

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai bulan April 2010 di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR) Badan Tenaga Nuklir Nasional, Jakarta. Analisis dilaksanakan di Laboratorium Biomassa Universitas Lampung dan BATAN Serpong serta uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Peralatan yang digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu refluks dan kondensor, penangas air, oven, neraca analitik, thermometer, tabung polimerisasi, peralatan gelas, sumber radiasi gamma, cawan petri, alat *Tensile Strength*, Spektroskopi FT-IR, XRD dan SEM

2. Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah film polietilen jenis HDPE komersial, 4-vinil piridin Wako-Japan, glisidil metakrilat Wako-Japan, etilen diamin, dimetilformamida, metanol, aseton, aquades, media nutrient agar dan sample bakteri.

C. Metodologi Penelitian

1. Pemurnian Polietilen

Perlakuan pertama adalah pemurnian film polietilen (PE) dari bahan aditif yang terkandung di dalamnya yang akan digunakan untuk percobaan selanjutnya. Film PE yang digunakan terbuat dari PE komersial dengan kerapatan tinggi (HDPE) dengan ketebalan 100 μm dan ukuran 3 x 10 cm^2 . Film tersebut direfluks dengan metanol selama 8 jam pada suhu 65°C untuk menghilangkan bahan pengotor dan aditif yang ada pada HDPE, kemudian dikeringkan. Film PE yang telah kering selanjutnya dianalisis dengan FT-IR untuk mendapatkan fungsionalitas acuan, sehingga perubahan fungsionalitas setelah film PE tercampur dengan 4-vinil piridin dan glisidil metakrilat dapat diketahui.

2. Kopolimerisasi Cangkok 4-Vinil Piridin (4VP) pada Film PE

a. Pengaruh dosis total radiasi gamma terhadap reaksi kopolimerisasi polietilen tercampur 4-Vinil Piridin (PE-g-4VP)

Film PE diradiasi dengan sinar gamma (γ) menggunakan Iradiator Panorama Serbaguna (IPRASENA). Sumber radiasi berasal dari sumber isotop Co^{60} dengan variasi dosis radiasi masing-masing 10, 15, 20, 25 dan 30 kGy (1 kGy = 1 kilojoule/kg sampel), variasi dosis ini merupakan dosis radiasi yang cukup tinggi untuk polietilen sehingga dapat membentuk pusat aktif radikal yang banyak (Gatot, 1997). Radiasi dilakukan di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR) Badan Tenaga Nuklir Nasional, Jakarta. Film PE yang

telah diradiasi dimasukkan ke dalam tabung polimerisasi yang telah terisi 4-vinil piridin dengan konsentrasi 10% dalam aquades. Kemudian tabung polimerisasi diletakkan di atas penangas air pada suhu 60°C selama 4 jam dan di aliri gas N₂. Setelah reaksi polimerisasi, film PE dikeluarkan dari tabung polimerisasi, lalu direfluks dengan air pada suhu 80°C dan metanol pada suhu 60°C selama 2 jam, untuk menghilangkan homopolimer yang terbentuk atau sisa 4-VP yang tidak tercangkok ke film PE, kemudian dikeringkan pada suhu 40°C selama 2 jam untuk mendapatkan berat konstan dan menghasilkan PE tercangkok 4-VP dengan dosis radiasi yang optimum. Persen pencangkokan (%G) ditentukan berdasarkan perbandingan berat rantai akibat pencangkokan pada film PE (selisih berat PE setelah dan sebelum tercangkok) dengan berat awal PE film sebelum dicangkok, dengan rumus sebagai berikut (Irwan *et al.*, 2002).

$$\text{Persen grafting (\%)} = \frac{\text{Berat rantai grafting}}{\text{Berat awal PE}} \times 100\%$$

b. Pengaruh konsentrasi 4-VP terhadap reaksi kopolimerisasi cangkok 4-VP pada film polietilen

Untuk mempelajari pengaruh konsentrasi monomer 4VP, empat lembar film PE iradiasi dengan dosis optimum dimasukkan ke dalam tabung polimerisasi bersama-sama dengan monomer 4VP dengan variasi konsentrasi masing-masing 2,5%, 5%, 10%, dan 15%. Tabung diletakkan di atas penangas air pada suhu 60°C selama 4 jam dan dialiri gas N₂. Setelah reaksi kopolimerisasi, film PE dikeluarkan dari tabung polimerisasi, lalu dicuci dengan air pada suhu 80°C. Film PE direfluks kembali menggunakan metanol untuk menghilangkan homopolimer yang terbentuk atau sisa 4VP yang tidak berpolimerisasi, lalu

dikeringkan pada suhu 40°C selama 2 jam untuk mendapatkan berat yang konstan dan menghasilkan PE-g-4VP dengan konsentrasi maksimum.

c. Pengaruh variasi waktu reaksi terhadap reaksi kopolimerisasi PE-g-4VP

Film PE iradiasi dengan dosis optimum dimasukkan ke dalam tabung bersama-sama dengan 4-VP dengan konsentrasi optimum lalu tabung diletakkan di atas penangas air pada suhu 60°C dengan waktu reaksi masing-masing 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 jam serta dialiri gas N₂. Setelah reaksi kopolimerisasi berlangsung, sampel film PE diperlakukan seperti percobaan sebelumnya hingga diperoleh PE tergrafting 4-VP dengan dosis radiasi optimum, konsentrasi 4-VP dan waktu polimerisasi 4VP yang optimum.

d. Pengaruh konsentrasi pelarut terhadap PE-g-4VP

Untuk mempelajari pengaruh pelarut terhadap grafting 4-VP pada polietilen, Film PE iradiasi di masukan kedalam tabung yang telah terisi monomer 4VP dengan konsentrasi 10% (v/v) menggunakan variasi pelarut yaitu metanol, Air, methanol masing-masing 5%, 10%, 20% dan 40%. Tabung diletakan dalam penangas air pada suhu 60°C dengan waktu optimum yang didapatkan pada percobaan diatas serta dialiri gas nitrogen selama proses reaksi berlangsung. Setelah reaksi kopolimerisasi, film PE dikeluarkan dari tabung polimerisasi, lalu dicuci dengan air pada suhu 80°C. Kemudian direfluks menggunakan metanol untuk menghilangkan homopolimer. Film PE-g-4VP dikeringkan pada suhu 40°C selama 2 jam untuk mendapatkan berat yang konstan dan menghasilkan kopolimer PE-4VP dengan dosis radiasi optimum,

konsentrasi 4VP dan waktu reaksi kopolimerisasi yang optimum serta pelarut yang sesuai.

3. Kopolimerisasi Cangkok Glisidil Metakrilat (GMA) pada Film Polietilen

a. Pengaruh konsentrasi GMA terhadap reaksi kopolimerisasi cangkok GMA pada film polietilen

Untuk mempelajari pengaruh konsentrasi monomer GMA, empat buah film PE yang telah diradiasi dengan dosis maksimum yang di dapatkan pada percobaan sebelumnya dimasukkan ke dalam tabung polimerisasi bersama-sama dengan GMA dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Kemudian tabung polimerisasi diletakkan di atas penangas air pada suhu 60°C selama 4 jam dan dialiri gas N₂. Setelah reaksi polimerisasi, film PE diperlakukan seperti percobaan diatas hingga diperoleh PE tercangkok GMA dengan dosis radiasi dan konsentrasi GMA yang optimum.

b. Pengaruh variasi waktu reaksi terhadap kopolimerisasi cangkok GMA pada film polietilen

Film PE yang telah diradiasi dengan dosis maksimum yang didapatkan pada percobaan diatas dimasukkan ke dalam tabung polimerisasi bersama-sama dengan GMA pada konsentrasi maksimum yang didapat pada percobaan sebelumnya kemudian tabung polimerisasi diletakkan di atas penangas air pada suhu 60°C selama 1, 2, 3, 4, 5, 6 dan 7 jam serta dialiri gas N₂. Setelah reaksi kopolimerisasi, film PE diperlakukan seperti percobaan sebelumnya hingga diperoleh PE-g-GMA dengan dosis radiasi, konsentrasi GMA dan waktu kopolimerisasi GMA yang optimum.

c. Pengaruh pelarut terhadap proses kopolimerisasi PE-g-GMA

Film PE yang telah diradiasi dengan dosis maksimum yang didapatkan pada percobaan diatas dimasukan kedalam tabung polimerisasi yang telah terisi GMA dengan konsentrasi optimum masing-masing menggunakan variasi pelarut yaitu aseton, metanol dan air. Kemudian tabung diletakan dalam penangas air pada suhu 60°C selama waktu optimum yang didapatkan pada percobaan diatas serta dialiri gas nitrogen selama proses reaksi berlangsung. Setelah reaksi kopolimerisasi berlangsung, film PE diperlakukan seperti percobaan sebelumnya hingga diperoleh PE-g-GMA dengan dosis radiasi optimum, konsentrasi dan waktu kopolimerisasi yang optimum serta pelarut yang sesuai.

d. Reaksi aminasi film polietilen tercangkok glisidil metakrilat (PE-g-GMA) dengan etilendiamin (En)

Film PE-g-GMA dengan berat tertentu dicelupkan ke dalam larutan 20 ml dimetilformamida (DMF) yang mengandung En lalu reaksi dilangsungkan pada 70°C selama 3 jam. Setelah reaksi, film PE lalu diangkat dari larutan kemudian dicuci dengan DMF dan dihitung jumlah En yang bereaksi dengan gugus epoksi pada GMA menggunakan analisis elementer (metoda Kjeldahl).

4. Karakterisasi kopolimerisasi cangkok

a. Karakterisasi dengan Spektroskopi FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*)

Karakteristik utama sampel yang akan berubah mengikuti tahapan proses kopolimerisasi yang dilakukan adalah fungsionalitas film terkopolimerisasi. Untuk memantau perubahan ini, sampel akan dianalisis dengan FTIR. Sesuai

dengan tahapan proses cangkok yang terlibat, sampel yang akan dianalisis meliputi film polietilen (PE) sebagai kontrol, film PE-4VP, film PE-GMA, dan PE-GMA-aminasi.

b. Karakterisasi dengan SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

Pada penelitian ini karakterisasi dengan SEM dilakukan untuk melihat perubahan karakteristik morfologi permukaan sampel mengikuti tahapan proses kopolimerisasi cangkok yang dilakukan, tampilan gambar SEM merupakan tampilan gambar tiga dimensi. Sampel yang akan dianalisis meliputi sampel film polietilen (PE) sebagai kontrol, film PE-g-4VP, PE-g-GMA dan film PE-g-GMA-aminasi. Adapun langkah-langkah dalam uji SEM ini adalah sebagai berikut:

1. Sampel yang akan dianalisis disiapkan dan direkatkan pada spesimen holder (*Dolite, double sticy tape*).
2. Sampel yang telah dipasang pada holder kemudian dibersihkan dengan *Hand Blower*.
3. Sampel dimasukkan dalam mesin *couting* untuk diberi lapisan tipis yang berupa *gold-poladium* selama 4 menit sehingga menghasilkan lapisan dengan ketebalan 200-400 Å.
4. Sampel dimasukkan ke dalam *Specimen Chamber*.
5. Pengamatan dan pengambilan gambar pada layer SEM dengan mengatur pembesaran yang diinginkan.
6. Penentuan spot untuk analisis pada layer SEM.
7. Pemotretan gambar SEM.

c. Karakterisasi Sampel menggunakan XRD

Karakterisasi menggunakan XRD bertujuan untuk melihat struktur kristalinitas PE sebelum dan setelah mengikat kitosan. Sumber sinar radiasi yang digunakan adalah $K\alpha$ dari Cu. Langkah-langkah yang dilakukan dalam analisis menggunakan XRD adalah sebagai berikut:

1. Sampel yang akan dianalisis disiapkan dan direkatkan pada kaca, kemudian dipasang pada tempatnya yang berupa lempeng tipis berbentuk persegi panjang (sampel holder) dengan bantuan malam (lilin perekat).
2. Sampel yang disimpan dipasang pada sampel holder kemudian dilekatkan pada sampel stand dibagian goniometer.
3. Parameter pengukuran dimasukkan pada software pengukuran melalui komputer pengontrol, yaitu meliputi penentuan scan mode, penentuan rentang sudut, kecepatan scan cuplikan, memberi nama cuplikan dan memberi nomor urut file data.
4. Alat difraktometer dioperasikan dengan perintah “Start” pada menu komputer, dimana sinar-X akan meradiasi sampel yang terpancar dari target Cu dengan panjang gelombang $1,5406 \text{ \AA}$.
5. Hasil difraksi dapat dilihat pada komputer dan intensitas difraksi pada sudut 2θ tertentu dapat dicetak oleh mesin printer.

Sampel dari sampel holder diambil setelah pengukuran cuplikan selesai.

d. Analisis *Tensile Strength* (Tegangan Putus)

Tegangan putus sampel ditentukan dengan menggunakan alat *Tensile Strength Strograph*. Sebelum pengukuran, film dicetak terlebih dahulu dengan alat

pencetak kemudian diukur tebal, dan panjangnya. Sampel dijepit pada kedua ujungnya kemudian ditarik oleh sebuah beban sampai putus. Jarak perjalanan pendulum setelah sampel putus diambil sebagai kekuatan tarik.

e. Uji *Swelling*

Uji swelling dilakukan dengan cara perendaman film PE tercampok dengan berbagai persen kopolimerisasi (%G) masing-masing dalam pelarut air, metanol dan benzena pada suhu 25°C selama 24 jam. Setelah perendaman, film PE diangkat dari larutan, sisa pelarut pada permukaan film dikeringkan dengan kertas saring. Persen *swelling* terhadap beberapa pelarut ditentukan berdasarkan perbandingan selisih berat antara film PE tercampok setelah perendaman (W_t) dan sebelum perendaman (W_0).

$$\text{Persen swelling (\%)} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100\%$$

5. Uji aktivitas Antibakteri film PE-g- 4VP dan PE-g-GMA-En

Untuk melihat kemampuan film PE tercampok 4VP dan GMA teraminasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri, dalam penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen perairan seeperti *E. Coli* dan *S. Aureus*.

Langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

a. Penyiapan Media Uji

Isolat bakteri dipindahkan ke media NA dengan teknik agar miring untuk memperoleh pertumbuhan optimum dan kemurniam bakteri *E.Coli* dan

S.aureus. Penyiapan media uji, dilakukan dengan pembuatan NA. Sebanyak 2,8 gram NA dilarutkan dalam 100 ml akuades, selanjutnya media dipanaskan dan disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 1 jam. Media NA steril kemudian dituangkan pada cawan sebanyak 15 ml/cawan serta dipadatkan sebagai lapisan satu (lapisan dasar) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jika tidak terlihat adanya kontaminan, maka media ini dapat digunakan untuk pengujian sampel.

b. Pengujian Daya Antibakteri dengan Metode Difusi Agar

Masing-masing sebanyak 2-3 ose bakteri *E.Coli* dan *S.aureus* diencerkan dengan 2 ml akuades steril dan dicampurkan ke dalam 5 ml media NA sebagai suspensi bakteri. Kemudian suspensi bakteri tersebut dituangkan diatas 15 ml media NA lapisan 1, lalu digoyang perlahan sehingga homogen dan dibiarkan membeku. Sampel uji PE standar, PE tercangkok 4-vinil piridin (PE-g-4VP) dan PE tercangkok glisidil metakrilat (PE-g-GMA) teraminasi diletakan pada permukaan agar, dimana satu paper disk diberi larutan uji sebagai kontrol negatif (metanol) dan satu paper disk lagi diberi larutan uji sebagai kontrol positif (kloramfenikol). Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati zona hambatnya.