

**Biosorpsi Zat Warna Methylene Blue oleh
*Aspergillus niger***

SKRIPSI

Oleh :

NOVIA RINA SUBYEKTI

155090201111053



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2020**

Biosorpsi Zat Warna *Methylene Blue* oleh *Aspergillus niger*

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Oleh :

NOVIA RINA SUBYEKTI

155090201111053



JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2020

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Biosorpsi Zat Warna Methylene Blue oleh *Aspergillus niger*

Oleh :

NOVIA RINA SUBYEKTI
155090201111053

Setelah dipertahankan didepan Majelis Penguji
pada tanggal 2 Juli 2020

dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Anna Safitri, S.Si., M.Sc., Ph.d
NIP.198008132005022008

Dr.Sasangka Prasetyawan,MS
NIP. 196304041987011001



Mengetahui,
Rektor Universitas Brawijaya
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Masruri, S.Sc., M.Si, Ph.D.
NIP. 19751020200212100

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Novia Rina Subyekti

NIM : 155090201111053

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul

**Biosorpsi Zat Warna *Methylene Blue* oleh
*Aspergillus niger***

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub diisi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan penuh kesadaran.

Malang, 02 Juli 2020

Yang Menyatakan



(Novia Rina Subyekti)

NIM. 155090201111053

Biosorpsi Zat Warna *Methylene Blue* oleh *Aspergillus niger*

ABSTRAK

Industri tekstil menimbulkan pencemaran lingkungan khususnya pada industri batik yang menghasilkan limbah zat warna. Salah satu zat warna yang digunakan yaitu *methylene blue*. Zat warna ini termasuk pewarna kationik tiazin yang dianggap sebagai polutan air, bersifat sangat toksik, karsinogenik dan mutagenik. Biosorpsi merupakan salah satu metode yang menggunakan biosorben untuk menghilangkan atau mengurangi polutan. Dalam metode biosorpsi ini digunakan biomassa jamur. *Aspergillus niger* dapat menurunkan kadar warna dari limbah cair dengan mengadsorpsi dan mensekresi enzim-enzim ekstraseluler. Proses biosorpsi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya suhu, pH larutan, konsentrasi larutan dan waktu kontak. Penelitian ini difokuskan pada penentuan kondisi optimum dari pH larutan dan waktu kontak larutan dari zat warna. Larutan zat warna *methylene blue* diadsorpsi pada pH 4, 5, 6, 7, dan 8 dengan waktu kontak selama 10, 15, 20 dan 25 jam. Absorbansi larutan sebelum dan sesudah adsorpsi diukur menggunakan spektrofotometer visible. Pada penelitian ini diperoleh hasil biosorpsi pada kondisi optimum di pH 6 dengan waktu kontak selama 25 jam dan persen adsorpsi sebesar 67.53%.

Kata kunci : *Aspergillus niger*, biosorpsi, *methylene blue*, pH, waktu kontak

Biosorption of Methylene Blue Using *Aspergillus niger*

ABSTRACT

The textile industry causes environmental pollution, especially in the batik industry which produces waste from synthetic dyes. One of the synthetic dyes used is methylene blue. *Methylene blue* contains cationic thiazine dyes which are considered as water pollutants, are very toxic, carcinogenic, and mutagenic. Biosorption is technique that used to remove or to reduce pollutants. In this current study, biosorbent used is from fungi. *Aspergillus niger* can reduce the color content of liquid waste by adsorbing and secreting extracellular enzymes. The biosorption process is affected by several factors, including temperature, pH of the solution, contact time, and the concentration of the solution. This study is focused on determining the optimum conditions of the pH of the solution and contact time of the solution of the dye. The solution of *methylene blue* dyes was adsorbed at pH 4, 5, 6, 7, and 8 with a contact time of 10, 15, 20 and 25 hours. The absorbance of the solutions before and after adsorption was measured using a visible spectrophotometer. In this study, biosorption results were obtained in optimum conditions at pH 6 with a contact time of 25 hours and percent adsorption of 67,53%.

Keyword: *Aspergillus niger*, biosorption, contact time, *methylene blue*, pH



DAFTAR ISI

Contents

COVER	i
LEMBAR JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
<u>1.1.</u> Latar Belakang	1
<u>1.2.</u> Rumusan Masalah	3
<u>1.3.</u> Batasan Masalah.....	3
<u>1.4.</u> Tujuan Penelitian.....	3
<u>1.5.</u> Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
<u>2.1.</u> Methylene Blue	4
<u>2.2.</u> Biosorpsi	4
<u>2.3.</u> <i>Aspergillus niger</i>	5
<u>2.4.</u> Faktor yang mempengaruhi Biosorpsi	7
<u>2.5.</u> Mekanisme Biosorpsi.....	8
<u>2.6.</u> Hipotesis.....	9
	ix

BAB III METODE PENELITIAN 10

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian 10

3.2 Alat dan Bahan 10

 3.2.1 Alat 10

 3.2.2 Bahan 10

3.3 Tahapan Penelitian 10

 3.4.2 Peremajaan Biakan Murni *Aspergillus niger* 11

 3.4.3 Pembuatan Media Cair 12

 3.4.4 Pembuatan Inokulum dalam Media Cair 12

 3.4.5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Methylene Blue 12

 3.4.6 Pengamatan Kurva Pertumbuhan *Aspergillus niger* 12

 3.4.7 Pembuatan Kurva Baku Methylene Blue 13

 3.4.8 Penentuan Kondisi Optimum Biosorpsi Methylene Blue 13

 Pengaruh pH Larutan 13

 3.4.9 Pengolahan Data 14

 3.5.10 Analisis Data 14

BAB IV Hasil dan Pembahasan 16

4.1 Pembiakan Jamur *Aspergillus niger* 16

 4.2 Kurva Pertumbuhan *A. niger* Tanpa dan Dengan Methylene Blue 16

 4.3 Penentuan pH Optimum dari Biosorpsi Methylene Blue Menggunakan *Aspergillus niger* 18

 4.4 Penentuan Waktu Kontak dari Biosorpsi Methylene Blue Menggunakan *Aspergillus niger* 20

BAB V PENUTUP 23

 5.1 Kesimpulan 23

 5.2 Saran 23

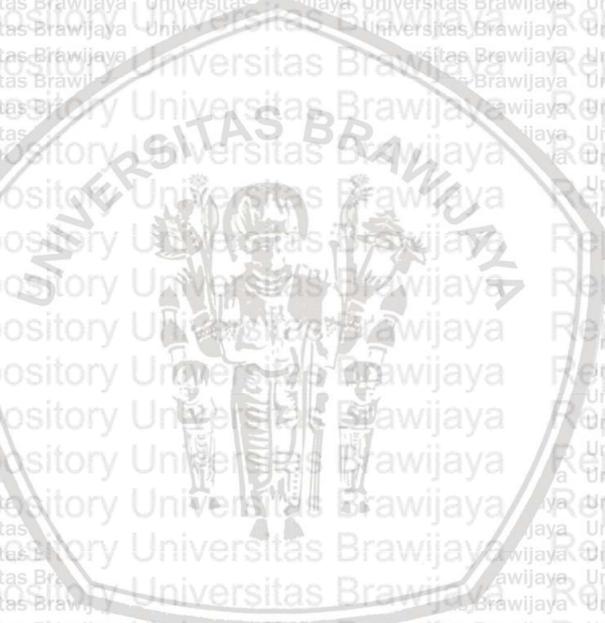


DAFTAR PUSTAKA

24

LAMPIRAN

30





DAFTAR TABEL

Tabel 3.4 Tabel ANOVA (Analysis of Variance) 17

Tabel 4.3 Tabel 5% Notasi BNJ Variasi pH..... 20

Tabel 4.4 Tabel 5% dan 1% Notasi BNJ Variasi Waktu Kontak 22





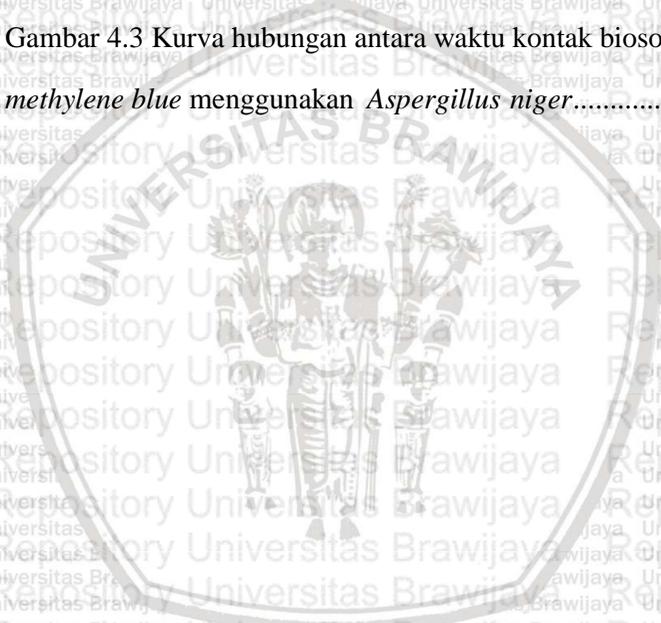
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Methylene Blue. 6

Gambar 4.1 Perbandingan Kurva Pertumbuhan *Aspergillus niger* Dengan dan Tanpa Zat Warna *Methylene Blue*..... 19

Gambar 4.2 Kurva hubungan antara pH biosorpsi *methylene blue* menggunakan *Aspergillus niger*..... 20

Gambar 4.3 Kurva hubungan antara waktu kontak biosorpsi *methylene blue* menggunakan *Aspergillus niger*..... 23



BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Dari yang kita ketahui, industri tekstil merupakan sumber pencemaran lingkungan khususnya limbah tekstil. Air limbah industri tekstil dapat dikenali dari cemaran zat warna yang bervariasi dari jenis maupun jumlahnya, karena warna menjadi kontaminan pertama limbah cair. Limbah tekstil yang berwarna tidak hanya menimbulkan polusi secara visual, tapi juga meningkatkan resiko kerusakan lingkungan dan gangguan kesehatan. Berdasarkan struktur kimianya, zat warna dibagi menjadi zat warna thiazine, aminokinon, stilben, difenil metana, azo, akridin, kinolin, nitroso, indigoida, aminokinon, anin serta indifenol. Tetapi, secara umum zat warna digolongkan menjadi dua, yaitu zat warna alami dan zat warna sintetik [1]. Limbah cairan zat warna yang dihasilkan industri tekstil merupakan senyawa organik non-biodegradable dimana senyawa zat warna di lingkungan perairan dapat mengalami penguraian secara alami dengan bantuan sinar matahari [2].

Dalam industri tekstil, *methylene blue* termasuk zat warna *thiazine* dan sering digunakan karena harganya murah dan mudah diperoleh. *Methylene blue* merupakan zat warna dasar yang digunakan dalam proses pewarnaan kain katun, kain mori, kulit, dan tannin [3]. *Methylene blue* termasuk pewarna kationik tiazin yang berwarna biru tua dalam keadaan teroksidasi dan tidak berwarna pada keadaan tereduksi [4]. Zat warna ini digunakan di banyak industri dan dianggap sebagai polutan air yang sangat toksik, karsinogenik, dan mutagenik. Telah terbukti bahwa *methylene blue* dapat menyebabkan gangguan kesehatan yang buruk bagi manusia seperti methemoglobinemia, kebingungan mental, sensasi terbakar saat bernafas, berkeringat, mual, dan muntah [5].

Air limbah dari zat warna biasanya diolah dengan flokulasi yang dikombinasikan dengan flotasi, elektroflokulasi, filtrasi membran, koagulasi elektrokinetik, penghancuran elektrokimia, pertukaran ion, iradiasi, pengendapan, ozonasi, dan metode pengolahan katok yang melibatkan penggunaan karbon aktif dan

campuran udara. Namun, teknologi ini umumnya tidak efektif dalam menghilangkan warna karena mahal dan kurang beradaptasi dengan berbagai limbah zat warna [6]. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk dekolorisasi *methylene blue*, salah satunya dengan menggunakan jamur pelapuk coklat *Fomitopsis pincicola* yang diperoleh dari Kyushu University, Fukuoka, Jepang dan diinkubasi selama 15 hari, menghasilkan persen adsorpsi sebesar 92,56% pada konsentrasi MB 100 mg/L setelah diinkubasi 14 hari [7]. Serta biodegradasi metilen biru menggunakan *Gloephyllum trabeum* yang dilakukan pada media cair PDB pada hari ke 0, 7, dan 14 menghasilkan persen dekolorisasi (%PD) sebesar 47,15; 61,78; dan 71,61% [8].

Biosorpsi dapat dianggap sebagai sub-kategori dari adsorpsi. Namun, awalan bio menunjukkan keterlibatan entitas biologis, yaitu organisme hidup, komponen, atau produk turunan dari organisme hidup. Mekanisme yang terjadi dalam proses biosorpsi berupa adsorpsi fisik, pertukaran ion, chemisorpsi (termasuk kompleksasi / kelasi) dan mikropresipitasi [9]. Biosorpsi merupakan salah satu proses biologis dimana biomassa digunakan sebagai biosorben untuk menghilangkan polutan. Metode biosorpsi memiliki keunggulan berbeda dari metode biologis lainnya; misalnya, prosesnya tidak memerlukan persiapan larutan nutrisi. Juga tidak ada batasan toksisitas dalam organisme yang digunakan [10].

Dekomposisi atau dekolorisasi senyawa organik, terutama pewarna, oleh ozon dan berbagai spesies oksigen aktif lainnya telah digunakan untuk pengolahan air limbah [11]. Metode dekolorisasi limbah zat warna pada masa ini telah banyak dikembangkan, seperti metode fisika-kimia yaitu adsorpsi, pengolahan kimia, dan pertukaran ion [12]. Efektivitas dekolorisasi tergantung pada strain yang digunakan dalam proses serta pada struktur spesifik pewarna dan komposisi dari limbah pewarna [13].

Jamur dipilih sebagai salah satu mikroorganisme yang mampu menurunkan kadar warna dari limbah cair karena dapat mengadsorpsi dan mensekresi enzim-enzim ekstraseluler. *Aspergillus niger* memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar pewarna pada larutan [14]. *Aspergillus niger* dapat digunakan untuk memproduksi

biomassa karena komposisi dinding selnya yang mengandung gugus karboksil, amina, dan fosfat [15].

Berdasarkan uraian di atas, pada penelitian ini akan ditentukan kondisi optimum pada biosorpsi *methylene blue* menggunakan *Aspergillus niger* yang meliputi pH awal larutan dan waktu kontak larutan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang dituliskan diperoleh rumusan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh pH awal larutan pada biosorpsi zat warna *methylene blue* oleh *Aspergillus niger* ?
2. Bagaimana pengaruh waktu kontak pada biosorpsi zat warna *methylene blue* oleh *Aspergillus niger* ?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Variasi pH awal yang digunakan untuk proses adsorpsi *methylene blue* adalah pH 4, 5, 6, 7 dan 8.
2. Variasi waktu kontak yang digunakan untuk proses adsorpsi *methylene blue* adalah 10, 15, 20 dan 25 jam.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pH optimum awal larutan *methylene blue* yang diadsorpsi menggunakan *Aspergillus niger*.
2. Mengetahui waktu kontak optimum adsorpsi larutan *methylene blue* yang diadsorpsi menggunakan *Aspergillus*

1.5 Manfaat Penelitian

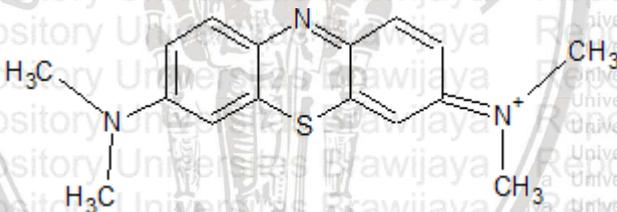
Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi tentang pemanfaatan *Aspergillus niger* sebagai adsorben zat warna *methylene blue* serta sebagai alternatif dalam pengurangan pencemaran zat warna *methylene blue* pada limbah batik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Methylene Blue

Industri tekstil menghabiskan air dan bahan kimia dalam jumlah besar untuk proses perendaman tekstil. Dilihat dari struktur kimianya zat warna tahan terhadap pemudaran apabila terkena cahaya, air dan bahan kimia. Zat warna biasanya memiliki struktur molekul aromatik kompleks, yang membuat struktur ini lebih stabil dan sulit terurai. Zat warna dapat diklasifikasikan menjadi 3 jenis, yaitu zat warna anionik (pewarna langsung) bersifat asam, dan reaktif, zat warna kationik (pewarna dasar), dan zat warna non-ionik (pewarna dispersi). Zat warna yang berwarna cerah, larut dalam air, reaktif, dan bersifat asam merupakan zat warna yang paling beresiko, karena tidak terpengaruh terhadap perlakuan konvensional [16].



Gambar 2.1 Struktur Methylene blue

Methylene blue adalah pewarna kationik fenotiazin trisiklik yang digunakan dalam berbagai bidang, seperti bidang tekstil, kertas, karet, plastik, kulit, kosmetik, industri farmasi dan makanan. Dalam dosis tinggi pewarna menyebabkan toksisitas dan juga berbahaya jika tertelan, mengiritasi mata, sistem pernapasan dan kulit dan secara luas digunakan sebagai model pewarna anionik dan kationik dalam studi adsorpsi menggunakan biosorben murah [17].

2.2 Biosorpsi

Biosorpsi merupakan proses biologis yang memanfaatkan mikroorganisme hidup maupun mati untuk melakukan pertukaran ion, penyerapan terhadap zat warna atau logam berat. Biosorpsi

didefinisikan juga sebagai kemampuan material biologi inaktif untuk menyerap logam berat secara pasif dengan cepat [18]. Biosorpsi terjadi melalui proses ion exchange dan adsorpsi yang melibatkan gugus fungsi pada makromolekul seperti karboksil, hidroksil, dan amina [19].

Proses biosorpsi melibatkan dua fase yaitu fase padat (biosorben) dan fase cair (pelarut) yang terdiri dari spesies terlarut untuk diserap, contohnya ion logam. Ada banyak cara agar logam diserap oleh sel karena struktur mikroorganismenya yang kompleks. Mekanisme biosorpsi dibagi menjadi dua subdivisi tergantung pada metabolisme sel, ada yang bergantung dan tidak bergantung pada metabolisme sel. Biosorpsi juga dapat diklasifikasikan menjadi tiga, berdasarkan lokasi di mana logam dihilangkan dari suatu larutan, yaitu akumulasi ekstraseluler/pengendapan, penyerapan permukaan sel dan akumulasi intraseluler [20]. Biosorpsi dapat terjadi karena adanya material biosorben dan larutan yang mengandung logam berat dengan afinitas yang tinggi sehingga mudah terikat dengan biosorben [21].

Metode biologis meliputi bakteri, jamur, ragi, biosorpsi alga, juga biodegradasi dalam metode perawatan aerob / anaerob aerob, anaerob, anoksik atau kombinasi. Semua metode ini tergantung pada beberapa faktor seperti: jenis pewarna, komposisi air limbah, dosis dan biaya bahan kimia yang diperlukan, biaya operasional (energi dan bahan), kondisi lingkungan dan biaya penanganan produk limbah yang dihasilkan [22].

2.3 *Aspergillus niger*

Aspergillus niger merupakan jamur yang berkoloni atau berserabut hitam yang tersebar luas di lingkungan alami [23]. Ciri dari *Aspergillus niger* yaitu mempunyai kepala konidia yang besar dan berwarna hitam atau coklat hitam. Mempunyai konidia kasar dan mengandung pigmen, hifa septat dan miselium bercabang [24]. *A. niger* juga merupakan salah satu dari sekitar 250 spesies *Aspergillus*.

Berikut adalah klasifikasi dari *Aspergillus niger* :

Kingdom	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Kelas	: Euromycetes
Ordo	: Eurotiales

Familia : *Trichomaceae*
Genus : *Aspergillus*
Spesies : *A. niger*
Sub-spesies : *A. niger*

Aspergillus niger merupakan salah satu spesies jamur yang paling umum dari genus *Aspergillus* yang menjadi penyebab penyakit jamur hitam pada buah-buahan dan sayuran tertentu, serta merupakan kontaminan umum pada makanan. *A. niger* adalah anggota dari genus *Aspergillus* yakni sekumpulan jamur yang umumnya dianggap aseksual. *A. niger* dapat tumbuh stabil pada nilai pH di bawah 2 sampai pH 8 [25]. Jamur ini tersebar secara geografis dan telah diamati di berbagai habitat karena dapat menempati berbagai substrat. *A. niger* secara umum juga ditemukan sebagai saprofit yang tumbuh pada daun mati, biji-bijian yang lama disimpan, kompos dan vegetasi membusuk lainnya. Spora tersebar luas dan sering dikaitkan dengan bahan organik dan tanah [26].

A. niger memiliki beberapa keunggulan yaitu kebutuhan nutrisi yang rendah, tingkat pertumbuhan yang tinggi, dapat mengeluarkan protein dalam jumlah tinggi, dan genomnya telah diurutkan. *A. niger* berpotensi menghasilkan hingga 25 g/L glukamilase dan telah diakui sebagai organisme GRAS (*Generally Recognize as Safe*) oleh FDA. Namun demikian, *A. niger* memiliki kelemahan tertentu yang membatasi perannya dalam produksi protein heterolog. *A. niger* memiliki antara 100-200 gen yang mengkode protease, beberapa di antaranya disekresikan dan aktivitasnya dapat menurunkan protein rekombinan [27].

A. niger merupakan kapang yang digunakan untuk menghasilkan berbagai jenis asam seperti asam oksalat, asam glukonat, asam-2 hidroksipropana-1,2,3-trikarboksilat, beberapa jenis enzim seperti selulase, α -amilase, asparaginase, katalase, glukosa oksidase proteinase, lipase, pektinase dan fitase. *A. niger* juga digunakan dalam bioteknologi. Terutama untuk memproduksi beberapa enzim, misalnya produksi asam sitrat dan asam glukonik, juga untuk produksi enzim ekstraseluler yang berguna bagi pengolahan pangan [15]. Dalam dinding sel jamur mengandung gugus fungsional sebagai sisi aktif yang digunakan untuk adsorpsi.

Komponen utama dari dinding sel jamur adalah kitin, befungsi sebagai sisi aktif jamur yang mampu mengadsorpsi zat warna[28].

2.4 Faktor yang mempengaruhi Biosorpsi

Proses adsorpsi dipengaruhi oleh beberapa faktor. Diantaranya adalah suhu, pH, waktu kontak, dan konsentrasi awal teradsorpsi.

a. pH

Adsorpsi antara fasa padat-cair sangat dipengaruhi oleh pH larutan. Adsorpsi yang dilakukan pada pH tinggi cenderung memberikan hasil yang kurang sempurna, karena pada kondisi basa terbentuk senyawa oksida dari unsur pengotor lebih besar sehingga akan menutupi permukaan adsorben [29]. Kemampuan adsorpsi pada permukaan adsorben dan tipe permukaan aktif ditandai oleh pH_{pzc} (*point of zero charge*) dimana pH pada saat titik muatannya bernilai 0, biasanya digunakan untuk menggambarkan elektrokinetik pada permukaan. Nilai pH digunakan untuk mendeskripsikan pada sistem dimana H^+ atau OH^- yang menentukan potensial ion. Adanya gugus fungsi seperti OH^- pada adsorpsi zat warna kationik terjadi saat $pH > pH_{pzc}$. Sedangkan pada adsorpsi zat warna anionik terjadi pada $pH < pH_{pzc}$, dimana permukaan bermuatan positif [30].

b. Waktu Kontak

Waktu kontak merupakan salah satu parameter yang penting dalam biosorpsi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Wahyuningsih dkk [31], jika waktu kontak yang dilakukan semakin lama, maka persentase adsorpsi yang dihasilkan akan semakin besar, karena penggunaan pH optimum pada variasi sebelumnya. Dengan bertambahnya waktu kontak persentase adsorpsi mengalami kesetimbangan. Setelahnya, persentase adsorpsi cenderung konstan karena adsorben telah melewati waktu kesetimbangan yang menyebabkan sebagian molekul zat warna terlepas akibat.

c. Konsentrasi Awal Larutan

Nilai efektifitas adsorpsi mengalami penurunan dengan bertambahnya nilai konsentrasi awal. Hal ini dikarenakan kemampuan menyerap adsorben terhadap ion logam sudah

maksimum, dimana penurunan efisiensi penyerapan pada konsentrasi tinggi terjadi karena jumlah ion logam dalam larutan tidak sebanding dengan jumlah partikel adsorben yang tersedia. Sehingga adsorben akan mencapai titik jenuh dan efisiensi penyerapan akan berkurang [32].

d. Suhu

Persentase penyerapan akan meningkat seiring dengan peningkatan suhu dan akan mengalami penurunan yang signifikan setelah suhu optimal tercapai. Kenaikan suhu ini dapat menyebabkan putusannya ikatan-ikatan penyusun dinding sel. Peningkatan suhu lebih lanjut tidak berpengaruh pada persentase penyerapan [33].

2.5 Mekanisme Biosorpsi

Mekanisme biosorpsi dibagi menjadi beberapa cara, diantaranya, berdasarkan metabolisme sel (proses yang tergantung pada metabolisme dan yang tidak tergantung pada metabolisme sel) dan berdasarkan posisi logam berat yang dihilangkan (akumulasi ekstraseluler, akumulasi intraseluler dan penyerapan oleh permukaan sel) [34]. Mekanisme yang terlibat dalam proses biosorpsi meliputi chemiorpsi, kompleksasi, adsorpsi-kompleksasi pada permukaan dan pori-pori, pertukaran ion, mikropresipitasi, kondensasi logam berat hidroksida, dan adsorpsi permukaan [35]. Biosorpsi terjadi melalui proses sebagai berikut [36] :

- a. Perpindahan massa dari cairan ke permukaan adsorben
- b. Difusi dari permukaan adsorben ke dalam adsorben melalui pori
- c. Perpindahan massa dari cairan dalam pori ke dinding pori
- d. Adsorpsi pada dinding pori

Bioakumulasi disebut juga sebagai biosorpsi aktif yang melibatkan 2 proses, yaitu keterikatan unsur-unsur yang beracun pada permukaan dan melibatkan transportasi aktif ion-ion zat warna ke dalam sel jamur. Biosorpsi merupakan proses pasif yang terjadi lebih cepat daripada bioakumulasi. Proses ini terjadi ketika dinding sel berikatan dengan ion zat warna dengan 2 cara, yaitu melalui pertukaran ion, dimana ion monokovalen dan divalen seperti Na, Mg, dan Ca yang berada pada dinding sel digantikan dengan ion zat

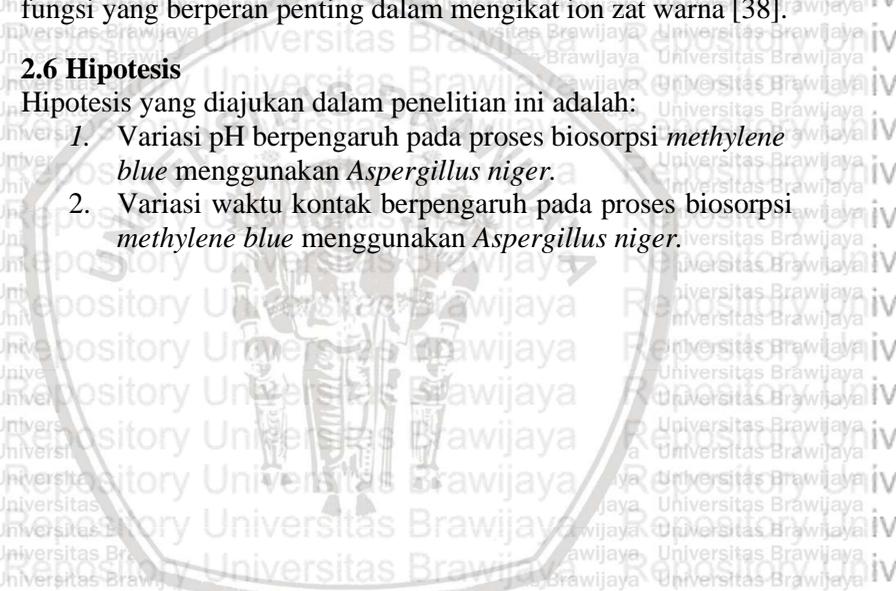
warna melalui ikatan kompleks antara gugus fungsi seperti karbonil, amina, tiol, hidroksil, fosfat, dan hidroksi-karboksil dengan ion zat warna pada permukaan sel [37].

Mekanisme biosorpsi zat warna oleh jamur terjadi dengan cara *ion exchange* atau pertukaran ion, dimana ion larutan zat warna memiliki yang afinitas tinggi terikat dengan biosorben jamur. Ion-ion pada dinding sel jamur digantikan oleh ion-ion zat warna. Ion dari zat warna yang bermuatan positif berinteraksi dengan pusat aktif dinding sel jamur yang bermuatan negatif atau dalam polimer ekstraseluler, seperti protein dan polisakarida sebagai sumber gugus fungsi yang berperan penting dalam mengikat ion zat warna [38].

2.6 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Variasi pH berpengaruh pada proses biosorpsi *methylene blue* menggunakan *Aspergillus niger*.
2. Variasi waktu kontak berpengaruh pada proses biosorpsi *methylene blue* menggunakan *Aspergillus niger*.



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang pada bulan Januari sampai bulan Maret 2020.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain jarum ose, gelas kimia (100 mL dan 250 mL), erlenmeyer (250 mL), labu ukur (100 mL), pipet ukur (10 mL), pipet tetes, gelas pengaduk, gelas arloji, spatula, tabung reaksi, kertas pH, bunsen, lemari pendingin, pemanas listrik, spektrofotometer visible, neraca analitik (*Mettler 458 Todelo AL 204*) inkubator (*Heraus tipe B 50 Memmert*), Autoklaf (*All American Model 20X*), aluminium foil, kapas, dan kasa steril.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan murni *Aspergillus niger* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Malang, *methylene blue*, kentang, dekstrosa, agar, larutan buffer pH 5, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, asam oleat, pepton, HCl, NaOH dan aquades.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini adalah :

1. Pembuatan media padat
2. Peremajaan biakan murni *Aspergillus niger*
3. Pembuatan media cair
4. Pembuatan inokulum dalam media cair
5. Penentuan panjang gelombang maksimum *methylene blue*

6. Pembuatan kurva baku *methylene blue*
7. Penentuan kondisi optimum biosorpsi *methylene blue*
 - Pengaruh pH larutan
 - Pengaruh waktu kontak *A. niger* dengan larutan zat warna
8. Analisis data

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pembuatan Media Padat

Media padat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Potato Dextrosa Agar* (PDA). Dibuat dengan cara yaitu, kentang yang telah dikupas, dipotong kecil kemudian ditimbang sebanyak 20 gram dengan neraca analitik. Setelah itu dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL, lalu ditambah aquades sebanyak 100 mL dan dipanaskan dengan pemanas listrik selama 1 jam. Ekstrak kentang yang terbentuk disaring dan dipanaskan lalu ditambahkan 0,5 mL larutan buffer asetat pH 5, 2 gram agar dan 1,5 gram dekstrosa sambil hingga mendidih dan larut. Setelah itu, larutan PDA dimasukkan dalam tabung reaksi, ditutup menggunakan kapas, kasa steril dan kertas coklat. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 15 psi. Larutan PDA steril didinginkan pada suhu ruang dengan posisi miring selama 24 jam.

3.4.2 Peremajaan Biakan Murni *Aspergillus niger*

Media PDA yang telah memadat dikontakkan dengan *A. niger* secara aseptis di dalam laminar *air flow*. Peremajaan biakan murni *A. niger* dilakukan dengan cara sebagai berikut: laminar *air flow* dinyalakan terlebih dahulu selama 15 menit, jarum ose disiapkan dalam tabung reaksi yang berisi larutan alkohol 70%. Kemudian bunsen dinyalakan, mulut tabung media padat (PDA) dan tabung berisi *A. niger* dipanaskan pada nyala api bunsen agar tetap steril. Setelah itu, spora *A. niger* diambil sebanyak satu mata ose dan dioleskan pada media padat secara aseptis lalu ditutup dengan kapas, kasa steril dan kertas coklat. Hasil peremajaan biakan murni *A. niger* disimpan dalam inkubator selama 6 hari (144 jam) dengan suhu 30°C.

3.4.3 Pembuatan Media Cair

Media cair dibuat dengan menimbang 0,15 gram CaCl_2 ; 0,1 gram KH_2PO_4 ; 0,15 gram $\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,7 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; dan 0,25 gram pepton menggunakan neraca analitik. Lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, ditambah 0,5 mL asam oleat dan 1 mL larutan buffer pH 5. Setelah itu ditambahkan aquades sebanyak 250 mL dan diaduk dan dipanaskan menggunakan magnetic stirer dan pemanas listrik hingga larut. Pemanasan dihentikan ketika larutan mendidih. Larutan ditutup menggunakan kapas, kasa steril dan kertas coklat kemudian disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 15 psi.

3.4.4 Pembuatan Inokulum dalam Media Cair

Pembuatan inokulum dilakukan dalam laminar *air flow*. Hasil biakan *A. niger* yang telah berumur 6 hari disuspensikan menggunakan 1,5mL atau 30 tetes aquades steril. 3 tabung (4,5 mL) *A. niger* dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL berisi media cair. Kemudian diinkubasi (di *shaker*) hingga mencapai pertengahan fase logaritma (25 jam).

3.4.5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Methylene Blue

Pada penentuan panjang gelombang maksimum, digunakan larutan zat warna MB dengan konsentrasi 2,5 ppm. Absorbansinya diukur dengan spektrofotometer visible pada rentang gelombang 650 nm-700nm.

3.4.6 Pengamatan Kurva Pertumbuhan *Aspergillus niger*

Inokulum *A. niger* yang belum dikontakkan dengan larutan zat warna MB dan yang telah dikontakkan dengan larutan zat warna MB disiapkan dalam 6 erlenmeyer 100 mL kemudian dikocok menggunakan shaker selama 25 jam. Inokulum disaring lalu filtrat dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur nilai ODnya menggunakan spektrometer visible. Pengukuran dilakukan tiap 5 jam sekali hingga dicapai fasa stasioner. Data yang diperoleh di plot dalam kurva pertumbuhan kemudian dibandingkan antara pertumbuhan jamur *A. niger* dengan dan tanpa zat warna.

3.4.7 Pembuatan Kurva Baku Methylene Blue

Larutan induk 10 ppm dibuat dengan menimbang 0,001 gram *methylene blue* kemudian dilarutkan dengan sedikit aquades dan dimasukkan dalam labu takar 100 mL, dan ditambahkan aquades sampai tanda batas. Larutan *methylene blue* dibuat dengan konsentrasi 1; 2; 2.5; 3; 3.5; 4 dan 5 ppm dengan pengenceran dari larutan induk 10 ppm. Setelah itu, absorbansi dari masing-masing larutan diukur dengan spektrofotometer visible pada panjang gelombang maksimum sebesar 690 nm. Hasil absorbansi masing-masing larutan kemudian dimasukkan dalam kurva baku. Persamaan garis yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung konsentrasi sebelum dan sesudah proses biosorpsi.

3.4.8 Penentuan Kondisi Optimum Biosorpsi Methylene Blue Pengaruh pH Larutan

Enam larutan standart *MB* 2,5 ppm dipipet sebanyak 20 mL dan dimasukkan dalam erlenmeyer 250 mL, diatur pH masing-masing menjadi pH 4, 5, 6, 7 dan 8 menggunakan pHmeter. Pengaturan pH dilakukan dengan menambahkan larutan HCL 0,1 M dan NaOH 0,1 M ke dalam larutan standar. Kemudian masing-masing larutan standar yang telah diatur pH-nya dikontakkan dengan 15 mL inokulum. Proses pengontakkan larutan standar dan inokulum dilakukan di dalam laminar *air flow*. Kemudian larutan diinkubasi hingga pertengahan fase logaritma (25 jam) menggunakan pengocok. Setelah mencapai pertengahan fasa logaritma, shaker dihentikan dan larutan disaring menggunakan kertas *Whatman* No.40 untuk memisahkan *A. niger* dengan filtrat. Filtrat yang telah diperoleh kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer visible.

Pengaruh Waktu Kontak *Aspergillus niger* dengan Larutan Zat Warna

Sebanyak 20 mL larutan standar MB 2,5 ppm dengan pH 6 dikontakkan dengan 15 mL larutan inokulum. Proses pengontakkan larutan standar dan inokulum dilakukan di dalam laminar *air flow*. Kemudian dikocok dengan pengocok dengan variasi waktu yang dipelajari yaitu 10 jam, 15 jam, 20 jam dan 25 jam. Setelah waktu inkubasi berakhir maka masing-masing larutan disaring dengan

menggunakan kertas *Whatman* No.40 untuk memisahkan *A. niger* dengan filtrat. Filtrat yang telah diperoleh kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer visible.

3.4.9 Pengolahan Data

3.4.9.1 Penentuan Persamaan Regresi Linier dari Kurva Baku

Persamaan regresi linier dari kurva baku larutan MB menggunakan hubungan konsentrasi (sumbu x) dengan absorbansi (sumbu y) dengan persamaan sebagai berikut:

$$y = ax$$

Dimana : $y = \text{absorbansi}$

$x = \text{konsentrasi}$

3.5.9.2 Penentuan Jumlah *Methylene blue* Setelah Adsorpsi

Penentuan jumlah larutan MB setelah adsorpsi ditentukan dengan menghitung konsentrasi dengan cara memasukkan ke dalam kurva baku. Setelah konsentrasi diketahui maka dapat dihitung jumlah larutan MB pada persamaan berikut :

$$(\% \text{ adsorpsi }) = C_0 - C_t \times 100$$

Dimana : $C_0 = \text{konsentrasi awal (ppm)}$

$C_t = \text{konsentrasi akhir (ppm)}$

3.5.10 Analisis Data

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah pH larutan MB, waktu kontak larutan, dan konsentrasi larutan MB. Analisis data dilakukan secara kuantitatif. Data kuantitatif yang digunakan yaitu pemeriksaan hasil absorbansi menggunakan uji ANOVA dengan taraf kepercayaan $\alpha = 0,05$ dan dilakukan analisis lanjutan dengan BNJ.

3.5.10.1 Uji F (ANOVA)

Uji F atau ANOVA digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan rata-rata pada data dengan menggunakan pembandingan dari standar nilai F. Apabila setelah dianalisis menggunakan uji F ini terdapat perbedaan, maka dilakukan analisa lanjutan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ).

Tabel 3.2 ANOVA (*Analysis of Variance*)

S. V	df ^x	SS	MS ^{xxx}	F ^{xxx} Calc	F 5%
Treatmen		SST	MST	MST/MSE	-

Error	SSE	SSE	MST/MSE	-
Total				

Keterangan :

- d.f *varietas* (*treatment*) = t(variasi) – 1
- d.f *total* = {n(pengulangan) x t} – 1
- d.f *error* = df *total* – df *varietas*
- MS *varietas* = $\frac{SS\ varietas}{df\ varietas}$
- MS *error* = $\frac{SS\ error}{df\ error}$
- F *calculated* = $\frac{MS\ varietas}{MS\ error}$

H₀ ditolak, jika F hitung > F tabel menunjukkan perbedaan nyata perlakuan dan dilakukan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ).

3.5.10.2 Uji Beda Nyata Jujur (BNJ)

Uji BNJ merupakan uji statistika untuk mengetahui perbedaan rata-rata suatu data atau nilai tengah yang dihasilkan dari persamaan berikut :

$$BNJ\alpha = (t\alpha, dfe) \cdot \sqrt{\frac{KTg}{r}}$$

Dimana:

- KTg : kuadrat tengah galat yang diperoleh dari analisa ragam
- α : taraf nyata
- r : banyaknya pengulangan
- t : nilai yang diperoleh dari tabel *t-student* pada taraf nyata α

Dari nilai uji BNJ tersebut jika BNJ (α) < (X_A-X_B) menunjukkan adanya perbedaan dan jika BNJ (α) > (X_A-X_B) menunjukkan tidak ada beda nyata.

BAB IV

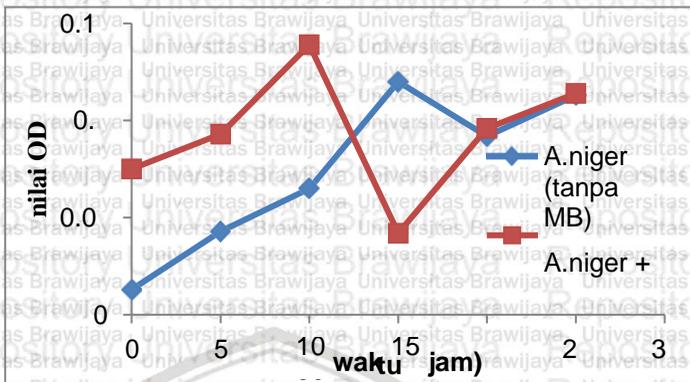
Hasil dan Pembahasan

4.1 Pemiakan Jamur *Aspergillus niger*

Jamur *A. niger* yang telah dibiakkan pada media padat PDA (*Potato dextrose agarose*) diinkubasi dalam inkubator selama 6 hari. Hasil kultur jaringan selama 6 hari diperoleh *A. niger* yang berwarna hitam. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Aida dkk [39], dimana pertumbuhan jamur *A. niger* ditandai dengan perkembangan diameter, kesuburan spora dan warna miselium. Warna koloninya hitam dan berbentuk bulat. Sedangkan menurut penelitian yang dilakukan oleh Mujahidah dkk [40], menyatakan bahwa *A. niger* pada media PDA menghasilkan hifa putih dan mulai terlihat konodia setelah diinkubasi 24 jam. Setelah 48 jam konidia yang berwarna coklat kehitaman terlihat menutupi hifa yang berwarna putih.

4.2 Kurva Pertumbuhan *A. niger* Tanpa dan Dengan Methylene Blue

Penentuan kurva pertumbuhan dilakukan untuk menentukan waktu inkubasi yang tepat saat produksi sel. Perbandingan kurva pertumbuhan dalam penelitian ini dilakukan dengan 2 perlakuan, yaitu *A. niger* dengan dan tanpa zat warna MB yang dianalisis dengan pengukuran spektrofotometer visible dari larutan setiap 5 jam dari jam ke-0 hingga jam ke-25 yang ditentukan dari pertengahan fase logaritma kurva pertumbuhan *A. niger* pada penelitian Sujarwo[41], dengan waktu inkubasi 0 sampai 90 jam. Menurut Maryanty [42], fase pertumbuhan mikroorganisme ada 4, yaitu: fase adaptasi (fase lag), fase pertumbuhan eksponensial (fase log), fase stationer dan fase kematian.



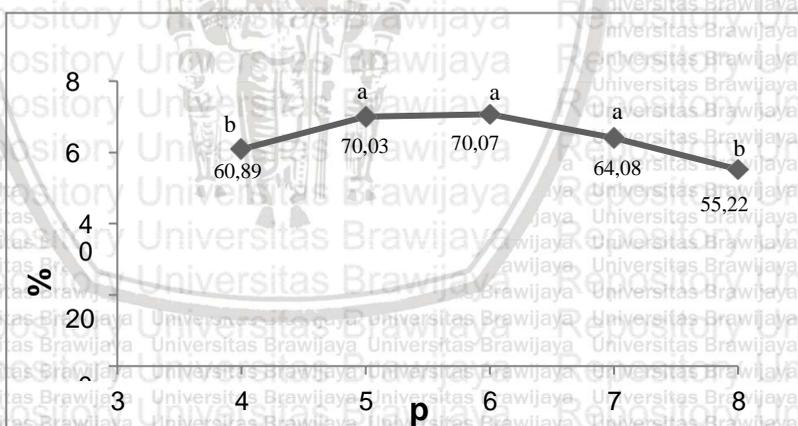
Gambar 4.1 : Perbandingan kurva pertumbuhan *Aspergillus niger* dengan dan tanpa zat warna *methylene blue*

Hasil kurva pertumbuhan *A. niger* dengan zat warna *MB* mengalami fase adaptasi (fase lag) pada jam ke-0 sampai jam ke-15, ditandai dengan adanya kenaikan dan penurunan nilai kerapatan absorbansi karena ada perbedaan tekanan osmotik antara cairan dalam *A. niger* dengan suspensi media. Dapat juga dipengaruhi dari kondisi fisiologi dan morfologi sel jamur. Kemudian, *A. niger* mengalami fase pertumbuhan (fase log) pada jam ke-15 sampai ke-20 jam dimana terjadi peningkatan sel jamur secara cepat. Waktu terjadinya fase log atau pertumbuhan dipengaruhi oleh fase sebelumnya, dimana fase lag merupakan fase dimana jamur mempersiapkan untuk fase pertumbuhan eksponensial. Secara tidak langsung semakin lama fase adaptasi, maka fase pertumbuhannya juga akan semakin lama. Sehingga pada jam ke-20 sampai jam ke-25 *A. niger* terus mengalami peningkatan. Sedangkan pada kurva pertumbuhan *A. niger* tanpa zat warna *MB* mengalami fase adaptasi pada jam ke-0 sampai jam ke-15, kemudian mengalami fase pertumbuhan pada jam ke-20 sampai jam ke-25 dan terus mengalami pertumbuhan. Pada penelitian Sujarwo, fase stasioner *A. niger* terjadi pada waktu inkubasi setelah 98 jam dimana fase pada fase ini jumlah sel yang tumbuh sebanding dengan jumlah kematian sel [41].

4.3 Penentuan pH Optimum dari Biosorpsi Methylene Blue Menggunakan *Aspergillus niger*

Penentuan pH optimum pada penelitian ini menggunakan variasi pH yaitu 4, 5, 6, 7, dan 8 dengan konsentrasi awal larutan yaitu 2,5 ppm ditambahkan adsorben *A. niger* dalam inokulum kemudian dilakukan pengocokan selama 25 jam. Hasil filtrat diukur menggunakan spektrofotometer visible pada panjang gelombang maksimum. Setiap variasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Kemudian dibuat kurva hubungan konsentrasi terserap dengan pH.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil persen adsorpsi dari pH 4 sebesar 60,8%, pH 5 sebesar 70,03% . Pada pH 6 diperoleh hasil sebesar 70,7%, pH 7 sebesar 64,07% dan pH 8 diperoleh hasil sebesar 55,2% . Persamaan $y = 0,0542x + 0,0032$ merupakan persamaan dari kurva kalibrasi yang dapat digunakan untuk menghitung zat warna MB yang teradsorpsi pada *A. niger* sehingga dapat diketahui pH optimal. Hasil yang didapatkan kemudian dibuat kurva seperti pada Gambar 4.2 :



Gambar 4.2 : Kurva hubungan antara pH biosorpsi methylene blue menggunakan *Aspergillus niger* setelah diinkubasi selama 25 jam

Dari gambar 4.2 menunjukkan persen rata-rata adsorpsi mengalami kenaikan sampai pH 6. Persen adsorpsi terbesar

terjadi pada pH 6, setelah pH 6 persen adsorpsi zat warna *MB* menurun sampai pH 8. Pada pH 4 persen adsorpsi relatif rendah karena terjadi persaingan antara ion H^+ dan gugus aktif *A. niger* untuk berikatan dengan larutan zat warna yang terdisosiasi menjadi ion-ionnya. Penyerapan mengalami kenaikan pada pH 4 sampai pH 6, dimana pH 6 merupakan pH optimum adsorpsi zat warna *MB* dengan *A. niger*, karena pada pH ini terjadi ionisasi pada permukaan adsorben dengan melepas ion H^+ , sehingga permukaan adsorben menjadi negatif dan menyebabkan adanya interaksi elektrostatik antara permukaan *A. niger* dengan *MB* [43]. Hasil ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa adsorpsi pada pH tinggi cenderung memberikan hasil yang kurang baik, karena luas permukaan adsorben lebih banyak terprotonasi, jumlah proton yang relatif kecil menyebabkan terjadinya pengikatan zat warna menjadi besar sehingga ion-ion zat warna dapat membentuk endapan hidroksida dan menurunkan penyerapan zat warna [44].

Penelitian yang dilakukan oleh Nharingo dkk [45] pada biosorpsi *MB* menggunakan ampas tebu menghasilkan persen biosorpsi yang menurun seiring dengan bertambahnya pH larutan. Pada penelitian oleh Purnomo [46] pada pembuatan arang aktif dari kulit biji kopi sebagai adsorben zat warna *MB* diperoleh kondisi optimum pada pH 6. Dari kedua penelitian tersebut, didapatkan hasil yang sesuai dengan penelitian yang dilakukan. Dimana pH larutan yang rendah efisiensi dan kapasitas adsorpsinya cenderung meningkat karena sifat kationik dari *MB* akan tampak pada pH asam.

Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Huda dan Yulitaningtyas [47] pada adsorpsi *methylene blue* menggunakan alang-alang menghasilkan persen adsorpsi 100% pada kondisi basa pH 9 dengan metode *stirrer* dan *reflux*. Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan karena adanya kesetimbangan antara ion azo dye dengan ion hidroksil dalam larutan zat warna *MB* sehingga terjadi penyerapan zat warna. Serta pada pH basa, muatan negatif pada permukaan sel jamur jauh lebih banyak, dimana hal ini dapat meningkatkan gaya elektrostatik yang terjadi

antara muatan negatif sel jamur dengan muatan positif larutan MB.

Dari uji ANOVA pada lampiran G.1, dihasilkan F hitung sebesar 0,28 lebih kecil daripada F tabel sebesar 3,48. Sehingga dapat dinyatakan bahwa antar perlakuan tidak berbeda nyata. Dari uji BNJ pada Gambar 4.3 menggunakan tabel 5%, tidak terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan pada variasi pH 5 sampai pH 8 karena memiliki notasi yang sama. Sedangkan pada pH 4 menghasilkan notasi berbeda, artinya terdapat perbedaan yang nyata karena persen rata-rata adsorpsinya berselisih relatif jauh.

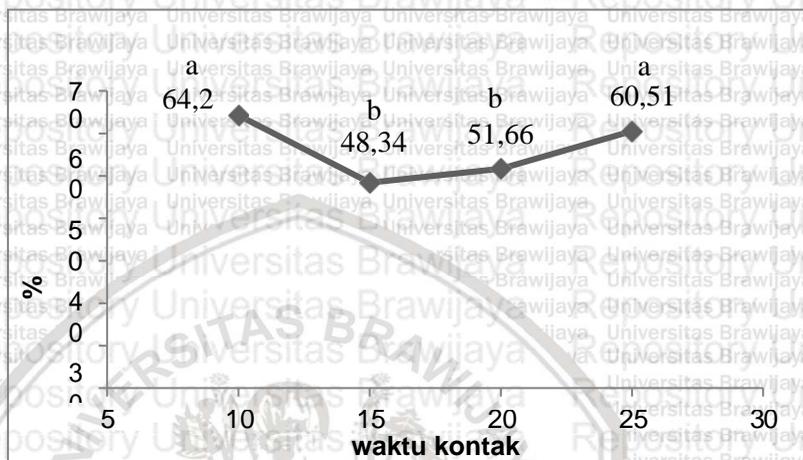
Tabel 4.3 : Penentuan Notasi BNJ Tabel 5%

pH Larutan	Rata-rata	Notasi
pH-4	60,89	b
pH-5	70,03	a
pH-6	70,70	a
pH-7	64,08	a
pH-8	55,22	a

4.4 Penentuan Waktu Kontak dari Biosorpsi Methylene Blue Menggunakan *Aspergillus niger*

Penentuan waktu kontak optimum dilakukan pada kondisi pH 6 yang merupakan pH optimum dengan variasi waktu kontak yaitu 10, 15, 20, dan 25 jam. Konsentrasi awal larutan MB yang digunakan adalah 2,5 ppm dikontakkan dengan 20 mL *A. niger* dalam bentuk inokulum kemudian dilakukan pencocokan selama 25 jam. Hasil filtrat diukur menggunakan spektrofotometer visible. Setiap variasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, waktu kontak optimum yang diperoleh pada waktu 25 jam dengan persentase adsorpsi sebesar 60,51% . Pada waktu kontak 10 jam diperoleh hasil adsorpsi sebesar 64,21%, waktu kontak 15 jam sebesar 48,34%, dan pada waktu kontak 20 jam diperoleh hasil adsorpsi sebesar 51,66%. Persamaan $y = 0,0542x + 0,0032$ merupakan persamaan dari kurva kalibrasi yang dapat digunakan untuk

menghitung zat warna *MB* yang teradsorpsi pada *A. niger* sehingga dapat diketahui waktu kontak optimum. Hasil yang didapatkan kemudian dibuat kurva seperti pada Gambar 4.3 :



Gambar 4.3: Kurva hubungan antara waktu kontak biosorpsi *methylene blue* menggunakan *Aspergillus niger*

Dari gambar 4.3 diketahui persen rata-rata adsorpsi pada waktu kontak 10 jam sudah besar, kemudian penyerapan berkurang sampai waktu kontak 15 jam, dan mengalami peningkatan yang signifikan sampai waktu kontak ke 25 jam. Hal ini dapat terjadi karena waktu kontak adsorpsi pada jam ke 10 sudah mencapai optimum diawal. Proses *shaker* menyebabkan ion *MB* yang sudah terikat di permukaan adsorben terlepas kembali dalam larutan, sehingga menyebabkan persentase adsorpsi mengalami penurunan[48]. Seiring dengan berjalannya waktu, pada jam ke-15 sampai 25, pada kurva pertumbuhan Gambar. 4.1 jam ke-25 *A.niger* berada pada fase pertumbuhan, dimana akan tercapai titik kesetimbangan yang mana dimungkinkan adsorbat akan terlepas karena permukaan adsorben telah jenuh atau persen adsorpsi berjalan konstan [49].

Penelitian yang dilakukan oleh Bilal dkk [50] pada biosorpsi *methylene blue* menggunakan *Aspergillus wentii* menghasilkan persen adsorpsi meningkat seiring dengan bertambahnya waktu



kontak, dimana waktu kontak antara adsorben dengan adsorbat yang semakin lama membuat zat warna yang terserap semakin banyak. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan, dimana semakin lama waktu inkubasi yang diberikan maka jumlah nutrisi dalam kultur akan menurun, sehingga dimungkinkan *MB* semakin terurai untuk diubah menjadi senyawa yang lebih sederhana untuk dapat dikonsumsi sebagai sumber nutrisi dan sumber karbon.

Dari uji ANOVA pada Tabel 4.4, dihasilkan *F* hitung sebesar 21,8 lebih besar daripada *F* tabel 5% sebesar 3,05 dan *F* tabel 1% sebesar 5,42. Sehingga dapat dinyatakan bahwa antar perlakuan berbeda nyata. Dari uji BNJ pada lampiran G.4 menggunakan tabel 5% dan 1%, terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan pada waktu kontak 10 jam dan 25 jam memiliki notasi yang sama.

Tabel 4.4 : Penentuan Notasi BNJ pada tabel 5% dan 1 %

Waktu Kontak (Jam)	Rata-rata	Notasi 5%	Notasi 1%
Jam ke-15	48,34	a	a
Jam ke-20	51,66	a	a
Jam ke-25	60,51	b	b
Jam ke-10	64,21	b	b

BAB V PENUTUP

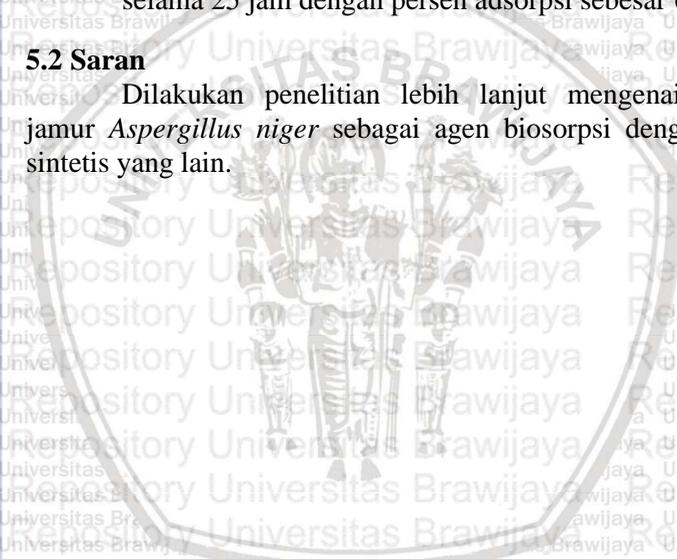
5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Adsorpsi optimum berdasarkan nilai pH awal larutan adalah pada pH 6 dengan persen adsorpsi sebesar 70,7%.
2. Adsorpsi optimum berdasarkan waktu kontak larutan adalah selama 25 jam dengan persen adsorpsi sebesar 67,53%.

5.2 Saran

Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan jamur *Aspergillus niger* sebagai agen biosorpsi dengan zat warna sintesis yang lain.



DAFTAR PUSTAKA

1. Suprihatin, H, 2014, **Kandungan Organik Limbah Cair Industri Batik Jetis Sidoarjo Dan Alternatif Pengolahannya**, *Jurnal Kajian Lingkungan*, 2(2)
2. Rachmi, I. S, 2012, **Tingkat Pengetahuan, Sikap dan Perilaku Pemilik Industri Batik dalam Mengolah Limbah Produksi Batik di Kampung Batik Jetis Kecamatan Sidoarjo Kabupaten Sidoarjo (Studi Kasus Di Kampung Batik Jetis Kecamatan Sidoarjo Kabupaten Sidoarjo)**, *Swara Bhumi e-Journal*, 5(6).
3. Yulandi, T., Saputra, E., & Daud, S, 2016, **Adsorpsi Zat Warna Methylene Blue Menggunakan Spent Bleaching Earth Sebagai Adsorben**, *Jurnal Online Mahasiswa Tenik Universitas Riau*, 3(2), 4.
4. Miclescu, A., & Wiklund, L, 2010, **Methylene blue, an old drug with new indications?**, *Jurnalul Român de Anestezie Terapie intensivă*, 17(1), 35-41
5. Mohammadi, A., Abdolvand, H., & Isfahani, A. P, 2020, **Alginate beads impregnated with sulfonate containing Calix[4]Arene-Intercalated Layered Double Hydroxides: In Situ Preparation, Characterization And Methylene Blue Adsorption Studies**, *International Journal of Biological Macromolecules*, 146, 89–98.
6. Dotto, G. L., Cadaval, T. R. S., & Pinto, L. A. A, 2012, **Use Of Spirulina Platensis Micro And Nanoparticles For The Removal Synthetic Dyes From Aqueous Solutions By Biosorption**. *Process Biochemistry*, 47(9), 1335–1343
7. Ulfi, A., 2014, **Biodegradasi Metilen Biru Oleh Jamur Pelapuk Coklat Fomitopsis pincicola**, *Jurnal Seni dan Sains*, 2(1), 4.8. Ubaidillah, N. A., Purnomo, A. S., 2014,

**Biodegradasi Metilen Biru Menggunakan Jamur Pelapuk Coklat
at *Gloeophyllum trabeum*, *Jurnal Seni dan Sains*, 2(1), 6.**

9. Barquilha, C. E. R., Cossich, E. S., Tavares, C. R. G., & da Silva, E. A., 2019, **Biosorption Of Nickel And Copper Ions From Synthetic Solution And Electroplating Effluent Using Fixed Bed Column Of Immobilized Brown Algae**, *Journal of Water Process Engineering*, 32.
10. Khataee, A. R., Vafaei, F., & Jannatkah, M., 2013, **Biosorption Of Three Textile Dyes From Contaminated Water By Filamentous Green Algal *Spirogyra* Sp.: Kinetic, Isotherm And Thermodynamic Studies**. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 83, 33–40.
11. Hirayama, S., 2017, **Decolorization of Organic Compounds by Controlled Microalgal Culture**. *Agrotechnology*, 06(03).
12. Dimawarnita, F., & Panji, T., 2019, **Aktivitas enzim ligninolitik *Pleurotus ostreatus* pada media yang mengandung TKKS dan aplikasinya untuk dekolonisasi zat warna (Activity of ligninolytic enzyme of *Pleurotus ostreatus* on media containing OPEFB and their application for dyes decolorization)**. *E-Journal Menara Perkebunan*, 87(1).
13. Przysaś, W., Zablocka-Godlewska, E., & Grabińska-Sota, E., 2018, **Efficiency Of Decolorization Of Different Dyes Using Fungal Biomass Immobilized On Different Solid Supports**. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 285–295.
14. Dewi, R. S., Kasiamdari, R. S., Martani, E., & Asih, Y., 2016, **Studi Komparatif Penurunan Warna Limbah, *Prosiding Symbion (Symposium on Biology Education)***, Prodi Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Ahmad Dahlan.
15. Vale, M. do S., do Nascimento, R. F., Leitão, R. C., & Santaella, S. T., 2016, **Cr and Zn biosorption by *Aspergillus niger***, *Environmental Earth Sciences*, 75(6), 462.

16. Andhra University, I. Raju, Ch. A., & deesh, P. J, 2018, **Studies on Biosorption of Eosin Yellow Dye With Spicifera Powder and Optimization through Central Composite Design**, *International Journal of Engineering Trends and Technology*, 59(3), 162–167.
17. Velkova, Z., Kirova, G., Stoytcheva, M., & Gochev, V, 2018, **Biosorption of Congo Red and Methylene Blue by pretreated waste Streptomyces fradiae biomass - Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies**. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 83(1), 107–120.
18. LapiK, C., & Djide, M. N. (n.d.). **Biosorpsi Logam Berat Cr(Vi) Dengan Menggunakan Biomassa Saccharomyces Cerevisiae**, *Jurnal Tugas Akhir*, Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin, Gowa
19. Wirli, A, 2016, **Karakterisasi Pertukaran Ion Timbal (II) dengan Kalsium pada Proses Biosorpsi Alga Hijau Cladophora fracta**. *Jurnal Iptek Terapan*, 10(2).
20. Rahimizadeh, M., & Liaghat, A, 2015, **Biosorbents for adsorption of heavy metals: A review**, *International Conference On Enviromental Science, Engineering And Technologies*, University of Tehran, Iran.
21. Ratnawati, E., Ermawati, R., & Naimah, S, 2010, **Teknologi Biosorpsi oleh Mikroorganisme, Solusi Alternatif untuk Mengurangi Pencemaran Logam Berat**. *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 32(1), 34
22. Permod Kumar, Bhati, H., Rani, A., & Singh, R, 2015, **Role of Biosorption of Dyes and Microorganisms in Environment**. *Advances in Life Sciences*, 4(2), 38-41
23. Hayer, K, **Germination Of Aspergillus Niger Conidia**, *Thesis*, University of Nottingham.
24. Wuryanti, W, 2012, **Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel Aspergillus niger**, *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 10(2),46.

25. Hesse, S. J. A., Ruijter, G. J. G., Dijkema, C., & Visser, J., 2002, **Intracellular pH homeostasis in the filamentous fungus *Aspergillus niger***, *European Journal of Biochemistry*, 269(14),
26. Sharma, R., 2012, **Pathogenicity Of *Aspergillus Niger* In Plants**, *Cibtech Journal of Microbiology*, 1(1), 47-51.
27. Rojas-Sánchez, U., López-Calleja, A. C., Millán-Chiu, B. E., Fernández, F., Loske, A. M., & Gómez-Lim, M. A., 2020, **Enhancing The Yield Of Human Erythropoietin In *Aspergillus Niger* By Introns And CRISPR-Cas9**. *Protein Expression and Purification*, 168, 105570.
28. Rahmayanti, P., V., 2007, **Optimasi pH dan Waktu Kontak Biosorpsi Zat Warna Remazol Yellow Oleh Biomassa *Rhizopus Oryzae* Aktif dan Erimobilisas**, *Skripsi*, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
29. Azis, A. A., Selintung, M., & Zubair, A. (n.d.). **Efektivitas Arang Aktif Dalam Mengadsorpsi Logam Cd Dan Pb Dalam Air Limbah Industri**, Program Studi Teknik Lingkungan Jurusan Teknik Sipil, Universitas Hasanuddin.
30. Liu, W., Yao, C., Wang, M., Ji, J., Ying, L., & Fu, C., 2013, **Kinetics and thermodynamics characteristics of cationic yellow X-GL adsorption on attapulgite/rice hull-based activated carbon nanocomposites**. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 32(3), 655–662.
31. Wahyuningsih, A. W. K., Ulfen, I., & Suprpto, S., 2019, **Pengaruh pH dan Waktu Kontak Pada Adsorpsi Remazol Brilliant Blue R Menggunakan Adsorben Ampas Singkong**, *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2), 17–19.
32. Salmariza, S., Mardiaty, M., Mawardi, M., Sofyan, S., Ardinal, A., & Purnomo, Y., 2016, **Adsorpsi Ion Cr (VI) Menggunakan Adsorben dari Limbah Padat Lumpur Aktif Industri Crumb Rubber**. *Jurnal Litbang Industri*, 6(2), 135.

33. Olukanni, D. O., Agunwamba, J. C., & Ugwu, E. I., 2014, **Biosorption of heavy metals in industrial wastewater using microorganisms (*Pseudomonas aeruginosa*)**. *American Journal Of Scientific And Industrial Research*. 5(2), 81-87
34. Dimawarnita, F., Panji, T., & Mulyoprawiro, S., 2017, **Biosorpsi Ion Merkuri Menggunakan Jamur Pelapuk Putih Imobil [Biosorption Of Mercury Ion Using Immobile White-Rot Fungi]**. *E-Journal Menara Perkebunan*, 85(1).
35. Javanbakht, V., Alavi, S. A., & Zilouei, H., 2014, **Mechanisms of heavy metal removal using microorganisms as biosorbent**, *Water Science and Technology*, 69(9), 1775–1787.
36. Asip, F., & Mardhiah, R., 2008, **Uji Efektifitas Cangkang Telur Dalam Mengadsorbsi Ion Fe Dengan Proses Batch**, *Jurnal Teknik Kimia*, 15(2), 5.
37. Muhammad, B., Rasheed, T., Hernández, J. E. S., Raza, A., Nabel, F., & M. N. Iqbal, H., 2018, **Biosorption: An Interplay between Marine Algae and Potentially Toxic Elements—A Review**, *Marine Drugs Journal*, , 16(65)
38. Ratnawati, E., Ermawati, R., & Naimah, S., 2010, **Teknologi Biosorpsi oleh Mikroorganisme, Solusi Alternatif untuk Mengurangi Pencemaran Logam Berat**, *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 32(1), 34.
39. Muthmainnah, A. W., Srigede, L., & Jiwintarum, Y., 2019, **Penggunaan Bahan Dasar Pisang Ambon (*Musa Acuminata*) Sebagai Media Alternatif Untuk Pertumbuhan Jamur *Aspergillus Niger***, *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(2), 93.
40. Mujahidah, B., Naim, N., & Rahmawati, 2018, **Perbandingan Pertumbuhan Jamur Pada Media Bekatul Dextrose Agar (BDA) dan Potato Dextrose Agar (PDA)).** *Prosiding Seminar Hasil Penelitian (SNP2M)*, 124.

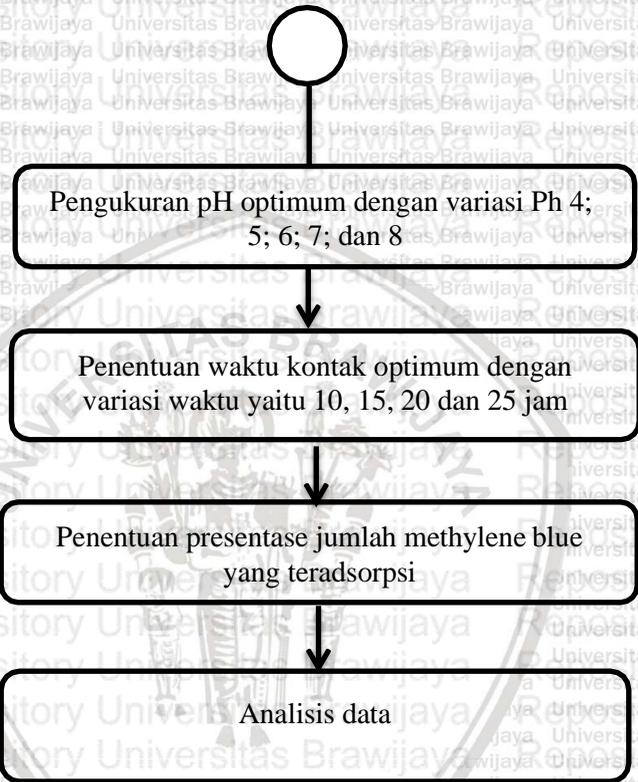
41. Sujarwo, 2009, **Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Xilanase dari Aspergillus niger**, *Skripsi*, Universitas Brawijaya.
42. Maryanty, Y., Pristianti, H., & Ruliawati, P, 2010, **Produksi Crude Lipase Dari Aspergillus niger Pada Substrat Ongok Menggunakan Metode Fermentasi Fasa Padat**, 6.
43. Maghfiroh, L, 2016, **Adsorpsi zat warna tekstil Remazol Brilliant Blue menggunakan Zeolit yang disintesis dari Abu Layang Batubara**, *Skripsi*, Universitas Negeri Semarang, Semarang.
44. Ma'rifat, M., Krisdiyanto, D., & Irwan Nugraha, K, 2014, **Sintesis Zeolit Dari Abu Dasar Batubaradan Aplikasinya Sebagai Adsorben Logam Merkuri (Ii)**. *Molekul*, 9(1), 73.
45. Tichaona, N., Viola, S., Olindah, H., & Munyaradzi, S, 2013, **Exploring The Biosorption Of Methylene Blue Dye Onto Acid Treated Sugarcane Bagasse**, *International Journal of Current Research*, 5(08),8
46. Purnomo, S. E, 2010, **Pembuatan Arang Aktif dari Kulit Biji Kopi dan Aplikasinya sebagai Adsorben Zat Warna Metilen Biru dan Naphtol Yellow**, *Skripsi*, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, Yogyakarta.
47. Huda, T., & Yulitaningtyas, T. K, 2018, **Kajian Adsorpsi Methylene Blue Menggunakan Selulosa dari Alang-Alang**, *Indonesian Journal of Chemical Analysis*, 01(01), 11.
48. Hikmawati, D. I, 2018, **Studi Perbandingan Kinerja Serbuk dan Arang Biji Salak Pondoh (Salacca zalacca) pada Adsorpsi Metilen Biru**. *Chimica et Natura Acta*, 6(2), 85.
49. Yagub, Mustafa T., Tushar Kanti Sen, Sharmeen Afroze, H. M. Ang, 2014, **Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: A review**, *Advances in Colloid and Interface Science*, 209, 172–184
50. Bilal, A., Metin, K., Metin, D., & M, H. A, 2010, **Use of Aspergillus wentii for biosorption of methylene blue from**

aqueous solution. *African Journal of Biotechnology*, 9(6), 874–881.

LAMPIRAN

Lampiran A. Diagram Alir





Lampiran B. Preparasi Larutan

B.1 Akuades seril

Sebanyak 100mL aquades dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup dengan kapas lalu disterilkan dengan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi.

B.2 Larutan asam asetat 0,3 M

Asam asetat glasial 100% (berat jenis: 1,05 g/mL; berat molekul: 60 g/mL; konsentrasi 17,5 M) diambil sebanyak 1,71 mL menggunakan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambah aquades hingga mencapai tanda batas.

B.3 Larutan natrium asetat 0,3 M

Natrium asetat (berat molekul: 82,02 g/mol) sebanyak 2,7 gram dilarutkan dengan akuades secukupnya kemudian dipindahkan ke labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga mencapai tanda batas.

B.4 Buffer Asetat pH 5

Larutan asam asetat 0,3 M sebanyak 100 mL dimasukkan ke gelas kimia kemudian ditambah dengan 180 mL larutan natrium asetat 0,3 M dan diaduk hingga homogen.

B.5 Larutan stok *methylene blue* 50 ppm

Serbuk *methylene blue* ditimbang sebanyak 0,005 gram menggunakan neraca analitik kemudian ditambahkan akuades secukupnya hingga larut di dalam gelas kimia. Larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan dengan akuades hingga mencapai tanda batas.

B.6 Larutan NaOH 0,1 M

Padatan NaOH ditimbang sebanyak 0,4 gram dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam gelas kimia kemudian dilarutkan dengan sedikit akuades. Larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambah akuades hingga mencapai tanda batas.

B.7 Larutan HCL 0,1 M



Larutan HCL 37% diambil sebanyak 0,83 mL menggunakan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL berisi akuades kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambah dengan akuades hingga mencapai tanda batas.

Lampiran C. Perhitungan Preparasi Larutan

C.1 Larutan asam asetat 0,3 M

Larutan asam asetat 0,3 M dibuat dari asam asetat glasial 100 % dengan cara :

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi asam asetat glasial} &= \frac{\text{Berat Jenis}}{\text{Berat Molekul}} \\ &= \frac{1,05 \times 1000 \text{ g/L}}{60 \text{ g/mol}} \\ &= 17,5 \text{ M} \end{aligned}$$

Untuk membuat asam asetat 0,3 M dilakukan pengenceran dengan rumus sebagai berikut :

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 17,5 \text{ M} &= 100 \text{ mL} \times 0,3 \text{ M} \\ V_1 &= 1,71 \text{ mL} \end{aligned}$$

C.2 Larutan natrium asetat 0,3 M dibuat sebanyak 100 mL dengan cara :

$$\begin{aligned} \text{Mol CH}_3\text{COONa} &= [\text{CH}_3\text{COONa}] \times V_{\text{larutan}} \\ &= 0,03 \text{ mol} \times 82,02 \text{ g/mol} \\ &= 2,4606 \text{ gram} \end{aligned}$$

C.3 Buffer asetat pH 5

Ka asam asetat = $1,8 \times 10^{-5}$

$$\text{pH} = \text{pKa} - \log \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}$$

$$\begin{aligned} 5 &= 4,74 - \log \frac{100 \text{ ml} \times 0,3 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}}}{(100-x) \text{ ml}} \\ &= 4,74 - \log \frac{30 \text{ mmol}}{1 \text{ mL} \times 0,3 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}}} \\ &= 4,74 - \log \frac{100}{(100-x)} \\ V &= 180 \text{ ML} \end{aligned}$$

C.4 Larutan stok methylene blue 10 ppm

Larutan stok *methylene blue* 10 ppm dibuat sebanyak 100 mL dengan cara :

$$10 \text{ ppm} = 10 \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{10 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}}$$

$$\rightarrow \frac{10 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \rightarrow \frac{1 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} = \frac{0,001 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

C.5 Larutan NaOH 0,1 M

Larutan NaOH 0,1 M (berat molekul: 40 g/mol) dibuat sebanyak 100 mL dengan cara :

$$\begin{aligned} \text{mol NaOH} &= [\text{NaOH}] \times V_{\text{larutan}} \\ &= 0,1 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} \\ &= 0,01 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa NaOH} &= \text{mol NaOH} \times \text{BM NaOH} \\ &= 0,01 \text{ mol} \times 40 \text{ g/mol} \\ &= 0,4 \text{ gram} \end{aligned}$$

C.6 Larutan HCl

Larutan HCl 0,1 dibuat dari larutan HCl 37 % (berat jenis: 1,19 g/mL; berat molekul: 36,5 g/mol) dengan cara :

$$\text{Konsentrasi HCl 37\%} = \frac{1000 \times 1,19 \times 37\%}{36,5 \text{ g/mol}}$$

$$= 12,06 \text{ M}$$

Dilakukan pengenceran untuk mendapat HCl 0,1 M dalam 100 mL

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ 12,06 \text{ M} \times V_1 &= 0,1 \text{ M} \times 100 \text{ mL} \end{aligned}$$

C.7 Larutan CaCl₂ 0,15 M

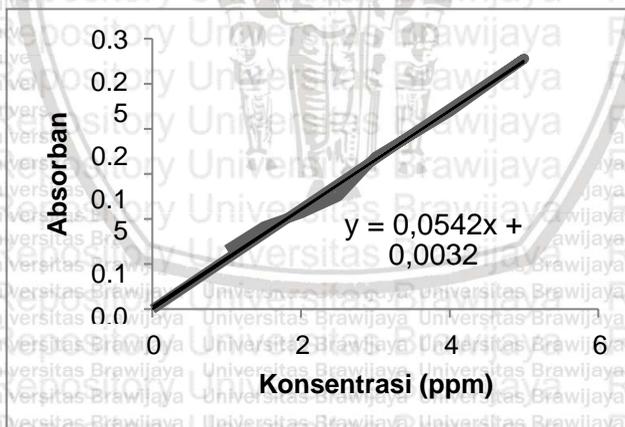
Larutan CaCl₂ 0,15 M dibuat sebanyak 100 mL dengan cara :

$$\begin{aligned} \text{Mol CaCl}_2 &= [\text{CaCl}_2] \times V \text{ CaCl}_2 \\ &= 0,15 \text{ M} \times 0,1 \text{ L} \\ &= 0,015 \text{ mol} \\ \text{Massa CaCl}_2 &= \text{mol} \times \text{Mr CaCl}_2 \\ &= 0,015 \times 111 \text{ gram/mol} \\ &= 1,665 \text{ gram} \end{aligned}$$

Lampiran D. Penentuan Kurva Standart Larutan *Methylene Blue*

Tabel D.1 Kurva Standart

C (ppm)	A
0	0
5	0,278
4	0,219
3	0,169
2,5	0,125
2	0,106
1,5	0,092
1	0,066



Gambar D.1 Kurva Standar *Methylene Blue*

**Lampiran E. Data Pengukuran Proses Biosorpsi *Methylene Blue*
Menggunakan *Aspergillus niger***

**Tabel E.1 Pengukuran pH Optimum dari Biosorpsi Zat Warna
*Methylene Blue***

pH	A	C 0	Ce	% adsorpsi	% rata-rata
pH-4(1)	0,054	2,5	1,00	60,2	60,89
pH-4(2)	0,042	2,5	0,77	69,0	
pH-4(3)	0,063	2,5	1,16	53,5	70,03
pH-5(1)	0,012	2,5	0,22	91,2	
pH-5(2)	0,024	2,5	0,44	82,4	
pH-5(3)	0,086	2,5	1,59	36,5	70,70
pH-6(1)	0,016	2,5	0,30	88,2	
pH-6(2)	0,03	2,5	0,55	77,8	64,08
pH-6(3)	0,073	2,5	1,35	46,1	
pH-7(1)	0,024	2,5	0,44	82,3	55,22
pH-7(2)	0,059	2,5	1,09	56,5	
pH-7(3)	0,063	2,5	1,16	53,5	
pH-8(1)	0,027	2,5	0,50	80,1	55,22
pH-	0,061	2,5	1,13	55,0	



8(2)				
pH-8(3)	0,094	2,5	1,73	30,6

E.1 Perhitungan Persen Adsorpsi pH Awal Larutan

$$\% A \text{ pH } 4(1) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,00 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% = 60,2 \%$$

$$\% A \text{ pH } 4(2) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 0,77 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% = 69,0 \%$$

$$\% A \text{ pH } 4(3) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,16 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% = 53,5\%$$

$$\text{Rata-rata } \% \text{ adsorpsi pH } 4 = \frac{60,2\% + 69,0\% + 53,5\%}{3} = 60,89\%$$

$$\% A \text{ pH } 5(1) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 0,22 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% = 91,2\%$$

$$\% A \text{ pH } 5(2) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 0,44 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% = 82,4\%$$

$$\% A \text{ pH } 5(3) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,59 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% = 36,5\%$$

$$\text{Rata-rata } \% \text{ adsorpsi pH } 5 = \frac{91,2\% + 82,4\% + 36,5\%}{3} = 70,3\%$$

$$\% A \text{ pH } 6(1) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 0,30 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% = 88,2\%$$

$$\% A \text{ pH } 6(2) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 0,55 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% = 77,8\%$$

$$\% A \text{ pH } 6(3) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,35 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% = 46,1\%$$

$$\text{Rata-rata } \% \text{ adsorpsi pH } 6 = \frac{88,2\% + 77,8\% + 46,1\%}{3} = 70,70\%$$

$$\% A \text{ pH } 7(1) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 0,44 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= 82,3\%$$

$$\% A \text{ pH } 7(2) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,09 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= 56,5\%$$

$$\% A \text{ pH } 7(3) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,16 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= 53,5\%$$

$$\text{Rata-rata } \% \text{ adsorpsi pH } 7 = \frac{82,3\% + 56,5\% + 53,5\%}{3}$$

$$= 64,08\%$$

$$\% A \text{ pH } 8(1) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 0,50 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= 80,1\%$$

$$\% A \text{ pH } 8(2) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,13 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= 55,0\%$$

$$\% A \text{ pH } 8(3) = \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,73 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= 30,6\%$$

$$\text{Rata-rata } \% \text{ adsorpsi pH } 8 = \frac{80,1\% + 55,0\% + 30,6\%}{3}$$

$$= 55,22\%$$

Tabel E.2 Pengukuran Waktu Optimum Larutan dari Proses Biosorpsi Zat Warna *Methylene Blue*

waktu kontak	A	Co	Ce	% adsorpsi	Rata-rata % adsorpsi
jam ke 10(1)	0,045	2,5	0,83	66,79	64,205
jam ke 10(2)	0,052	2,5	0,96	61,62	
jam ke 15(1)	0,071	2,5	1,31	47,60	48,34
jam ke 15(2)	0,069	2,5	1,27	49,08	
jam ke 20(1)	0,067	2,5	1,24	50,55	62,36
jam ke 20(2)	0,064	2,5	1,18	52,77	



jam ke 25(1)	0,05	2,5	0,92	63,10	67,53
jam ke 25(2)	0,057	2,5	1,05	57,93	

E.2 Perhitungan Persen Adsorpsi Waktu Kontak

$$\begin{aligned} \% A \text{ jam ke } 10 (1) &= \frac{2,5 \text{ ppm} - 0,83 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% \\ &= 62,8\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% A \text{ jam ke } 10 (2) &= \frac{2,5 \text{ ppm} - 0,96 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% \\ &= 61,62\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata } \% \text{ adsorpsi jam ke } 10 &= \frac{62,8\% + 61,62\%}{2} \\ &= 62,21\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% A \text{ jam ke } 15 (1) &= \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,31 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% \\ &= 47,60\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% A \text{ jam ke } 15 (2) &= \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,27 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% \\ &= 49,08\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata } \% \text{ adsorpsi jam ke } 15 &= \frac{47,60\% + 49,08\%}{2} \\ &= 48,34\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% A \text{ jam ke } 20 (2) &= \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,24 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% \\ &= 50,55\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% A \text{ jam ke } 20 (1) &= \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,18 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% \\ &= 52,77\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata } \% \text{ adsorpsi jam ke } 20 &= \frac{50,55\% + 52,77\%}{2} \\ &= 51,66\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% A \text{ jam ke } 25 (1) &= \frac{2,5 \text{ ppm} - 0,92 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% \\ &= 63,10\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% A \text{ jam ke } 25 (2) &= \frac{2,5 \text{ ppm} - 1,05 \text{ ppm}}{2,5 \text{ ppm}} \times 100\% \end{aligned}$$



= 57,936%

Rata-rata % adsorpsi jam ke 25 = $\frac{63,10\% + 57,93\%}{2}$

= 60,515%

Lampiran F. Data Kurva Pertumbuhan

Tabel F.1 Perbandingan Kurva Pertumbuhan *Aspergillus niger* Dengan dan Tanpa Zat Warna *Methylene Blue*

Waktu(jam)	OD <i>A. niger</i> (murni)	OD <i>A. niger</i> + MB
0	0,013	0,075
5	0,043	0,093
10	0,065	0,139
15	0,12	0,042
20	0,092	0,096
25	0,113	0,114

Lampiran G. Uji Statistik

Tabel G.1 Tabel ANOVA Variasi pH Larutan

<i>Sumber Keragaman</i>	<i>Jumlah Kuadrat</i>	<i>Derajat Bebas</i>	<i>Kuadrat Tengah</i>	<i>F hitung</i>	<i>F tabel</i>
Perlakuan	0,000923	4	0,00023077	0,278	3,478
Galat	0,008307	10	0,00083067		
Total	0,00923	14			

Tabel G.2 Uji BNJ Variasi pH Larutan

Tabel G.2.1 Perhitungan BNJ

RUMUS	
MSe	0,000831
t(α , dfe)	2,228139
α	0,05
dfe	10
N	3
Nilai BNJ	0,052434

Tabel G.2.2 Penentuan Notasi BNJ

Tabel G.2.2.1 Tabel 5%

pH Larutan	Rata-rata	Notasi
pH-4	60,89	b
pH-5	70,03	a
pH-6	70,07	a
pH-7	64,08	a



pH-8	55,22	a
------	-------	---

Tabel G.3 Tabel ANOVA Variasi Waktu Kontak

<i>Sumber Keragaman</i>	<i>Jumlah Kuadrat</i>	<i>Kuadrat Bebas</i>	<i>Kuadrat Tengah</i>	<i>F hitung</i>	<i>F tabel 5%</i>	<i>F tabel 1%</i>
Perlakuan	330,1777	2	165,0885	21,802	3,05	5,42
Galat	302883	4	7,572075			
Total	360,4660	7				

Tabel G.4 Uji BNJ Variasi pH Larutan

Tabel G.4.1 Perhitungan BNJ

RUMUS		
Mse	7,572075	
t(α, dfe)	2,77645	4,60409
α	0,05	0,01
dfe	4	4
N	2	2
Nilai BNJ	7,64006	12,6693
	Tabel 5%	Tabel 1%

Tabel G.4.2 Penentuan Notasi BNJ

Tabel G.4.2.1 Tabel 5%

Waktu Kontak (Jam)	Rata-rata	Notasi
Jam ke-15	48,34	a



Jam ke-20	51,66	a
Jam ke-25	60,52	b
Jam ke-10	64,21	b

Tabel G.4.2.2 Tabel 1%

Waktu Kontak (Jam)	Rata-rata	Notasi
Jam ke-15	48,34	a
Jam ke-20	51,66	a
Jam ke-25	60,52	b
Jam ke-10	64,21	b

