

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Lingkungan, dan Laboratorium Kimia Analitik Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia. Penelitian ini dimulai dari bulan April 2009 sampai dengan bulan Februari 2010.

3.2 Sistematika Penelitian

Penelitian ini terdiri dari lima tahap yang meliputi :

1. Tahap Preparasi Sampel

Pada tahap ini, simplisia DYT basah dibersihkan dan dikeringkan di udara terbuka kemudian dihaluskan menggunakan blender. Simplisia kering yang telah halus kemudian digunakan untuk perlakuan selanjutnya.

2. Tahap Isolasi Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

Isolasi senyawa aktif bioflokulan DYT dilakukan dengan cara maserasi. Simplisia kering dimaserasi menggunakan pelarut (air, larutan 0,01M $MgCl_2$, larutan 0,1M $MgCl_2$, larutan 1M $MgCl_2$). Langkah selanjutnya adalah penghilangan senyawa nonpolar menggunakan n-heksan dan kloroform, kemudian dilakukan *freez-drying* untuk mengilangkan air.

3. Tahap Pemurnian Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

Senyawa aktif bioflokulan DYT dimurnikan dengan cara kristalisasi dan pencucian kristal menggunakan pelarut metanol, untuk hasil maserasi yang menggunakan pelarut (air, larutan 0,01M $MgCl_2$, larutan 0,1M $MgCl_2$). Sementara itu, pemurnian untuk hasil maserasi yang menggunakan larutan 1M $MgCl_2$ dilakukan dengan cara rekristalisasi menggunakan pelarut metanol.

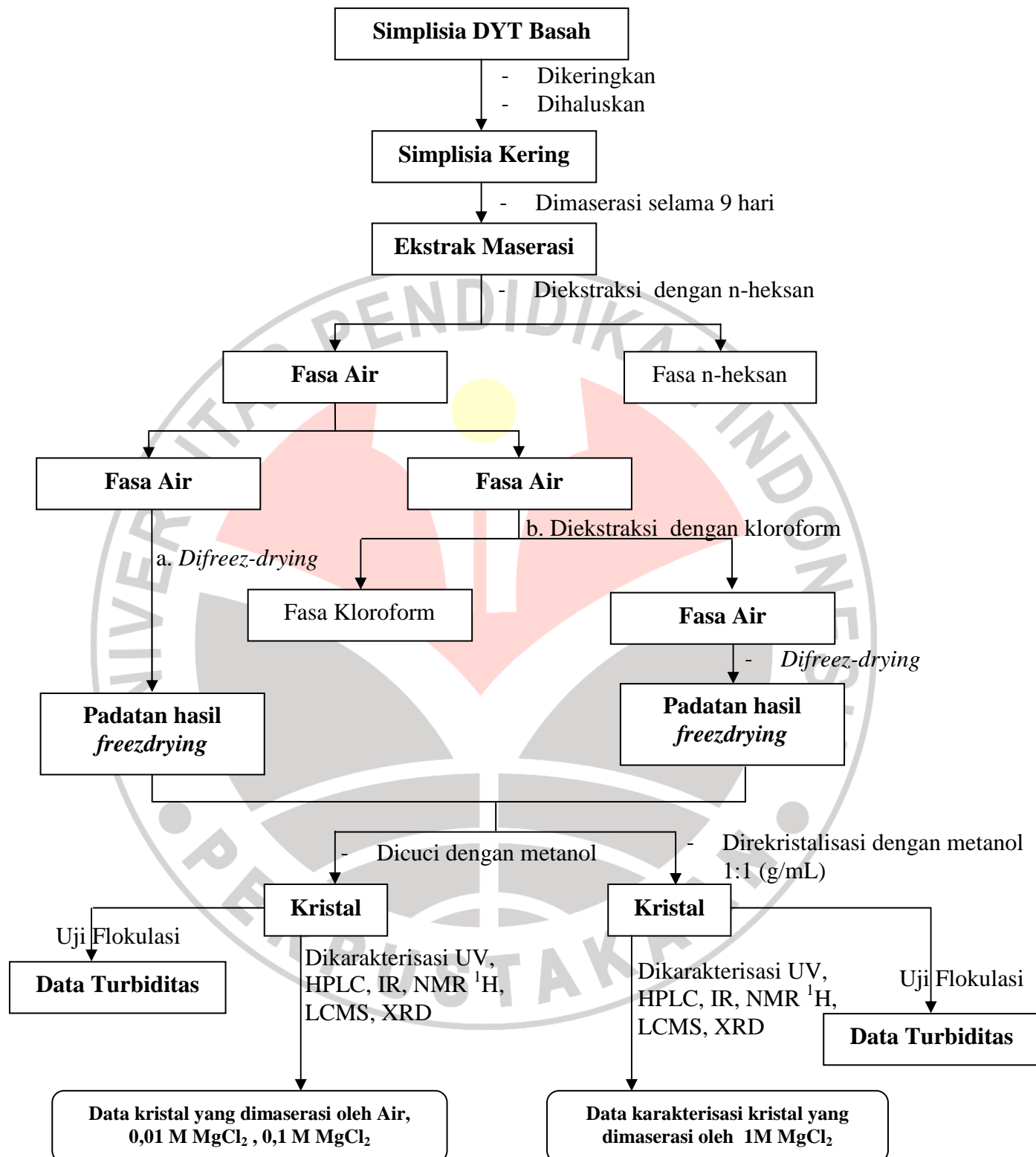
4. Tahap Karakterisasi Kristal Bioflokulan DYT

Pada tahap ini, kristal bioflokulan DYT dikarakterisasi menggunakan Spektroskopi UV, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), spektrofotometri *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), *Nuclear magnetic resonance* (NMR) 1H , *Liquid chromatography-mass spectrometry* (LCMS), dan *X-Ray Diffraction* (XRD).

5. Tahap Uji Aktivitas Flokulasi

Tahap uji aktivitas flokulasi dilakukan untuk menguji efektivitas flokulasi kristal bioflokulan-DYT yang dihasilkan.

Bagan alir dari penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada tahap isolasi dan pemurnian adalah 1 buah blender merek Philips yang digunakan untuk menghaluskan simplisia, 2 set kotak kaca yang digunakan untuk proses maserasi, kemudian 1 set neraca digital, 1 buah corong Buchner, 1 buah labu erlenmeyer berpenghisap 500 mL, 4 buah gelas kimia (masing-masing 25 mL, 100 mL dan 250 mL), 1 buah gelas kimia (masing-masing 600 mL, 1000 mL dan 2000 mL) 1 buah gelas ukur masing-masing 50 mL dan 250 mL, 2 buah corong pisah 500 mL, 5 buah kaca arloji, aluminium foil dan 1 buah *magnetik stirer*.

Selain itu, peralatan yang digunakan pada tahap karakterisasi kristal bioflokulan DYT adalah 1 set Spektrofotometer UV/VIS merek Shimadzu tipe 1240, 1 set alat HPLC merek Hitachi tipe D-7000, 1 set Spektrofotometer FTIR merek Shimadzu tipe 8400, 1 set alat XRD tipe N.N.-999 merk PANalytical, 1 set alat NMR 400Mhz dan 1 set alat LCMS Hitachi L 6200.

Pada tahap uji aktivitas flokulasi peralatan yang digunakan adalah 2 set alat pengaduk mekanik merek Eyla Mazela tipe 1100, 1 set alat Turbidimeter, 1 set pH meter, 1 buah labu ukur 250 mL, 1 buah labu ukur 10 mL, 2 buah mikropipet merek Sibata masing-masing 5 mL dan 10 mL, 5 buah gelas kimia 250 mL, 1 set neraca digital, dan 1 buah botol timbang

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia bioflokulan DYT, aquades, $MgCl_2$, NaOH, n-heksan, kloroform, alum (tawas), dan KPE (kation polielektrolit).

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pembuatan Larutan

1. Pembuatan Larutan $MgCl_2$ 1M

Padatan $MgCl_2$ ditimbang sebanyak 95 gram kemudian dilarutkan dengan aquades pada pH 10 dan dimasukkan ke dalam labu ukur 1 L. Setelah itu, ditambahkan aquades pada pH 10 sampai volume larutan mencapai tanda batas.

2. Pembuatan Larutan $MgCl_2$ 0,1M

Padatan $MgCl_2$ ditimbang sebanyak 9,5 gram kemudian dilarutkan dengan aquades pada pH 10 dan dimasukkan ke dalam labu ukur 1 L. Setelah itu, ditambahkan aquades pada pH 10 sampai volume larutan mencapai tanda batas.

3. Pembuatan Larutan $MgCl_2$ 0,01M

Padatan $MgCl_2$ ditimbang sebanyak 0,95 gram kemudian dilarutkan dengan aquades pada pH 10 dan dimasukkan ke dalam labu ukur 1 L. Setelah itu, ditambahkan aquades pada pH 10 sampai volume larutan mencapai tanda batas.

4. Pembuatan Larutan $Al_2(SO_4)_3$ 10.000 ppm

Padatan $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ ditimbang sebanyak 2,5 g kemudian dilarutkan dengan aquades dan dimasukkan ke dalam dalam labu ukur 250 mL. Setelah itu, ditambahkan aquades sampai volume larutan mencapai tanda batas.

5. Pembuatan larutan Flokulan KPE

Padatan KPE ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dengan aquades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Setelah itu, ditambahkan aquades sampai volume larutan mencapai tanda batas.

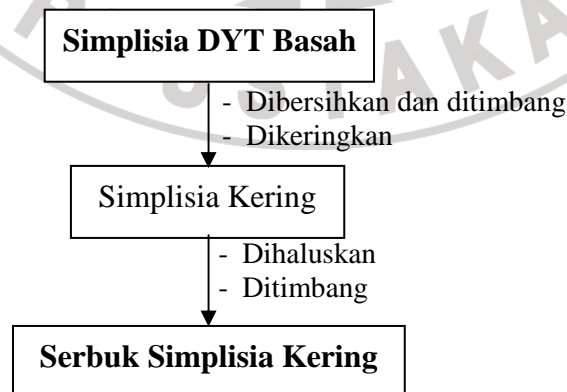
6. Pembuatan larutan Bioflokulan DYT

Padatan kristal bioflokulan DYT ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dengan aquades dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Setelah itu, ditambahkan aquades sampai volume larutan mencapai tanda batas.

3.4.2 Tahap Preparasi Sampel

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

Bagan alir tahap preprasi sampel dapat dilihat pada Gambar 3.2.

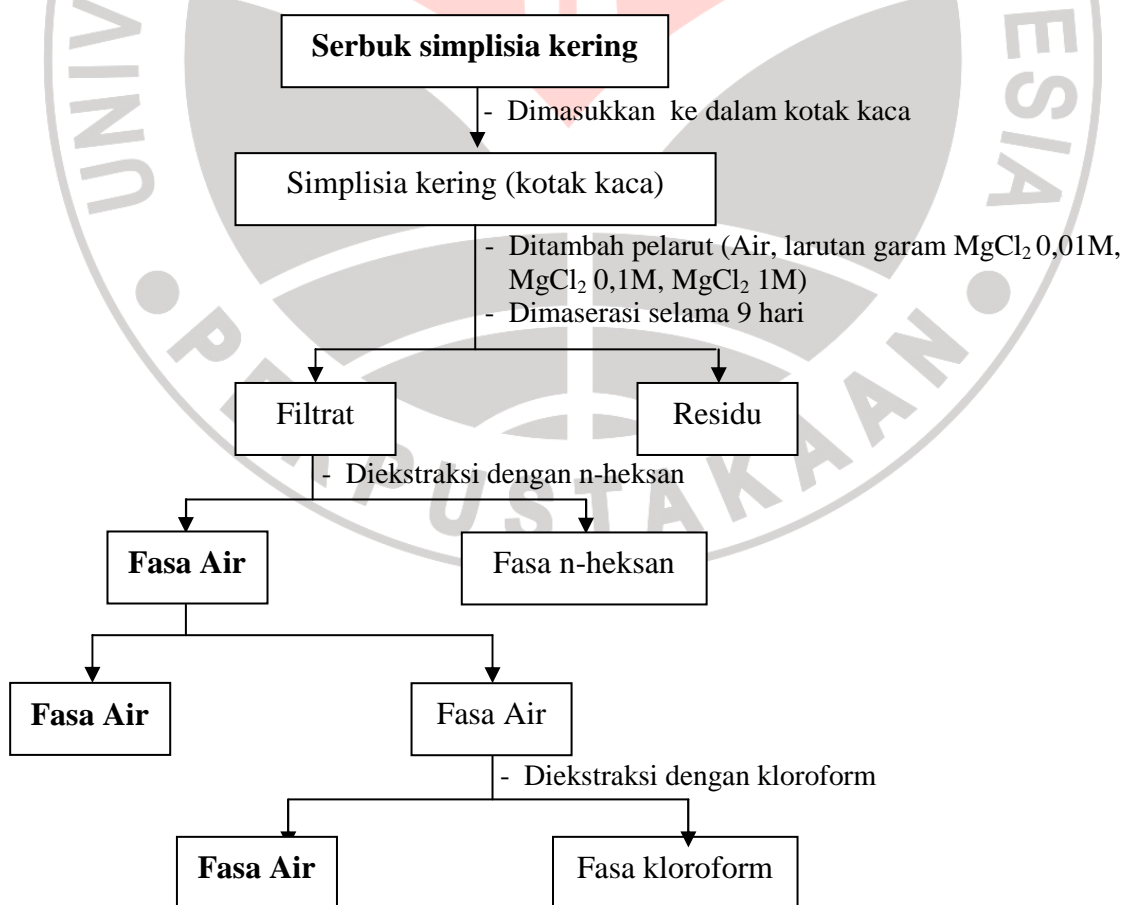


Gambar 3.2 Bagan Alir Preparasi Sampel

3.4.3 Tahap Isolasi Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

Sampel simplisia kering dimasukkan ke dalam kotak kaca. Kemudian ditambahkan pelarut (air, larutan garam $MgCl_2$ 0,01M, larutan garam $MgCl_2$ 0,1M, larutan garam $MgCl_2$ 1M) sampai semua simplisia terendam. Setelah itu, campuran dimaserasi selama 9 hari lalu disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian diekstraksi menggunakan pelarut n-heksan dengan perbandingan volume 1:1. Ekstraksi tersebut dilakukan sampai fasa n-heksan tak berwarna. Fasa air yang diperoleh lalu dibagi dua, pertama dilanjutkan untuk dikristalisasi dan kedua diekstraksi menggunakan pelarut kloroform dengan perbandingan volume 1:1 sampai fasa kloroform tidak berwarna. Fasa air yang diperoleh lalu dikristalisasi.

Bagan alir tahap isolasi dapat dilihat pada Gambar 3.3



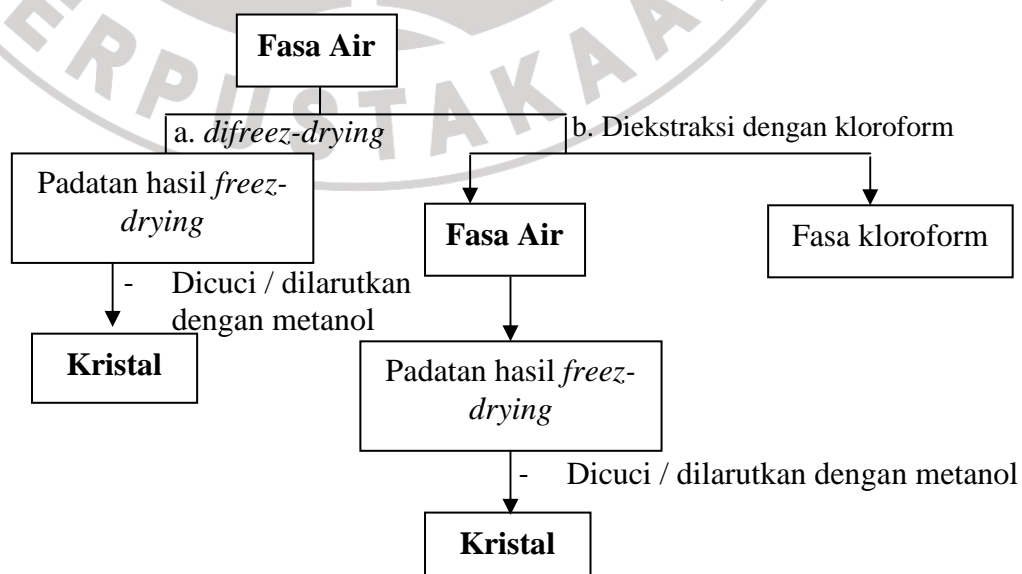
Gambar 3.3 Bagan Alir Isolasi Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

3.4.4 Tahap Pemurnian Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

Proses pemurnian dilakukan dengan cara kristalisasi. Ekstrak fasa air yang diperoleh, dilakukan *freeze-drying* untuk menghilangkan air sampai terbentuk kristal. Kristal yang masih bercampur dengan pengotor, dicuci berulang kali dengan metanol sampai diperoleh filtrat yang hampir tidak berwarna dan dibantu dengan menggunakan *magnetik stirer* (untuk hasil maserasi air, larutan garam MgCl_2 0,01M dan larutan garam MgCl_2 0,1M). Setelah itu disaring menggunakan corong buchner

Sementara itu, kristal yang diperoleh dari ekstraksi larutan garam MgCl_2 1M direkristalisasi untuk mendapatkan kualitas kristal yang lebih baik. Beberapa gram kristal ditambah metanol dengan perbandingan 1:1 (g/mL) sampai semua kristal larut dan disimpan di dalam lemari pendingin selama 1 hari. Kemudian dikeluarkan dari lemari pendingin, dan dibiarkan sampai sebagian metanolnya menguap. Kristal akan terbentuk dan kemudian disaring menggunakan corong buchner.

Bagan alir pemurnian senyawa aktif bioflokulan DYT dapat dilihat pada Gambar 3.4



Gambar 3.4 Bagan Alir Pemurnian Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

3.4.5 Tahap Karakterisasi Kristal Bioflokulan DYT

3.4.5.1 Panjang Gelombang Maksimum Serapan Larutan Bioflokulan DYT



Gambar 3.5 Spektrofotometer UV/VIS Shimadzu 1240

Analisis ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV/VIS Shimadzu 1240. Larutan bioflokulan DYT dibuat dengan melarutkan sekitar 0,01 gram kristal bioflokulan DYT dengan aquabides sampai volume 10 mL. Absorbansi larutan di-*scan* pada rentang panjang gelombang 190-390 nm sehingga diperoleh nilai panjang gelombang maksimumnya. Panjang gelombang ini digunakan untuk analisis jumlah komponen menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

3.4.5.2 Jumlah Komponen Kristal Bioflokulan DYT

Analisis ini dilakukan dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi fasa terikat menggunakan alat HPLC Hitachi D-7000 (Gambar 3.6). Larutan kristal bioflokulan DYT disuntikkan sebanyak 20 μL ke dalam kolom C18 bersuhu 40°C. Fasa gerak metanol:air (1:1) dialirkan dengan laju alir 0,500 mL/menit. Komponen yang keluar dari kolom, dideteksi menggunakan detektor UV.



Gambar 3.6 Alat HPLC Hitachi D-7000

3.4.5.3 Gugus Fungsi Kristal Bioflokulan DYT

Analisis ini menggunakan metode spektrofotometri *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). Alat yang digunakan adalah spektrofotometer FTIR Shimadzu-8400 (Gambar 3.7). Beberapa miligram kristal bioflokulan DYT 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.



Gambar 3.7 Spektrofotometer FTIR Shimadzu-8400

3.4.5.4 Pengukuran *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) ^1H

Pengukuran NMR menggunakan pengukuran proton untuk mengetahui struktur senyawa dengan informasi posisi atom H (proton). Sampel dilarutkan dengan suatu pelarut yang dapat melarutkan sampel dengan baik. Pelarut yang digunakan merupakan pelarut yang terdeuterasi pada atom Hidrogennya. Pengukuran dilakukan dengan cara memasukkan sampel yang telah dilarutkan ke dalam tabung khusus untuk pengukuran NMR, sampel yang telah ada di tabung dimasukkan ke dalam alat NMR untuk diukur.



Gambar 3.8 *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

3.4.5.5 Pengukuran *Liquid Chromatography Mass Spectra* (LCMS)

Dari pengukuran dengan menggunakan LCMS ini diharapkan dapat diperoleh massa relatif dari molekul komponen dan massa relatif hasil pecahannya. Parameter pengukurannya adalah jumlah sampel yang diinjeksikan $20 \mu\text{l}$, flow rate 1ml/min, eluen yang digunakan MeOH+Air = 80 + 20, LC: Hitachi L 6200, System ESI (*Electrospray Ionisation*), Positive ion mode, Kolom C18 (RP 18) Supelco, Column length : 150 mm, ID : 2 mm, Particle size : $5 \mu\text{m}$.



Gambar 3.9 Perangkat *Liquid Chromatography Mass Spectra* (LCMS)

3.4.5.7 Difraksi Sinar-X (XRD)

Uji difraksi sinar-x dilakukan dengan menggunakan instrumentasi XRD. Uji ini dilakukan dengan cara kristal diambil kira-kira seujung spatula kemudian digerus dalam lumpang, setelah halus Kristal diletakkan dalam preparat dan diratakan permukaannya dengan sentuhan spatula. Kemudian Kristal dimasukkan ke dalam XRD dan parameter pengukuran diset melalui portable computer yang terintegrasi langsung ke alat XRD. Parameter pengukuran tersebut yaitu *Start Position* [$^{\circ}2\theta$] = 5.0084, *End position* [$^{\circ}2\theta$] = 79.9954, *Step Size* [$^{\circ}2\theta$] = 0.0170, *Scan Step Time* [s] = 4.1750, *Scan Type* = continuous, *Specimen Length* [mm] = 10.00, *Measurement Temperature* [$^{\circ}\text{C}$] = 25.00, *Anoda Material* : Cu, K-Alpha1 [A] = 1.54060, *Generator Setting* : 30 mA, 40 kV. Setelah parameter diset maka langkah selanjutnya adalah scanning kristal yang datanya kemudian langsung terintegrasi ke dalam komputer.



Gambar 3.10 X-Ray Diffraction (XRD)

3.4.6 Tahap Uji Aktivitas Flokulasi

Aktivitas flokulasi bioflokulan DYT dilihat dari kemampuannya dalam menurunkan turbiditas limbah. Keaktifan bioflokulan DYT dalam menurunkan turbiditas limbah dilihat dari nilai efisiensi penurunan turbiditas limbah (EPT). Efisiensi penurunan turbiditas dinyatakan dalam persentase perbandingan antara penurunan turbiditas limbah hasil olahan dengan turbiditas limbah sebelum diolah yang secara matematis dirumuskan sebagai berikut :

$$EPT = \frac{T_0 - T}{T_0} \times 100\%$$

Keterangan :

T_0 = Turbiditas limbah awal

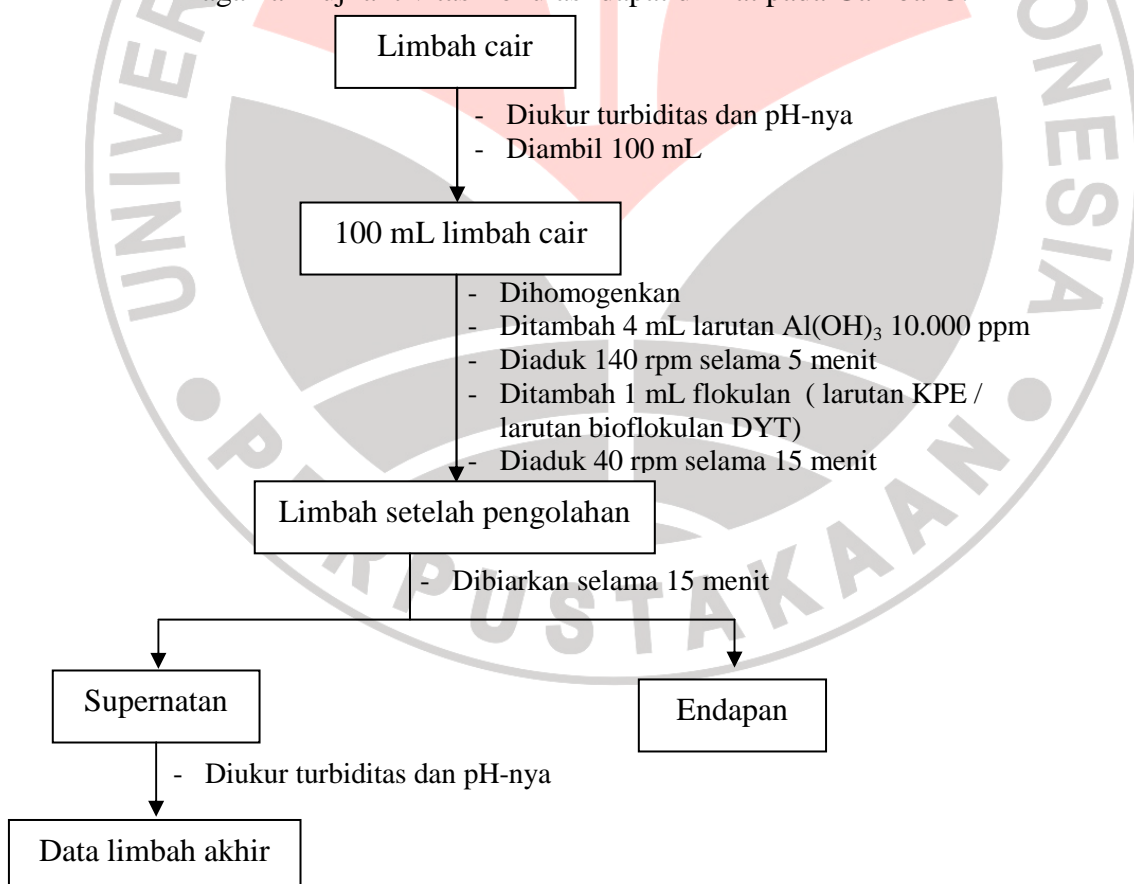
T = Turbiditas limbah setelah diolah

Prosedur:

Sebelum diberi perlakuan, turbiditas dan pH limbah diukur untuk mengetahui kondisi parameter awal sampel limbah. Pada pelaksanaan perlakuan untuk mengetahui aktivitas flokulan, limbah diatur terlebih dahulu untuk

dihomogenkan dengan cara diaduk. Sebanyak 100 mL limbah yang telah di pra-kondisi tersebut dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL, yang dilengkapi dengan stirer. Setelah stirer dijalankan pada kecepatan 140 rpm, ke dalam limbah tersebut ditambahkan koagulan sebanyak 4 mL. Dalam selang waktu 5 menit berikutnya ditambahkan flokulan sebanyak 1 mL pada kecepatan 40 rpm. Pengadukan dihentikan 15 menit kemudian terhitung dari saat penambahan flokulan. Hasil olahan dibiarkan selama 15 menit untuk memberikan kesempatan terjadinya proses pengendapan. Turbiditas dan pH cairan hasil olahan ditentukan sebagaimana dilakukan terhadap limbah awal.

Bagan alir uji aktivitas flokulasi dapat dilihat pada Gambar 3.11



Gambar 3.11 Bagan Alir Uji Aktivitas Flokulasi