

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Labu ukur, pipet ukur, tabung reaksi, gelas beker, pipet tetes, botol sampel, pengaduk kaca), neraca analitik, rak tabung reaksi, kompor listrik, oven, blender, gunting, waterbath, corong buchner, pompa vakum, spektrofotometer UV-Vis dan kromatografi gas.

#### 4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jerami padi, jamur kancing, ragi tapai, etanol p.a, etanol teknis, akuades, kertas saring, alumunium foil, es batu,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

#### 4.2 Prosedur Kerja

##### 4.2.1 Preparasi sampel jerami padi

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jerami padi yang diperoleh dari salah satu petani di Dusun Kimpulan, Desa Umbulmartani, Kecamatan Ngemplak, Sleman, Yogyakarta. Jerami padi dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari kemudian dioven pada suhu  $50\text{ }^\circ\text{C}$ . Jerami padi kering diblender sehingga menjadi serbuk.

##### 4.2.2 Isolasi ekstrak enzim selulase jamur kancing

Enzim selulase diisolasi dari jamur kancing dengan cara 200 g jamur kancing ditambah 200 mL akuades kemudian dihaluskan. Jamur kancing halus kemudian disentrifugasi selama 5 menit sehingga cairan dan endapan akan terpisah. Supernatan diambil dan ditambah larutan buffer phospat pH 5,5.

##### 4.2.3 Proses *simultaneous saccharification and fermentation* (SSF) jerami padi

Sebanyak enam buah gelas diisi dengan serbuk jerami padi 10 g dan ditambah akuades 100 mL. Campuran diaduk sehingga menjadi bubur jerami.

Ekstrak enzim selulase jamur kancing ditambahkan sebanyak 1 mL dan ragi tapai sebanyak 5 g ke dalam masing-masing gelas. Campuran tersebut diaduk kemudian ditutup rapat dengan aluminium foil dan difermentasi dengan variasi waktu 1 hari, 3 hari dan 5 hari. Hasil fermentasi disaring menggunakan pompa vakum selanjutnya filtrat yang diperoleh dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

#### 4.2.4 Analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis

##### 4.2.4.1 Pembuatan reagen Jones

Reagen Jones dibuat dengan melarutkan  $K_2Cr_2O_7$  sebanyak 1,5 g ke dalam 50 mL  $H_2SO_4$  5 M. Proses pelarutan dilakukan dalam air es di *waterbath*.

##### 4.2.4.2 Pembuatan larutan induk 1%

Etanol 96% sebanyak 0,52 mL dimasukkan dalam labu ukur 50 mL kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas miniskus. Larutan induk etanol 1% digojog hingga tercampur.

##### 4.2.4.3 Pembuatan larutan standar

Larutan standar etanol konsentrasi 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; dan 0,5% dibuat dengan cara mengambil larutan induk etanol 1% dan akuades dengan komposisi seperti yang disajikan pada tabel di bawah. Larutan standar dalam tabung reaksi yang sudah siap ditambahkan reagen jones kemudian dipanaskan hingga mengalami perubahan warna. Larutan kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Tabel 4. Komposisi pembuatan larutan standar

Volume larutan induk etanol 1% (mL)	Volume akuades (mL)	Konsentrasi larutan standar (%)
2,5	22,5	0,1
5	20	0,2
7,5	17,5	0,3
10	15	0,4
12,5	12,5	0,5

#### 4.2.5 Analisis menggunakan kromatografi gas

Seperangkat alat kromatografi gas dihidupkan dan diatur tampilan analisis. Sampel diinjeksikan ke dalam kolom menggunakan jarum injeksi. Tempat injeksi dan detektor biasanya dibuat sedikit lebih panas dibandingkan dengan temperatur kolom untuk mempercepat penguapan sampel dan untuk mencegah kondensasi sampel. Pemisahan terjadi dalam kolom akibat partisi-partisi komponen sampel antara fasa gerak dan fasa diam. Hasil pemisahan senyawa akan dicatat oleh komputer dan akan keluar dalam bentuk kromatogram.

