

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Kimia, 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 Februari sampai dengan bulan Agustus 2007.

#### **3.2 Sistematika Penelitian**

Penelitian ini terdiri dari lima tahap yang meliputi :

##### **1. Tahap Preparasi Sampel**

Pada tahap ini, daun basah dibersihkan dan dikeringkan di udara terbuka kemudian dihaluskan. Daun yang telah halus kemudian digunakan untuk perlakuan selanjutnya.

##### **2. Tahap Isolasi Senyawa Aktif Bioflokulan DYT**

Isolasi senyawa aktif bioflokulan DYT dilakukan dengan cara merefluks daun menggunakan pelarut metanol. Langkah ini dilanjutkan dengan penghilangan klorofil dan senyawa non polar lainnya.

##### **3. Tahap Pemurnian Senyawa Aktif Bioflokulan DYT**

Senyawa aktif bioflokulan DYT dimurnikan dengan cara kristalisasi di dalam pelarut air kemudian direkristalisasi menggunakan pelarut metanol.

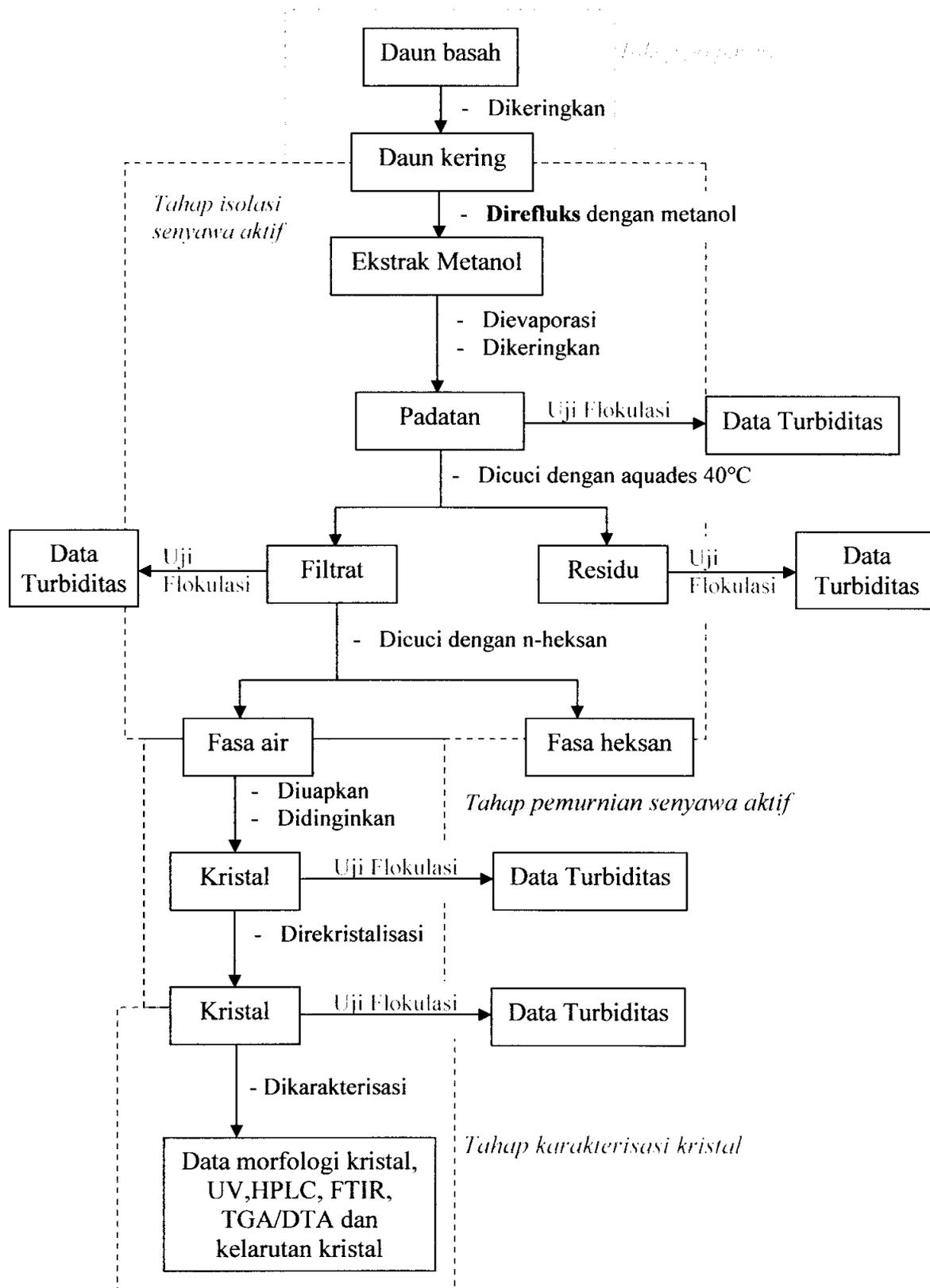
#### 4. Tahap Karakterisasi Kristal Bioflokulan DYT

Pada tahap ini, kristal bioflokulan DYT dikarakterisasi menggunakan analisis mikroskopi, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), spektrofotometri *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), *Thermogravimetri Analysis-Differential Thermal Analysis* (TG/DTA) dan uji kelarutan.

#### 5. Tahap Uji Aktivitas Flokulasi

Setiap hasil yang diperoleh pada tahap isolasi dan pemurnian diuji aktivitas flokulasinya terhadap penurunan turbiditas limbah.

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

1. Peralatan untuk tahap isolasi dan pemurnian
  - a. 1 buah blender merek Philips tipe HR 2815/a
  - b. 2 set alat refluks
  - c. 1 set *Rotary evaporator* merek Butchi Sibata tipe K-144
  - d. 1 set neraca digital
  - e. 1 set *Waterbath* merek Eyela tipe SB 24
  - f. 1 buah corong Buchner
  - g. 1 buah labu erlenmeyer berpenghisap 500 mL
  - h. 4 buah gelas kimia masing-masing 25 mL, 100 mL dan 250 mL
  - i. 2 buah gelas kimia masing-masing 600 mL, 1000 mL dan 2000 mL
  - j. 2 buah termometer alkohol 100°C
  - k. 1 buah gelas ukur masing-masing 50 mL dan 250 mL
  - l. 4 buah corong pisah 250 mL
  - m. 5 buah kaca arloji
  - n. Aluminium foil
2. Peralatan untuk tahap karakterisasi kristal
  - a. 1 set alat Mikroskop binokuler merek Shimadzu tipe 3905789
  - b. 1 set Spektrofotometer UV/VIS merek Shimadzu tipe 1240
  - c. 1 set alat HPLC merek Hitachi tipe D-7000
  - d. 1 set Spektrofotometer FTIR merek Shimadzu tipe 8400
  - e. 1 set alat TG/DTA merek Setaram tipe SETSYS-1750

3. Peralatan untuk tahap uji aktivitas flokulasi
  - a. 2 set alat pengaduk mekanik merek Eyela Mazela tipe 1100
  - b. 1 set alat Turbidimeter merek Lovybond
  - c. 1 set pengaduk magnetik
  - d. 1 set pH meter merek Uchida tipe KT-1A
  - e. 1 buah labu ukur 250 mL
  - f. 2 buah mikropipet merek Sibata masing-masing 5 mL dan 10 mL
  - g. 1 set alat *furnace* merek Uchida tipe IMF-72
  - h. 6 buah gelas kimia 250 mL
  - i. 1 set neraca digital
  - j. 1 buah botol timbang
  - k. 1 buah stopwatch

### 3.3.2 Bahan

1. Bahan-bahan yang digunakan pada tahap isolasi dan pemurnian
  - a. Sampel daun bioflokulan DYT
  - b. Metanol teknis produk Bratachem
  - c. n-heksan teknis produk Bratachem
2. Bahan-bahan yang digunakan pada tahap karakterisasi
  - a. Serbuk kalium bromida
  - b. Metanol p.a
  - c. Aquabides
  - d. Asetonitril

3. Bahan-bahan yang digunakan pada uji aktivitas flokulasi
  - a. Larutan  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  10.000 ppm
  - b. Limbah tekstil P.T. CAGM
  - c. Larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 M
  - d. Larutan NaOH 4% (m/v)
  - e. Larutan bioflokulan DYT

### **3.4 Prosedur Kerja**

#### **3.4.1 Pembuatan Larutan**

1. Larutan  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  10.000 ppm

Padatan  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$  ditimbang sebanyak 4,8685 g kemudian dilarutkan dengan aquades dan dimasukkan ke dalam dalam labu ukur 250 mL. Setelah itu, ditambahkan aquades sampai volume larutan mencapai tanda batas.

2. Larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 M

55,56 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat diencerkan dengan aquades sampai volumenya 500 mL.

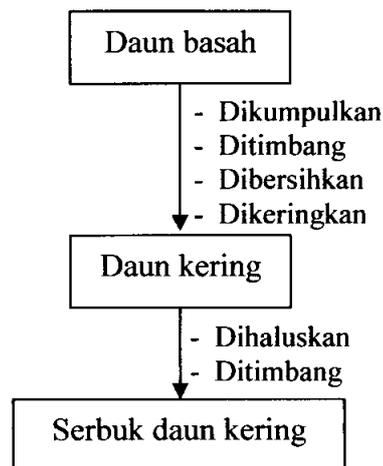
3. Larutan NaOH 4% (m/v)

Padatan NaOH ditimbang sebanyak 4,00 gram kemudian dilarutkan dengan aquades. Setelah itu, ditambahkan aquades sampai volume larutan mencapai 100 mL.

### 3.4.2 Tahap Preparasi Sampel

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

Bagan alir tahap preprasi sampel dapat dilihat pada Gambar 3.2.



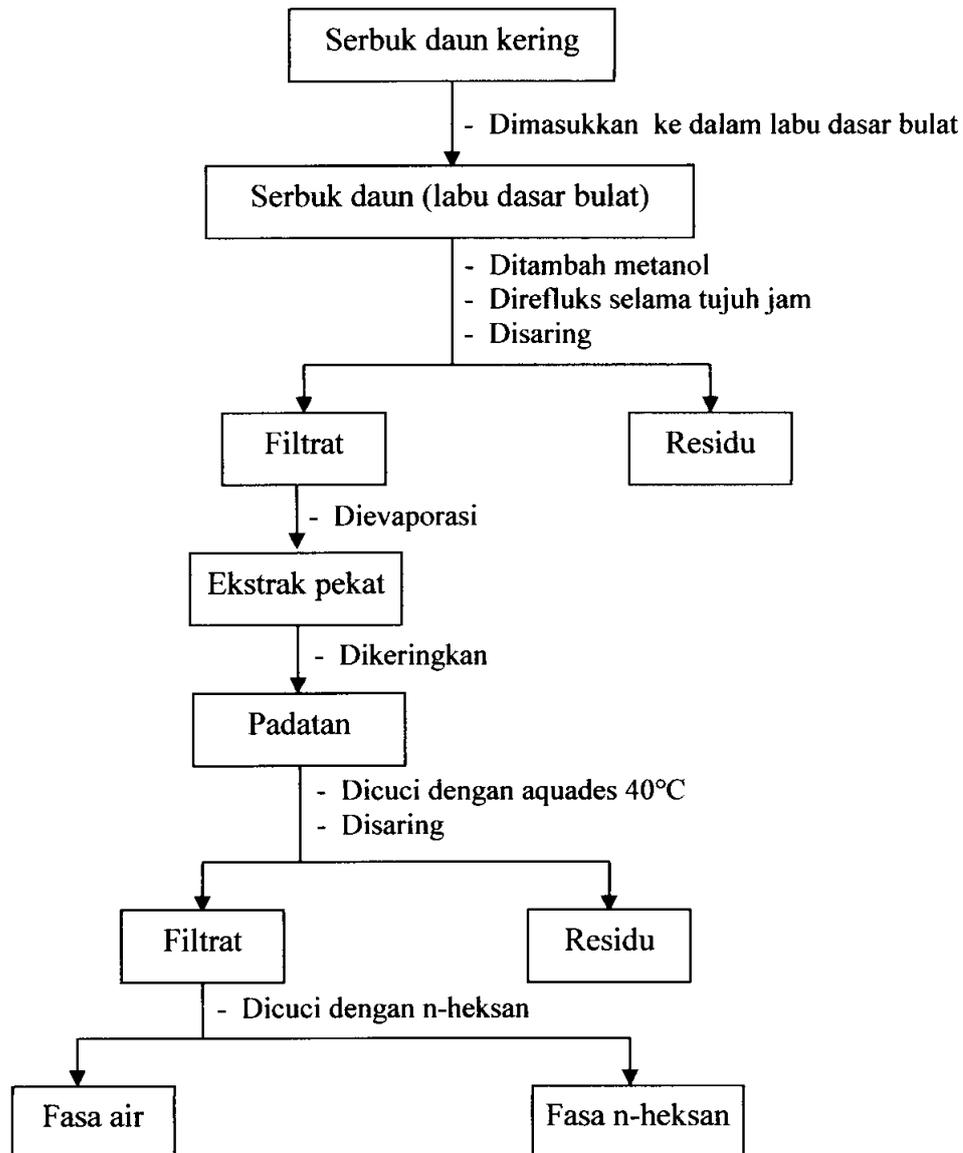
**Gambar 3.2** Bagan Alir Preparasi Sampel

### 3.4.3 Tahap Isolasi Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

Sampel daun kering dimasukkan ke dalam labu dasar bulat sampai dua pertiga volume labu. Kemudian ditambahkan metanol sampai semua daun terendam. 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 dengan perbandingan volume 1 : 1. Pencucian tersebut dilakukan sampai fasa n-heksan tak berwarna. Fasa air yang diperoleh lalu dikristalisasi.

Bagan alir tahap isolasi dapat dilihat pada Gambar 3.3.



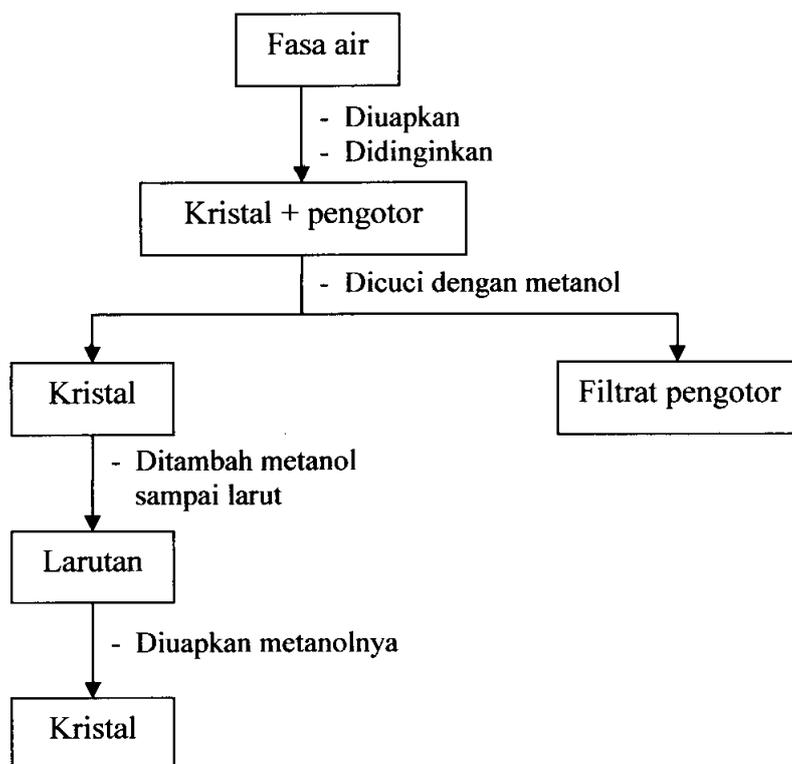
**Gambar 3.3** Bagan Alir Isolasi Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

### 3.4.4 Tahap Pemurnian Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

Proses pemurnian dilakukan dengan cara kristalisasi. Ekstrak fasa air yang diperoleh, diuapkan pada suhu kamar kemudian didinginkan sampai terbentuk kristal. Kristal yang masih bercampur dengan pengotor, dicuci berulang kali dengan metanol dingin sampai diperoleh filtrat yang hampir tidak berwarna. Kristal yang telah bersih kemudian ditimbang massa totalnya.

Sebagian kristal direkristalisasi untuk mendapatkan kualitas kristal yang lebih baik. Beberapa gram kristal ditambah metanol dalam keadaan panas sampai semua kristal larut. Kemudian, larutan dibiarkan sampai metanolnya menguap. Kristal yang terbentuk, dikumpulkan lalu ditimbang.

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



**Gambar 3.4** Bagan Alir Pemurnian Senyawa Aktif Bioflokulan DYT

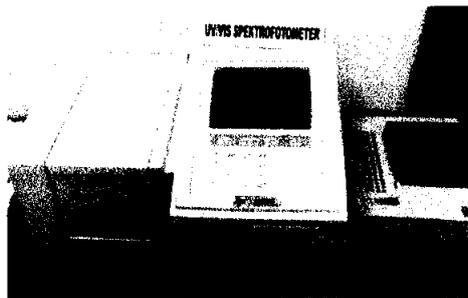
### 3.4.5 Tahap Karakterisasi Kristal Bioflokulan DYT

#### 3.4.5.1 Bentuk Morfologi Kristal Bioflokulan DYT

Satu bentuk kristal diambil dan ditempatkan di atas kaca preparat, kemudian diamati menggunakan mikroskop binokuler Shimadzu 3905789.

#### 3.4.5.2 Panjang Gelombang Maksimum Serapan Larutan Bioflokulan DYT

Analisis ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV/VIS Shimadzu 1240 (Gambar 3.5). 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).

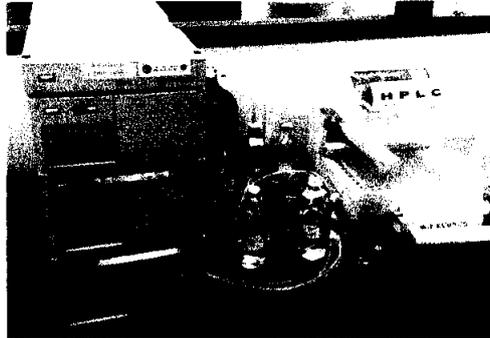


Gambar 3.5 Spektrofotometer UV/VIS Shimadzu 1240

#### 3.4.5.3 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  $\mu$ L ke dalam kolom C18 bersuhu 40°C.

Fasa gerak metanol:asetonitril (8:2) dialirkan dengan laju alir 0,500 mL/menit. Komponen yang keluar dari kolom, dideteksi menggunakan detektor UV.

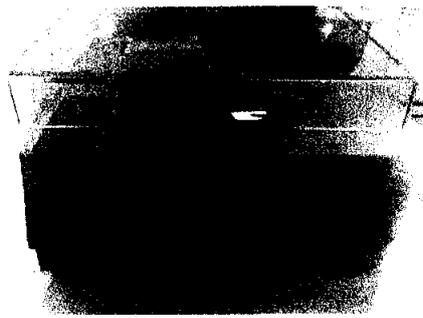


**Gambar 3.6** Alat HPLC Hitachi D-7000

#### **3.4.5.4 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.

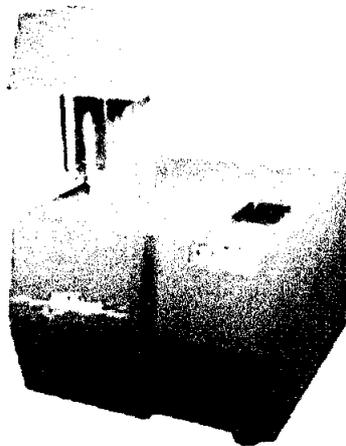


**Gambar 3.7** Spektrofotometer FTIR Shimadzu-8400

#### 3.4.5.5 Pengaruh Suhu terhadap Kestabilan Kristal Bioflokulan DYT

Analisis ini dilakukan dengan metode termal yang meliputi analisis termalgravimetri dan analisis differensial termal (*Thermogravimetri Analysis-Differential Thermal Analysis*, TG-DTA). Alat yang digunakan adalah TG-DTA Setaram SETSYS-1750 (Gambar 3.8).

Kristal bioflokulan DYT ditimbang sebanyak 35,7 mg kemudian ditempatkan di dalam *sampel holder* dan dimasukkan ke dalam alat TG/DTA dengan argon sebagai gas alir. Rentang suhu yang digunakan mulai dari 50°C sampai 900°C dengan laju kenaikan suhu sebesar 10°C/menit. Kemudian, diamati pengaruh suhu terhadap perubahan massa.



**Gambar 3.8** Alat TG/DTA Setaram SETSYS –1750

#### 3.4.5.6 Kelarutan Kristal Bioflokulan DYT

Uji kelarutan kristal dilakukan di dalam pelarut air dan metanol. Metode yang digunakan adalah metode gravimetri.

Beberapa gram kristal dilarutkan di dalam air. Larutan ini kemudian diuapkan pada suhu 5 dan 25°C. Pada saat titik jenuhnya, larutan tersebut dipipet

kemudian ditimbang. Setelah semua air menguap, kristal yang terbentuk kemudian ditimbang. Uji kelarutan kristal di dalam metanol, dilakukan pada suhu 5, 25 dan 30°C.

### **3.4.6 Tahap Uji Aktivitas Flokulasi**

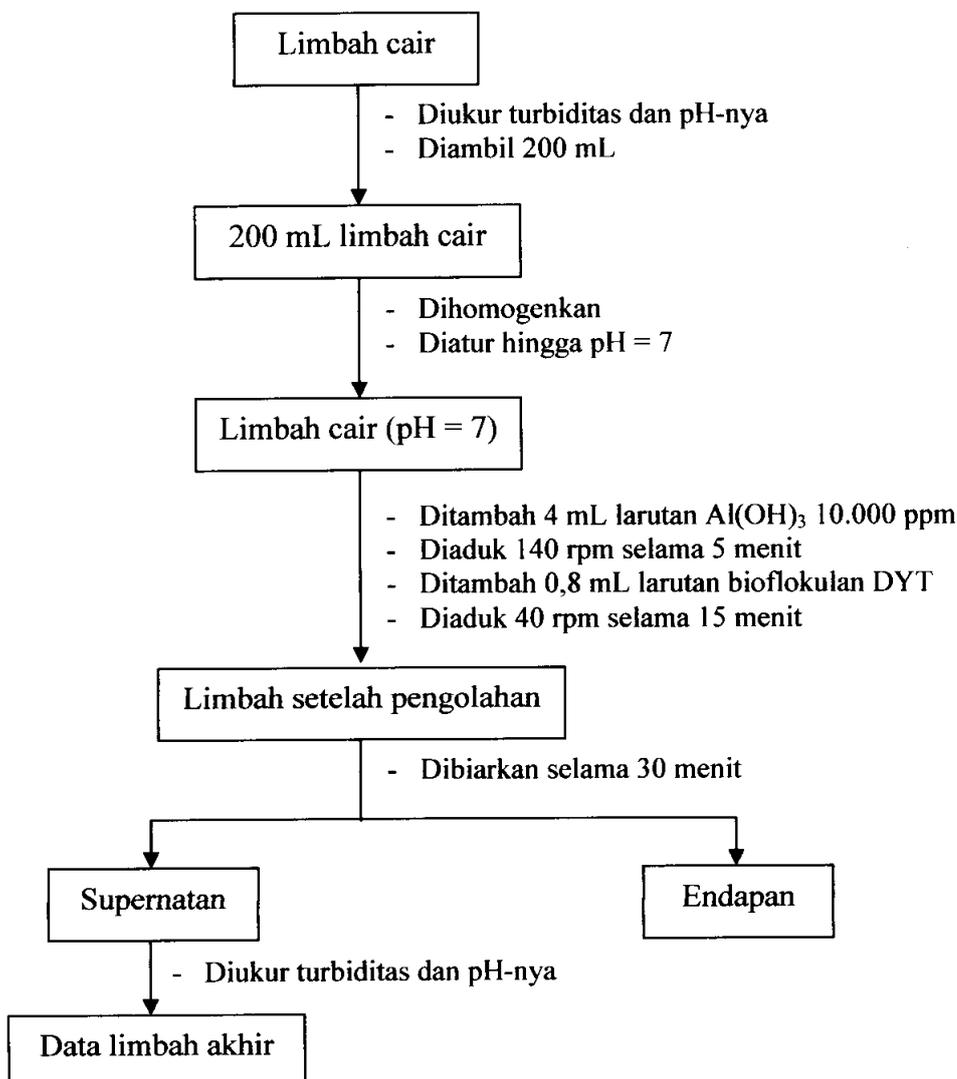
Uji aktivitas flokulasi dilakukan terhadap setiap sampel yang diperoleh pada tahap isolasi dan pemurnian. Sampel yang diuji aktivitasnya terdiri dari: padatan hasil evaporasi, filtrat hasil pencucian klorofil, kristal bioflokulan DYT sebelum rekristalisasi, kristal bioflokulan DYT hasil rekristalisasi dan kristal bioflokulan DYT setelah dipanaskan pada suhu 500°C. Selain itu, untuk mengetahui bahwa semua senyawa aktif bioflokulan DYT telah tercuci dari klorofil, maka dilakukan uji aktivitas flokulasi terhadap residu hasil pencucian klorofil. Setiap uji flokulasi yang dilakukan, selalu dibandingkan dengan kontrol menggunakan alum saja dan dilakukan duplo.

Untuk membuat larutan bioflokulan DYT, sampel padat ditimbang sebanyak 0,075 gram kemudian ditambahkan aquades hingga volume larutan 3 mL, sedangkan sampel cair dipipet sebanyak 1 mL lalu diencerkan dengan aquades sampai volumenya 20 mL.

Untuk mengetahui kondisi awal limbah, limbah cair diukur turbiditas dan pH-nya. Setelah itu, limbah cair diambil sebanyak 200 mL dan dihomogenkan dengan cara diaduk. Kemudian, pH limbah diatur pada pH 7 dengan penambahan asam sulfat atau natrium hidroksida. Setelah itu, ke dalam limbah ditambahkan larutan  $\text{Al(OH)}_3$  10.000 ppm sebanyak 4 mL dan diaduk dengan kecepatan 140

rpm selama lima menit, kemudian ditambahkan larutan bioflokulan DYT sebanyak 0,8 mL dan diaduk dengan kecepatan 40 rpm selama 15 menit. Setelah pengadukan selesai, flok yang terbentuk diamati dan dibiarkan mengendap selama 30 menit. Supernatan dipipet lalu diukur turbiditas dan pH-nya.

Bagan alir uji aktivitas flokulasi dapat dilihat pada Gambar 3.9.



**Gambar 3.9** Bagan Alir Uji Aktivitas Flokulasi

