

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimen, karena dilakukan manipulasi terhadap variabel dan adanya kontrol (Nazir, 1983: 284).

#### **B. Desain Penelitian**

Penelitian dilakukan di laboratorium dengan menggunakan biomassa kering mikroalga *Spirullina platensis* dan logam kromium dalam senyawa krom nitrat ( $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) sebagai bahan yang akan diuji. Rancangan dasar penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menempatkan sampel pada blok-blok perlakuan secara acak. Volume biomassa mikroalga *S. platensis* yang digunakan adalah 0,1 g, 0,3 g, 0,5 g, 0,7 g, 0,9 g dan 1,1 g dan volume logam kromium yang digunakan yaitu 25 ml dengan konsentrasi logam kromium 297,5 ppm (Hilman, 2008: 31) dengan jumlah pengulangan sebanyak empat kali. Penentuan banyaknya pengulangan pada RAL menurut Sugandi dan Sugiarto (1994) didasarkan atas nilai minimal derajat bebas galat ( $>20$ ). Banyaknya pengulangan diperoleh dengan rumus sebagai berikut :

$$t(r-1) \geq 20$$

$$6(r-1) \geq 20$$

$$6r-6 \geq 20$$

$$6r \geq 26$$

$$r \geq 4,33$$

Penempatan pada blok-blok perlakuan dilakukan dengan cara pengundian kertas yang telah diberi nama sampel dan nomor pengulangannya.

Tabel 3.1 Penempatan botol pada *Incubator shaker*

0,7 d	0,3 c	1,1 c	0,3 a	0,5 d	0,5 a
1,1 b	0,5 c	0,1 b	0,7 b	0,3 d	1,1 a
0,9 c	0,1 c	0,1 d	1,1 d	0,9 d	0,3 b
0,5 b	0,1 a	0,9 a	0,7 c	0,9 b	0,7 a

Ket : misal 0,7 d : angka 0,7 menunjukkan berat kering spirulina, huruf d menunjukkan pengulangan yang keempat.

### C. Populasi dan Sampel

#### a. Populasi

Populasi yang digunakan adalah mikroalga *S. platensis*.

#### b. Sampel

Sampel yang digunakan adalah mikroalga *S. platensis* yang terdapat dalam 25 ml larutan kromium.

### D. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Ekologi, Laboratorium Fisiologi Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI dan Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Lingkungan Jurusan Kimia FMIPA UNPAD. Waktu yang diperlukan mulai dari persiapan hingga penyusunan laporan penelitian sekitar 4 bulan.

## E. Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan materi utama yaitu biomassa mikroalga *Spirulina platensis* dan logam kromium. Alat dan bahan yang digunakan selama penelitian adalah seperti yang tercantum pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

No.	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1.	AAS	AA-6501S Shimazu	1 unit
2.	<i>Beaker glass</i>	250 ml	3 buah
3.	<i>Beaker glass</i>	500 ml	2 buah
4.	<i>Beaker glass</i>	1 L	1 buah
5.	Botol kaca	100 ml	48 buah
6.	<i>Cool box</i>	Lion Star	1 buah
7.	Corong Buchner	-	1 buah
8.	Corong saring	-	6 buah
9.	Gelas ukur	25 ml	3 buah
10.	Gelas ukur	50 ml	3 buah
11.	<i>Incubator shaker</i>	Eyela Multi Shaker MMS	1 buah
12.	Kertas saring Whatman	No. 42	Secukupnya
13.	Kipas angin	Sanyo	1 buah
14.	Labu ukur	250 ml	1 buah
15.	Labu ukur	1 L	1 buah
16.	Lemari pendingin	Sharp	1 buah
17.	Mikropipet	10 $\mu$ m	2 buah
18.	Mortar & alu	-	1 buah
19.	<i>Object glass</i>	-	2 buah
20.	pH meter	WTW pH 90, electrode tipe ESO	1 unit
21.	Pipet	-	3 buah
22.	Plastik tahan panas	-	Secukupnya
23.	<i>Sentrifuge filter vaccum</i>	Hettich Zentrifugen	1 unit
24.	Spatula	-	4 buah
25.	Tabung reaksi	-	48 buah
26.	Tabung sentrifugasi	-	4 buah
27.	Timbangan analitik	Eyela	1 unit

No.	Nama Bahan	Jumlah
1.	Aquadest	5 liter
2.	Asam Klorida (HCl) 1 N	Secukupnya
3.	Asam Nitrat (HNO <sub>3</sub> ) pekat	480 ml
4.	Krom nitrat (Cr(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .9H <sub>2</sub> O)	2.2895 g
5.	Natrium Hidroksida (NaOH) 1N	Secukupnya

## F. Langkah Kerja

Terdapat beberapa tahapan kerja dalam melakukan penelitian ini yaitu tahap persiapan, pra penelitian, penelitian inti dan pengolahan data.

### 1. Tahap Persiapan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan untuk pra penelitian dan penelitian inti dipersiapkan dan dibersihkan. Mikroalga yang digunakan yaitu kultur murni *S. Platensis* yang diperoleh dari Laboratorium Pakan BBPBAP Jepara dan logam kromium yang digunakan berasal dari senyawa krom nitrat (Cr(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.9H<sub>2</sub>O).

#### a. Pembuatan serbuk *S. Platensis*

*Spirulina platensis* yang telah diidentifikasi (Gambar 3.1) kemudian disaring menggunakan kain satin (Jourdan, 2001: 7), hal ini dikemukakan pula oleh Bachtiar (2007: 10) bahwa pemanenan alga *S. platensis* dapat dilakukan dengan cara menyaring alga tersebut dengan menggunakan saringan kain nylon yang berukuran 60-70 mesh, hal ini dilakukan untuk memisahkan spirulina dari pengotor-pengotor yang ada (Jourdan, 2001: 7).



**Gambar 3.1** *S. Platensis* sebelum disaring (Sumber: dokumentasi pribadi).

Setelah bersih, lalu *S. platensis* tersebut diratakan di atas baki yang dialasi dengan plastik. Kemudian dikeringkan dengan menggunakan kipas angin selama kurang lebih 48 jam hingga kering. *S. platensis* yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan alu dalam mortar seperti dalam Gambar 3.2, lalu ditimbang sesuai dengan kebutuhan.



**Gambar 3.2** Pembuatan serbuk *S. Platensis* (Sumber: dokumentasi pribadi).

b. Pembuatan larutan Krom nitrat ( $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ )

Senyawa krom nitrat ditimbang sesuai dengan hasil perhitungan, kemudian dilarutkan dengan aquades didalam labu ukur sampai dengan tanda batas. Lalu dihomogenkan (Gambar 3.3). Untuk perhitungan dari krom nitrat ini dapat dilihat pada Lampiran 3.1.



**Gambar 3.3** Larutan stok krom nitrat ( $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) (Sumber: dokumentasi pribadi).

2. Tahap Penelitian inti

- a. Uji biosorpsi logam kromium (Cr) oleh biomassa kering *S. platensis*.
- 24 botol kaca 100 ml diisi dengan larutan krom nitrat sebanyak 25 ml.
  - pH awal larutan diukur dengan menggunakan pH meter. Pengaturan pH dilakukan dengan menambahkan  $\text{HNO}_3$  1N atau NaOH 1N. Pada penelitian ini pH yang digunakan adalah pH 5 (Sala Cossich *et al.*, 2002).
  - Biomassa *S. platensis* dengan berat 0,1 g, 0,3 g, 0,5 g, 0,7 g, 0,9 g dan 1,1 g dikontakan dengan larutan krom nitrat, kemudian masing-masing larutan dalam botol diagitasi pada *Incubator shaker* dengan kecepatan 200 rpm

(Inthorn *et al.*, 2002; Elmaci *et al.*, 2007) selama 30 menit (Inthorn *et al.*, 2002).



**Gambar 3.4** (a). Krom nitrat sebelum dikontakkan, (b). Proses agitasi saat pengontakkan (Sumber: dokumentasi pribadi).

- b. Penentuan kadar logam yang terserap oleh biomassa spirulina.
- Setelah pengontakan, biomassa *S. platensis* dipisahkan dari larutan krom nitrat dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 10 menit kemudian disaring menggunakan Whatman pori 0,42  $\mu\text{m}$  (Sala Cossich *et al.*, 2002; Elmaci, *et al.*, 2007)
  - Biomassa *S. platensis* yang telah dipisahkan dari larutan krom nitrat kemudian dicuci dengan menggunakan aquades sebanyak 25 ml.
  - Residu yang telah dicuci kemudian ditambah dengan  $\text{HNO}_3$  pekat sebanyak 15 ml, lalu didiamkan selama 20-30 menit sambil dipanaskan pada *waterbath* sampai residunya larut semua. Setelah itu disaring dengan menggunakan kertas saring. Residu yang tersisa pada kertas saring

diambil, kemudian ditambahkan lagi dengan  $\text{HNO}_3$  pekat sebanyak 5 ml sambil dipanaskan (residu sampai larut semua), lalu didinginkan.

- Setelah dingin, kemudian disaring lagi sambil ditambah dengan aquades sampai dengan volume 25 ml. Untuk filtrat yang masih terdapat endapan disaring dan di tambah lagi dengan aquades sampai volume 25 ml.
- Filtrat tersebut kemudian diambil untuk ditentukan konsentrasi logam kromium dengan menggunakan AAS, dengan nyala udara asetilen pada panjang gelombang yang disesuaikan dengan jenis logam kromium yaitu 357,9 nm (Sala Cossich, *et al.*, 2002; Elmaci *et al.*, 2007).



(a)



(b)

**Gambar 3.5** (a). Sampel yang telah diagitasi, (b). Proses destruksi (Sumber: dokumentasi pribadi).

### 3. Pengolahan data

Data yang diperoleh yaitu konsentrasi logam kromium awal dan akhir penelitian dari masing-masing perlakuan. Untuk perhitungan konsentrasi logam kromium yang telah terserap oleh biomassa spirulina digunakan metode Langmuir dengan persamaan sebagai berikut :

$$C_{\text{terserap}} = C_{\text{awal}} - C_{\text{akhir}}$$

Perhitungan persentase ion logam dan serapan ion logam untuk setiap gram biomassa, dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut (Volesky, 1999; Inthorn *et al.*, 2002) :

$$\% \text{ ion logam terserap} = C_{\text{terserap}} / C_{\text{awal}} \times 100 \%$$

$$q = C_{\text{terserap}} \times V / W$$

dengan :  $C_{\text{terserap}}$  = konsentrasi logam terserap (mg/L)

$C_{\text{awal}}$  = konsentrasi logam sebelum dikontakan dengan biomassa (ml/L)

$C_{\text{akhir}}$  = konsentrasi logam yang tersisa pada larutan setelah pengontakan dengan biomassa (ml/L)

$V$  = volume larutan (L)

$W$  = jumlah biomassa (g)

$q$  = kapasitas biosorpsi (mg/g)

## G. Analisis Data

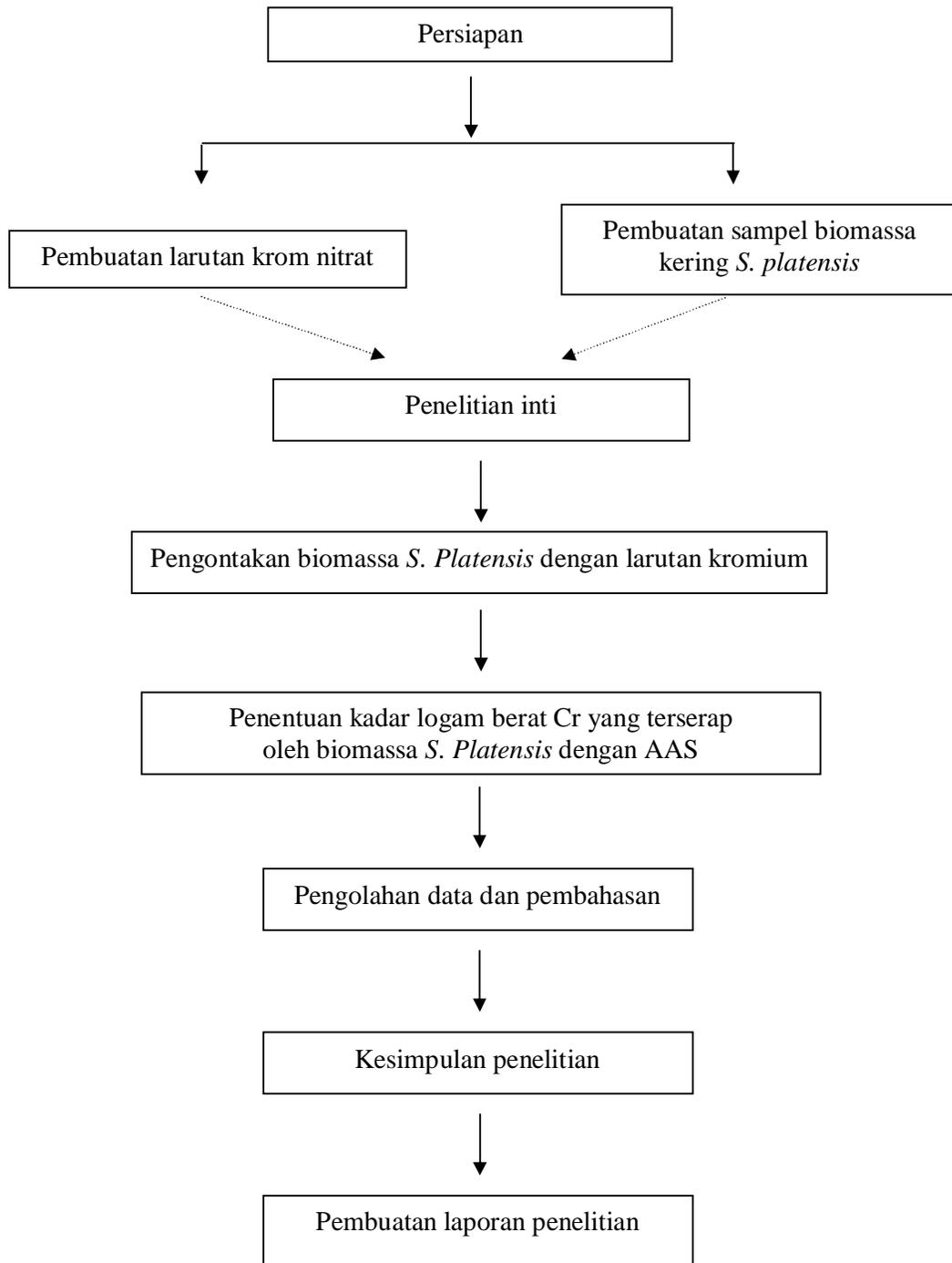
Data yang telah diperoleh dianalisis dengan menggunakan program *spss for windows* versi 12. Pertama diuji kesamaan variansinya (Homogenitas) dengan menggunakan uji Levene (Fowler and Cohen, 1990: 181).  $H_0$  adalah data kapasitas biosorpsi logam berat kromium memiliki variansi yang sama (homogen). Untuk penilaiannya adalah bila nilai signifikansinya  $> 0.05$  maka  $H_0$  diterima atau data kapasitas biosorpsi logam berat kromium memiliki varians yang sama (homogen), sedangkan bila nilai signifikansinya  $< 0.05$  maka  $H_0$

ditolak atau data kapasitas biosorpsi logam berat kromium memiliki varians yang berbeda (tidak homogen).

Untuk melihat data berdistribusi normal atau tidak, selanjutnya data diolah dengan menggunakan Kolmogorov-Smirnov.  $H_0$  adalah data kapasitas biosorpsi logam berat kromium berdistribusi normal. Kriteria pengujiannya adalah bila nilai signifikansinya  $> 0.05$  maka  $H_0$  diterima atau dapat dikatakan data kapasitas biosorpsi logam berat kromium berdistribusi normal, sedangkan bila nilai signifikansinya  $< 0.05$  maka  $H_0$  ditolak atau kapasitas biosorpsi logam berat kromium tidak berdistribusi normal (Fowler and Cohen, 1990: 74).

Hipotesis nolnya adalah tidak terdapat perbedaan median dari besarnya kapasitas biosorpsi logam kromium pada variasi berat biomassa kering *Spirulina platensis*. Kriterianya adalah jika  $K$  hitung  $< K$  tabel maka  $H_0$  diterima artinya tidak terdapat perbedaan median dari besarnya kapasitas biosorpsi logam kromium pada variasi berat biomassa kering *Spirulina platensis*, sedangkan apabila  $K$  hitung  $> K$  tabel maka  $H_0$  ditolak artinya terdapat perbedaan median dari besarnya kapasitas biosorpsi logam kromium pada variasi berat biomassa kering *Spirulina platensis*. Hasil perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 3.2.

## H. Alur Penelitian



**Gambar 3.6** Alur Penelitian