

III. Metode Penelitian

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Maret sampai dengan Oktober 2007 di Laboratorium Pengelolaan Kualitas Air dan Laboratorium Terpadu DIII BDP Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau.

3.2. Bahan dan Alat

Adapun bahan dan alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah seperti pada tabel 1 dan Lampiran 1.

Tabel 1. Bahan dan alat yang akan digunakan selama penelitian

No.	Kegunaan	Bahan	Alat
1.	Untuk eksperimen	Tanah dasar kolam (± 1 ton), karung goni	Wadah (12 kotak kayu berukuran 45 cm x 45 cm x 45 cm)
2.	Proses pengapuran	Kapur CaCO_3	Timbangan Analitik merk Ohaus
3.	Proses pemupukan	Pupuk kotoran ayam pedaging, ayam petelur dan kotoran burung puyuh kering yang telah dihaluskan., EM-4, dedak, susu manis dan goni.	Timbangan Analitik merk Ohaus
4.	Untuk mengambil sampel tanah	Kantong plastik	Pipa paralon $\varnothing$ 5 cm
5.	Penentuan tekstur tanah	Sampel tanah, soil dispersing reagen	Tabung La Motte, rak tabung
	Penentuan bahan organik tanah	Sampel tanah	Cawan, oven, furnace, desikator, timbangan analitik
6.	Penentuan pH tanah dan air	Sampel tanah, Akuades	Pengocok, Universal indikator, Cawan
7.	Penentuan kandungan nitrat tanah	Sampel tanah, Larutan pengekstraksi, akuades, Brucine, Asam sulfat pekat (HCl), Standar nitrat-N	Gelas reaksi, Kertas Whatman, gelas piala, Spektrofotometer
8.	Penentuan fosfor tanah tersedia	Sampel tanah, NH_4F 0,025 N, akuades, Ammonium molibdat, reagen SnCl_2 , kertas saring whatman	Timbangan analitik, pipet, gelas reaksi, Spektrofotometer.
9.	Penentuan suhu air	Sampel air	Thermometer
10.	Penentuan kekeruhan air	Sampel air	Turbidimeter model 2100A, tabung sampel air, larutan standar turbidity

No.	Kegunaan	Bahan	Alat
11.	Penentuan Orthofosfat air	Sampel air yang sudah disaring, Ammonium Molibdat, SnCl_2 , larutan standar Orthophosfat	Spektrofotometer model 21D, vacuum pump, erlemeyer, pipet tetes
12.	Penentuan Kesadahan Air	Sampel air, larutan Buffer, indikator EBT, Na-EDTA	Pipet tetes, erlemeyer, buret, statis
13.	Pengukuran DO	Sampel air	DO meter model 51B
14.	Penentuan CO_2	Sampel air, indikator pp, Na_2CO_3 (0,0454 N)	Erlemeyer, pipet tetes, buret, statis
15.	Pengukuran Nitrat air	Larutan Brusin-Sulfanit, larutan H_2SO_4 , larutan NaCl, larutan stock standar NO_3 (1000 ppm), larutan standar NO_3 (100 ppm) dan kertas saring	Erlenmeyer dan Spektrofotometer
16.	Pengambilan sampel dan identifikasi hewan bentos	formalin 10% dan alkohol 96 %	pipa paralon $\varnothing$ 5 cm panjang 45 cm, botol film, kotak plastik, sa-ringan bertingkat Tyler standart, kuas, cawan petri dan mikroskop binokuler

3.3. Metode

3.3.1. Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen Rancangan Acak Kelompok dengan satu faktor dan empat taraf perlakuan (Gaspersz, 1991). Untuk setiap taraf perlakuan dilakukan tiga kali ulangan untuk memperkecil kesalahan.

Sebagai perlakuan yang akan dicobakan pada penelitian ini adalah jenis pupuk bokasi yang berbeda, dimana jenis kotoran hewan yang digunakan berbeda yaitu; kotoran ayam pedaging, ayam petelur dan burung puyuh yang diberi EM-4. Dosis pupuk yang digunakan dalam penelitian ini mengikuti rumus konversi yang dianjurkan oleh Boyd (1979) yaitu grade (kualitas) pupuk 20-20-5 (20% N, 20% P_2O_5 , 5% K_2O) dibutuhkan sebanyak 45 kg/ha. Dosis pupuk ditetapkan berdasarkan kandungan unsur P pupuk bokasi, kemudian dikonversikan kedalam rumus yang dianjurkan oleh Boyd (1979) dapat dilihat pada Lampiran 2. Dengan demikian perlakuan pada penelitian ini adalah;

- P0 = Tanpa pemberian pupuk (kontrol).
 P1 = Pemberian pupuk bokasi campuran kotoran burung puyuh 60% dan 600 ml EM-4 (158,352 g/m²).
 P2 = Pemberian pupuk bokasi campuran kotoran ayam petelur 60% dan 600 ml EM-4 (116,304 g/m²).
 P3 = Pemberian pupuk bokasi campuran kotoran ayam pedaging 60% dan 600 ml EM-4 (99,48 g/m²).

Model yang digunakan dalam penelitian ini adalah model Rancangan Acak

Kelompok (Gaspersz, 1991) yaitu :

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + E_{ij} + \delta_{ijk}$$

Keterangan :

- I = 1,2,3,... (perlakuan).
 J = 1,2,3,... (waktu sampling).
 K = 1,2,3,... (ulangan)
 Y_{ij} = Kelimpahan makrozoobenthos ke-k, pada periode sampling ke-j akibat adanya pengaruh pemupukan ke-i.
 μ = Efek rata-rata yang sebenarnya.
 Ti = Pengaruh perlakuan pemupukan ke-i.
 β_j = Pengaruh kelompok ke-j
 E_{ij} = Pengaruh galat pada periode penyamplingan ke-j dengan perlakuan pemupukan ke-i.
 δ_{ijk} = Pengaruh galat pada pengamatan ke-k dalam kelompok ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i.

Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah; a) Jenis dan kelimpahan makrozoobenthos, b) Kualitas tanah sebelum dan sesudah pemupukan yang meliputi; tekstur tanah, pH, bahan organik, nitrat dan fosfor, c) Kualitas air sesudah pemupukan yang meliputi; suhu, kekeruhan, pH, Oksigen terlarut (DO), kandungan CO₂ bebas, kandungan Orthofosfat, nitrat dan kesadahan (hardness).

3.3.2. Asumsi

Pada penelitian ini diasumsikan bahwa makrozoobenthos tersebar merata pada tanah dasar dan mempunyai kemampuan yang sama dalam memanfaatkan pupuk yang diberikan.

3.4. Prosedur

Sebelum melakukan penelitian ini maka perlu dilakukan persiapan sebagai berikut; a) Persiapan wadah dan tanah, b) Penentuan tekstur, pH, kandungan bahan organik, nitrat dan fosfor tanah, c) Pemupukan dengan pupuk bokashi, d) Pengukuran faktor fisika dan kimia tanah (tekstur tanah, pH, kandungan bahan organik, Nitrogen dan fosfor tanah tersedia) serta faktor fisika dan kimia air (suhu, kekeruhan, pH, kesadahan, kandungan CO₂ bebas, Oksigen terlarut, Nitrat dan Orthofosfat), e) Penghitungan jenis dan kelimpahan makrozoobenthos.

3.4.1. Pembuatan Pupuk Bokasi

3.4.1.1. Pembuatan Inokulan

Sebelum digunakan EM-4 yang dalam keadaan dorman perlu diaktifkan dan dikembangkan dengan air susu kental manis (inokulasi) dengan cara; 1) Ambil dan siapkan wadah yang bersih dan tertutup, 2) Ambil EM-4, molase dan air dengan perbandingan 20 cc : 20 cc : 1 liter, 3) Masukkan ke dalam wadah diaduk hingga rata dan ditutup, biarkan selama 24 – 48 jam. Inokulan yang baik hasilnya apabila warnanya kuning kecoklatan, berbau wangi dan di permukaan wadah terdapat koloni bakteri dan jamur yang tumbuh (Hasibuan, 2000).

3.4.1.2. Persiapan pupuk unggas

Bahan yang digunakan dalam pembuatan pupuk bokasi adalah pupuk unggas (kotoran ayam petelur, ayam pedaging dan burung puyuh) yang didapat dari peternakan ayam pedaging di Jalan Merpati Sakti di samping Universitas Riau, Panam. Pupuk unggas tersebut terlebih dahulu dikeringkan dengan cara menjemur dengan cahaya matahari. Lalu dihaluskan dan disaring agar ukuran pupuk

homogen dan sekaligus untuk memisahkan pupuk dari sampah-sampah yang tidak diinginkan.

3.4.1.3. Pembuatan Pupuk Bokasi

Pembuatan pupuk bokasi dilakukan dengan cara mencampurkan kotoran unggas yang sudah dikeringkan pada 3.4.1.2., dedak dan sekam, dengan konversi 60% kotoran unggas, 10% dedak, 30 % sekam dan inokulan EM-4 yang sudah diaktifkan pada sub bab 3.4.1.1. Seluruh bahan kering terlebih dahulu diaduk sampai homogen, lalu tambahkan secara perlahan inokulan EM-4 sehingga kadar air sebesar 60%. Aduk rata dan setelah itu masukkan ke dalam karung goni, selama fermentasi suhu dijaga berkisar antara 40-50 °C dengan cara membolak-balik karung goni. Setelah 4 hari maka fermentasi sudah selesai dan pupuk sudah dapat digunakan (Hasibuan, 2000).

3.4.2. Tanah

3.4.2.1. Persiapan Wadah dan tanah

Sebelum penelitian terlebih dahulu dilakukan persiapan wadah uji, yaitu wadah dibuat dari kayu sebanyak 12 buah dengan ukuran (45 x 45 x 45) cm³, dilapisi dengan plastik sebagai penampung tanah dan air selama penelitian. Wadah ini disusun di luar laboratorium agar mendekati keadaan yang sebenarnya di lapangan, dan kemudian dilakukan pengacakan perlakuan sebanyak 12 buah dengan cara pencabutan kertas (Lampiran 3).

Berikutnya persiapan tanah, tanah yang diambil dari kolam percobaan Faperika UNRI, dikeringkan ± selama satu minggu. Selanjutnya tanah dibersihkan dari sampah-sampah kotoran seperti; daun, plastik dan sebagainya. Tanah yang bersih dimasukkan ke dalam semua wadah dengan ketinggian 20 cm dari dasar

wadah, karena menurut Boyd (1979) kapur dan pupuk akan bekerja sampai pada kedalaman 15 cm dari permukaan tanah dasar kolam. Kemudian dilakukan penentuan tekstur tanah, pH dan hardness. Jika $\text{pH} < 6$ dan $\text{hardness} < 20 \text{ ppm}$, maka dilakukan pengapuran menurut Boyd (1979). Karena dari hasil pengukuran pH ternyata pH tanah yang digunakan sudah mencapai 6, maka tidak dilakukan pengapuran. Tapi seluruh wadah langsung dipupuk dengan pupuk bokhasi secara acak dan seterusnya diisi air dari laboratorium DIII Budidaya Perikanan dengan ketinggian 15 cm dari permukaan tanah dasar wadah.

3.4.2.2. Penentuan tekstur tanah

Menurut LAMOTE CHEMICAL (1985), penentuan tekstur tanah dilakukan dengan cara Metode La Motte, yaitu 1) Masing-masing tabung pemisah berturut-turut tabung A, B dan C diletakkan di rak, 2) Kemudian tanah sampel dimasukkan kedalam tabung A sampai garis 15 ml, 3) Dengan menggunakan pipet, tambahkan 1 ml "Soil dispersing Reagen" yang berfungsi untuk memisahkan bagian tanah, kedalam tabung A, 4) Isi tabung A dengan air sampai batas garis 45 ml, 5) Tutup tabung A, kocok dengan hati-hati selama 2 menit, 6) Biarkan selama 30 detik, 7) Kemudian tuangkan larutan yang tidak mengendap ke tabung B, 8) Biarkan tabung B selama 30 menit dan letakkan tabung A dirak, 9) Setelah 30 menit, sisa larutan yang tidak mengendap di tabung B dituangkan ke tabung C, 10) Catat volume sedimen di tabung A dan B dimana Tabung A partikel yang mengendap adalah pasir, tabung B adalah lempung dan tabung C sisanya yaitu liat. Hitung persentase pasir, lempung dan liat. Kemudian disesuaikan dengan segitiga tekstur tanah. Pengukuran tekstur tanah dilakukan pada awal dan akhir penelitian.

3.4.2.3. Penentuan pH tanah

Penentuan pH tanah sesuai dengan prosedur yang dianjurkan oleh Boyd (1979) yaitu: 1) sampel tanah yang akan diukur ditimbang sebanyak 10 g dan masukkan ke dalam cawan, 2) tambahkan 10 ml aquades, 3) aduk dengan pengaduk selama 30 menit setelah itu ukur pH nya dengan universal indikator.

Penentuan pH tanah akan dilakukan setiap hari selama penelitian untuk semua perlakuan, yang berfungsi untuk melihat perubahan pH tanah dari setiap perlakuan.

3.4.2.4. Penentuan kandungan bahan organik tanah

Untuk mengetahui bahan organik total dalam sedimen dilakukan menurut prosedur Pett (*dalam* Ledies, 2003) dengan cara sebagai berikut : 1) cawan kosong dimasukkan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan dinginkan dalam desikator selama 30 menit, lalu cawan ditimbang, 2) sampel tanah dimasukkan ke cawan sebanyak 50 gr, selanjutnya dimasukkan kedalam oven pada suhu 105°C sampai sedimen benar-benar kering, kemudian sampel didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang, 3) sampel dan cawan kembali dibakar didalam furnace dengan suhu 550°C selama 24 jam lalu dinginkan kedalam desikator selama 60 menit dan timbang. Untuk mengetahui berat bahan organik dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Kandungan Bahan Organik Tanah} = \frac{d - a}{c} \times 100 \%$$

Keterangan :

a = berat dan cawan kosong setelah pembakaran 550°C

c = berat sampel (d-berat cawan)

d = berat sampel dan cawan setelah pengeringan 105°C

Penentuan bahan organik tanah dilakukan 2 minggu sekali, yang bertujuan untuk melihat pengaruh pemupukan terhadap perubahan kandungan bahan organik tanah.

3.4.2.5. Penentuan Nitrat Tanah

Untuk mengetahui kandungan nitrat tanah dilakukan dengan Brucine Method menurut Fakultas Perikanan IPB, 1992, dengan prosedur sebagai berikut: 1) 1 gr tanah ditimbang kedalam gelas reaksi, 2) Tambahkan 7 ml larutan pengestraksi (0,025 N HCl) kocok selama 30 menit, kemudian disaring dengan kertas whatman, 3) 5 ml air sampel yang telah disaring dimasukkan kedalam gelas piala, 4) Tambahkan 0,5 ml Brucine, lalu diaduk, 5) tambahkan 5 ml asam sulfat pekat (gunakan ruang asam), 6) Buat larutan standar nitrat dan larutan blanko dari 5 ml aquades (prosedur 4 & 5 dilakukan), 7) Ukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm, 8) Buat persamaan regresi ($Y = Ax + B$) dari larutan standar untuk menentukan kadar nitrat.

3.4.2.6. Penentuan Fosfor Tanah

Penentuan fosfor tanah tersedia sesuai dengan yang dilakukan oleh Prawirowardoyo (1987) dengan tahapan sebagai berikut; 1) Timbang 1 gram tanah ke dalam gelas reaksi, 2) Tambahkan 7 ml larutan pengestraksi ($1,03 \text{ NH}_4\text{F} = 0,025 \text{ N HCl}$) kocok selama 1 menit, 3) Saring dengan kertas saring Whatman, 4) Pipet sebanyak 2 ml sampel yang telah disaring, tambahkan 5 ml akuades, 5) Tambahkan 2 ml Ammonium molibdat, 6) Tambahkan 1 ml reagen SnCl_2 encer aduk dengan sempurna, 7) Setelah 5-6 menit ukur dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm, 8) buat kurva absorbance dengan konsentrasi 0,1-1 ppm dengan larutan baku.

3.4.3. Pemupukan

3.4.3.1. Penentuan Dosis Pupuk

Penentuan dosis pupuk baru dapat dilakukan setelah dilakukan analisa N, P (P_2O_5) dan K (K_2O) pupuk bokasi di Laboratorium Kimia Analitik FMIPA Universitas Riau. Setelah diketahui kadar N, P (P_2O_5) dan K (K_2O) pupuk dilakukan perhitungan dosis pupuk dengan mengkonversikan unsur P (P_2O_5) yang ada pada pupuk dengan dosis optimal kualitas pupuk 20% (N) – 20% (P_2O_5) – 5% (K_2O) dibutuhkan sebanyak 45 kg/ha menurut Dobbins dan Boyd; Lichtkoppler dan Boyd; Sowles dan Boyd (*dalam* Boyd, 1979) dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.4.3.2. Pemupukan

Tekhnik pemberian pupuk dalam penelitian ini adalah dengan cara menyebarkan pupuk secara merata pada permukaan tanah untuk setiap perlakuan. Pemberian pupuk selama penelitian dilakukan sebanyak empat kali. Pemupukan pertama dilakukan pada awal penelitian sebelum diisi air, sedangkan pemupukan selanjutnya dilakukan dua minggu sekali selama penelitian. Cara pemberian pupuk selanjutnya dengan cara, pupuk bokashi diaduk dengan air pada masing-masing wadah sesuai perlakuan sampai homogen, kemudian baru disebarakan ke wadah penelitian.

3.4.4. Pengukuran Parameter Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan setelah pengapuran dan pemupukan. Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian adalah fisika (suhu dan kekeruhan) dan kimia air (pH, CO_2 bebas, DO, kesadahan, orthofosfat dan nitrat).

3.4.4.1. Pengukuran Suhu

Prosedur pengukuran suhu air pada permukaan menurut SNI, *dalam* Dinas Pekerjaan Umum (1990) sebagai berikut;

- Dilakukan terlebih dahulu pemeriksaan suhu udara di daerah lokasi dengan menempatkan termometer sedemikian rupa, sehingga tidak kontak langsung dengan cahaya matahari. Biasanya dilindungi dengan bayangan badan, tunggu sampai skala suhu pada termometer menunjukkan angka yang stabil, kemudian catat suhu udara.
- Termometer dicelupkan kedalam air sampai batas skala baca, biarkan 2-5 menit sampai skala suhu pada termometer menunjukkan angka yang stabil, pembacaan skala termometer harus dilakukan tanpa mengangkat lebih dahulu termometer dari air.

Pengukuran suhu air dilakukan 3 kali setiap hari yaitu; pagi, siang dan sore hari untuk melihat flutuasi harian suhu.

3.4.4.2. Pengukuran Kekeruhan

Kekeruhan diukur dengan alat Turbidimeter model 2100 A yaitu dengan cara sebagai berikut: Ambil air sampel dari setiap wadah perlakuan, kemudian masukkan kedalam botol sampel. Selanjutnya masukkan air sampel ke tabung yang bervolume 25 ml, bersihkan bagian luar tabung dengan tisu lalu sesuaikan dengan tabung yang berisi larutan standar yang ada. Kemudian masukkan tabung yang berisi larutan standar yang sesuai dengan air kedalam lubang alat turbidimeter dan tutup, set alat tersebut. Keluarkan tabung tersebut kemudian masukkan tabung yang berisi air sampel, catat nilai kekeruhan air tersebut. Kekeruhan diukur setiap hari selama penelitian (Fakultas Perikanan IPB, 1992).

Pengukuran kekeruhan dilakukan setiap hari selama penelitian untuk melihat pengaruh pupuk terhadap kekeruhan air.

3.4.4.3. Pengukuran pH

Untuk pH air diukur dengan menggunakan kertas lakmus dengan cara mencelupkannya kedalam wadah selama 2–3 menit, sesuaikan dengan standar pH. pH diukur setiap hari, pagi, siang dan sore hari selama penelitian, untuk melihat fluktuasi harian pH.

3.4.4.4. DO (*Dissolved Oxygen*)

Adapun prosedur pengukuran DO dengan alat DO meter merujuk pada prosedur menurut Alaerts dan Santika (1984):

- a Masukkan elektroda cukup jauh ke dalam larutan (kurang lebih 4 cm di bawah permukaannya) hingga juga sensor suhu telah terendam.
- b Gerakkanlah elektroda (misalnya keatas atau kebawah) atau aduklah larutan dengan pengaduk magnetis
- c Kemudian bacalah hasil penentuan sebagai mg O₂/l atau % kejenuhan.

Pengukuran oksigen terlarut dilakukan pada pagi, siang dan sore setiap harinya selama penelitian untuk melihat fluktuasi harian DO.

3.4.4.5. Pengukuran kandungan CO₂ bebas

Pengukuran CO₂ bebas menurut Alaerts dan Santika (1984) dapat dilakukan dengan metode tetrimetrik dengan Sodium Karbonat (Na₂CO₃) yaitu ambil air sampel diusahakan terhindar dari kontak udara, dan analisa sesegera mungkin yaitu dalam waktu 2–3 jam setelah pengambilan sampel. Untuk menganalisa CO₂ ambil air sampel sebanyak 25 ml, lalu tambahkan indikator pp (phenolphthalein) sebanyak 2–3 tetes, kemudian titrasi dengan Na₂CO₃ (0,0454 N) sampai terjadi

perubahan warna menjadi pink, selanjutnya volume titran dicatat. Perhitungan kandungan CO₂ bebas dengan menggunakan rumus :

$$\text{CO}_2 \text{ (mg/l)} = \frac{\text{ml titran} \times \text{N titran} \times 44/2 \times 1000}{\text{Volume sampel}}$$

Keterangan :

CO₂ = Konsentrasi karbondioksida bebas (mg/l)

ml titran = Vol titran yang dibaca (ml)

N titran = Normalitas Na₂CO₃

1000 = faktor koreksi

Pengukuran kandungan CO₂ bebas dilakukan 1 minggu sekali untuk semua perlakuan, yang bertujuan untuk melihat pengaruh pemupukan terhadap perubahan kandungan CO₂ bebas di air.

3.4.4.6. Pengukuran Orthofosfat

Pengukuran orthofosfat dilakukan pada minggu 2 minggu sekali. Untuk penentuan orthofosfat dilakukan dengan metode Stannus Chlorida yang dianjurkan oleh Boyd (1979) yaitu: 1) persiapkan peralatan gelas dan filter. Semua wadah dan peralatan yang akan digunakan harus benar-benar bersih, bebas dari kontaminasi P, oleh karena itu peralatan gelas dicuci dengan deterjen bebas P, lalu bilas dengan akuades. Rendam filter dalam akuades selama 24 jam dan keringkan sebelum dipakai, 2) saring 25-50 ml air sampel dengan milipore gunakan vacuum pump, 3) pipet sebanyak 25 ml air sampel tersaring, 4) tambahkan 1 ml Ammonium molibdat, aduk, 5) tambahkan 5 tetes SnCl₂, aduk, diamkan (10 menit), 6) buat larutan blanko dari 25 ml akuades, lakukan prosedur 3 dan 4, 7) buat larutan standar orthofosfat dengan konsentrasi: 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 dan 1 ppm P dari larutan standar 5 ppm P, standar ini berfungsi sebagai pembanding dengan konsentrasi sampel yang diketahui absorbansinya, 8) setelah didiamkan 10 menit dan sebelum 12 menit, ukur air sampel dan larutan standar dengan spektro-

fotometer pada panjang gelombang 690 nm, 9) buat persamaan regresi atau grafik untuk menentukan kadar Orthofosfat air sampel.

3.4.4.7. Pengukuran kesadahan (hardness)

Untuk pengukuran kesadahan (hardness) dilakukan 2 minggu sekali dengan cara yang telah dilakukan Boyd (1979) yaitu : 1) Ambil 100 ml air sampel dengan pipet, 2) Tambahkan 2 ml larutan Buffer, aduk, 3) Tambahkan 8 tetes indikator EBT, aduk, 4) Titrasi dengan Na-EDTA hingga terjadi perubahan warna dari merah anggur kebiru, 5) hitung dengan rumus :

$$\text{Kesadahan Total (ppm)} = \frac{\text{ml titran} \times M \text{ titran} \times 100 \times 1000}{\text{ml sampel}}$$

3.4.4.8. Pengukuran Nitrat

Pengukuran nitrat dilakukan menurut metoda yang dianjurkan oleh Fakultas Perikanan IPB (1992), yaitu dengan cara; Sampel air yang keruh harus disaring terlebih dahulu hingga jernih. Ambil 10 ml sampel air yang jernih, tambahkan 2,0 ml larutan NaCl, 10 ml H₂SO₄ dan 0,5 ml larutan Brusin Sulfanilat. Setiap penambahan pereaksi harus dikocok. Kemudian dipanaskan di atas pemanas air (95° C) selama 20 menit. Tambahkan akuades sampai dengan volumenya 25 ml. Setelah dingin diukur intensitasnya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Buat larutan standar nitrat dengan konsentrasi 0,0; 0,1; 3,0; 6,0; 10,0; 15,0; dan 20,0 ppm dengan cara melakukan pengenceran terhadap larutan standar nitrat 100 ppm. Ambil 10 ml masing-masing larutan standar diatas kemudian kerjakan sama seperti pengerjaan terhadap sampel air. Buat kurva

kalibrasi antara absorban dengan konsentrasi. Dari kurva kalibrasi tersebut, tentukan kemiringannya (ppm NO₃/unit absorban). Konsentrasi nitrat dihitung dengan rumus sebagai berikut;

$$\text{Konsentrasi Nitrat (ppm)} = A \times S$$

Dimana;

A = Absorban sampel air

S = Kemiringan ppm/unit absorban.

3.4.5. Hewan bentos

3.4.5.1. Pengambilan sampel hewan bentos

Pengambilan sampel bentos dilakukan seminggu sekali pada setiap perlakuan dengan menggunakan pipa PVC yang berdiameter 5 cm dengan panjang 45 cm. Pada setiap perlakuan dilakukan penyamplingan sebanyak 3 kali dan kemudian dikompositkan dalam wadah yang sudah diisi dengan larutan garam (floating method), pisahkan hewan benthos yang mengapung ke botol film yang berisi alkohol 96%. Kemudian cuci dengan menggunakan saringan berukuran mata saring 0,59 mm seperti yang disarankan oleh Lind (1979). Selanjutnya sampel dimasukkan pada wadah dan diawetkan dengan formalin 10% seperti yang disarankan oleh Fakultas Perikanan IPB (1992).

3.4.5.2. Pemisahan dan identifikasi hewan bentos

Sebelum pemisahan sampel terlebih dahulu di cuci dengan air untuk menghilangkan formalinnya lalu masukkan sampel yang sudah dicuci ke cawan petri. Lakukan pemisahan dengan dissecting mikroskop, organisme yang didapat masukkan ke dalam botol film dan diberi alkohol 96% serta diberi label. Identifikasi hewan bentos dilakukan sampai tingkat genus dengan menggunakan dissecting mikroskop dan dengan menggunakan buku acuan Jutting (1956), Kira (1965),

Pennak (1978), Quigley (1980), Hutchings (1984), Higgins and Thiel (1988) dan Merrit dan Cummins (1988). Kemudian masing-masing genus dihitung jumlahnya.

Kelimpahan hewan bentos dihitung dengan rumus menurut Krebs (1978) sebagai berikut;

$$\text{Kelimpahan (ind./m}^2\text{)} = \frac{\text{Jumlah individu (ind.)}}{\text{Luas unit sampel (m}^2\text{)}}$$

3.5. Analisa Data

Data parameter kualitas air tanah dianalisa secara deskriptif, sedangkan untuk data kelimpahan makrozoobenthos dilakukan Uji Homogenitas untuk mengetahui apakah data homogen, bila data tidak homogen dilakukan transformasi. Untuk melihat pengaruh pupuk bokasi yang berbeda terhadap kelimpahan makrozoobenthos dilakukan Analisa Variansi (ANAVA) Rancangan Acak Kelompok, apabila $F_{hitung} > F_{tabel}$ (α 0,05 dan 0,01) berarti dosis pupuk yang diberikan memberikan pengaruh terhadap perkembangan kelimpahan makrozoobenthos. Selanjutnya apabila pemberian dosis pupuk memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan kelimpahan, maka dilakukan uji lanjut Rentang Newman-Keults untuk melihat perbedaan antar perlakuan (Sudjana, 1980). Sedangkan untuk jenis makrozoobenthos dianalisa secara deskriptif.