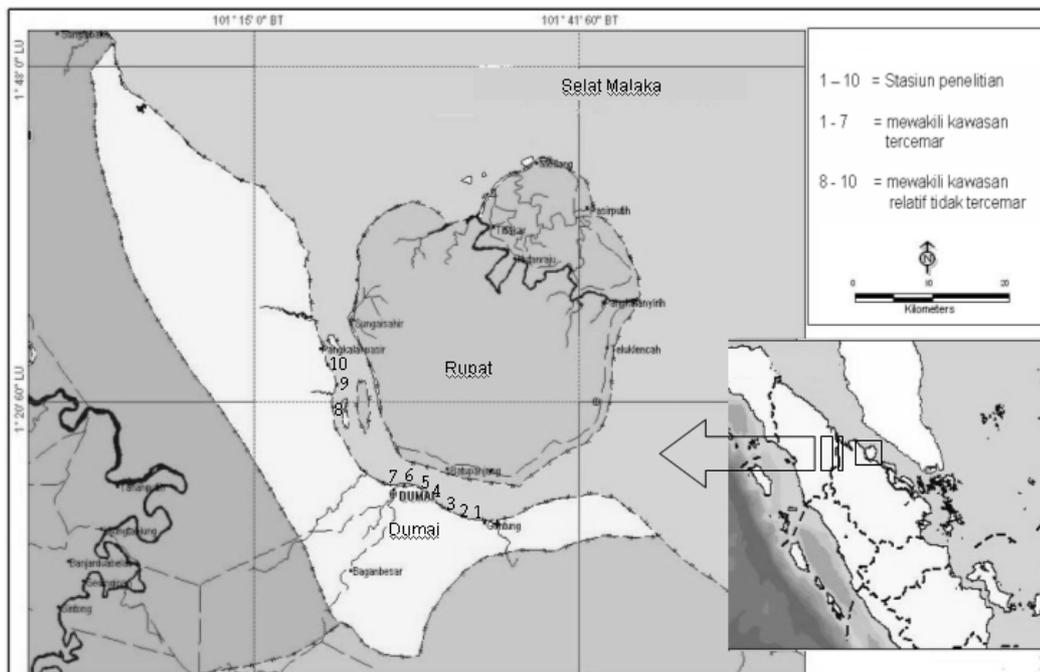


III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama enam bulan yang dimulai pada awal Mei 2009. Berdasarkan kondisi perairan dan distribusi lokasi aktifitas antropogenik di perairan pantai Dumai, maka ditetapkan sepuluh (10) stasiun pengambilan sampel yang dibagi menjadi kawasan yang relatif tercemar yang mendapat lebih banyak pengaruh dari aktifitas antropogenik seperti buangan limbah industri dan limbah masyarakat di sekitarnya serta kawasan muara sungai (Stasiun 1-7) dan kawasan yang relatif jauh dari aktifitas antropogenik dan diperkirakan belum tercemar (Stasiun 8-10). Pada masing-masing stasiun diambil sampel pada 3 titik sampling dengan jarak masing-masing sekitar 50 meter tegak lurus dengan garis pantai. Stasiun pengambilan sampel tersebut dapat dilihat pada Gambar 1. Sampel yang diperoleh dianalisa konsentrasi logam beratnya di Laboratorium Terpadu Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau Pekanbaru dan Laboratorium Ekotoksikologi Fakultas Sains Universiti Putra Malaysia .



Gambar 1. Lokasi penelitian dan stasiun pengambilan sampel

3.2 Bahan dan alat

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini antara lain terdiri dari : larutan standar Cd, Cu, Pb dan Zn, asam nitrat (HNO_3) pekat, asam chlorat (HClO_4), asam sulfat (H_2SO_4) pekat, hidrogen peroksida (H_2O_2), hydrochloric acid (HCl), hydroxyl ammonium chloride ($\text{NH}_2\text{OH.HCl}$), ammonium acetate ($\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$) dan air suling. Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini meliputi kantong plastik polyetilen dan *ice box* untuk mengumpulkan sampel sedimen dan organisme; alat untuk analisis sampel berupa timbangan analitik, kertas saring whattman No.1, gelas ukur, tabung reaksi, gelas beaker, digestion block, oven, furnace, alat pemanas (hotplate), orbital shaker model GYROMAX 722, electric shaker dengan stainless steel sieve ukuran 63 mikron, pipet, pengaduk dan Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) tipe Perkin Elmer 3110. Selain itu digunakan juga peralatan untuk mengukur kualitas perairan seperti SCTD, secchi disk dan pH meter.

3.3 Pengambilan dan penanganan sampel

3.3.1 Sampel air laut

Sampel air laut diambil dengan botol sampel polyetilen ukuran 500 ml dari kedalaman sekitar 30 cm dari permukaan dan selanjutnya diberi beberapa tetes HNO_3 untuk menstabilkan air sampel tersebut pada pH 2 (Ramessur *et al.*, 2001). Sampel air tersebut kemudian dimasukkan dalam *ice box*, dibawa ke laboratorium dan disaring dengan kertas whatman No.1. Setelah disaring, sampel siap untuk diukur konsentrasi logam beratnya dengan menggunakan AAS.

3.3.2 Sampel padatan tersuspensi

Pengambilan sampel air untuk analisis konsentrasi logam berat dalam padatan tersuspensi dilakukan dengan mengambil sampel air dengan botol plastik ukuran 5 liter dari kedalaman sekitar 40 cm di bawah permukaan air. Sampel tersebut kemudian dibawa ke laboratorium dan dilakukan penyaringan dengan bantuan pompa vakum listrik. Hasil penyaringan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu $60\text{ }^\circ\text{C}$ dan setelah kering disimpan dalam inkubator hingga proses destruksi dilakukan kemudian.

3.3.3 Sampel alga

Sampel alga dikumpulkan dari permukaan batuan dan akar-akar mangrove dengan cara mengikisnya menggunakan pisau plastik. Hasil pengikisan dimasukkan dalam kantong plastik polyetilen dan dibawa ke laboratorium dan dilanjutkan dengan pengeringan sampel dalam oven. Setelah kering sampel algae tersebut siap untuk didestruksi.

3.3.4 Sampel ikan Gulama

Sampel organisme komersial yakni ikan Gulama (*Scaenia russeli*) diambil pada dua lokasi yang mewakili kawasan Timur dan Barat dengan menggunakan jaring dengan bantuan nelayan setempat. Jenis ikan ini dikonsumsi oleh kebanyakan masyarakat di Dumai dan juga daerah lain di Riau dan memenuhi beberapa kriteria sebagai organisme indikator menurut Phillips and Rainbow (1993). Sampel diambil sekitar 30 ekor dari masing-masing kawasan dengan ukuran yang bervariasi dan dimasukkan ke dalam kantong plastik terpisah. Sampel tersebut kemudian dibawa ke laboratorium dan disimpan dalam freezer. Sebelum analisa logam berat dilakukan, sampel tersebut terlebih dahulu dipisahkan berdasarkan kelompok ukuran yaitu kecil dan besar. Sampel tersebut juga dipisahkan berdasarkan organ yang akan dianalisis konsentrasi logam beratnya menjadi beberapa organnya dan dikeringkan dalam oven pada suhu 80 °C hingga dicapai berat konstan dan setelah didinginkan, sampel disimpan dalam autoclaf sampai proses destruksi dilakukan.

3.3.5 Sampel sedimen

Sampel sedimen diambil dengan menggunakan ekman grab dengan bantuan speed boat. Sampel sedimen yang diambil adalah pada permukaan lapisan 0-5 cm yang tidak bersentuhan dengan dinding grab dengan menggunakan plastik spatula. Sampel ini kemudian dimasukkan dalam plastik polyetilen dan dimasukkan dalam icebox untuk selanjutnya dibawa ke laboratorium dan disimpan dalam freezer pada suhu -10 °C. Di laboratorium sampel ini kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80 °C hingga tercapai berat konstan dan selanjutnya disaring dengan ayakan stainless steel ukuran 63 mikron dengan electric shaker (Mucha *et al.*, 2003; Yap *et al.*, 2002,

2005). Sedimen yang lolos saringan dengan ukuran tersebut disimpan dalam kantong plastik sampel dan siap untuk dilanjutkan dengan proses destruksi.

3.4 Analisis konsentrasi logam berat

3.4.1 Logam berat dalam air laut

Sampel air yang sudah ditetesi HNO_3 di lapangan disaring di laboratorium dengan menggunakan kertas saring Whatman No.1 dan disimpan dalam lemari pendingin. Menjelang analisis, sampel dikeluarkan dari lemari pendingin dan dibiarkan sampai stabil dan selanjutnya dianalisa langsung konsentrasi logam beratnya dengan menggunakan AAS.

3.4.2 Logam berat dalam padatan tersuspensi, alga dan ikan Gulama

Konsentrasi logam berat pada alga, padatan tersuspensi dan ikan Gulama dianalisis dengan mengacu pada prosedur yang digunakan oleh Ismail dan Ramli (1997) dan Yap *et al.* (2002). Antara 0,5 dan 1,0 g sampel jaringan lunak yang sudah dikeringkan didestruksi dalam larutan HNO_3 (AnalaR grade, R&M 65%) menggunakan 'block digester' merk Gerhardt Kjeldatherm pada suhu rendah (40°C) selama 1 jam dan kemudian suhu dinaikkan menjadi 140°C selama 3 jam. Setelah sampel terdestruksi secara sempurna, larutan tersebut didinginkan dan diencerkan dengan aquabides menjadi 40 ml dan disaring dengan kertas whattman No.1 (untuk menghindari penyumbatan pipa kapiler pada saat analisis sampel dengan AAS) dan disimpan dalam botol sample. Selanjutnya larutan sampel tersebut siap untuk dianalisis konsentrasi logam beratnya dengan AAS.

3.4.3 Logam berat dalam sedimen

Alat yang digunakan dalam pengukuran konsentrasi logam berat adalah AAS Perkin Elmer 3110 dan Perkin Elmer Aanalyst 800 dengan lampu katoda sebagai sumber radiasi. Analisis konsentrasi logam berat Cd, Cu, Pb, dan Zn menggunakan campuran udara dan asitilen sebagai sumber energi, sedangkan panjang gelombang Cd (228,8 nm), Cu (324,8 nm), Pb (217 nm), dan Zn (213,9 nm).

3.4.3.1 Konsentrasi total

Antara 0,5 dan 1,0 g sampel sedimen (63 mikron) didestruksi dalam kombinasi larutan HNO_3 (AnalaR grade, R&M 65%) and HClO_4 (AnalaR grade, R&M 70%) dengan perbandingan 4:1, menggunakan 'block digester' merk Gerhardt Kjeldatherm pada suhu rendah (40°C) selama 1 jam dan kemudian suhu dinaikkan menjadi 140°C selama 3 jam (Ismail dan Ramli, 1997; Yap *et al.*, 2002). Setelah sampel sedimen terdestruksi secara sempurna, larutan tersebut didinginkan dan diencerkan dengan aquabides menjadi 40 ml dan disaring dengan kertas whattman No.1 (untuk menghindari penyumbatan pipa kapiler pada saat analisis sampel dengan AAS) dan disimpan dalam botol sampel. Selanjutnya larutan sampel tersebut siap untuk dianalisis konsentrasi logam beratnya dengan AAS. Metoda ini juga digunakan dalam menganalisis konsentrasi logam berat pada sampel padatan tersuspensi.

3.4.3.2 Spesiasi logam berat

Analisis spesiasi logam berat Cd, Cu, Pb dan Zn dalam sedimen dilakukan dengan mengacu pada metode SET menurut Badri and Aston (1983) yang telah dimodifikasi oleh Yap *et al.* (2002). Metode ini mampu mengestimasi mobilitas dan ketersediaan logam serta dapat membedakan proporsi logam berat yang berasal dari sumber alamiah (fraksi resistan) dan yang bersumber dari aktifitas antropogenik (fraksi non-resistan). Metoda ini sangat efektif dan potensial dalam menentukan spesiasi logam dalam sedimen.

Fraksi geokimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah 'easily or freely, leachable and exchangeable' (EFLE), 'acid reducible', 'oxidisable organic' dan 'resistant'. Kombinasi dari tiga tipe pertama adalah fase non-resistan yang dianggap bersumber dari aktifitas antropogenik. Fraksi resistan (alami) dapat berasal dari luruhan dari batu-batuan (Badri and Aston, 1983). Dengan demikian metoda SET diyakini dapat digunakan untuk membedakan sumber logam berat di perairan apakah berasal dari aktifitas antropogenik atau berasal dari sumber alami. Secara rinci metode ini dapat dijelaskan sebagai berikut :

- (1). Easily, freely or leachable and exchangeable (EFLE) (Fraksi 1): Sekitar 10 g sample sediment di kocok selama 3 jam dengan 50 ml 1,0 M ammonium acetat ($\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$), pH 7,0 dalam suhu kamar.

- (2). Acid reducible (Fraksi 2): residu dari (1) dikocok selama 3 jam dengan 50 ml 0.25 M hydroxyl-ammonium chloride (NH₂OH.HCl) pada pH 2 dalam suhu kamar
- (3). Oxidisable organic (Fraksi 3): residue dari (2) pertama-tama dioksidasi dengan 15 ml hydrogen peroxide (R&M Chemicals 35%) dalam *water bath* pada 90°C. Setelah dingin, sample dikocok selama 3 jam dengan 50 ml larutan 1,0 M ammonium acetate (NH₄CH₃COO) pada pH 2,0 pada suhu kamar
- (4). Resistant (Fraksi 4): residue dari (3) didestruksi dengan 10 ml kombinasi HNO₃ (AnalaR grade, R&M Chemicals 65%) dan HClO₄ (AnalaR grade, R&M Chemicals 70%) dengan perbandingan 4:1 sebagaimana proses destruksi dengan metoda Direct Aqua-regia.

Residu yang digunakan pada setiap fraksi ditimbang terlebih dahulu sebelum dilakukan pengerjaan fraksi berikutnya. Residu dibilas dengan 20 ml aquabides, disaring dengan kertas Whatman No. 1 (kecepatan: sedang) dan dimasukkan ke dalam botol sampel polyetilen dan siap untuk dianalisa dengan AAS. Untuk setiap fraksi dalam metode SET, larutan blanko juga digunakan untuk memastikan bahwa bahan-bahan kimia yang digunakan bebas dari kontaminasi.

3.5 Perhitungan konsentrasi logam berat

Perhitungan konsentrasi logam berat pada sampel sedimen, algae dan padatan tersuspensi dilakukan menurut rumus sebagai berikut:

$$C = \frac{AxV}{G}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi yang sebenarnya dari sampel (µg/g)

A = Nilai absorbansi AAS (µg/ml)

V = Volume sampel (ml)

G = Berat sampel (g)

3.6 Analisis bahan organik sedimen

Untuk mengetahui bahan organik total dalam sedimen dilakukan dengan metode Loss on Ignition (Mucha *et al.*, 2003) sebagai berikut :

1. Cawan penguap kosong dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105 °C selama 15-20 menit, kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan kemudian ditimbang.
2. Sampel sedimen yang telah diaduk rata dimasukkan kedalam cawan sebanyak 50g. Selanjutnya dimasukkan kedalam oven pada suhu 105 °C Sampai sedimen benar-benar kering, kemudian didinginkan dalam desikator selama 30-60 menit dan kemudian ditimbang.
3. Sampel dalam cawan dibakar dengan furnes pada suhu 550 °C selama 15-30 menit, kemudian didinginkan dengan desikator selama 30-60 menit dan ditimbang dengan timbangan analitik.

Untuk mengetahui kandungan bahan organik total maka dilakukan perhitungan dengan rumus :

$$\text{Zat organik total} = \frac{(d - a)}{C} \times 100 \%$$

Dimana :

- a. Berat cawan dan sampel sedimen sesudah pembakaran 550 °C.
- d. Berat cawan dan berat sampel sedimen sebelum pembakaran 550 °C atau sesudah pengeringan 105 °C.
- c. Berat sampel.

3.7 Perhitungan indeks dan standard quality guidelines

Perhitungan Pollution Load Index (PLI) didasarkan pada rumus yang dikemukakan oleh Tomlinson *et al.* (1980) dengan mengacu pada konsentrasi rata-rata (background) shale yang dilaporkan oleh Turekian dan Wedephol (1961) dari masing-masing logam yang dianalisa pada penelitian ini. Menurut Angula (1996), nilai PLI dapat digunakan untuk menggambarkan status pencemaran dan tindakan yang perlu dilakukan untuk mengatasinya. Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$PLI = \sqrt[n]{CF_1 \times CF_2 \times \dots \times CF_n}$$

$$CF_{\text{metal}} = \frac{C_{\text{metal}}}{C_{\text{background}}}$$

dimana CF = factor kontaminasi; n = jumlah logam; C_{metal} = konsentrasi logam pada sampel sedimen; C_{background} = konsentrasi rata-rata logam yang bersangkutan

Enrichment Factor (EF) dan Index of Geoaccumulation (I_{geo}) dapat juga digunakan untuk mengevaluasi tingkat pencemaran pada sedimen di suatu ekosistem perairan. Nilai EF dapat menggambarkan tingkat pencemaran pada sedimen (Groengroeft *et al.*, 1998) dan merupakan suatu alat yang baik untuk membedakan antara logam yang berasal dari aktivitas antropogenik dengan yang berasal dari sumber alami (Morillo *et al.*, 2004; Selvaraj *et al.*, 2004; Vald'es *et al.*, 2005). Bahkan nilai EF ini dapat pula dijadikan sebagai alat untuk menentukan tingkat sedimentasi (Huang dan Lin, 2003). Rumus berikut ini digunakan untuk menghitung nilai EF dengan menggunakan Fe sebagai logam untuk normalisasi dan mengkoreksi perbedaan ukuran butiran sedimen dan mineralnya :

$$EFs = \frac{(C_x / C_{Fe})_{sample}}{(C_x / C_{Fe})_{shale}}$$

dimana, (C_x/C_{Fe}) sampel dan (C_x/C_{Fe}) nilai rata-rata *shale*, konsentrasi logam ($\mu\text{g/g}$ berat kering) dalam kaitannya dengan Fe (%) sampel sedimen, dan nilai rata-rata *shale* diambil dari laporan Krauskopf dan Bird (1995).

Index of Geoaccumulation (I_{geo}) pada awalnya diperkenalkan oleh Muller (1979) untuk menentukan pencemaran logam berat pada sedimen dengan membandingkan antara sebelum adanya kegiatan industri dan sesudah adanya kegiatan industri. Nilai I_{geo} untuk logam yang dianalisa pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus Muller's (1979) sebagai berikut:

$$I_{geo} = \log_2 \left(\frac{C_n}{1.5 B_n} \right)$$

dimana, C_n adalah konsentrasi logam 'n' dalam sedimen, B_n adalah nilai rata-rata (background) logam 'n' dari *shale*.

Untuk membandingkan konsentrasi total logam berat pada stasiun sampling yang berbeda akan digunakan metal pollution index (MPI) sebagaimana yang disarankan oleh Usero *et al.* (1996; 1997) dan Giusti *et al.* (1999) dengan rumus sebagai berikut: $MPI = \sqrt[n]{C_1 \times C_2 \times C_3 \dots \times C_n}$; dimana C_n = konsentrasi logam n pada sampel.

Untuk mengestimasi kemungkinan dampak negatif dari logam yang dianalisa di kawasan penelitian digunakan Sediment Quality Guidelines yaitu Effect Range Low (ERL) dan Effect Range Median (ERM) sebagaimana yang dikemukakan oleh Long *et al.* (1995; 1997). ERL menggambarkan konsentrasi logam di lokasi penelitian masih jarang sekali memberikan dampak biologi yang buruk, sedangkan ERM memberikan gambaran dimana dampak biologi tersebut sudah dapat terjadi. Untuk mengetahui apakah ikan Gulama yang berasal dari perairan Dumai layak dan aman bagi kesehatan apabila dikonsumsi oleh masyarakat, maka konsentrasi logam berat pada daging ikan tersebut akan dibandingkan dengan beberapa standar yang dikeluarkan baik oleh pemerintah Indonesia maupun oleh negara lain.

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan ke dalam tabel kemudian dibahas secara deskriptif dan dianalisis secara statistik. Semua analisa statistik dilakukan dengan Statistical Package for Social Science (SPSS) versi 15. Distribusi dan perbandingan konsentrasi logam berat dalam sedimen dan organisme dari masing-masing stasiun diuji dengan ANOVA. Namun demikian data yang tidak memenuhi persyaratan untuk diuji dengan ANOVA, dilakukan uji non-parametrik dengan tingkat kepercayaan 95%. Kontribusi aktivitas antropogenik terhadap konsentrasi logam berat di perairan Dumai dilihat dari persentase fraksi non-resistant yang dibandingkan dengan fraksi resistant melalui uji t dengan bantuan program SPSS. Tahap keselamatan pengkonsumsian organisme laut atau ikan yang berasal dari lokasi penelitian dilihat berdasarkan konsentrasi logam beratnya dan dibandingkan dengan standar yang disarankan baik oleh pemerintah Indonesia maupun oleh badan-badan internasional.

3.9 Asumsi

Asumsi yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Sampel sedimen dan ikan serta parameter ekosistem perairan yang diambil dari masing-masing stasiun telah mewakili lokasi tersebut untuk dianalisis.
2. Parameter lingkungan yang tidak diukur dianggap memberikan pengaruh yang sama terhadap konsentrasi logam berat pada sampel.

3. Ketelitian peneliti dalam pengambilan dan analisis sampel dengan menggunakan AAS dianggap sama.