

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2017 hingga Juni 2017.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat- alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofotometer Sinar tampak / UVmini-1240 (Shimadzu), pH universal (Merck), neraca analitik (Ohaus), mortar, ayakan 60 dan 90 mesh, kolom (syringe OneMed 10 mL d= 0,83 cm), oven (Mettler), pompa syringe (Shimadzu), serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium kimia.

3.2.2 Bahan

Bahan - bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kitosan teknis, larutan glutaraldehid 1% (v/v) (dari glutaraldehid 50% Sigma-Aldrich), akuades, larutan H₂SO₄ p.a 97% bj 1,84 g/cm³, larutan HCl 37% (b/v), MSG, larutan CH₃COOH 99,7%, KI (Merck), padatan NaOH p.a (Merck), HgCl₂ (Merck), padatan K₂HPO₄ (Merck) dan KH₂PO₄ (Merck).

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini adalah:

1. Pembuatan MIP A
2. Pembuatan MIP B
3. Preparasi kolom
4. Pembuatan kurva baku MSG
5. Pengaruh pH fasa gerak
6. Penentuan efisiensi ekstraksi

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pembuatan MIP A

MIP jenis A dibuat dengan cara: 10g kitosan dilarutkan dalam 500 mL asam asetat 2% pada temperatur 60° C. Setelah kitosan larut ditambahkan 50 mL larutan MSG 0,5 M. Campuran diaduk selama 2 jam, kemudian ditambahkan 25 mL larutan glutaraldehid 1% dan diaduk lagi selama 1 jam. Akhir dari proses ini terbentuk gel setelah 2 hari didiamkan, selanjutnya agar agar dicuci dengan HCl 0,01 M dan dikeringkan diatas cetakan kaca dalam oven 60°C selama 24 jam. Kemudian setiap 3 gram MIP dicuci menggunakan 1000 mL HCl 0,1 M selama 24 jam, proses pencucian dilakukan tiga kali. Pada setiap kali pencucian MIP disaring dan dicuci dengan akuades hingga pH hasil cucian sama dengan pH akuades. Setelah MIP dikeringkan dalam oven dengan temperatur 60°C selama 24 jam. MIP yang kering dihaluskan menggunakan *blender* dan mortar, kemudian diayak dengan ayakan 60 dan 90 mesh.

3.4.2 Pembuatan MIP B

MIP jenis B dibuat dengan cara: 5 g kitosan dilarutkan dalam 250

mL asam asetat 2% pada temperatur 60° C. Setelah kitosan larut ditambahkan 25 ml larutan MSG 0,5 M. Campuran diaduk selama 2 jam, kemudian ditambahkan 5,0 ml larutan glutaraldehid 1% dan diaduk lagi selama 1 jam. Larutan tersebut dimasukkan kedalam *syringe* 20 mL dengan jarum ukuran 24 diteteskan kedalam larutan NaOH 1 M menggunakan pompa *syringe*. Butiran MIP yang terbentuk dicuci dengan akuades, kemudian direndam kedalam larutan glutraldehid 0,02 % selama 24 jam dan di kocok dengan *shaker* pada kecepatan 125 rpm. MIP dicuci dengan HCl 0,1 M selama 8 jam, kemudian dicuci dengan akuades hingga pH hasil cucian sama dengan pH akuades. MIP dikeringkan ke dalam oven selama 30 menit dengan temperatur 60°C.

3.4.3 Preparasi kolom

Kolom dibersihkan menggunakan akuades lalu dikeringkan. Kolom diisi akuades sebanyak 4 mL dan *glass wool* dimasukkan pada ujung kolom. Fasa padat MIP yang telah direndam dengan akuades dimasukkan kedalam kolom. *Glass wool* dimasukkan pada kolom untuk melindungi permukaan MIP. Sisa akuades dalam kolom dikeluarkan hingga permukaan *glass wool* (atas). Kolom dirangkai dan laju alir diatur sebesar 0,5 mL/menit.

3.4.4 Pembuatan Kurva Baku MSG

Larutan monosodium glutamat 1000 ppm diambil sebanyak 2,5 mL, 3,75 mL, 5 mL, 6,75 mL dan 7,5 mL. Masing-masing larutan MSG diencerkan ke dalam labu ukur 25 mL dengan larutan buffer fosfat 0,01 M pH 6, sehingga didapatkan larutan MSG dengan konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm. Masing - masing larutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml dan dilakukan destruksi dengan menambahkan 0,5 mL larutan H₂SO₄ 97% dan dipanaskan pada suhu 200°C selama 30 menit. Larutan hasil destruksi diencerkan dengan buffer fosfat 0,01 M pH 6 dalam labu ukur 25 mL dan diambil 2 mL.

Kemudian 2,0 mL larutan hasil pengenceran ditambahkan 3,0 mL larutan NaOH 6 M dan 1,0 mL pereaksi Nessler. Larutan campuran didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 425 nm. Data yang diperoleh dibuat kurva hubungan antara konsentrasi terhadap absorbansi. Perlakuan yang sama digunakan untuk membuat kurva baku pada pH 7 dan 8.

3.4.5 Pengaruh pH fasa gerak

Larutan MSG 150 ppm dalam buffer fosfat 0,01M pH 6 sebanyak 2 mL dialirkan kedalam kolom yang berisi MIP dan fasa gerak larutan buffer fosfat 0,01 M pH 6. MSG dielusi dengan larutan buffer fosfat 0,01 M pH 6 sebanyak 22 mL dialirkan kedalam kolom. Kedua kran dibuka dengan kecepatan alir sama (0,5 mL/menit). Eluat yang keluar dari kolom ditampung setiap 2 mL dan didestruksi dengan 0,5 mL H₂SO₄ 97% pada temperatur 200°C selama 30 menit. Larutan hasil destruksi diencerkan dengan larutan buffer pH 6 hingga 5 mL, kemudian ditambahkan 3,0 ml NaOH 6 M dan 1,0 mL pereaksi Nessler. Larutan dikocok dan didiamkan 10 menit lalu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 425 nm. Perlakuan yang sama dilakukan untuk fasa gerak pH 7 dan 8.

3.4.6 Penentuan efisiensi ekstraksi

Penentuan efisiensi ekstraksi dilakukan pada pH 6, 7 dan 8 menggunakan buffer fosfat 0,01 M. Tahapan yang dilakukan sama dengan tahapan pada 3.4.3, namun fraksi yang ditampung mulai dari fraksi ke 2-6,5 untuk MIP A sedangkan MIP B, pada fraksi ke 2-5. Fraksi tersebut didestruksi dengan menambahkan 0,5 mL H₂SO₄ 97% dan dipanaskan pada temperatur 200°C selama 30 menit. Hasil destruksi diencerkan hingga 10,0 mL, kemudian diambil 2,0 mL. 2,0 mL larutan

hasil destruksi ditambahkan 3,0 mL NaOH 6 M dan 1,0 mL pereaksi Nessler. Larutan dikocok dan didiamkan selama 10 menit lalu diukur absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 425 nm.

Rumus menghitung efisiensi ekstraksi MSG :

$$\text{Efisiensi Ekstraksi} = \frac{\text{massa MSG yang terelusi}}{\text{massa MSG awal}} \times 100\%$$