

IV. METODE PENELITIAN

4.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ekologi Jurusan Manajemen Sumber Daya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau selama 8 bulan, dimulai pada bulan Maret sampai November 2007.

4.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah pabrik karet, yang diambil dari lokasi PT Ricry Kelurahan Meranti Pandak Pekanbaru. Air sumur, tahi ayam dan *Moina* sp.

Peralatan yang digunakan adalah akuarium besar ukuran 65 x 45 x 45 cm setebal 5 mm yang berisi 15 liter air sumur untuk aklimatisasi 2 buah, akuarium kecil ukuran 45 x 30 x 20 cm, botol media hidup *Moina* sp ukuran satu liter sejumlah 30 buah, aerator (AC) 5 buah, slang plastik, batu aerasi sebanyak 35 buah, botol sampel 30 buah, derejen 5 liter 4 buah, ember plastik, pipet biasa, pipet 10 ml, kain kasa, loupe 2 buah, gelas ukur, cawan petri dan alat-alat yang diperlukan untuk analisa kualitas air.

4.3. Metode Penelitian

4.3.1. Rancangan Penelitian.

Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan rancangan Acak Lengkap (Completely Randomized Design) dengan 5 perlakuan dan masing-masing perlakuan dengan 5 kali ulangan, yaitu perlakuan A0 (Kontrol = 0 % limbah), perlakuan A1 (0,75 % limbah karet), perlakuan A2 (1,5 % limbah karet), perlakuan A3 (3 % limbah karet) dan perlakuan A4 (6 % limbah karet). Dengan demikian diwujudkan $5 \times 5 = 25$ satuan percobaan. Penempatan tiap perlakuan pada satuan percobaan dilakukan secara acak sempurna.

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengukuran faktor fisika dan kimia air seperti : bau, rasa, warna , suhu, pH dan zat tersuspensi dan tingkat kecerahan. Untuk pengukuran faktor kimia antara lain : pengukuran : DO, BOD, COD dan NH₃ . Selain itu parameter yang diamati adalah perubahan gerakan insang dan laju pertumbuhan populasi *Moina* sp. Dimana konsentrasi larutan sesuai dengan perlakuan kemudian dimasukan *Moina* sp ke dalam masing – masing media kultur tersebut dan diarkan beberapa minggu menurut siklus kehidupan *Moina* sp Setiap dua hari dihitung kepadatan pertumbuhan populasi *Moina* sp.

Model Matematika dari rancangan percobaan ini adalah:

$$Y_{ij} = u + \tau_i + \sum_{ij}$$

$$t = 1, 2, 3, \dots, t$$

$$r = 1, 2, 3, \dots, r$$

Y_{ij} = Respon pengamatan pada satuan percobaan ke - j yang mendapat perlakuan ke- i.

u = Nilai rata-rata umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke- i

\sum_{ij} = Galat percobaan pada satuan percobaan ke - j dalam perlakuan ke-i.

t = Banyaknya perlakuan = Banyaknya ulangan pada perlakuan ke i (Gomez and Gomez, 1992).

4.3.2. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dapat dikelompokkan berdasarkan tahapan sebagai berikut

4.3.2.1. Pengambilan air limbah pabrik karet dan penyediaan *Moina sp*

Pengambilan air sampel dilakukan dengan metode "random sampling". Berdasarkan limbah yang keluar dari pabrik karet PT Ricry di Kelurahan Meranti Pandak.

Persiapan yang dilakukan meliputi pengembangan *Moina sp*. *Moina sp* diambil dari dalam parit yang tergenang di daerah danau buatan menggunakan saringan, kemudian dimasukkan ke dalam akuarium besar volume 10 liter untuk aklimatisasi selama dua minggu dan diberi pupuk dari kotoran ayam sekali dua hari 60 gr/10 liter.

4.3.2.2. Pembuatan pupuk kotoran ayam

Kotoran ayam yang telah tersedia sebelum digunakan terlebih dahulu dipisahkan dari campuran benda-benda lain. Setelah itu dikeringkan selama 24 jam dalam oven dengan suhu 80 °C sampai beratnya konstan, kemudian ditumbuk dengan lumpang, untuk dijadikan serbuk kemudian diayak. Setelah menjadi serbuk tahi ayam ditimbang sebanyak 6 g/liter, kemudian direndam selama 5 hari dan diaduk 2 kali sehari yaitu pada pagi dan sore. Untuk pemberian makanan tahi ayam selama pertumbuhan diambil 10 ml dimasukan ke masing-masing perlakuan.

4.3.2.3. Penentuan LC₅₀ dan kosentrasi perlakuan.

Sebelum percobaan dilakukan, maka ditentukan LC₅₀ air limbah karet terhadap *Moina sp* yang akan digunakan. Penentuan LC₅₀ dilakukan selama 48 dengan air statis yang diaerasi.

Moina sp yang sebelumnya telah diaklimatisasi selama 2 minggu dipindahkan ke dalam akuarium volume 1 liter yang telah diisi dengan air limbah karet sesuai dengan tingkat kosentrasi pengenceran masing-masing perlakuan adalah :

1. Air limbah karet kosentrasi 0 %.
2. Air limbah karet kosentrasi 20 %.

3. Air limbah karet konsentrasi 40 %.
4. Air limbah karet konsentrasi 60 %.
5. Air limbah karet konsentrasi 80 %.
6. Air limbah karet konsentrasi 100%.

Pengamatan terhadap kematian *Moina* sp dilakukan setelah 48 jam. *Moina* sp yang mati dihitung dan dikeluarkan dari akuarium percobaan. LC₅₀ dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$LC_{50} = LC_{100} - \frac{\sum (a \times b)}{n}$$

dimana :

LC₁₀₀ = Dosis terendah yang menyebabkan semua organisme percobaan mati.

a = Selisih dua dosis yang berurutan

b = Jumlah kematian hewan pada dua dosis berurutan dibagi dua

n = Jumlah rata-rata hewan percobaan.

Data yang didapatkan dari hasil pengujian LC₅₀ – 48 jam pada berbagai konsentrasi limbah pabrik karet, kemudian diperlakukan sesuai konsentrasi yang didapat.

4.3.2.4. Inokulasi hewan uji.

Ke dalam masing-masing media dimasukkan hewan percobaan yang diambil dari biakan, dengan padat penebaran 16 individu/liter. Dengan menggunakan kaca pembesar/loupe dipilih individu yang sehat dengan ciri-ciri warna tubuh coklat kemerahan dan saluran pencernaan penuh berisi makanan (Mujman, 1990). Individu-individu tersebut diambil dari

media biakkan dengan menggunakan pipet tetes. Untuk pemupukan *Moina* sp diberi kotoran ayam sebanyak 6 mg/liter.

4.4. Perhitungan Pertumbuhan populasi *Moina* sp

Perhitungan populasi *Moina* sp pada masing-masing perlakuan dilakukan setiap dua hari sekali pada pagi hari. Pengamatan dilakukan selama 28 hari. Pada setiap media kultur diambil sampel dengan menggunakan pipet hisap berkapasitas 25 ml sebanyak dua kali. Sebelum pengamatan sampel *Moina* sp dilakukan pengadukan media secara merata terlebih dahulu sehingga hewan uji punya kesempatan yang sama untuk tertangkap. Sampel diambil sebanyak 50 ml kemudian dituangkan ke dalam cawan petridish dan dihitung jumlah *Moina* sp dengan menggunakan counter. Sampel yang telah dihitung dikembalikan lagi ke dalam media kultur. Hasil pengamatan (jumlah individu/50 ml) kemudian dikonversikan ke dalam satu liter (Andri, 1996).

Untuk menghitung laju pertumbuhan populasi *Moina* sp pada masing – masing perlakuan dipakai rumus sebagai berikut :

$$N_t = N_0 e^{rt}$$

dimana : N_0 = Jumlah biota uji pada waktu ke nol (awal)

N_t = Jumlah biota uji pada waktu ke t

e = Bilangan natural logaritma (e =2,71828)

r = Koefisien laju pertumbuhan populasi

t = waktu

Bentuk linear model di atas adalah :

$$\ln N_t = \ln N_0 + n$$

Bila : $\ln N_t = Y$; $\ln N_0 = a$; $r = b$; dan $t = x$

Maka persamaan itu menjadi :

$$Y = a + bx \quad (\text{Krebs, 1972})$$

4.5. Pengamatan Gerakan Insang

Perhitungan gerakan insang *Moina* sp pada masing-masing perlakuan dilakukan setelah 48 jam. Pada masing-masing media kultur diambil sampel dengan menggunakan pipet sebanyak satu ekor. Sampel diletakan di atas objek glass, kemudian dilihat dibawah mikroskop. Dengan mengamati di bawah mikroskop dihitung gerakan insang dari *Moina* sp dengan memakai counter. Perhitungan gerakan insang dilakukan selama 1 menit dengan 5 kali ulangan pada individu yang berbeda pada setiap masing-masing perlakuan.

4.6 Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran faktor fisika dan kimia air seperti suhu, dan pH dilakukan dua kali selama penelitian pada pagi hari. Untuk pengukuran DO, BOD, COD, kadar nitrogen amonia juga dilakukan dua kali selama penelitian berlangsung antara lain:

4.6.1. Parameter Fisika

1. Suhu

Termometer dicelupkan ke dalam air sedalam 10 cm dan dibiarkan selama 10 menit. Selanjutnya termometer diangkat dan dicatat suhunya.

2. Zat Padat Tersuspensi

Pengukuran zat padat tersuspensi dilakukan dengan prosedur kerja sebagai berikut. Kertas saring dikeringkan dalam oven pada suhu 105° C selama 1 jam, kemudian didinginkan di dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang secepatnya. Sebanyak 25 ml air contoh disaring dengan kertas saring tersebut. Kertas saring dikeringkan kembali ke dalam oven pada suhu 105°C dan didinginkan dalam desikator. Kemudian kertas saring ditimbang, hal ini dilakukan berulang kali sampai didapatkan berat yang konstan. Padatan tersuspensi dihitung dengan rumus :

(BK akhir - BK awal)

$$\text{TSS (ppm)} = \frac{\text{-----}}{\text{ml sampel}} \times 1000$$

dimana ;

BK = Berat kertas saring (mg)

4.6.2. Parameter Kimia

1. Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan dengan pHmeter dengan cara sebagai berikut. Alat pH meter dihubungkan dengan sumber arus listrik. Kemudian diatur suhu sesuai dengan suhu larutan. Setelah itu pH meter ditera dengan buffer 4 dan 7 dan alat selektor diatur pada posisi "use" dengan mengatur tombol standarisasi sehingga indikator menunjukkan harga yang sama dengan pH larutan buffer. Kemudian selektor dikembalikan pada posisi blank. Elektroda dibilas dengan aquades lalu dikeringkan dengan kertas tisu. Berikutnya pH air contoh dikur dengan pH meter tersebut.

2. Penentuan Oksigen Terlarut (DO)

Penentuan oksigen terlarut dari limbah karet dilakukan sebagai berikut. Sebanyak 100 ml air contoh dimasukkan ke dalam erlemeyer 250 ml. Kemudian ditambahkan 1 ml $MnSO_4$ 10% dan 1 ml alkali iodine, selanjutnya dikocok dan didiamkan sampai bagian atas bening. Sebanyak 1 ml asam fosfat ditambahkan ke dalam larutan kemudian dititrasikan dengan natrium tiosulfat 0,025 N sampai timbul warna kuning pucat. Setelah itu tambahkan 1 ml amilum 1 % ke dalam larutan tersebut dan kembali titrasikan dengan tiosulfat sampai warna biru hilang. Volume natrium tiosulfat yang terpakai dicatat dan dihitung nilai DO nya dengan rumus sebagai berikut :

$$DO \text{ (ppm)} = \frac{\text{Volume tio} \times N \text{ tio} \times 8 \times 1000}{\text{ml air contoh}} \times \text{pengenceran}$$

(Metode Winkler /Standar Methode 5210)

3. Penentuan Kebutuhan Oksigen Biokimia (BOD)

Sebelum penentuan analisa BOD maka dilakukan pengenceran air limbah karet.. Sampel air limbah karet diencerkan sebesar 500 kali. Cara kerjanya antara lain diambil sampel air limbah karet sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 500 ml, kemudian ditambahkan aquadest sampai 500 ml.

Untuk selanjutnya analisa BOD sama seperti DO, tetapi air contoh disimpan dalam botol gelap dan disimpan dalam tempat yang gelap selama 5 hari. Berikutnya ditentukan oksigen terlarut dari air contoh dengan prosedur yang sama dengan penentuan DO 0 hari. Kadar BOD dapat dihitung dengan rumus :

$$BOD \ 5 \text{ (ppm)} = DO \ 0 \text{ hari} - DO \ 5 \text{ hari} \times \text{pengenceran}$$

Selanjutnya untuk mengukur DO dan BOD masing-masing perlakuan pada awal pengamatan adalah persentase perlakuan yang diberikan dikalikan dengan DO atau BOD air

limbah karet yang dapat ditambah dengan persentase air media yang diberikan dikalikan dengan DO atau BOD air media. Sedangkan untuk pengukuran DO dan BOD akhir pengamatan dilakukan dengan mengukur langsung pada tiap-tiap perlakuan (Metode Winkler/Standar Methode 5210)

4. Penentuan Kebutuhan Oksigen Kimia

Kebutuhan oksigen kimia adalah banyaknya oksigen yang dibutuhkan oleh bahan oksidan (KMnO_4 atau K_2CrO_7) untuk mengoksidasi bahan organik yang terdapat dalam suatu badan air. Pereaksi yang digunakan adalah larutan KMnO_4 0,1 N, larutan KI 10%, H_2SO_4 4 N, larutan amilum 1%, larutan natrium tiosulfat 0,05 N, larutan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,05 N dan HCl pekat.

Prosedur kerjanya adalah sebagai berikut :

1. Larutan natrium tiosulfat distandarisasi dengan mengambil sebanyak 10 ml larutan standar primer $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,05 N dan dimasukkan ke dalam botol erlemeyer. Selanjutnya ditambahkan ke dalamnya 5 ml KI 10 % dan 1 ml HCl pekat. Setelah itu dititrasi dengan I_2 secepatnya dalam bentuk larutan tiosulfat sampai terjadi warna kuning. Kemudian ditambahkan ke dalamnya 1 ml larutan amilum 1 % sehingga warnanya berubah menjadi biru. Berikutnya dititrasi kembali sehingga warna biru hilang. Kemudian dihitung normal dari larutan natrium tiosulfat.
2. Pengukuran kebutuhan oksigen kimia (COD). Sebelum pengukuran COD dilakukan pengenceran sampel air sebesar 500 kali. Dengan cara kerja sebagai berikut ; diambil sampel air limbah karet sebanyak 1 ml dimasukan ke dalam labu ukur 500 ml, kemudian ditambah aquadest sampai menjadi 500 ml. Kemudian dilakukan prosedur kerja berikut ini . Sebanyak 50ml air contoh dimasukan ke dalam botol erlemeyer dan kedalamnya ditambahkan 5 ml KMnO_4 0,1 N dan dipanaskan selama 1 jam di dalam penangas air. Kemudian didinginkan selama lebih kurang 10 menit, setelah dingin dimasukkan ke dalamnya 5 ml KI 10% dan 10 ml H_2SO_4 4 N. Berikutnya dilakukan

titrasi dengan tiosulfat sampai warna kuning pucat terjadi. Selanjutnya ditambahkan ke dalam larutan itu 1 ml larutan amilum 1 % dan akan timbul warna biru. Kemudian dilakukan titrasi sampai warna biru hilang. Banyaknya natrium tiosulfat yang terpakai dicatat. Kemudian dilakukan pula pekerjaan serupa terhadap aquades (Sebagai blanko)

Perhitungan :

$$\text{Kadar COD (ppm)} = \frac{((A - B) \times N \text{ tiosulfat} \times 8 \times 1000)}{\text{ml contoh} \times \text{pengenceran}}$$

Dimana A = ml tiosulfat untuk titrasi blanko

B = ml tiosulfat untuk titrasi air contoh

Perhitungan pengukuran COD masing-masing perlakuan pada awal pengamatan dan pada akhir pengamatan sama caranya dengan perhitungan dan pengukuran DO dan BOD (Metode Open Reflux/Standar Methode 5220 B).

5. Penentuan Senyawa Nitrogen - Amonia

Sebanyak 100 ml air contoh dimasukkan ke dalam labu erlemeyer dengan pipet, kemudian ditambahkan beberapa tetes natrium tiosulfat 0,025 N dan kocok dengan hati-hati. Berikutnya tambahkan beberapa tetes timbal asetat dalam 1 ml seng sulfat serta 0,5 NaOH ke dalam air contoh, kocok kembali dengan hati-hati.

Setengah dari larutan di atas dipindahkan dengan pipet ke dalam labu erlemeyer yang lain. Setelah itu ke dalamnya ditambahkan 5 tetes larutan Rochelle. Selanjutnya 50 ml dari larutan tersebut diambil dengan menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 ml larutan Nessler, kocok dengan hati-hati dan biarkan selama 10 menit. Setelah itu larutan ini diperiksa dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 nanometer.

Setelah itu dibuat larutan standar amonia 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; dan 1,00 ppm dari larutan standar NH_4Cl dan ditambahkan masing-masingnya dengan 2 ml larutan Nessler. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 nanometer dan dibuat kurva kalibrasinya. Konsentrasi amonia ditentukan dengan kurva yang telah dibuat. (Metode Nessler/Standar Methode 4500 C).

4.6. Analisa data

Data yang diperoleh dari masing-masing pengamatan terlebih dahulu dilakukan uji normalitas, Apabila sebaran data yang diperoleh tidak normal maka sebelum dilakukan analisa variasi, data tersebut ditransformasikan terlebih dahulu.

Setelah data terkumpul dan disusun kemudian dilakukan perhitungan analisis ragamnya. Hasil perhitungan selanjutnya kemudian disusun berupa tabel analisis ragam. Selanjutnya untuk menarik kesimpulan adalah membandingkan F_{hitung} yang didapat dengan F_{tabel} . Bila $F_{hitung} < F_{tabel}$ pada tingkat kepercayaan 95 % dinyatakan bahwa hipotesis diterima dan itu berarti rata-rata respon antara perlakuan tidak berpengaruh. Sebaliknya bila $F_{hitung} > F_{tabel}$ pada tingkat kepercayaan 95 % maka hipotesis nol ditolak, dengan demikian maka hipotesis alternatif diterima, berarti ada diantara perlakuan yang rata-ratanya berbeda. Untuk mengetahui perlakuan yang manakah yang rata-ratanya berbeda dilakukan uji lanjut Duncan New Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 5 %.