

BAB III

METODE PENELITIAN

1.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada rentang waktu bulan April hingga Juni 2018. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Lingkungan Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

1.2 Alat dan Bahan Penelitian

1.2.1 Alat

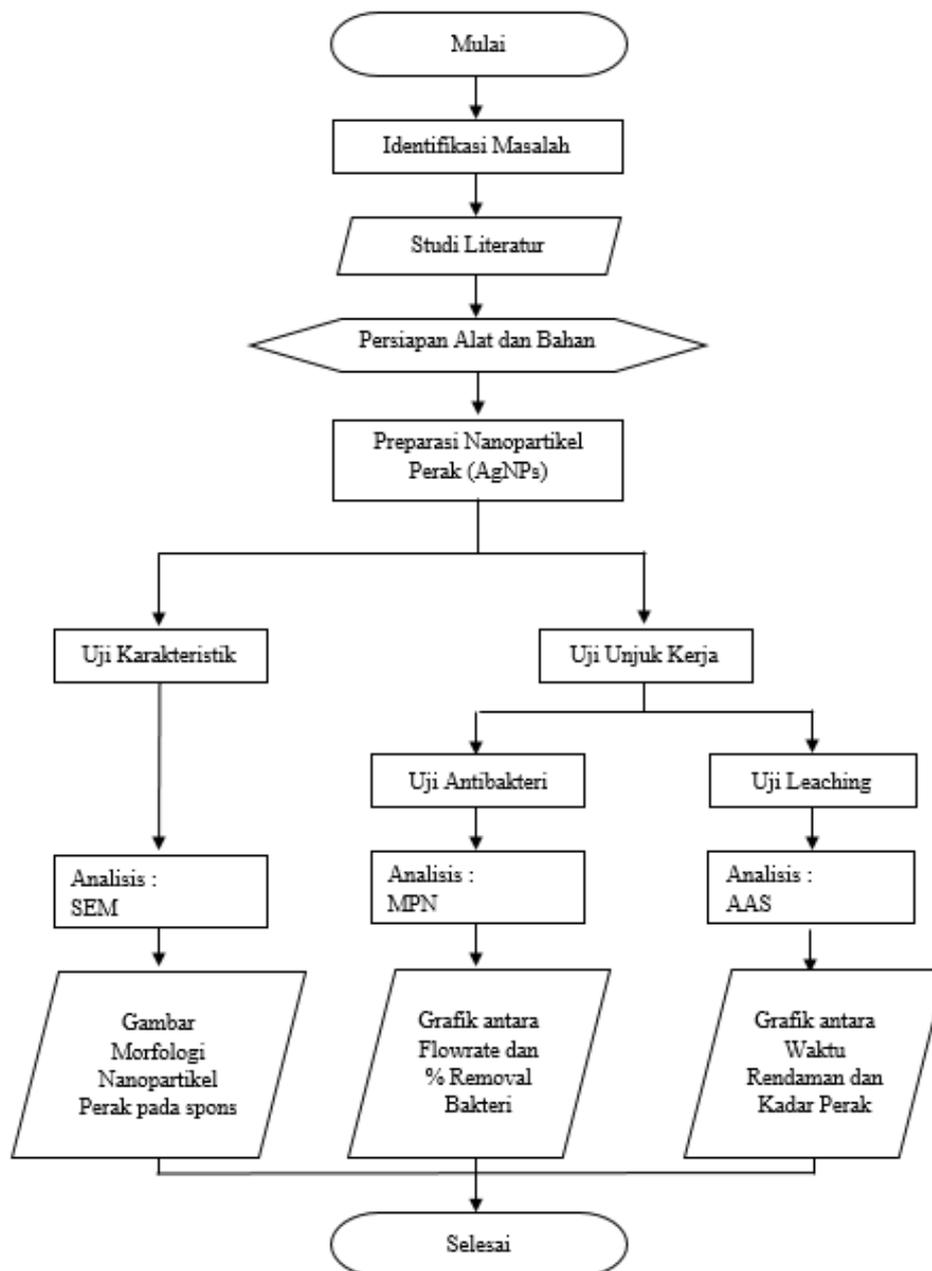
- | | |
|--|------------------------|
| 1. Gelas Beker | 11. Oven |
| 2. Karet hisap | 12. Durham |
| 3. Lemari Pendingin | 13. Rak Tabung |
| 4. Magnetic Strirrer | 14. Magnet |
| 5. <i>Scanning Electron Microscopy</i> | 15. Pipet Tetes |
| 6. Jarum Ose | 16. Tabung Reaksi |
| 7. Reaktor skala pilot | 17. Gelas Ukur |
| 8. Pipet volume (1 mL dan 10 mL) | 18. Bunsen |
| 9. <i>Atomic Absorption Spectrometry</i> | 19. Timbangan Analitik |
| 10. Inkubator | 20. Sendok sengu |

1.2.2 Bahan

- | | |
|---|------------------------|
| 1. Spons <i>Luffa cylindrica</i> | 6. Air limbah domestik |
| 2. Perak nitrat (AgNO_3) | 7. <i>Aquadest</i> |
| 3. Sodium sitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) analisis | 8. Aseton |
| 4. <i>Lactosa Broth</i> (LB) | 9. Kertas Minyak |
| 5. <i>Brilliant Green Lactosa Broth</i> (BGLB) | 10. Kapas |

1.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahapan, tahapan pertama adalah preparasi nanopartikel perak pada spons *Luffa Cylindrica* menggunakan reduktor sodium sitrat. tahapan kedua adalah uji karakteristik dan unjuk kerja reaktor dalam pengujian Disinfeksi dan *leaching*. Skema metode penelitian ini adalah sebagai berikut:

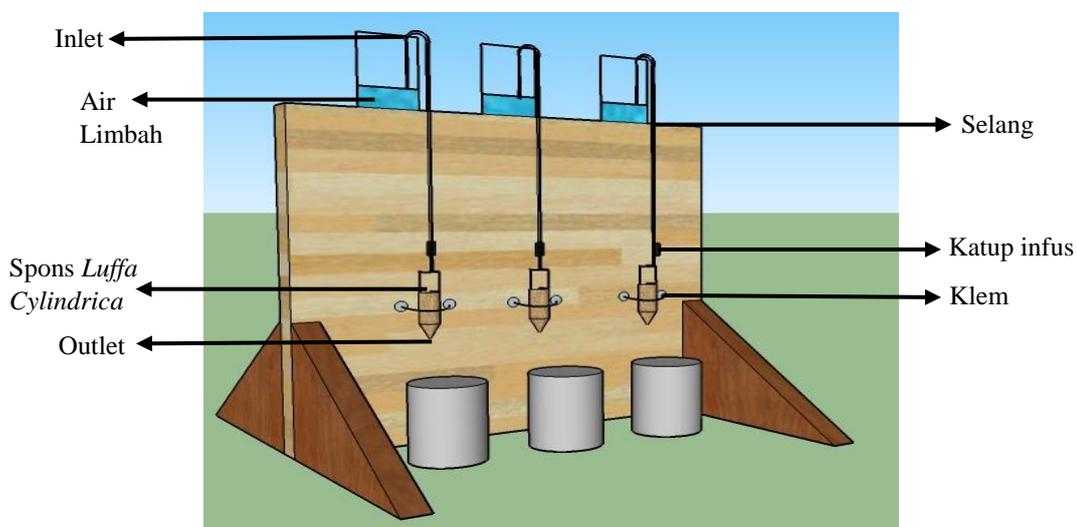


Gambar 3. 1 Skema Metode Penelitian

3.3.1 Persiapan Alat dan Bahan

3.3.1.1 Persiapan Reaktor Skala Pilot

Pada tahap ini, dilakukan persiapan alat berupa reaktor skala pilot yang terdiri dari pipa bening, selang infus, klem, papan triplek berukuran 1,5 m x 1 m, dan katup. Masing-masing bahan dirakit menjadi reaktor skala pilot sesuai sketsa berikut:



Gambar 3. 2 Sketsa Reaktor skala pilot

3.3.1.2 Persiapan Media Antibakteri

Menurut Tristyanto (2016) untuk mendapatkan larutan *Lactosa Broth* (LB) tunggal sebanyak 1000 ml diperlukan 13 gram LB, larutan *Lactosa Broth* (LB) ganda sebanyak 1000 ml diperlukan 39 gram LB, dan larutan *Brilliant Green Lactosa Broth* (BGLB) sebanyak 1000 ml diperlukan 40 gram BGLB. Pembuatan media tersebut dilakukan berdasarkan tahapan berikut:

1. Menimbang *Lactosa Broth* / *Brilliant Green Lactosa Broth* menggunakan neraca analitik.
2. Melarutkannya dengan aquadest 1000 mL dalam erlenmeyer 1000 mL dan mengaduknya hingga homogen.
3. Menyiapkan tabung reaksi yang telah berisi tabung durham, dengan posisi mulut terbalik atau menghadap ke dasar tabung reaksi.

4. Memasukkan larutan LB/BGLB ke dalam tabung reaksi dengan menggunakan pipet volume, 10 ml tiap tabung untuk LB tunggal dan 5 mL tiap tabung untuk LB ganda/BGLB.
5. Menutup mulut tabung reaksi dengan kertas lemak dan mengikatnya menjadi satu. Kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, 1 atm selama 15 menit

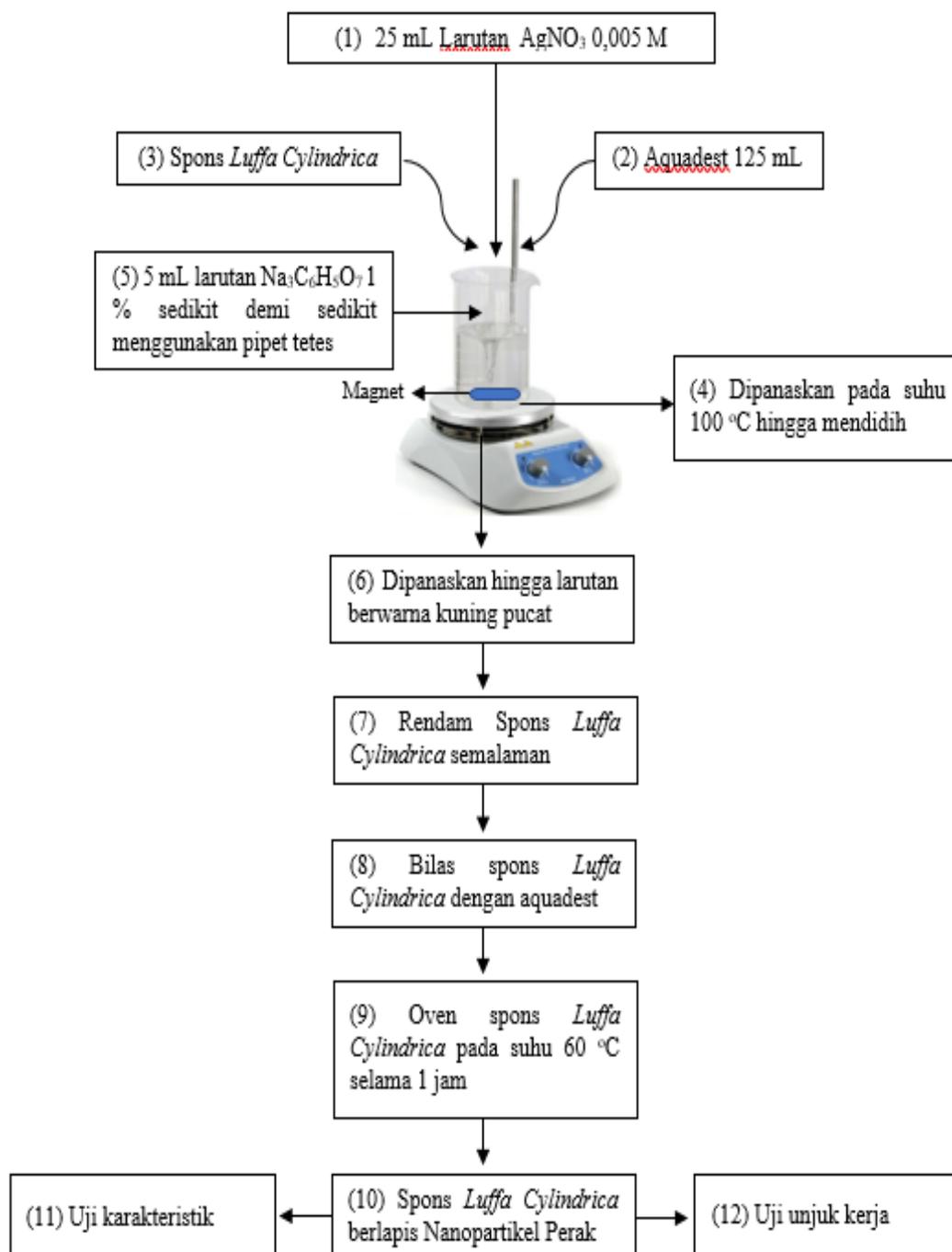
3.3.2 Preparasi Nanopartikel Perak pada Spons *Luffa Cylindrica*

Preparasi dilakukan dengan memotong spons *Luffa Cylindrica* menjadi potongan-potongan yang masing-masing berukuran 3 cm x 3 cm. Seluruh potongan spons *Luffa Cylindrica* dibersihkan menggunakan aseton selama 1 jam. Kemudian seluruh potongan spons *Luffa Cylindrica* dibilas dengan *aquadest* dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C. Preparasi nanopartikel perak pada spons *Luffa Cylindrica* dilakukan dengan mereduksi perak nitrat (AgNO_3) dengan larutan pereduksi sodium sitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$). Tahap awal memasukkan potongan spons *Luffa Cylindrica* ke dalam gelas beaker dan melarutkan perak nitrat 0,005 M sebanyak 25 mL dengan 125 mL *aquadest* dalam keadaan hangat. Kemudian ditambahkan 5 mL larutan sodium sitrat 1 % sedikit demi sedikit menggunakan pipet tetes dan proses pemanasan dilanjutkan hingga larutan berubah warna menjadi kuning pucat. Potongan spons *Luffa Cylindrica* didiamkan di dalam larutan semalaman dan setelah itu potongan spons *Luffa Cylindrica* dibilas berulang kali dengan *aquadest* untuk menghilangkan ion teradsorpsi seperti sitrat dan udara kering. Tahap terakhir spons *Luffa Cylindrica* yang sudah di bilas, dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C (Jain et al, 2005).

3.3.3 Uji Karakteristik

Uji karakteristik ini dilakukan untuk mengetahui morfologi pelapisan nanopartikel perak pada spons *Luffa Cylindrica*. Uji karakteristik dilakukan dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Hasil dari uji karakteristik ini berupa gambar morfologi nanopartikel perak pada spons *Luffa Cylindrica*. Selain

itu dilakukan uji koloid perak menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 370 nm – 500 nm (peak sekitar 420).



Gambar 3. 3 Skema Preparasi Nanopartikel Perak pada Spons *Luffa Cylindrica*

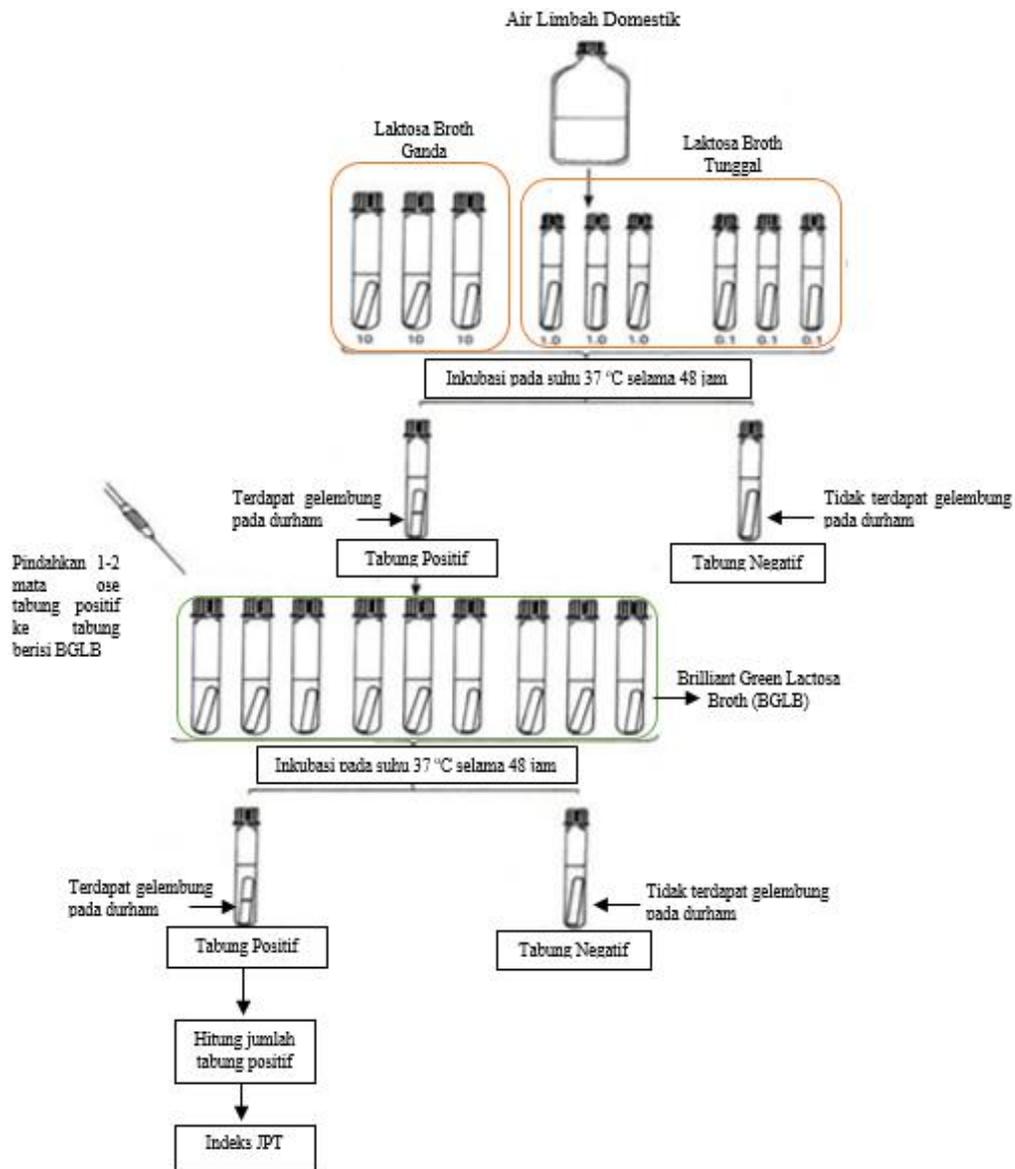
3.3.4 Uji Unjuk Kerja

Pada pengujian removal bakteri, dilakukan *set up* reaktor seperti pada **Gambar 3.2**. Pada reaktor ini dilakukan penyaluran air limbah menuju reaktor menggunakan selang. Air limbah akan dialirkan melewati spons *Luffa Cylindrica* dengan variasi laju aliran air 4 mL/menit, 8 mL/menit, dan 17 mL/menit selama beberapa waktu dan akan dihitung removal bakterinya menggunakan uji perkiraan (*presumptive test*). Uji perkiraan jumlah bakteri ini menggunakan 3 tabung reaksi yang berisi *Lactosa Broth* (LB) ganda dan 6 tabung reaksi yang berisi *Lactosa Broth* (LB) tunggal. Pada masing-masing tabung reaksi yang berisi durham dan laktosa akan ditambahkan air limbah yang telah melewati proses penyaringan pada reaktor dengan variasi volume 10 mL, 1 mL, dan 0,1 mL. Kemudian semua tabung diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 x 24 jam. Setelah diinkubasi semua tabung diamati dan apabila terdapat gelembung pada durham maka dianggap positif. Hal ini belum dapat memastikan adanya bakteri coliform dalam air limbah tersebut, karena laktosa dapat difermentasikan oleh bakteri lain selain coliform. Oleh sebab itu, tes perkiraan yang positif harus dilanjutkan dengan tes penetapan (*confirmed test*). Pada tes penetapan, sampel yang telah ditanam pada media LB yang positif akan ditanam pada tabung reaksi yang berisi *Brilliant Green Lactosa Broth* (BGLB) sebanyak 0,1 mL. Kemudian sampel yang ditanam pada BGLB diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 x 24 jam. Setelah diinkubasi semua tabung diamati dan apabila terdapat gelembung pada durham maka dianggap positif. Kemudian jumlah bakteri Total Coliform dapat dihitung menggunakan indeks Jumlah Perkiraan Terdekat (JPT) (Tristyanto, 2016). Untuk mengetahui efisiensi removal bakteri dan LRV, dilakukan perhitungan menggunakan rumus berikut:

$$R (\%) = \left(\frac{C_{in} - C_{eff}}{C_{in}} \right) \times 100 \% \dots \dots \dots (3.1)$$

$$LRV = \log_{10} \left(\frac{C_{in}}{C_{eff}} \right) \dots \dots \dots (3.2)$$

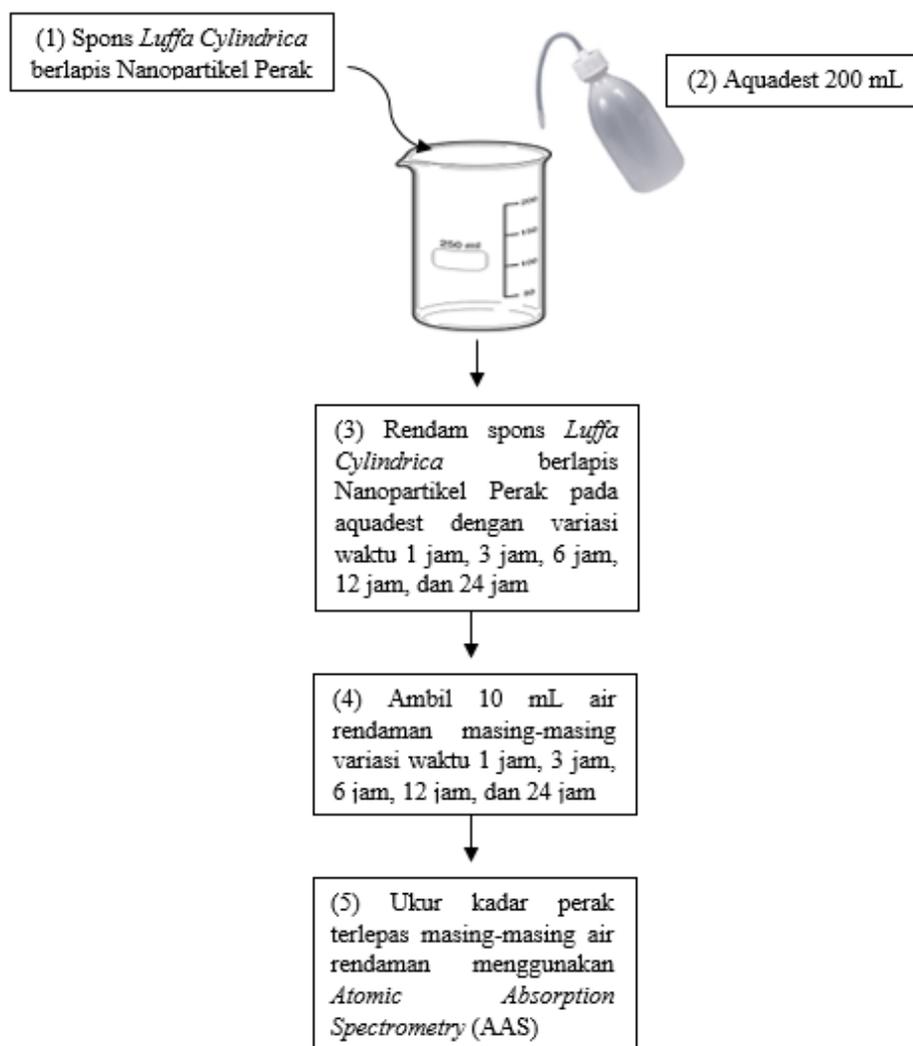
Skema pengujian disinfeksi dengan metode *Most Probable Number* (MPN) adalah sebagai berikut:



Gambar 3. 4 Skema Uji Disinfeksi

Sedangkan untuk mengetahui seberapa lama nanopartikel perak melapisi spons *Luffa Cylindrica* maka dilakukan pengujian dengan merendam spons *Luffa Cylindrica* yang sudah terimpregnasi nanopartikel perak pada *aquadest* selama variasi waktu 1 jam, 3 jam, 6jam, 12 jam, dan 24 jam. kemudian masing-masing air

rendaman akan diukur nanopartikel perak yang terlepas menggunakan *Atomic Absorption Spectrometry* (AAS). Skema uji *leaching* ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3. 5 Skema Uji *Leaching*

Hasil dari unjuk kerja ini akan ditampilkan dalam dua bentuk grafik. Grafik pertama merupakan grafik antara % removal bakteri terhadap *flow rate* dan grafik kedua merupakan grafik antara kadar perak terhadap waktu rendaman.