bandung: WartaKimia Analitis. No II Th VIII.
- Tandy, E., Hasibuan, I.F., dan Harahap, H. 2012. Kemampuan Adsorben Limbah Lateks Karet Alam Terhadap Minyak Pelumas Dalam Air. *Jurnal Teknik Kimia USU*. Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik. USU.
- Tang, L., Huang, B., Lu, Q., Wang, S., Ou, W., Lin, W., Chen, X. 2013. Ultrasonication-assisted manufacture of cellulose nanocrystals esterified with acetic acid. *Bioresource Technology*. Vol 127 (1): 100–105.

- Taufan, Andi. 2008. *Pengujian Alat Pendingin Adsorpsi Dua Adsorber dengan Menggunakan Ethanol 250 mL sebagai Refrigeran*. Skripsi. Depok: Universitas Indonesia.
- Tsai, Fang-Chang, Ning Ma, dan Lung-Chang Tsai. 2013. Adsorption of Methylene Blue on Multi-Walled Carbon Nanotubes in Sodium Alginate Gel Beads. *License Intech*. 20(1): 467-478.
- Uhing, MD. 2004. *The Albumin Controversy*. Cliniks in Perinatology. 31(1): 475-488.
- Winarno, FG. 1991. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Yudhapratama Ersan, Nurkomarasari Risa, dan Fauzi Redi A. 2010. Prinsip FTIR. [serial online]. <http://www.scribd.com/mobile/dob/77752515/PRINSIP-FTIR>. Diakses Pada Tanggal 25 September 2016.
- Zhou, Y. M., Fu S. Y, Zheng L. M., Zhan H. Y. 2012. Effect of Nanocellulose Isolation Techniques on The Formation of Reinforced Poly(vinyl Alcohol) Nanocomposites Film. *Expresspolymlett*. 10(6): 794-804.
- Zulfaturrohmaniah. 2016. Modifikasi dan Karakterisasi Selulosa dengan Hidrolisis Asam Sebagai Adsorben Bovine Serum Albumin. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember.

LAMPIRAN

3.1 PEMBUATAN LARUTAN

3.1.1 Pembuatan Larutan H₂SO₄

Pembuatan Larutan H₂SO₄ 50 %

Pembuatan larutan Larutan H₂SO₄ 50 % yaitu melakukan pengenceran H₂SO₄ 98%, dengan volume H₂SO₄ 98% yang diambil 51 mL :

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

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

$$M_2 = 50\%$$

3.1.2 Pembuatan Larutan NaOH 0,01 M

Diketahui : Mr NaOH = 40 g/mol

$$M = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{V}$$

$$0,01 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{40 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{500 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa} = 0,2 \text{ gram}$$

3.1.3 Pembuatan Larutan NaCl 0,001 M

Diketahui : Mr NaCl ≈ 58,3 g/mol

$$M = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{V}$$

$$0,001 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{58,3 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{500 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa} = 0,02915 \text{ gram}$$

3.1.4 Pembuatan Larutan HCl 0,05 M

Diketahui : $\rho_{HCl} = 1,19 \text{ g/mL}$

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

Konsentrasi HCl 37%

$$M = \frac{\% \times \rho \times 10}{Mr}$$

$$M = \frac{37 \times 1,19 \text{ g/mL} \times 10}{36,5 \text{ g/mol}}$$

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

Selanjutnya dilakukan pengenceran dari larutan HCl 37% yang diambil sebanyak 0,2 mL :

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$12,06 \text{ M} \cdot V_1 = 0,05 \text{ M} \cdot 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,207 \text{ mL}$$

3.1.5 Pembuatan Larutan Asam Oksalat ($C_2H_2O_4$) 0,01 M

Diketahui : Mr $C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O = 126 \text{ g/mol}$

$$M = \frac{\text{massa}}{Mr} \times \frac{1000 \text{ mL}}{V}$$

$$0,01 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{126 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{50 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa} = 0,063 \text{ gram}$$

Larutan asam oksalat 0,01 M dibuat dengan mengambil 0,063 gram kristal asam oksalat yang dilarutkan dalam akuades 50 mL

3.1.6 Standarisasi Larutan NaOH 0,01 M dengan $H_2C_2O_4$ 0,01 M

$$NaOH \text{ 0,01 M} = 0,01 \text{ N}$$

$$H_2C_2O_4 \text{ 0,01 M} = 0,02 \text{ N}$$

➤ Pengulangan 1, volume NaOH yang dibutuhkan yaitu 20,2 mL

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$N_1 \cdot 20,2 \text{ mL} = 0,02 \text{ N} \cdot 10$$

$$N_1 = 0,009 \text{ N} = 0,009 \text{ M}$$

- Pengulangan 2, volume NaOH yang dibutuhkan yaitu 19,1 mL

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$N_1 \cdot 19,1 \text{ mL} = 0,02 \text{ N} \cdot 10$$

$$N_1 = 0,01 \text{ N} = 0,01 \text{ M}$$

- Pengulangan 3, volume NaOH yang dibutuhkan yaitu 19,4 mL

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$N_1 \cdot 19,4 \text{ mL} = 0,02 \text{ N} \cdot 10$$

$$N_1 = 0,01 \text{ N} = 0,01 \text{ M}$$

Konsentrasi NaOH rata-rata yaitu:

$$\sum NaOH = \frac{0,009 \text{ M} + 0,01 \text{ M} + 0,01 \text{ M}}{3} = 0,0096 \text{ M}$$

3.1.7 Pembuatan Larutan CaCl₂ 2%

Diketahui : Mr CaCl₂.2H₂O = 147,02 g/mol

$$M = \frac{\% \times \rho \times 10}{Mr}$$

$$M = \frac{2 \times 1,85 \text{ g/mL} \times 10}{147,02 \text{ g/mol}}$$

$$M = 0,25 \text{ M}$$

$$\text{Mol} = M \times V$$

$$= 0,25 \text{ mol/L} \times 0,05 \text{ L}$$

$$= 0,01258 \text{ mol}$$

$$\text{Massa} = \text{mol} \times \text{Mr} = 0,01258 \text{ mol} \times 147,02 \text{ g/mol}$$

$$= 1,85 \text{ gram}$$

Jadi, larutan CaCl₂ 2% dibuat dengan mengambil serbuk CaCl₂.2H₂O sebanyak 1,85 gram kemudian dilarutkan dalam 50 mL akuades.

3.1.8 Pembuatan Larutan BSA induk 1000 mg/L

$$\frac{M_1}{V_1} = \frac{M_2}{V_2}$$

$$M_2 = \frac{M_1 \times V_2}{V_1} = \frac{1000 \text{ mg} \times 0,1 \text{ L}}{1 \text{ L}} = 100 \text{ mg} = 0,1 \text{ gram}$$

Larutan BSA 1000 mg/L dibuat dengan mengambil 0,1 gram padatan BSA kemudian dilarutkan dengan 100 mL akuades.

3.1.9 Pembuatan Larutan Standar BSA dari Larutan BSA Induk 1000 mg/L

Diketahui = Larutan BSA induk (M_1) = 1000 mg/L

Volume (V_2) = 10 mL

✓ Larutan Standar BSA 100 mg/L

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ mg/L} \cdot V_1 = 100 \text{ mg/L} \cdot 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1,0 \text{ mL}$$

✓ Larutan Standar BSA 200 mg/L

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ mg/L} \cdot V_1 = 200 \text{ mg/L} \cdot 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2,0 \text{ mL}$$

✓ Larutan Standar BSA 300 mg/L

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ mg/L} \cdot V_1 = 300 \text{ mg/L} \cdot 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 3,0 \text{ mL}$$

✓ Larutan Standar BSA 400 mg/L

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ mg/L} \cdot V_1 = 400 \text{ mg/L} \cdot 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4,0 \text{ mL}$$

✓ Larutan Standar BSA 500 mg/L

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ mg/L} \cdot V_1 = 500 \text{ mg/L} \cdot 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5,0 \text{ mL}$$

3.1.10 Pembuatan Larutan NaCl 0,06 M untuk Kekuatan Ionik

Diketahui : Mr NaCl = 58,44 g/mol

$$\text{NaCl } 1 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{V}$$

$$= \frac{\text{massa}}{58,44} \times \frac{1000 \text{ mL}}{25 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa} = \frac{58,44 \text{ g/mol}}{40}$$

$$\text{Massa} = 1,46 \text{ gram}$$

Jadi, larutan NaCl 1 M dibuat dengan mengambil 1,46 gram NaCl yang dilarutkan dalam 25 mL akuades. Larutan NaCl 0,06 M kemudian dibuat dari larutan NaCl 1 M.

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1 \text{ M} \cdot V_1 = 0,06 \text{ M} \cdot 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1,5 \text{ mL}$$

Larutan NaCl 0,06 M dibuat dengan mengambil larutan NaCl 1 M sebanyak 1,5 mL kemudian diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 25 mL.

3.1.11 Pembuatan Buffer Sitrat-Fosfat pH 3, 5, dan 7

✓ Asam Sitrat 0,1 M dari C₆H₈O₇.H₂O

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

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

$$= 0,01 \text{ mol}$$

$$n = \frac{\text{massa}}{Mr}$$

$$0,01 = \frac{\text{massa}}{210,14 \text{ g/mol}}$$

$$= 2,10 \text{ gram}$$

✓ Na₂HPO₄ 0,1 M dari Na₂HPO₄

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

$$0,2 = \frac{\text{mol}}{0,1 \text{ L}}$$

$$= 0,02 \text{ mol}$$

$$\text{mol} = \frac{\text{massa}}{Mr}$$

$$0,02 = \frac{\text{massa}}{141,96 \text{ g/mol}}$$

$$= 2,84 \text{ gram}$$

pH	Asam Sitrat 0,1 M (mL)	Na ₂ HPO ₄ 0,2 M (mL)
3	±80	±20
5	±48	±52
7	±82	±18

3.1.12 Pembuatan Buffer Amonia-Amonium Klorida pH 9

✓ Amonia 0,1 M

Diketahui : % Amonia = 37%

$$\rho = 0,73 \text{ g/mL}$$

$$\text{Mr} = 17 \text{ g/mol}$$

$$M = \frac{\% \times \rho \times 10}{\text{Mr}}$$

$$M = \frac{37 \times 0,73 \text{ g/mL} \times 10}{17 \text{ g/mol}}$$

$$M = 15,88 \text{ M}$$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$12,88 \text{ M} \cdot V_1 = 0,1 \text{ M} \cdot 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,78 \text{ mL}$$

Jadi, larutan amonia 0,1 M dibuat dengan mengambil 0,78 mL amonia 37% dan diencerkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

✓ Amonium Klorida 0,1 M

Diketahui : Mr NH₄Cl = 53,49 g/mol

$$M = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{V}$$

$$0,1 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{53,49 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{100 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa} = 0,5349 \text{ gram}$$

Jadi, larutan amonium klorida 0,1 M dibuat dengan mengambil serbuk amonium klorida sebanyak 0,5349 gram dan melarutkannya dalam 100 mL akuades.

pH	Amonia 0,1 M	Amonium Klorida 0,1 M
9	±75	±35

4.1 Perolehan Rendemen Selulosa Terhidrolisis

$$\% \text{ Yield} = \frac{\text{massa hasil nanoselulosa}}{\text{massa selulosa awal}} \times 100 \%$$

dimana massa selulosa awal = 10 gram, sehingga

$$\begin{aligned}\% \text{ Yield} &= \frac{4,6 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 46\%\end{aligned}$$

4.2 Karakteristik Fisik Beads Selulosa Terhidrolisis

4.2.1 Hasil *swelling*

Swelling diperoleh dengan menggunakan persamaan (9).

- Swelling pada pH 5

StHA 0

Swelling pH 5

time (h)	Massa			Rata-Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,01	1,01	1,02	1,013	0	0,006
1	1,21	1,16	1,41	1,260	24,342	0,132
2	1,84	1,78	2,10	1,907	88,158	0,170
3	2,42	2,27	2,59	2,427	139,473	0,160
4	2,76	2,65	2,88	2,763	172,697	0,115
5	2,95	2,86	3,00	2,937	189,803	0,071
6	3,04	3,00	3,07	3,037	199,671	0,035
7	3,08	3,07	3,09	3,080	203,947	0,010
8	3,11	3,09	3,09	3,097	205,592	0,012
9	3,13	3,10	3,14	3,123	208,224	0,021
10	3,05	2,97	3,09	3,037	199,671	0,061

StHA 40

Swelling pH 5

time (h)	Massa			Rata-Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,01	1,01	1,01	1,010	0	0
1	1,67	1,90	1,90	1,823	80,528	0,133
2	2,57	2,86	2,89	2,773	174,587	0,177

3	3,36	3,60	3,62	3,527	249,174	0,145
4	3,90	4,05	4,04	3,997	295,709	0,084
5	4,21	4,30	4,30	4,270	322,772	0,052
6	4,40	4,41	4,38	4,397	335,314	0,015
7	4,46	4,39	4,37	4,407	336,304	0,047
8	4,47	4,37	4,34	4,393	334,984	0,068
9	4,44	4,34	4,29	4,357	331,353	0,076
10	4,27	4,18	4,1	4,183	314,191	0,085

StHA 80**Swelling pH 5**

time (h)	Massa			Rata- Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,01	1,01	1,00	1,007	0	0,006
1	2,01	2,09	2,12	2,073	105,960	0,057
2	2,93	3,04	3,07	3,013	199,337	0,074
3	3,61	3,65	3,66	3,640	261,589	0,026
4	4,05	4,09	4,07	4,070	304,305	0,020
5	4,20	4,15	4,16	4,170	314,238	0,026
6	4,29	4,23	4,27	4,263	323,509	0,030
7	4,26	4,20	4,23	4,230	320,198	0,030
8	4,18	4,11	4,19	4,160	313,245	0,044
9	4,10	4,07	4,12	4,097	306,954	0,025
10	3,98	3,96	4,02	3,987	296,027	0,030

StHA 200**Swelling pH 5**

time (h)	Massa			Rata- Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,00	1,02	1,02	1,013	0	0,012
1	2,83	2,79	2,98	2,867	182,895	0,100
2	3,79	3,72	4,03	3,847	279,605	0,163
3	4,46	4,28	4,78	4,507	344,737	0,253
4	4,96	4,64	5,30	4,967	390,132	0,330
5	4,93	4,73	5,63	5,097	402,960	0,473
6	4,80	4,53	5,65	4,993	392,763	0,585
7	4,53	4,20	5,37	4,700	363,816	0,603
8	4,05	3,65	4,83	4,177	312,171	0,600
9	3,67	3,02	4,05	3,580	253,289	0,521
10	3,01	2,73	3,58	3,1067	206,579	0,433

➤ *Swelling* pada pH 7

StHA 0

Swelling pH 7

time (h)	Massa			Rata- Rata	SW (%)	Standar deviasi
	I	II	III			
0	1,01	1,02	1,00	1,010	0	0,010
1	1,08	1,07	1,07	1,073	6,271	0,006
2	1,07	1,07	1,09	1,077	6,601	0,012
3	1,08	1,06	1,03	1,057	4,620	0,025
4	1,05	0,93	0,95	0,977	-3,300	0,064
5	1,04	0,85	0,86	0,917	-9,240	0,107

StHA 40

Swelling pH 7

time (h)	Massa			Rata- Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,00	1,01	1,00	1,003	0	0,006
1	1,06	1,05	1,07	1,060	5,648	0,010
2	1,04	1,04	1,09	1,057	5,316	0,028
3	0,99	0,98	0,93	0,967	-3,654	0,032
4	0,66	0,79	0,62	0,690	-31,229	0,088
5	0,49	0,47	0,36	0,440	-56,146	0,070

StHA 80

Swelling pH 7

time (h)	Massa			Rata- Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,01	1,00	1,00	1,003	0	0,006
1	1,28	1,18	1,09	1,183	17,940	0,095
2	0,51	0,32	0,49	0,440	-56,100	0,104

StHA 200**Swelling pH 7**

time (h)	Massa			Rata-Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,00	1,01	1,00	1,003	0	0,006
1	0,91	0,95	0,97	0,943	-5,980	0,030
2	0,32	0,39	0,31	0,340	-66,100	0,044

➤ *Swelling* pada pH 9

StHA 0**Swelling pH 9**

time (h)	Massa			Rata-Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,00	1,01	1,01	1,007	0	0,006
24	1,03	1,03	1,07	1,043	3,642	0,023
48	1,04	1,04	1,07	1,050	4,305	0,017
72	1,05	1,06	1,08	1,063	5,629	0,015
96	1,06	1,06	1,08	1,067	5,960	0,012
120	1,08	1,08	1,10	1,087	7,947	0,012
144	1,10	1,09	1,11	1,100	9,272	0,010
168	1,09	1,07	1,09	1,083	7,616	0,012

StHA 40**Swelling pH 9**

time (h)	Massa			Rata-Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,00	1,00	1,00	1,000	0	0
24	1,23	1,19	1,18	1,200	20,000	0,026
48	1,27	1,21	1,19	1,223	22,333	0,042
72	1,30	1,21	1,19	1,233	23,333	0,059
96	1,36	1,25	1,22	1,277	27,667	0,074
120	1,38	1,27	1,25	1,300	30,000	0,070
144	1,35	1,26	1,23	1,280	28,000	0,062
168	1,30	1,20	1,19	1,230	23,000	0,061

StHA 80**Swelling pH 9**

time (h)	Massa			Rata- Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,00	1,00	1,01	1,003	0	0,006
24	1,15	1,17	1,19	1,170	16,611	0,020
48	1,18	1,19	1,20	1,190	18,605	0,010
72	1,30	1,21	1,19	1,233	22,924	0,059
96	1,36	1,25	1,22	1,277	27,242	0,074
120	1,32	1,23	1,19	1,247	24,252	0,067
144	1,29	1,20	1,18	1,223	21,927	0,059
168	1,27	1,19	1,17	1,210	20,598	0,053

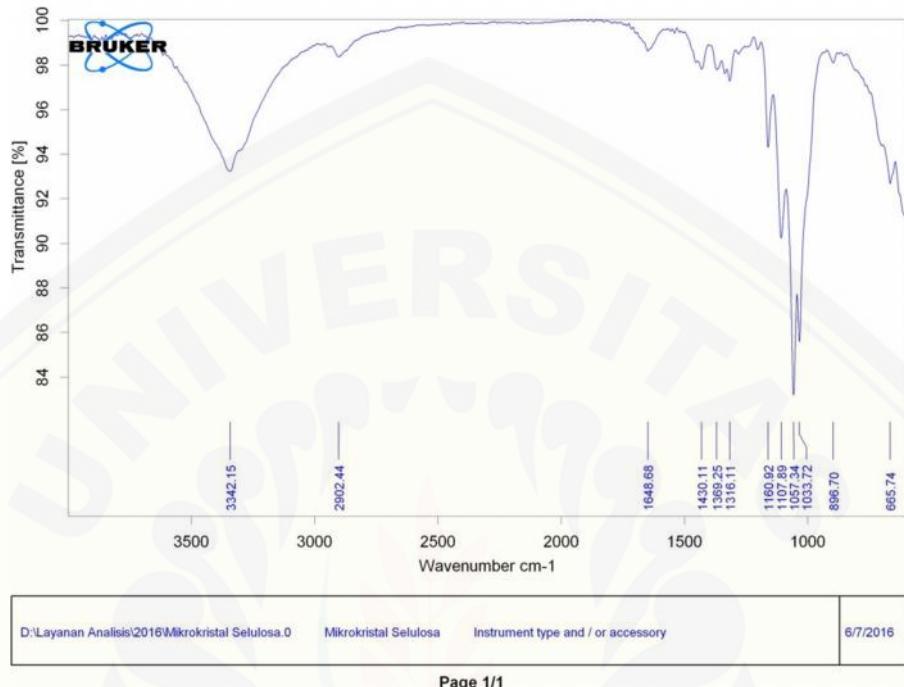
StHA 200**Swelling pH 9**

time (h)	Massa			Rata- Rata	SW (%)	Standar Deviasi
	I	II	III			
0	1,00	1,00	1,00	1,000	0	0
24	1,15	1,16	1,15	1,153	15,333	0,006
48	1,18	1,18	1,17	1,177	17,667	0,006
72	1,21	1,20	1,21	1,207	20,667	0,006
96	1,20	1,19	1,20	1,197	19,667	0,006
120	1,18	1,19	1,19	1,187	18,667	0,006
144	1,17	1,17	1,18	1,173	17,333	0,006
168	1,17	1,15	1,16	1,160	16,000	0,010

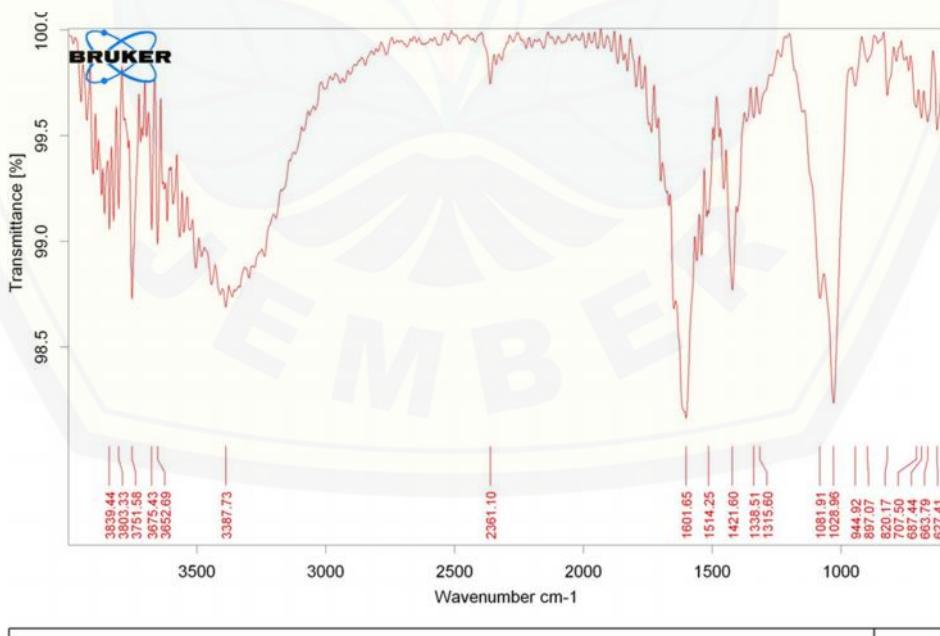
4.3 Karakteristik Kimia *Beads Selulosa Terhidrolisis*

4.3.1 Karakteristik FTIR

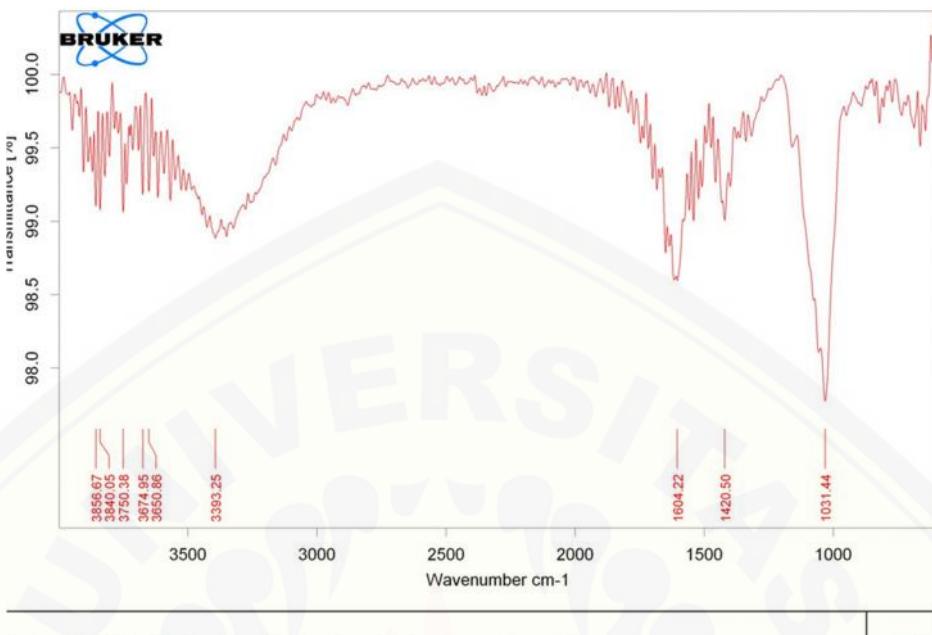
- ✓ Selulosa Mikrokristal (SbH)



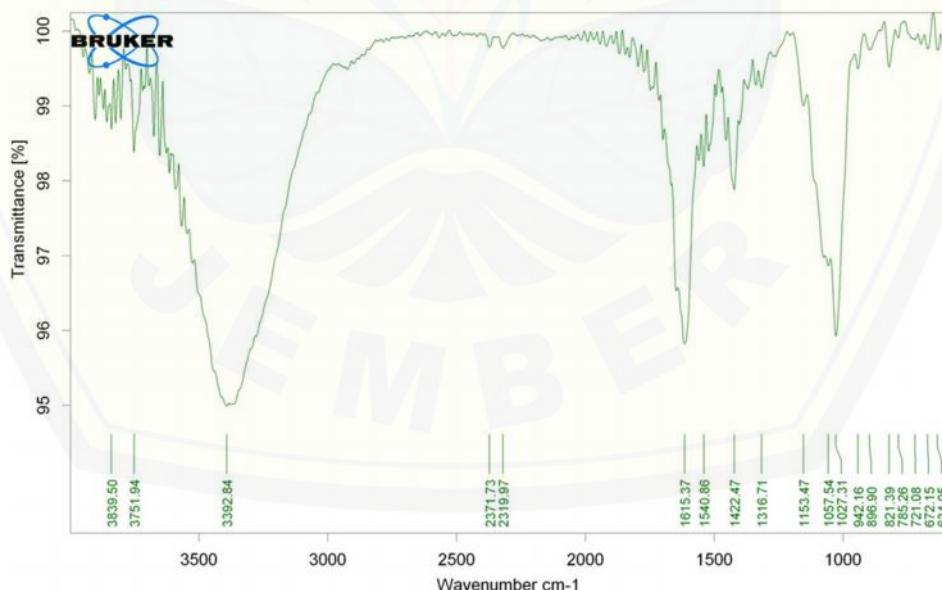
- ✓ Alginat



✓ SbHA



✓ StHA



4.3.2 Titrasi Konduktometri Selulosa Terhidrolisis

Pengulangan 1		Pengulangan 2	
V NaOH (mL)	Konduktivitas ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	V NaOH (mL)	Konduktivitas ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
0	509,7357	0	592,9631
0,5	507,6967	0,5	596,5424
1	495,9723	1	582,2253
1,5	495,9723	1,5	580,4357
2	492,9138	2	574,4703
2,5	489,8553	2,5	573,2772
3	487,8162	3	567,9083
3,5	480,1699	3,5	562,5394
4	479,1504	4	561,3464
4,5	475,0724	4,5	555,9775
5	473,0334	5	555,9775
5,5	469,4651	5,5	544,0466
6	466,4065	6	541,6605
6,5	463,3480	6,5	536,2916
7	456,2115	7	536,2916
7,5	454,1724	7,5	532,7123
8	449,5846	8	526,7469
8,5	445,5066	8,5	521,9746
9	441,4286	9	517,7988
9,5	440,4091	9,5	514,2195
10	436,3310	10	507,0610
10,5	433,7823	10,5	505,8679
11	430,7237	11	502,2887
11,5	428,6847	11,5	496,9198
12	420,5286	12	493,3405
12,5	418,4896	12,5	486,1820
13	416,9604	13	482,6028
13,5	411,8628	13,5	477,2339
14	406,7653	14	473,6546
14,5	404,7262	14,5	469,4788
15	403,7067	15	456,3549
15,5	397,0799	15,5	455,1618
16	395,0409	16	452,7757
16,5	392,4921	16,5	450,9860
17	388,9239	17	448,5999
17,5	381,2775	17,5	443,2310
18	383,3166	18	440,2483
18,5	374,1410	18,5	428,3174
19	372,1020	19	424,7382
19,5	371,0824	19,5	419,3693
20	368,5337	20	415,7900
20,5	365,4751	20,5	414,5969
21	361,3971	21	407,4384
21,5	358,8483	21,5	406,2453
22	353,2410	22	402,6661
22,5	347,6337	22,5	398,4903
23	349,6728	23	394,9110
23,5	345,5947	23,5	387,7525
24	339,4777	24	386,5594

24,5	336,4191	24,5	375,2251
25	331,8313	25	374,0321
25,5	327,7533	25,5	369,8563
26	327,7533	26	366,8736
26,5	324,1850	26,5	363,8908
27	323,6753	27	357,9254
27,5	322,6558	27,5	356,7323
28	317,0485	28	354,3462
28,5	312,9704	28,5	347,1877
29	310,9314	29	344,8015
29,5	304,8143	29,5	341,2222
30	303,7948	30	338,2395
30,5	301,2461	30,5	334,6603
31	298,1875	31	327,5018
31,5	296,1485	31,5	325,1156
32	286,9729	32	317,3605
32,5	291,5607	32,5	317,3605
33	289,0120	33	314,9744
33,5	283,4047	33,5	307,8159
34	281,3656	34	307,8159
34,5	277,2876	34,5	306,6228
35	273,2096	35	305,4297
35,5	273,2096	35,5	295,2885
36	266,5828	36	289,3230
36,5	265,5632	36,5	285,7438
37	260,4657	37	282,7611
37,5	260,4657	37,5	276,7957
38	256,3877	38	276,7957
38,5	252,3096	38,5	267,8475
39	246,7023	39	266,6544
39,5	245,6828	39,5	265,4613
40	244,6633	40	265,4613
40,5	237,0170	40,5	259,4959
41	237,0170	41	257,1098
41,5	237,0170	41,5	250,5478
42	232,4292	42	250,5478
42,5	228,8609	42,5	250,5478
43	227,8414	43	250,5478
43,5	224,2731	43,5	250,5478
44	220,1951	44	250,5478
44,5	220,1951	44,5	250,5478
45	220,1951	45	250,5478
45,5	220,1951	45,5	250,5478
46	220,1951	46	250,5478
46,5	220,1951	46,5	255,3201
47	220,1951	47	257,1098
47,5	220,1951	47,5	258,3028
48	220,1951	48	258,3028
48,5	220,1951	48,5	260,6890
49	221,2146	49	260,6890
49,5	226,8219	49,5	260,6890
50	226,8219	50	260,6890
50,5	228,8609	50,5	261,2856
51	230,8999	51	261,2856
51,5	232,4292	51,5	264,8648

52	233,4487	52	271,4268
52,5	235,9975	52,5	271,4268
53	238,0365	53	273,8129
53,5	238,0365	53,5	273,8129
54	240,0755	54	275,0060
54,5	240,0755	54,5	277,9887
55	245,6828	55	280,3749
55,5	245,6828	55,5	280,3749
56	245,6828	56	280,3749
56,5	246,7023	56,5	282,1645
57	246,7023	57	283,9542
57,5	252,3096	57,5	289,3230
58	252,3096	58	290,5161
58,5	253,3291	58,5	290,5161
59	254,3486	59	291,7092

✓ Hasil Data Olahan

Berdasarkan hasil titrasi konduktometri yang dilakukan diperoleh data volume NaOH pada persimpangan pertama (V_1) dan volume NaOH pada persimpangan kedua (V_2) yaitu :

Sampel	V NaOH (mL)	
	I	II
	V_1	V_1
Selulosa terhidrolisis	44	41,5

✓ Perhitungan Hasil Data

- Perhitungan Volume NaOH (V_0)

Diketahui : M_1 = Konsentrasi HCl = 0,05 M

$$V_1 = \text{Volume HCl} = 0,005 \text{ L}$$

$$M_2 = \text{Konsentrasi NaOH} = 0,01 \text{ M}$$

Ditanya : V_2 = Volume NaOH = ?

Jawab :

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$0,05 \text{ M} \cdot 0,005 \text{ L} = 0,01 \text{ M} \cdot V_2$$

$$0,00025 \text{ M.L} = 0,01 \text{ M} \cdot V_2$$

$$V_2 = \frac{0,00025 \text{ M L}}{0,01 \text{ M}}$$

$$V_2 = 0,025 \text{ L}$$

- Perhitungan Jumlah Gugus Bermuatan ($-\text{OSO}_3^-$)

Jumlah gugus bermuatan ($-\text{OSO}_3^-$) diketahui dengan menggunakan persamaan :

$$-\text{OSO}_3^- = \frac{C \times (V_1 - V_0)}{m}$$

Diketahui : C = Konsentrasi NaOH = 0,01 mol/L = 10 mol/L

m = Massa Selulosa terhidrolisis = 0,001 Kg

V_1 = Volume pada perpotongan pertama

- Pengulangan 1 = 44 mL = 0,044 L
- Pengulangan 2 = 41,5 mL = 0,0415 L

V_0 = Volume teoritis = 0,25 L

Ditanya : Jumlah gugus bermuatan ($-\text{OSO}_3^-$)

Jawab :

➤ Pengulangan 1

$$\begin{aligned} -\text{OSO}_3^- &= \frac{C \times (V_1 - V_0)}{m} \\ -\text{OSO}_3^- &= \frac{10 \text{ mmol/L} \times (0,044 - 0,025) \text{ L}}{0,001 \text{ Kg}} \\ -\text{OSO}_3^- &= 190 \text{ mmolKg}^{-1} \end{aligned}$$

➤ Pengulangan 2

$$\begin{aligned} -\text{OSO}_3^- &= \frac{C \times (V_1 - V_0)}{m} \\ -\text{OSO}_3^- &= \frac{10 \text{ mmol/L} \times (0,0415 - 0,025) \text{ L}}{0,001 \text{ Kg}} \\ -\text{OSO}_3^- &= 165 \text{ mmolKg}^{-1} \end{aligned}$$

4.4 Adsorpsi Protein

4.4.1 Scanning Panjang Gelombang

Scanning panjang gelombang dilakukan pada rentang 500-650 nm.

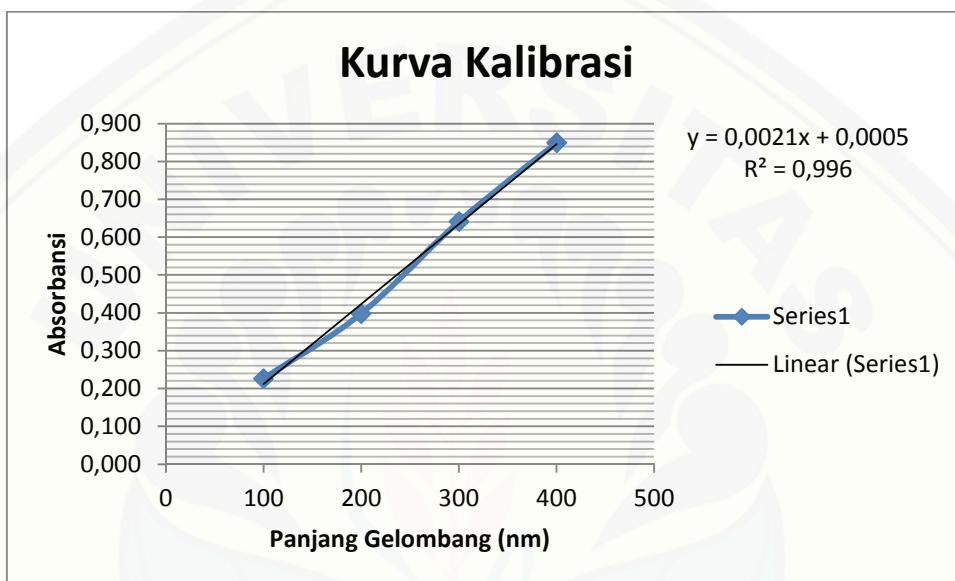
Panjang Gelombang (nm)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-Rata	Standar Deviasi
500	-0,180	-0,182	-0,182	-0,181	0,001
510	-0,137	-0,137	-0,136	-0,137	0,001
520	-0,070	-0,069	-0,070	-0,070	0,001
530	0,034	0,034	0,034	0,034	0
540	0,171	0,170	0,171	0,171	0,001
550	0,325	0,326	0,326	0,326	0,001
560	0,453	0,452	0,455	0,453	0,002
570	0,550	0,551	0,549	0,550	0,001
580	0,600	0,602	0,601	0,601	0,001
590	0,620	0,620	0,620	0,620	0
600	0,632	0,630	0,633	0,632	0,002
610	0,614	0,615	0,611	0,613	0,002
620	0,567	0,566	0,565	0,566	0,001
630	0,511	0,511	0,511	0,511	0
640	0,458	0,456	0,458	0,457	0,002
650	0,412	0,413	0,411	0,412	0,001

Scanning selanjutnya dilakukan pada rentang 590-610 nm.

Panjang gelombang (nm)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-Rata	Standar Deviasi
590	0,609	0,612	0,610	0,610	0,002
592	0,612	0,612	0,612	0,612	0
594	0,615	0,615	0,615	0,615	0
596	0,621	0,620	0,619	0,620	0,001
598	0,618	0,618	0,600	0,612	0,010
600	0,595	0,595	0,597	0,596	0,001
602	0,570	0,577	0,571	0,573	0,004
604	0,559	0,544	0,562	0,555	0,009
606	0,546	0,557	0,547	0,550	0,006
608	0,526	0,524	0,510	0,520	0,009
610	0,507	0,505	0,505	0,506	0,001

4.4.2 Kurva Kalibrasi

Konsentrasi BSA (ppm)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-Rata	Standar Deviasi
100	0,226	0,225	0,228	0,226	0,002
200	0,398	0,399	0,398	0,398	0,001
300	0,641	0,640	0,641	0,641	0,001
400	0,849	0,849	0,848	0,849	0,001



4.4.3 Adsorpsi Protein

Persebaya adsorpsi diketahui dengan menggunakan persamaan (10).

- Adsorpsi pada buffer pH 3

Sampel	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-Rata	Standar Deviasi	C0	Ce	% Adsorpsi
StHA 0	0,255	0,272	0,263	0,263	0,009	400	125,159	68,710
StHA 40	0,235	0,268	0,249	0,251	0,017	400	119,127	70,218
StHA 80	0,217	0,253	0,245	0,238	0,019	400	113,254	71,687
StHA 200	0,183	0,222	0,192	0,199	0,020	400	94,5238	76,369

➤ Adsorpsi pada buffer pH 3 dengan penambahan NaCl 0,06 M

Sampel	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata- rata	Standar Devasi	C0	Ce	% Adsorpsi
StHA 0	0,274	0,314	0,284	0,291	0,021	400	138,175	65,456
StHA 40	0,244	0,274	0,261	0,259	0,015	400	123,413	69,147
StHA 80	0,224	0,252	0,244	0,240	0,014	400	114,048	71,488
StHA 200	0,217	0,237	0,217	0,223	0,012	400	106,269	73,433