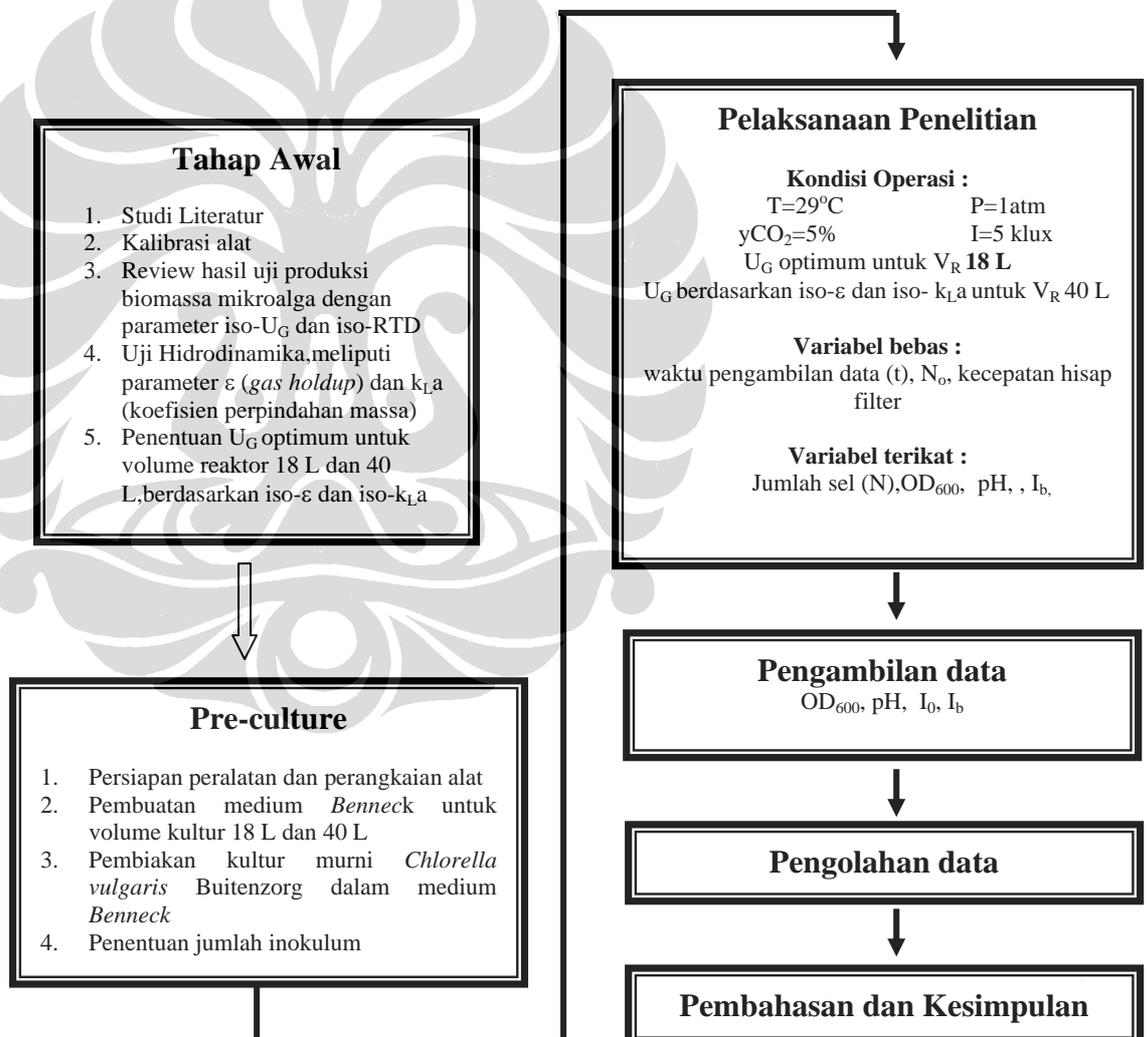


BAB III METODE PENELITIAN

Kegiatan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Rekayasa Bioproses, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

3.1. DIAGRAM ALIR PENELITIAN

Tahapan penelitian ini bisa dilihat pada diagram alir penelitian berikut ini :



Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian

3.2. BAHAN DAN ALAT PENELITIAN

3.2.1. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam eksperimen penelitian ini antara lain :

1. Strain domestik *Chlorella vulgaris* Buitenzorg (Dinas Perikanan Darat Kota Depok, Indonesia)
2. KH_2PO_4 , MgSO_4 , NaNO_3 dan FeCl_3 untuk membuat media *Benneck*.
3. CO_2 untuk memperkaya udara pengaerasi medium kultur media dalam reaktor gelembung
4. Air bersih untuk membuat media *Benneck* dan mencuci peralatan.
5. Kertas tisu untuk mengeringkan

3.2.2. Alat Penelitian

Peralatan di reaktor yang dirangkai dalam satu sistem instrumen antara lain :

1. Fotobioreaktor berbentuk *flat-plate* berkapasitas 18 L dan 40 L dari bahan kaca transparan.
2. Sparger berbentuk pipa yang berlubang-lubang untuk sistem aerasi dalam reaktor sebanyak 2 buah untuk V_R 18 L dan sebanyak 4 buah untuk V_R 40 L.
3. Selang silikon.
4. *Air flow* kapasitas 140 L/min merk Resun LP-100
5. Flowmeter udara dan gas CO_2
6. Sumber cahaya sinar tampak berupa lampu Philip Halogen 23 W /220-240 V/ 1420 lm/ 62 lm/W *cool daylight*
7. *Y-junction* untuk memecah aliran udara/gas
8. T-septum dari bahan logam sebagai tempat sampel konsentrasi gas CO_2 masuk dan keluar reaktor.
9. Gelas beaker aliran gas keluaran fotobiorektor sebagai penahan aliran udara masuk dari lingkungan

Peralatan yang digunakan untuk pengambilan dan analisa data penelitian antara lain

1. *Optical density* 600 nm (OD_{600}) dengan spektrofotometer Double-Beam Spectrophotometer model 200-20 untuk mengukur kerapatan biomassa dalam medium kultur
2. *TCD Gas chromatography* untuk konsentrasi gas CO_2 input dan output
3. *Luxmeter* (Luxtron LX-103) untuk kerapatan flux cahaya awal dan transmisi
4. *pH meter electrode* (Hanna Model HI 8014) untuk monitor pH medium kultur
5. *DO-meter* (Multi 340i) untuk mengukur konsentrasi O_2 dalam air.
6. *Stopwatch* untuk mengukur waktu
7. Penggaris untuk mengukur ketinggian level liquid

Peralatan lain sebagai tambahan yaitu :

1. Peralatan *glassware* yang terdiri dari erlenmeyer, pipet ukur, pipet tetes, gelas ukur, botol sampel dan *beaker glass* yang memiliki volume tertentu sesuai dengan kebutuhan
2. Bola karet untuk pipet ukur

3.3. VARIABEL PENELITIAN

1. Variabel bebas, yaitu variabel yang diset pada suatu harga tertentu, meliputi : waktu pengambilan data (t) .
2. Variabel semibebas, yaitu variabel yang besarnya ditentukan oleh suatu variabel terikat tertentu, meliputi : berat kering sel (X) yang besarnya ditentukan sesuai dengan pengukuran OD
3. Variabel terikat, yaitu variabel yang diukur dengan menggunakan alat, meliputi : kerapatan massa (OD_{600}), pH, dan besar intensitas cahaya masuk (I_0) dan yang ditransmisikan oleh reaktor (I_b).

3.4. PROSEDUR PENELITIAN

Dari Gambar 3.1, tahapan prosedur penelitian yang akan dilakukan dapat dijabarkan sebagai berikut :

3.4.1. Tahap Persiapan

Tahap persiapan meliputi :

3.4.1.1. Studi Literatur

Studi literatur dilakukan sebelum menjalankan persiapan, dimana semua literatur yang berkaitan dengan penelitian dikumpulkan dan dipelajari.

3.4.1.2. Kalibrasi Alat

Alat-alat yang perlu dikalibrasi meliputi semua alat yang digunakan untuk pengukuran. Hal ini perlu dilakukan agar pengukuran tepat dan sesuai dengan kondisi aktual yang ada.

Alat-alat yang dikalibrasi meliputi :

1. Flowmeter udara dan CO₂
2. DO-meter
3. pH-meter
4. Spektrofotometer dengan memvalidasi grafik hubungan antara OD dengan jumlah sel (N_{sel}) dan berat kering (X).

Cara-cara melakukan kalibrasi untuk tiap peralatan dilakukan sesuai dengan petunjuk atau *manual book* yang ada.

3.4.1.3. Review Hasil Uji Produksi Biomassa Mikroalga Dengan Parameter Iso-U_G dan Iso-RTD

Cara review adalah dengan mencatat hasil-hasil penelitian di Laboratorium Rekayasa Bioproses (RBP) Universitas Indonesia yang sesuai atau berhubungan dengan kondisi iso-U_G dan iso-k_{La}. Selanjutnya membandingkan data hasil pertumbuhan mikroalga yang telah diujikan

3.4.1.4. Uji Hidrodinamika ϵ dan $k_L a$

Tahap ini merupakan lanjutan pencarian parameter hidrodinamika dari aliran gas-cairan dalam reaktor. Pengujian meliputi dua parameter yaitu *gas holdup* (ϵ) dan koefisien perpindahan massa ($k_L a$). Cara yang dilakukan adalah dengan memvariasikan kecepatan superficial (U_G) pada aliran di reaktor dan selanjutnya mengukur parameter *gas holdup* (ϵ) dan koefisien perpindahan massa ($k_L a$) untuk tiap U_G di reaktor 18 L dan 40 L.

Cara mengukur gas hold-up adalah sebagai berikut :

1. Mengukur ketinggian volume air awal (H_0) yang sesuai dengan volume 18 L dan 40 L.
2. Mengalirkan udara dari air-flow ke reaktor pada U_G yang sudah ditentukan.
3. Pada selang waktu tertentu, mengukur ketinggian volume air yang telah diaerasikan udara (H_d).
4. *Gas holdup* dihitung dengan rumus
$$\epsilon = 1 - \frac{H_0}{H_d}$$

Cara mengukur koefisien perpindahan massa ($k_L a$) dengan menggunakan *dynamic method* (Doran, 1995) adalah sebagai berikut :

1. Menempatkan *probe DO-meter* ke dalam air dalam reaktor pada ketinggian tertentu
2. Mengalirkan udara dari *air flow* pada kecepatan superficial (U_G) tertentu.
3. Mencatat pembacaan konsentrasi O_2 yang stabil di DO meter pada saat pertama kali setelah aerasi. Konsentrasi tersebut adalah C_{AL1}
4. Mencatat konsentrasi O_2 yang stabil di DO meter pada saat berikutnya sebagai C_{AL2} .
5. Melakukan pengukuran konsentrasi O_2 dari waktu ke waktu hingga pembacaan DO meter mulai cenderung konstan/stabil. Rata-rata dari pembacaan di DO meter yang mulai steady disebut \bar{C}_{AL} .

6. Memplotkan grafik $\ln \left(\frac{C_{AL} - C_{AL1}}{C_{AL} - C_{AL2}} \right)$ Vs $(t_2 - t_1)$
7. Slope dari grafik tersebut adalah k_{La}

3.4.1.5. Penentuan U_G Optimum

Dari hasil uji hidrodinamika, selanjutnya dibuat grafik hubungan antara ε vs U_G dan antara k_{La} vs U_G . Dari grafik ini, U_G optimum untuk reaktor 18 L yang sudah diteliti dan ditemukan oleh Isnaeni (2009) diplotkan untuk mendapatkan harga ε dan k_{La} . Dengan harga ε dan k_{La} yang sama atau disebut juga iso- ε dan iso- k_{La} , maka U_G optimum untuk reaktor 40 L dapat ditentukan dari grafik tersebut. U_G optimum ini digunakan sebagai kondisi operasi pada reaktor 40 L.

3.4.2. Tahap Pre-culture

3.4.2.1. Perangkaian Alat

Pada tahap ini, semua alat yang yang dibutuhkan untuk sistem produksi dirangkai menjadi satu kesatuan seperti Gambar 3.2

3.4.2.2. Pembuatan Medium *Benneck*

Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat medium *Benneck* adalah sebagai berikut :

Tabel 3.1. Bahan Medium *Benneck*

Bahan	Komposisi (mg/dm ³ Aquadest)
KH ₂ PO ₄	200
MgSO ₄ .7H ₂ O	100
NaNO ₃	500
FeCl ₃	3-5

Cara pembuatan medium :

- Menyiapkan bahan-bahan pada tabel diatas, kemudian melarutkan bahan-bahan tersebut dalam air bersih dan diaduk sampai semuanya larut.
- Menyimpan medium yang sudah jadi dalam tempat tertutup dan aman.

3.4.2.3. Pemiakan Kultur Murni *Chlorella vulgaris* Buitenzorg

Chlorella vulgaris Buitenzorg murni dimasukkan ke dalam tempat kultivasi dan dicampur dengan medium *Benneck* dengan perbandingan tertentu sesuai kebutuhan penelitian. Kemudian dilakukan kultivasi dengan mengalirkan udara ke dalamnya. Kultivasi dapat dilakukan selama 2-3 hari dengan memberikan cahaya dengan intensitas 1000 lux untuk melewati fasa *lag* dari pertumbuhan *Chlorella vulgaris* Buitenzorg.

3.4.2.4. Penentuan Jumlah Inokulum

Penentuan jumlah inokulum perlu dilakukan untuk mengetahui perkembangan pertumbuhan *Chlorella vulgaris* Buitenzorg setelah dilakukan variasi kecepatan laju alir CO₂. Dalam proses ini dilakukan homogenisasi dengan cara mengaerasi medium kultur hingga semua endapan *Chlorella vulgaris* Buitenzorg yang ada di dalamnya merata. Kemudian mengambil sampel yang akan ditentukan jumlah selnya kemudian mengukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer. Data yang diperoleh nantinya akan dibuat menjadi kurva kalibrasi antara OD_{680} vs N_{sel}

3.4.3 Tahap Penelitian

3.4.3.1. Iso- ϵ

Setelah inokulum diukur pada tahap penentuan jumlah, kemudian inokulum tersebut dipindahkan ke dalam reaktor untuk memulai penelitian. Kondisi pH dan intensitas cahaya (I_0 dan I_b) juga diukur sebelum sistem dioperasikan. Selanjutnya kondisi operasi diatur pada

kecepatan superfisial (U_G) aerasi yang sudah ditentukan sesuai grafik ε vs U_G dengan konsentrasi CO_2 didalamnya sebanyak 5%. Sedangkan pencahayaan dibuat kontinyu pada 5000 lux.

3.4.3.2. Iso- k_{La}

Tahapannya hampir sama dengan kondisi di iso- ε hanya saja kondisi operasi diatur pada kecepatan superfisial (U_G) aerasi yang sudah ditentukan sesuai grafik ε vs k_{La}

3.4.4. Pengambilan data

Data diambil tiap 4 jam sekali yaitu antara lain OD_{600} , pH, I_0 dan I_b

3.4.5. Pengolahan Data

Data yang diambil akan diolah menjadi beberapa variabel berikut :

a. Pengolahan Data OD_{680}

Nilai OD yang didapat akan dikonversi menjadi N_{sel} dan X . N_{sel} adalah jumlah sel *Chlorella vulgaris* Buitenzorg yang terdapat dalam satu satuan volume. Sedangkan berat kering biomassa (X) adalah berat dari *Chlorella vulgaris* Buitenzorg di luar medium hidupnya. Jumlahnya dapat dihitung secara langsung dengan menggunakan data absorbansi pada 680 nm dan mengkorelasikannya pada kurva kalibrasi OD_{680} vs N_{sel} dan OD_{680} vs X .

Selanjutnya untuk mendapatkan hubungan antara X dan t atau $X = f(t)$ sebagai kurva pertumbuhan, digunakan model pendekatan. Persamaan yang digunakan untuk menghitung laju pertumbuhan spesifik (μ) atau laju pertumbuhan produksi biomassa pada fasa logaritmik adalah persamaan kinetika *Monod* (1949)

$$\mu = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} \quad \text{atau} \quad \mu = \frac{1}{N} \cdot \frac{dN}{dt} \dots\dots\dots (3.1)$$

Dimana :

μ = laju pertumbuhan spesifik (h^{-1})

X = berat kering sel/biomassa (g/dm^3)

T = waktu (h)

b. Pengolahan Data pH

Nilai pH digunakan untuk menghitung besar konsentrasi $[HCO_3^-]$ dalam reaktor dengan persamaan *Handerson-Hasselbach* berikut :

$$K_{CO_2} = \frac{[HCO_3^-][H^+]}{[CO_2]} \dots\dots\dots (3.2)$$

$$[HCO_3^-] = K_{CO_2} [CO_2] [H^+] \dots\dots\dots (3.3)$$

$$[HCO_3^-] = K_{CO_2} [CO_2] 10^{-pH} \dots\dots\dots (3.4)$$

Sedangkan untuk mencari nilai K_a da $[CO_2]$ digunakan pendekatan hukum *Henry* :

$$P_{CO_2} = H_{CO_2} [CO_2] \dots\dots\dots (3.5)$$

$$P_{CO_2} = \frac{y_{CO_2} P_T}{P_T} \dots\dots\dots (3.6)$$

$$\ln \left[\frac{H_{CO_2}}{H_{CO_2,0}} \right] = A_H \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_H \cdot \ln \left(\frac{T_0}{T} \right) + C_H \cdot \left(\frac{T_0}{T} - 1 \right) \dots\dots\dots (3.7)$$

$$\ln \left[\frac{H_{CO_2}}{H_{CO_2,0}} \right] = A_K \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_{KH} \cdot \ln \left(\frac{T_0}{T} \right) + C_K \cdot \left(\frac{T_0}{T} - 1 \right) \dots\dots\dots (3.8)$$

Dengan menggabungkan dua persamaan terakhir, maka kandungan bikarbonat $[HCO_3^-]$ dapat dihitung :

$$[HCO_3^-] = \left(\frac{K_{CO_2,0}}{H_{CO_2,0}} \right) \left(\frac{y_{CO_2} P_T}{10^{-pH}} \right) \left(\frac{\text{EXP} \left[A_K \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_K \cdot \ln \left(\frac{T_0}{T} \right) + C_K \cdot \left(\frac{T_0}{T} - 1 \right) \right]}{\text{EXP} \left[A_H \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_H \cdot \ln \left(\frac{T_0}{T} \right) + C_H \cdot \left(\frac{T_0}{T} - 1 \right) \right]} \right) \dots\dots (3.10)$$

Dengan :

P_T = temperatur operasi (atm)

$y_{CO_2,0}$ = konsentrasi gas CO2 yang diumpankan (%)

$K_{CO_2,0}$ = $4,38 \cdot 10^{-7}$

$H_{CO_2,0}$ = 2900 kPa.kg/mol

T = temperatur operasi (K)

T_0 = temperatur standar (K)

Konstanta-konstanta aktivitas gas CO_2 :

$$\begin{aligned} A_k &= 40,557 & B_k &= -36,782 & C_k &= 0 \\ A_h &= 22,771 & B_h &= -11,452 & C_h &= -3.117 \end{aligned}$$

c. Pengolahan Data I

Jumlah intensitas yang diterima oleh reaktor (I_0) dan besar intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh reaktor (I_b) digunakan untuk menentukan besarnya nilai energi yang digunakan untuk produksi biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg. Nilai energi tersebut ditentukan melalui persamaan berikut (Hirata *et al*, 1996) :

$$E_x = \frac{\int_0^t I_t dt}{\Delta X \cdot s} \dots \dots \dots (3.11)$$

dimana :

ΔX = berat biomassa yang dihasilkan selama masa kultivasi (g/dm^3)

s = jarak yang ditempuh cahaya di dalam kultur medium (m)

I_t = intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh kultur medium (W/m^2)

t = waktu (jam)

dengan nilai konversi $1 \text{ lux} = 2,95 \cdot 10^{-3} \text{ W/m}^2$

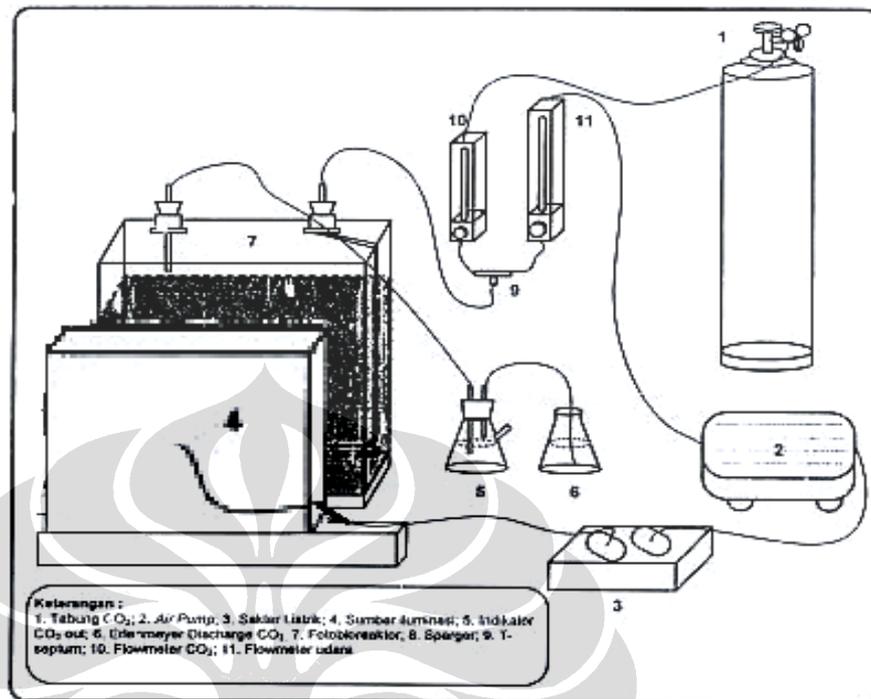
Energi cahaya total yang diterima oleh medium kultur selama pertumbuhan adalah (Hirata *et al*, 1996) :

$$E = \frac{\int (I_i - I_t) dt}{\Delta X \cdot s} \dots \dots \dots (3.12)$$

Selanjutnya dicari nilai efisiensi konversi energi cahaya untuk pembentukan biomassa η (Hirata *et al*, 1996) :

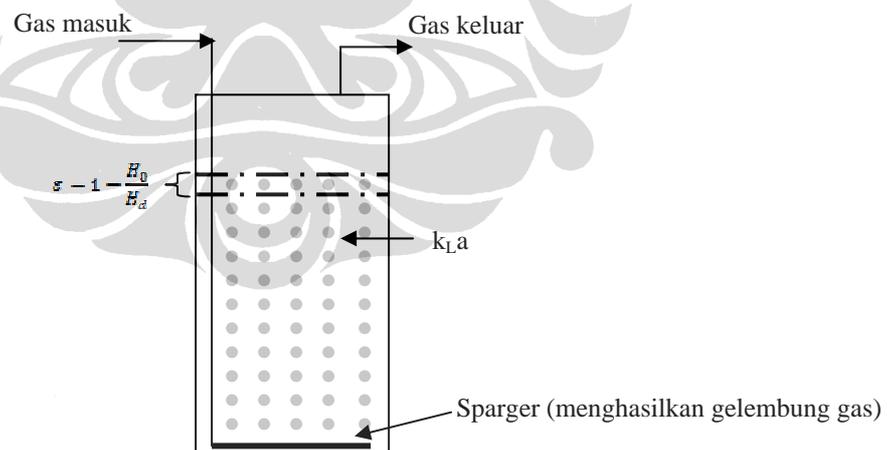
$$\eta = \frac{E_x}{E} \times 100\% \dots \dots \dots (3.13)$$

3.5. RANGKAIAN PERALATAN



Gambar 3.2. Rangkaian peralatan penelitian

3.6. SKEMA PROSES



Gambar 3.3. Skema proses dalam penelitian