

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Lingkungan Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia, sedangkan untuk tahap karakterisasi dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik Instrumen Universitas Jendral Ahmad Yani. Penelitian ini dimulai dari bulan Juni 2010 sampai dengan bulan November 2011.

#### **3.2 Tahap Penelitian**

Penelitian ini terdiri dari lima tahap yang meliputi :

1. Tahap Preparasi Sampel

Pada tahap ini, simplisia dikumpulkan sebanyak  $\pm 30\text{Kg}$  kemudian simplisia basah dibersihkan dan dikeringkan di udara terbuka dan dihaluskan. Simplisia yang telah halus kemudian siap untuk digunakan sebagai bahan isolasi.

2. Tahap Isolasi Senyawa Bioflokulan DYT

Isolasi Senyawa Bioflokulan DYT dilakukan dengan cara merefluks simplisia DYT menggunakan pelarut metanol. Langkah ini dilanjutkan dengan penghilangan klorofil dan senyawa non polar lainnya dengan menggunakan n-heksan

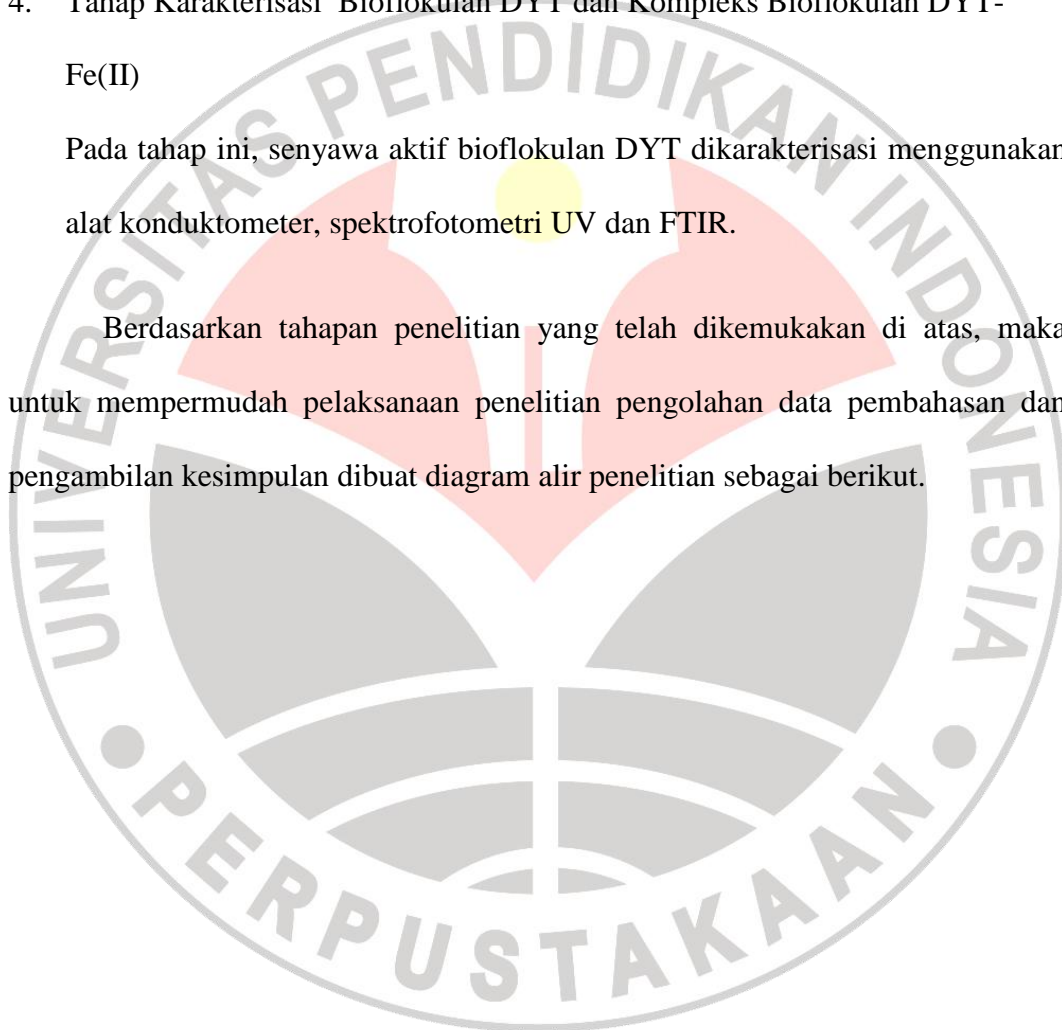
### 3. Tahap Pembentukan Senyawa Kompleks

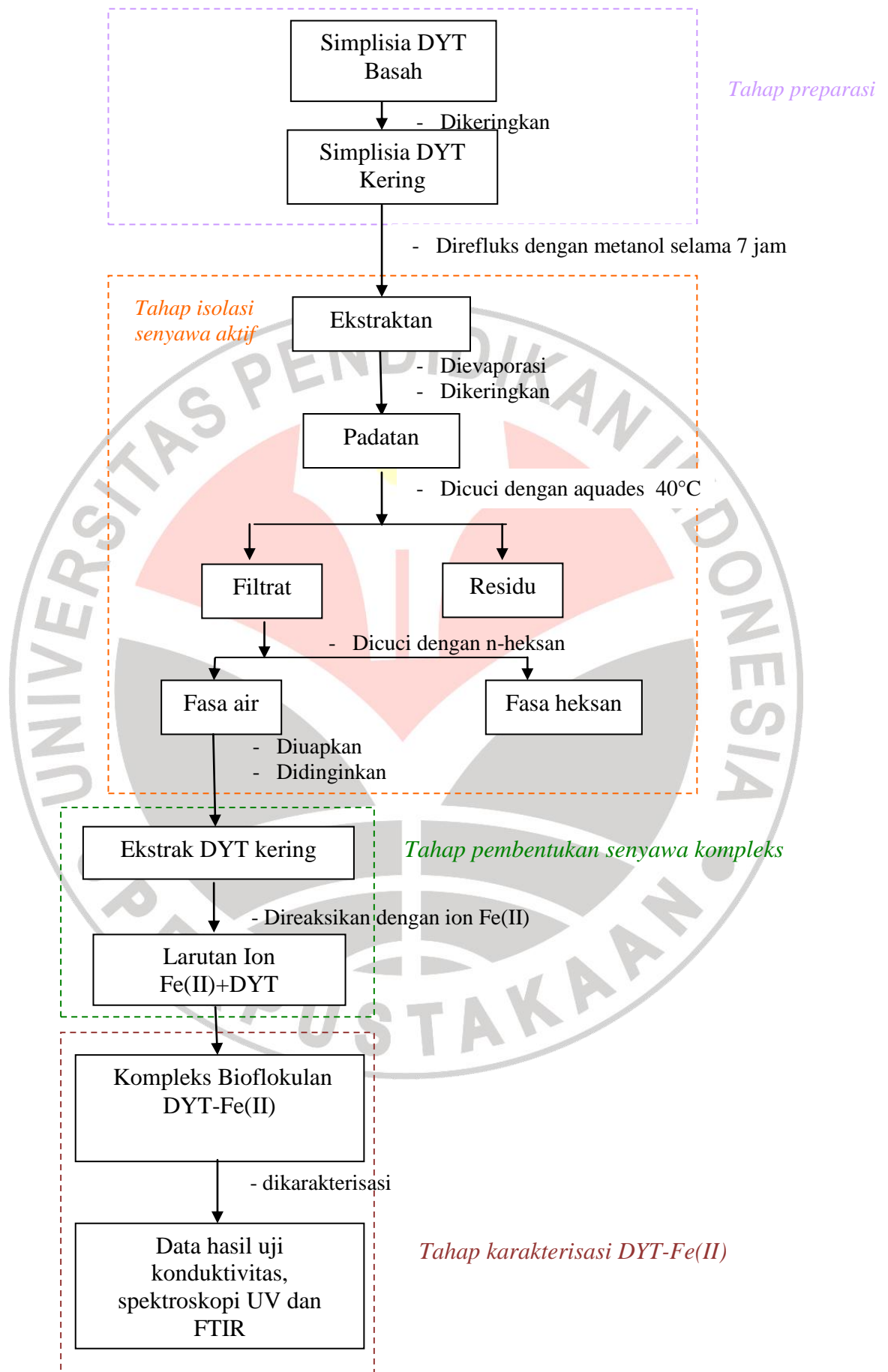
Pada tahap ini, senyawa aktif Bioflokulan DYT dicampurkan dengan larutan ion Fe(II) dari senyawa  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Senyawa kompleks yang dihasilkan dari ion Fe(II) dengan bioflokulan DYT kemudian dikarakterisasi.

### 4. Tahap Karakterisasi Bioflokulan DYT dan Kompleks Bioflokulan DYT-Fe(II)

Pada tahap ini, senyawa aktif bioflokulan DYT dikarakterisasi menggunakan alat konduktometer, spektrofotometri UV dan FTIR.

Berdasarkan tahapan penelitian yang telah dikemukakan di atas, maka untuk mempermudah pelaksanaan penelitian pengolahan data pembahasan dan pengambilan kesimpulan dibuat diagram alir penelitian sebagai berikut.





**Gambar 3.1** Bagan Alir Penelitian

### 3.3 Alat dan Bahan

#### 3.3.1 Alat

Satu buah blender merek Philips tipe HR 2815/a, 1 set alat refluks, 1 set *Rotary evaporator* merek Butchi Heating Bath B-490, 1 set neraca digital, 1 buah corong Buchner, 1 buah labu erlenmeyer berpenghisap 250 mL, 4 buah gelas kimia masing-masing 50 mL, 100 mL dan 250 mL, 1 buah gelas kimia masing-masing 600 mL, 1000 mL dan 2000 mL, 1 buah termometer alkohol 100°C, 1 buah gelas ukur masing-masing 100 mL, dan 500 mL, 1 buah corong pisah 250 mL, 15 buah kaca arloji, Aluminium foil, kertas saring, dan kain keras.

#### 3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel bioflokulan DYT, metanol teknis, n-heksan teknis, aquades, larutan standar KCl 0,001 M, Ammonium Ferro Sulfat Heksahidrat  $[(\text{NH}_4)_2.\text{Fe}(\text{SO}_4)_2.6\text{H}_2\text{O}]$ .

### 3.4 Prosedur Kerja

#### 3.4.1 Pembuatan Larutan Induk

1. Larutan Induk DYT 2000 ppm

Larutan induk DYT 2000 ppm dibuat dengan melarutkan 2 gram senyawa aktif bioflokulan DYT dalam labu ukur 1000 ml, menggunakan pelarut metanol.

2. Larutan  $[(\text{NH}_4)_2.\text{Fe}(\text{SO}_4)_2.6\text{H}_2\text{O}]$  2000 ppm

Pembuatan larutan  $[(\text{NH}_4)_2.\text{Fe}(\text{SO}_4)_2.6\text{H}_2\text{O}]$  2000 ppm dibuat dengan melarutkan 14,01 gram kristal  $[(\text{NH}_4)_2.\text{Fe}(\text{SO}_4)_2.6\text{H}_2\text{O}]$  dalam labu ukur 1000 ml, menggunakan pelarut metanol.

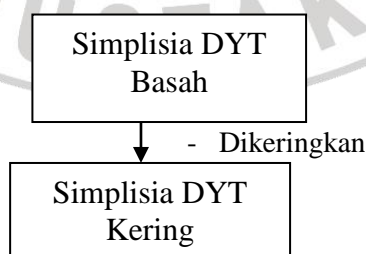
3. Larutan kompleks Bioflokulan DYT-Fe(II) 2000 ppm

Larutan induk Bioflokulan DYT-Fe(II) 2000 ppm dibuat dengan mencampurkan larutan bioflokulan DYT 2000 ppm dengan larutan  $[(\text{NH}_4)_2.\text{Fe}(\text{SO}_4)_2.6\text{H}_2\text{O}]$  2000 ppm dalam gelas kimia.

### 3.4.2 Tahap Preparasi Sampel

Simplisia dikumpulkan lalu ditimbang massa basah nya dan dibersihkan dari kotoran yang menempel. Setelah itu, simplisia dikeringkan di udara terbuka selama beberapa hari. Selama pengeringan, simplisia dihindarkan dari sinar matahari secara langsung serta dijaga agar tidak membusuk. Simplisia yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender. Setelah itu, simplisia ditimbang massa keringnya.

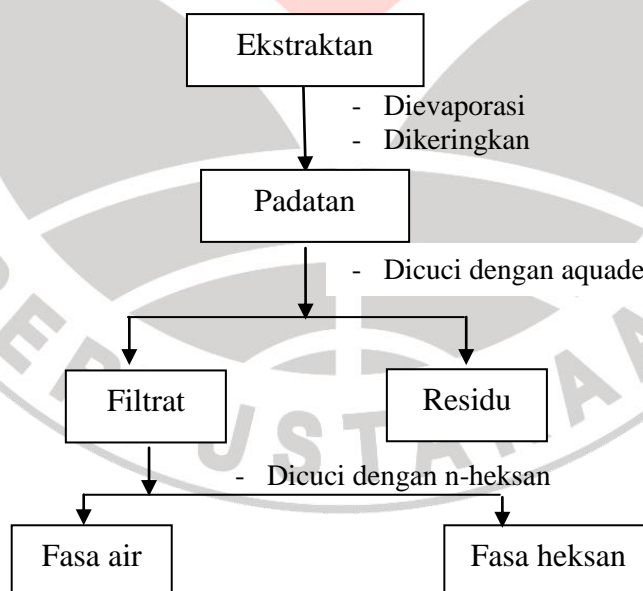
Bagan alir tahap preparasi dapat dilihat pada gambar 3.2.



**Gambar 3.2** Bagan Alir Tahap Preparasi Sampel

### 3.4.3 Tahap Isolasi Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

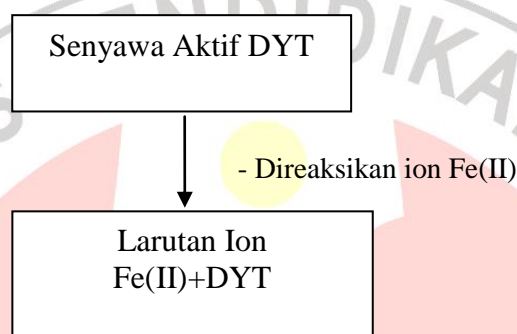
Simplisia kering dimasukkan ke dalam labu dasar bulat sampai dua pertiga volume labu. Kemudian ditambahkan pelarut metanol. Setelah itu, campuran direfluks selama tujuh jam lalu disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian dihilangkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak tersebut kemudian dibiarkan sampai mengering. Padatan yang diperoleh lalu dicuci dengan aquades 40°C. Setelah pencucian, campuran disaring di bawah vakum. Filtrat yang diperoleh kemudian dicuci dengan n-heksan. Pencucian tersebut dilakukan sampai fasa n-heksan tak berwarna. Fasa air yang diperoleh lalu dibiarkan sampai mengering. Bagan alir tahap isolasi senyawa aktif DYT dapat dilihat pada gambar 3.3.



**Gambar 3.3** Bagan Alir Tahap Isolasi Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

### 3.4.4 Tahap Pembentukan Senyawa Kompleks

Senyawa aktif bioflokulan DYT yang telah kering kemudian ditimbang dan dilarutkan dengan metanol. Larutan senyawa aktif bioflokulan DYT kemudian dicampurkan dengan larutan ion logam. Bagan alir tahap pembentukan senyawa kompleks dapat dilihat pada gambar 3.4.



**Gambar 3.4** Bagan Alir Tahap Pembentukan Senyawa Kompleks

### 3.5 Karakterisasi Senyawa Aktif Bioflokulan DYT dan Hasil Interaksinya dengan Ion Logam

Pada tahap karakterisasi senyawa aktif bioflokulan DYT dilakukan uji konduktivitas, uji struktur senyawa aktif dan uji panjang gelombang maksimum serapan larutan bioflokulan DYT dan kompleks bioflokulan DYT-Fe(II).

#### 3.5.1 Tahap Uji Konduktivitas

Sampel yang diuji terdiri dari: senyawa aktif bioflokulan DYT hasil proses isolasi, larutan ion Fe(II) serta campuran dari larutan ion Fe(II) dengan senyawa aktif bioflokulan DYT. Sebelum dilakukan pengukuran, terlebih dahulu dilakukan standarisasi alat konduktivitas dengan menggunakan larutan standar KCl 0,001 M.



Larutan induk bioflokulan DYT 2000 ppm yang telah disiapkan, dipipet dengan variasi volume masing-masing sebanyak 25 mL, 50 mL, 75 mL, 100 mL, 125 mL, 150 mL, 175 mL, dan 200 mL. Kemudian masing-masing variasi volume tersebut diencerkan dengan menggunakan metanol hingga volume akhirnya mencapai 200 mL. Pengukuran konduktivitas untuk larutan induk  $[(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$  2000 ppm dilakukan dengan cara dipipet dengan variasi volume masing-masing sebanyak 25 mL, 50 mL, 75 mL, 100 mL, 125 mL, 150 mL, 175 mL, dan 200 mL. Kemudian masing-masing variasi volume tersebut diencerkan dengan menggunakan metanol hingga volume akhirnya mencapai 200 mL. Untuk pengukuran konduktivitas campuran bioflokulan DYT dengan larutan ion Fe(II) dapat dilihat pada tabel 3.1.



**Tabel 3.1** Variasi Volume pembentukan Campuran Bioflokulan DYT dengan Larutan ion Fe(II).

Volume Larutan Ion Fe(II)	Volume Larutan Bioflokulan DYT	Volume Total Campuran
0 mL	200 mL	200 mL
25 mL	175 mL	200 mL
50 mL	150 mL	200 mL
75 mL	125 mL	200 mL
100 mL	100 mL	200 mL
125 mL	75 mL	200 mL
150 mL	50 mL	200 mL
175 mL	25 mL	200 mL
200 mL	0 mL	200 mL

### 3.5.2 Tahap Uji Panjang Gelombang Maksimum Serapan Larutan Bioflokulan DYT Dan Senyawa Kompleks Bioflokulan DYT-Fe(II)

Analisis ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV/VIS Shimadzu 1240. Larutan bioflokulan DYT dibuat dengan melarutkan sekitar 0,0025 gram senyawa aktif bioflokulan DYT dengan pelarut metanol sampai volume 250mL. Larutan ion Fe(II) dibuat dengan melarutkan 0,017 gram kristal  $[(\text{NH}_4)_2.\text{Fe}(\text{SO}_4)_2.6\text{H}_2\text{O}]$  dengan metanol sampai volume 250 mL. Larutan kemudian di masukan ke dalam kuvet dan kemudian di scan pada rentang panjang gelombang 190-390 nm.

### 3.5.3 Tahap Uji Struktur Senyawa Aktif Bioflokulan DYT dan Kompleks Bioflokulan DYT-Fe(II)

Analisis struktur senyawa aktif bioflokulan DYT dan kompleks ini dilakukan dengan menggunakan alat *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). Senyawa aktif bioflokulan DYT dan kristal  $[(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$  ditimbang masing-masing sebanyak 0,125 gram dan 0,87 gram kemudian masing-masing dilarutkan dengan metanol sampai volume 250 mL. Masing-masing larutan kemudian diambil sebanyak 50 mL dan dicampurkan di dalam gelas kimia. Setiap sampel larutan kemudian dicampur dengan serbuk KBr dan digerus di dalam alat *mortir agate* sampai halus dan campurannya merata. Campuran tersebut kemudian dimasukkan ke dalam suatu cetakan dan ditekan dengan penekan hidrolik sehingga diperoleh suatu lempeng tipis yang transparan. Setelah itu, lempeng tipis dimasukkan ke dalam *pellet holder* dan ditempatkan di dalam alat FTIR.