

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 RANCANGAN PERCOBAAN

#### 1. Variabel

Penyerapan CO<sub>2</sub> memerlukan suatu kondisi optimal. Dalam penelitian ini akan dilakukan beberapa variasi untuk mencari kondisi ideal dan menghasilkan kondisi penyerapan terbaik oleh mikroalga.

##### a. Asumsi :

- H<sub>2</sub>S sudah di *pretreatment*.
- N<sub>2</sub> *inert*.

b. Variabel kendali : pH (8-9), konsentrasi awal mikroalga dan perbandingan C : N : P (50 : 8 : 1) % berat (N = 30 mg/l, P = 4 mg/l, dan C = *limiting*).

##### c. Variabel bebas :

- Laju pembebanan gas campuran CO<sub>2</sub> dan N<sub>2</sub> (0,03; 0,04; 0,05; 0,06 dan 0,07 l/l min).
- Konsentrasi gas CO<sub>2</sub> % volume (10%, 20%, 30% dan 40%).
- *Initial* biomassa.

c. Variabel respon : produksi biomassa.

#### 2. Analisa

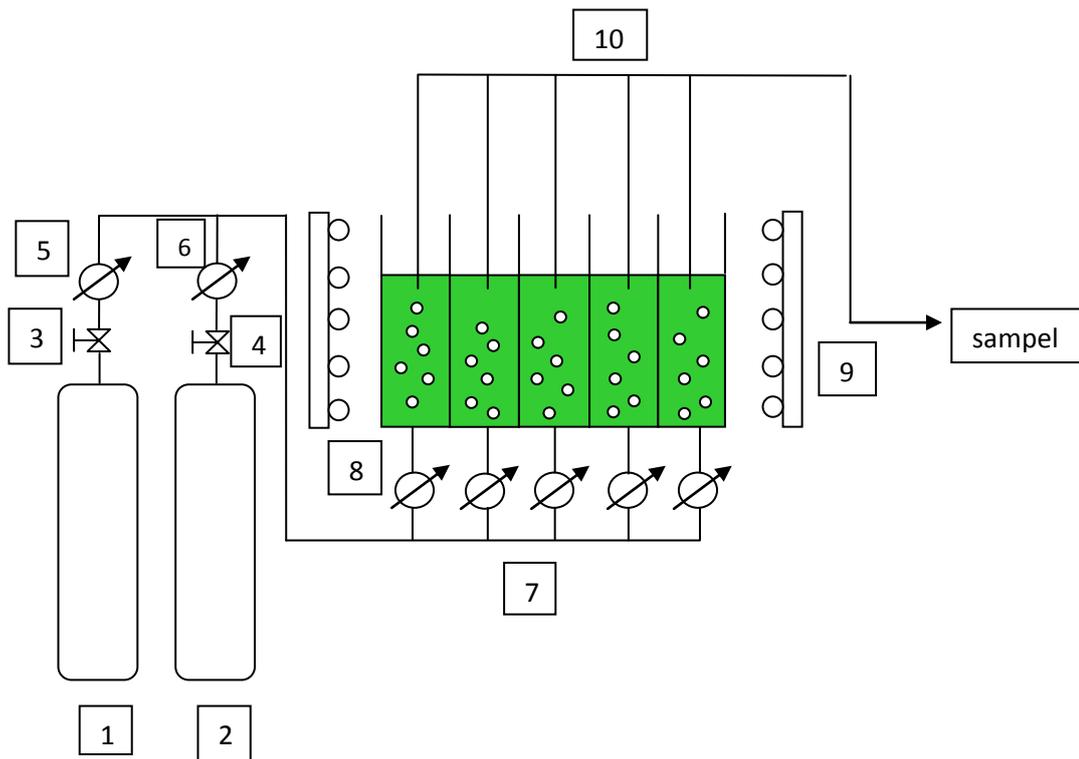
Data yang akan dianalisis dikumpulkan dengan metode observasi dan pengamatan. Data-data yang akan dianalisis antara lain :

1. Kemampuan mikroalga menyerap CO<sub>2</sub> untuk pemurnian biogas pada berbagai variabel percobaan.
2. Hasil akhir penyerapan CO<sub>2</sub> akan dianalisis menggunakan cara *chemical absorption*, titrimetri dan telaah pustaka.

### 3.2 ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Satu set *photobioreactor* jenis *bubble column* (gambar 3.1) untuk konsentrasi CO<sub>2</sub> 10% volume dan 20% volume dengan kondisi operasi *batch*.

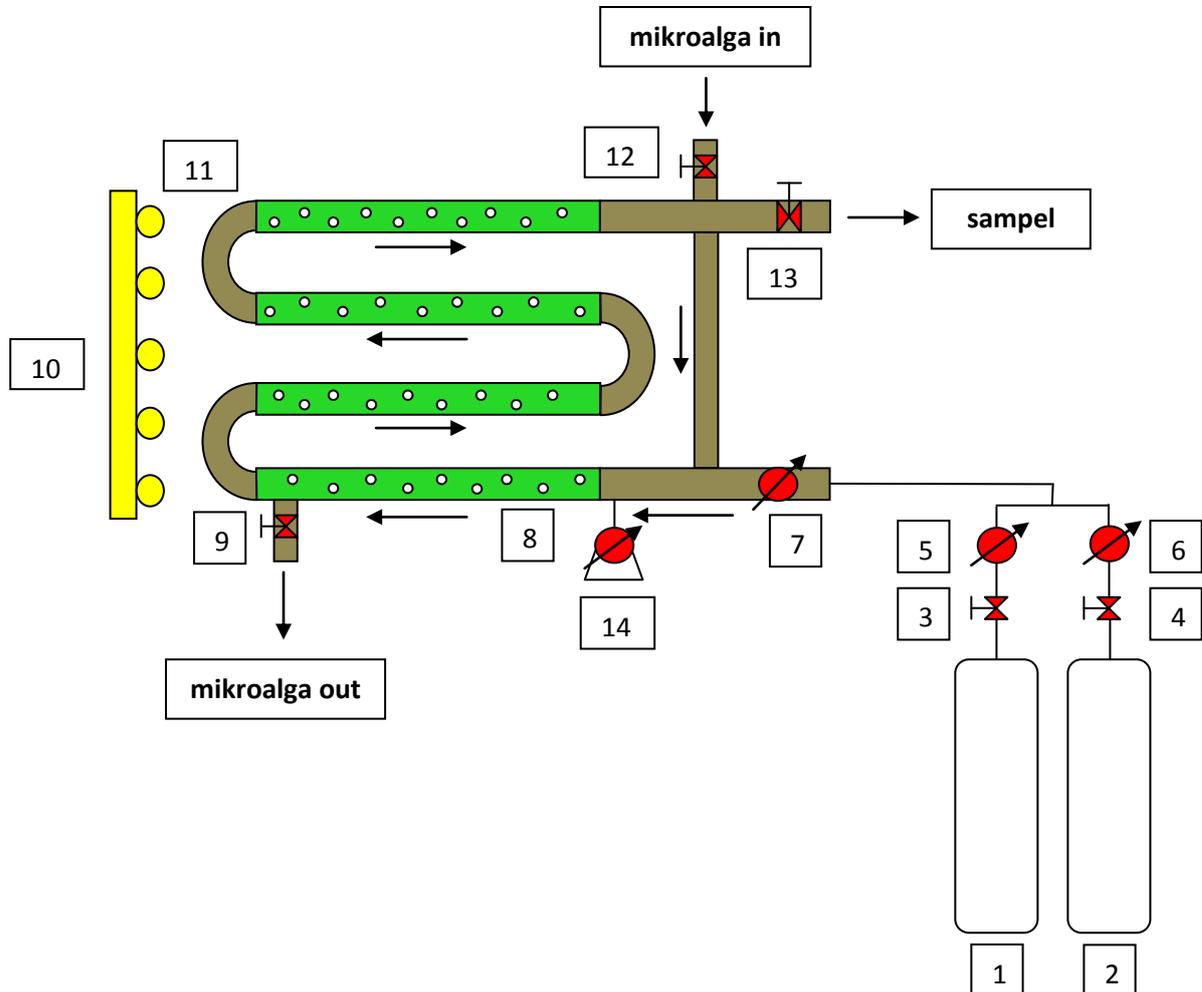


Gambar 3.1 *Set up photobioreactor jenis buble coloumn* untuk pemurnian biogas

Keterangan :

- |  |  |
|--|--|
| 1. Tabung gas N <sub>2</sub>                   | 6. <i>Flow</i> meter tabung gas CO <sub>2</sub>      |
| 2. Tabung gas CO <sub>2</sub>                  | 7. <i>Flow</i> meter <i>photobioreactor</i>          |
| 3. Valve tabung gas N <sub>2</sub>             | 8. <i>Photobioreactor</i> jenis <i>buble coloumn</i> |
| 4. Valve tabung gas CO <sub>2</sub>            | 9. Lampu TL dengan daya 20 W (4 buah)                |
| 5. <i>Flow</i> meter tabung gas N <sub>2</sub> | 10. Hasil gas  |

- b. Satu set *photobioreactor* jenis *tubular coloumn* (gambar 3.2) untuk konsentrasi CO<sub>2</sub> 30% volume dan 40% volume dengan kondisi operasi *batch*.



Gambar 3.2 *Set up photobioreactor* jenis *tubular coloumn*

Keterangan :

- |   |  |
|---|--|
| 1. Tabung gas N <sub>2</sub>                    | 8. <i>Photobioreactor</i> jenis <i>tubular coloumn</i> |
| 2. Tabung gas CO <sub>2</sub>                   | 9. Valve keluaran mikroalga                            |
| 3. Valve tabung gas N <sub>2</sub>              | 10. Lampu TL dengan daya 20 W (4 buah)                 |
| 4. Valve tabung gas CO <sub>2</sub>             | 11. Elbow  |
| 5. <i>Flow meter</i> tabung gas N <sub>2</sub>  | 12. Valve masukan mikroalga                            |
| 6. <i>Flow meter</i> tabung gas CO <sub>2</sub> | 13. Tempat pengambilan sampel                          |
| 7. <i>Flow meter photobioreactor</i>            | 14. Pompa sirkulasi dengan kapasitas 3 l/jam           |

- c. Alat analisis *chemical absorbtion*
- d. Kertas pH
- e. Spectrofotometer
- f. TDS meter
- g. Centrifuge
- h. Oven

Bahan yang digunakan adalah :

- a. Gas N<sub>2</sub> dan gas CO<sub>2</sub> (dikondisikan seperti campuran gas pada biogas / biogas sintetik)
- b. *Microalgae (Clamydomonas sp)*
- c. Nutrient C (CO<sub>2</sub>) : N (Nitrat) : P (TSP) = 50 : 8 : 1
- d. NaOH
- e. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- f. Indikator MO dan PP
- g. Tawas
- h. Aquadest

### **3.3 PROSEDUR PENELITIAN**

#### **1. Perancangan dan Pembuatan *Photobioreactor***

Photobioreaktor merupakan tempat mikroalga untuk tumbuh dengan kondisi proses tertentu. Photobioreaktor didesain dalam bentuk *tubular column* (gambar 3.2) dengan tujuan untuk memperbesar waktu tinggal biogas dalam photobioreaktor. Dengan semakin lama waktu tinggal maka semakin banyak gas CO<sub>2</sub> yang terserap oleh mikroalga.

Gambar 3.2 menunjukkan sebuah *tubular column* digunakan untuk media kultivasi mikroalga sekaligus sebagai penyerap gas CO<sub>2</sub> dalam biogas. *Tubular column* dipilih dengan pertimbangan mempunyai waktu tinggal yang relatif lebih lama dibandingkan bioreaktor lainnya.

Lampu TL dengan daya 20 W sebanyak 4 buah yang diletakkan sejauh 20 cm dari reaktor digunakan untuk sumber energi bagi mikroalga dalam melakukan fotosintesisnya. Fungsi lampu ini menggantikan cahaya matahari.

## 2. Karakterisasi *Photobioreactor*

Karakterisasi photobioreaktor akan dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum operasi penyerapan CO<sub>2</sub> untuk tiap mikroalga. Karakterisasi ini akan dilakukan dengan parameter-parameter berikut :

- a. Laju alir gas campuran (l/min).
- b. Siklus gelap/terang (*light/dark cycle*) terhadap laju pertumbuhan alga.
- c. Optimasi kondisi operasi : temperatur, pH dan kandungan *nutrient*.

## 3. Kultivasi *Microalgae*

Kultivasi dilakukan sampai didapatkan nilai absorbansi mendekati 1 dan pH *microalgae* dijaga (pH=8-9). Kultivasi dilakukan untuk memaksimalkan absorpsi CO<sub>2</sub> oleh *microalgae*. Langkah-langkah kultivasi :

- a. Menyiapkan mikroalga cair (*Chlamydomonas sp*) dan memasukkan ke dalam reaktor sampai penuh (tidak ada rongga udara yang masuk).
- b. Memeriksa nilai absorbansi awal dan mengencerkannya sampai didapat nilai absorbansi sekitar 0,2.
- c. Memberikan nutrient dengan perbandingan 50 : 8 : 1.
- d. Mengalirkan gas CO<sub>2</sub> dan N<sub>2</sub> ke dalam reaktor.
- e. Memeriksa pH larutan setiap hari.
- f. Mengambil sampel larutan setiap hari dan diperiksa nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer.
- g. Kultivasi baru dihentikan setelah nilai absorbansi larutan mendekati 1.

## 4. Analisa Hasil Gas

Gas yang dihasilkan pada kolom *photobioreactor* setelah waktu kultivasi selesai akan dianalisa menggunakan *chemical absorption* dengan tujuan untuk mengetahui seberapa besar gas CO<sub>2</sub> yang terserap (*absorption*) oleh *microalgae*. Langkah-langkah analisa :

- a. Menyiapkan larutan sampel sebanyak 10 ml.
- b. Membuat larutan NaOH 1 N dengan melarutkan 40 gram NaOH ke dalam 1 liter aquadest.
- c. Memberikan indikator MO sebanyak 3 tetes ke dalam larutan sampel.
- d. Titrasi dengan larutan NaOH sampai TAT.
- e. Memberikan indikator PP sebanyak 3 tetes ke dalam larutan sampel.

- f. Titrasi kembali dengan larutan NaOH sampai TAT.
- g. Mencatat kebutuhan larutan NaOH yang digunakan untuk titrasi.
- h. Memasukkan data tersebut ke dalam perhitungan stoikiometri untuk mencari besar CO<sub>2</sub> yang terserap oleh mikroalga.

#### 5. Analisa Biomassa

Biomassa yang terserap oleh mikroalga dapat dianalisa dengan membuat kurva standar hubungan antara absorbansi dengan biomassa. Langkah-langkah membuat kurva standar :

- a. Mengambil mikroalga cair yang akan digunakan dalam percobaan sebanyak 500 ml.
- b. Memeriksa nilai absorbansi awal dengan menggunakan spectrophotometer.
- c. Mengencerkannya dengan menggunakan aquadest sampai diperoleh beberapa nilai absorbansi berkisar antara 0,1-1.
- d. Mengambil mikroalga cair yang telah diencerkan masing-masing sebanyak 50 ml.
- e. Membuat larutan tawas dengan melarutkan 10 gram tawas ke dalam 100 ml aquadest.
- f. Menambahkan 10 ml larutan tawas ke dalam 50 ml mikroalga cair yang telah diencerkan.
- g. Mengaduk campuran tersebut dengan menggunakan stirrer selama 5 menit.
- h. Memasukkan campuran tersebut ke dalam centrifuge selama 10 menit sampai terbentuk endapan/flok.
- i. Menyaring endapan tersebut dengan kertas saring.
- j. Mengeringkan endapan tersebut dengan menggunakan oven pada suhu 105°C selama kurang lebih 2 jam dengan memeriksanya tiap 30 menit sekali.
- k. Menimbang berat endapan kering yang telah terbentuk.
- l. Membuat kurva dengan memplotkan nilai absorbansi dan berat endapan kering.

#### 6. Analisa Laju Pertumbuhan Mikroalga pada *Dark and Light Cycle*

Laju pertumbuhan mikroalga dapat juga diketahui dengan melakukan percobaan *dark and light cycle* yang merupakan salah satu faktor yang penting pada penelitian ini. Langkah-langkah analisa :

- a. Menyiapkan reaktor dan mengisi reaktor dengan mikroalga cair sampai penuh.

- b. Memeriksa nilai absorbansi awal dan mengencerkannya sampai didapat nilai absorbansi sekitar 0,2
- c. Memberikan nutrient dengan perbandingan C : N : P = 50 : 8 : 1.
- d. Mengalirkan gas CO<sub>2</sub> dengan konsentrasi gas 10% dan laju alir gas 0,031 l/min.
- e. Menyalakan lampu 40 W pada masing-masing sisi reaktor selama 6 jam.
- f. Mengambil sampel dari reaktor sebanyak 20 ml.
- g. Memeriksa nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer.
- h. Mematikan lampu dan aliran gas CO<sub>2</sub> selama 6 jam.
- i. Memeriksa nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer.
- j. Melakukan langkah e sampai i secara berulang-ulang sampai didapat nilai absorbansi yang konstan.
- k. Mencatat dan memplotkan nilai absorbansi pada kurva standart sehingga diperoleh besar biomassa yang dihasilkan.
- l. Data biomassa dimasukkan ke dalam perhitungan laju pertumbuhan mikroalga sehingga didapat hasil laju pertumbuhan mikroalga yang valid.

#### 7. Analisa *Bicarbonat Alkalinity*

Analisa ini dilakukan untuk memperoleh nilai alkalinitas dari *bicarbonate* sehingga dapat digunakan untuk mencari nilai CO<sub>2</sub> bebas. Langkah-langkah analisa :

- a. Menyiapkan larutan sampel sebanyak 50 ml dan memasukkannya ke dalam erlenmeyer.
- b. Membuat larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,5 N.
- c. Menambahkan 3 tetes indikator MO ke dalam larutan sampel.
- d. Titrasi dengan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sampai TAT.
- e. Mencatat kebutuhan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> yang digunakan untuk titrasi.
- f. Memasukkan data tersebut ke dalam perhitungan stoikiometri untuk mencari kadar *bicarbonat alkalinity* dalam mikroalga.

#### 8. Analisa *Free CO<sub>2</sub>*

Analisa ini dilakukan untuk mengetahui seberapa besar CO<sub>2</sub> bebas yang dimanfaatkan oleh mikroalga sehingga konversi ke biomassa dapat diketahui. Langkah-langkah analisa :

- a. Menyiapkan larutan sampel sebanyak 10 ml.
- b. Memeriksa nilai *Total Dissolve Solid* larutan sampel dengan TDS meter.
- c. Memplotkan data-data yang diperlukan (temperatur, TDS, pH, dan *bicarbonate alkalinity*) pada kurva nomograph (Gambar 3.3) sehingga diperoleh nilai CO<sub>2</sub> bebas.

9. Analisa Jumlah Sel Mikroalga

Analisa ini dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan sel mikroalga.

Langkah-langkah analisa :

- a. Membersihkan Petroff-Hauser Counting Chamber atau Haemocytometer dengan alkohol 70% dan mengeringkannya dengan tissue.
- b. Meletakkan cover glass di atas alat hitung.
- c. Menambahkan  $\pm 50 \mu\text{l}$  suspensi sel mikroalga (kira-kira 1 tetes) dengan cara meneteskan pada parit kaca pada alat hitung. Suspensi sel akan menyebar karena daya kapilaritas.
- d. Membiarkan sejenak sehingga sel diam di tempat (tidak terkena aliran air dari efek kapilaritas).
- e. Meletakkan alat hitung pada meja benda kemudian cari fokusnya pada perbesaran 40x10.
- f. Melakukan perhitungan secara kasar apakah diperlukan pengenceran atau tidak. Jika dalam satu kotak kecil terdapat sel-sel yang banyak dan bertumpuk maka perhitungan akan tidak akurat dan diperlukan pengenceran dengan perbandingan 1:5 atau 1:10.
- g. Menghitung sampel, paling tidak sebanyak 5 kotak kecil (lebih banyak lebih baik). Hasil perhitungan dirata-rata kemudian hasil rata-rata dimasukkan rumus untuk kotak kecil. Jika dilakukan pengenceran maka jumlah sel/ml dikalikan faktor pengenceran.

Gambar 3.3 Nomograph untuk evaluasi nilai CO<sub>2</sub> bebas (Greenberg et al, 1992)