

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dimulai pada tanggal 1 April 2016 dan selesai pada tanggal 10 September 2016. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjajaran (FMIPA UNPAD), Laboratorium Riset Kimia dan Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia (FPMIPA UPI).

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

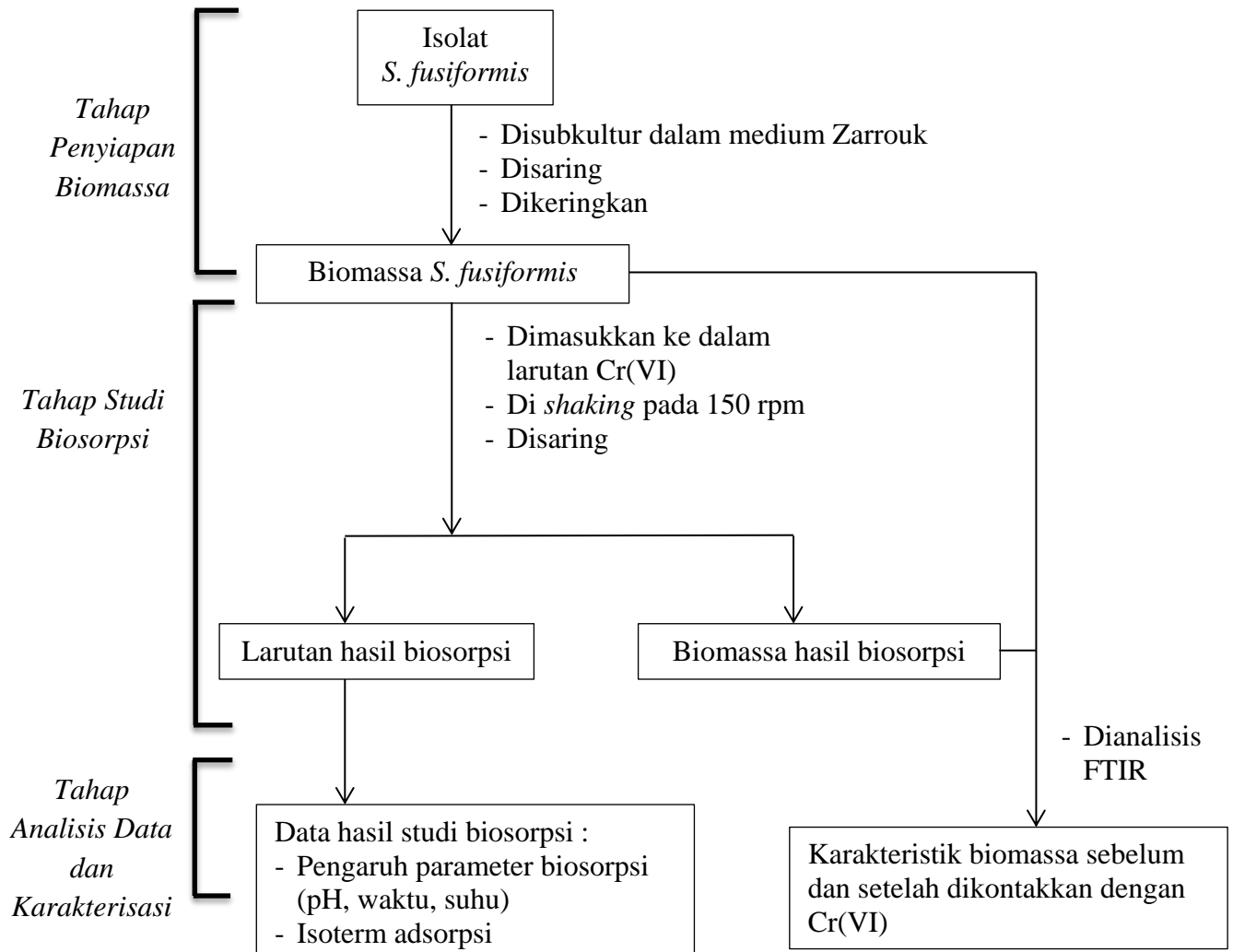
Peralatan yang digunakan adalah *container* transparan 100 L, aerator, selang aerator, termometer, pH meter (Mettler), saringan kain (Tile), gelas kimia 500 mL, gelas kimia 250 mL, gelas kimia 100 mL, gelas ukur 100 mL, pipet volumetrik 5 mL, labu ukur 25 mL, labu ukur 50 mL, labu ukur 500 mL, labu Erlenmeyer 300 mL, *shaker*, *incubator shaker*, *stopwatch*, spatula, batang pengaduk, mikropipet, corong kaca, botol vial, dan alat instrumen Spektronik-20 serta FTIR Shimadzu 8400.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam tahapan penyiapan biomassa yaitu medium Zarrouk yang terdiri dari NaHCO_3 , NaNO_3 , K_2SO_4 , NaCl , CaCl_2 , Na_2EDTA , MgSO_4 , FeSO_4 , KH_2PO_4 , dan *starter Spirulina fusiformis*. Bahan yang digunakan dalam tahapan studi biosorpsi meliputi biomassa *Spirulina fusiformis*, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, HCl , NaOH , H_2SO_4 , 1,5-difenilkarbazid, kertas saring Whattman No. 82 dan air destilasi.

3.3 Alur Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahapan tersebut ditunjukkan pada bagan alir penelitian (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penyiapan Biomassa *S. fusiformis*

Tahap awal penelitian dimulai dengan menyiapkan medium tumbuh (Medium Zarrouk) yang terdiri dari air destilasi dan nutrisi medium meliputi NaHCO_3 , NaNO_3 , K_2SO_4 , NaCl , CaCl , Na_2EDTA , MgSO_4 , FeSO_4 , dan KH_2PO_4 . Sebanyak 10 L *starter* ditambahkan ke dalam

medium Zarrouk 100 L. Kultur diinkubasi pada kondisi aerasi, suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), dan siklus gelap:terang 12:12. Setelah 2 minggu, kultur dipanen dengan cara disaring dan dicuci dengan air destilasi untuk menghilangkan sisa medium. Biomassa basah kemudian dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari. Selanjutnya, biomassa dihomogenkan dengan cara digerus dan diayak dengan spesifikasi pori 100 mesh.

3.4.2 Penentuan Pengaruh Parameter Biosorpsi (Studi Biosorpsi)

Studi biosorpsi dilakukan melalui pengujian pengaruh parameter biosorpsi yang diawali dengan pembuatan larutan Cr(VI) dan pereaksi 1,5-difenilkarbazid. Studi biosorpsi yang dilakukan meliputi variabel yang dapat mempengaruhi proses biosorpsi yaitu pH, waktu kontak, dan suhu.

3.4.2.1 Pembuatan Larutan Induk Cr(VI) 1000 mg/L

Pembuatan larutan induk Cr(VI) 1000 mg/L dilakukan menggunakan padatan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Sebanyak 1,4144 gram padatan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dilarutkan dalam akuades hingga volumenya 500 mL. Larutan kerja 100 mg/L dibuat dari pengenceran larutan induk 1000 mg/L.

3.4.2.2 Pembuatan Larutan 1,5-difenilkarbazid 0,25%

Pembuatan larutan pengompleks 1,5-difenilkarbazid dilakukan menggunakan padatan 1,5-difenilkarbazid. Sebanyak 0,125 gram padatan 1,5-difenilkarbazid dilarutkan dalam aseton hingga volumenya 50 mL.

3.4.2.3 Pengujian Pengaruh pH Terhadap Biosorpsi Cr(VI)

Sebanyak 0,2 gram biomassa *Spirulina fusiformis* dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 300 mL yang berisi 25 mL larutan Cr(VI) 100 ppm dengan variasi pH 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; dan 4. Larutan kemudian dikocok dengan *shaker* pada kecepatan 150 rpm selama 120 menit. Larutan disaring dengan kertas Whatman untuk memisahkan biomassa dan larutan hasil biosorpsi. Konsentrasi ion Cr(VI) sisa dalam larutan hasil biosorpsi ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.4.2.4 Pengujian Pengaruh Waktu Kontak Terhadap Biosorpsi Cr(VI)

Sebanyak 0,2 gram biomassa *Spirulina fusiformis* dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 300 mL yang berisi 25 mL larutan Cr(VI) 100 ppm pada pH optimum. Larutan kemudian dikocok dengan *shaker* pada kecepatan 150 rpm dengan variasi waktu kontak 10, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 dan 450 menit. Larutan disaring untuk memisahkan biomassa dengan larutan hasil biosorpsi. Konsentrasi ion Cr(VI) sisa dalam larutan hasil biosorpsi ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.4.2.5 Pengujian Pengaruh Suhu Terhadap Biosorpsi Cr(VI)

Sebanyak 0,2 gram biomassa *Spirulina fusiformis* dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 300 mL yang berisi 25 mL larutan Cr(VI) 100 ppm pada pH optimum. Larutan kemudian dikocok dengan *shaker* pada kecepatan 150 rpm dengan variasi suhu 15, 25, 35, dan 45°C selama waktu optimum. Larutan disaring untuk memisahkan biomassa dengan larutan hasil biosorpsi. Konsentrasi ion Cr(VI) sisa dalam larutan hasil biosorpsi ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.4.2.6 Penentuan Konsentrasi Ion Cr(VI) Sisa

Penentuan konsentrasi ion Cr(VI) sisa dalam larutan hasil biosorpsi dilakukan mengikuti metode Fadlila (2015). Larutan hasil biosorpsi yang diperoleh dari masing-masing perlakuan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam labu ukur 25 mL kemudian ditambahkan 7 tetes H₂SO₄ 18 N. Selanjutnya, ditambahkan 1 mL larutan 1,5-difenilkarbazid 0,25%. Larutan ditandabatkan dengan air destilasi dan dikocok. Larutan kemudian didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 540 nm.

Persentase penyerapan dan kapasitas biosorpsi Cr(VI) ditentukan melalui persamaan berikut.

$$\% \text{ Penyerapan} = \frac{C_o - C_e}{C_o} \times 100\% \quad (3)$$

Ket : C_o = Konsentrasi awal adsorbat (mg/L)
 C_e = Konsentrasi sisa adsorbat (mg/L)

$$Q_e = \frac{(C_o - C_e) \times V}{W} \quad (4)$$

Ket : Q_e = Kapasitas Biosorpsi (mg/g)
 C_o = Konsentrasi awal adsorbat (mg/L)
 C_e = Konsentrasi sisa adsorbat (mg/L)
 V = Volume larutan adsorbat (L)
 W = massa biosorben (g)

3.4.3 Penentuan Isoterm Adsorpsi Cr(VI)

Penentuan isoterm adsorpsi Cr(VI) oleh biomassa *S. fusiformis* dilakukan melalui penentuan pengaruh variasi konsentrasi terhadap biosorpsi Cr(VI). Sebanyak 0,2 gram biomassa *Spirulina fusiformis* dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 300 mL yang berisi 25 mL larutan Cr(VI) dengan variasi konsentrasi 25, 50, 100, 150, 200, dan 250 mg/L pada pH optimum. Larutan kemudian dikocok dengan *shaker* pada kecepatan 150 rpm selama waktu optimum. Larutan kemudian disaring untuk memisahkan biomassa dengan larutan hasil biosorpsi. Konsentrasi ion Cr(VI) sisa dalam larutan hasil biosorpsi ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan isoterm adsorpsi yang sesuai untuk proses biosorpsi Cr(VI) oleh biomassa *S. fusiformis* dilakukan dengan menggunakan persamaan linier isoterm adsorpsi Langmuir dan Freundlich. Persamaan isoterm adsorpsi Langmuir pada proses biosorpsi Cr(VI) dibuat dengan cara memplot data C_e/Q_e (sumbu y) terhadap $1/X_m$ (sumbu x). Persamaan yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mencari nilai konstanta Langmuir (K_L), dan kapasitas biosorpsi maksimum (X_m). Berikut merupakan persamaan linier Isoterm Adsorpsi Langmuir.

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{X_m K_L} + \frac{C_e}{X_m} \quad (5)$$

Sementara itu, persamaan isoterm adsorpsi Freundlich pada proses biosorpsi Cr(VI) dibuat dengan cara memplot data $\log Q_e$ (sumbu y) terhadap $\log C_e$ (sumbu x). Persamaan yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mencari nilai konstanta Freundlich (K_f), dan kapasitas biosorpsi maksimum (n). Berikut merupakan persamaan linier Isoterm Adsorpsi Freundlich.

$$\log Q_e = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_e \quad (6)$$

3.4.4 Karakterisasi Biomassa Sebelum dan Setelah dikontakkan dengan Cr(VI)

Karakterisasi biomassa sebelum dan setelah dikontakkan dengan Cr(VI) dilakukan menggunakan spektrofotometer FTIR. Sampel biomassa *S. fusiformis* yang akan dianalisis (± 1 mg) ditambahkan bubuk KBr murni (± 100 mg) dan digerus hingga homogen menggunakan lumpang dan alu. Campuran kemudian ditempatkan dalam cetakan dan ditekan menggunakan alat penekan mekanik. Tekanan dipertahankan beberapa menit dan pelet KBr yang terbentuk diambil kemudian ditempatkan pada tempat sampel alat spektrofotometer inframerah untuk selanjutnya dianalisis.