

### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. Peralatan dan Bahan yang Digunakan

##### 3.1.1. Peralatan

Peralatan digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium kaca ukuran 70x55x40 cm; perangkat analisis COD dari *HACH*, USA; inkubator BOD dari *Gallenkamp*, England; Spektrofotometer 20D, *Miltron & Roy .Co*, England; perangkat pH meter dari *Fisher Scientific 955*, USA; neraca analitik *Mettler AE 200*, USA; dan peralatan gelas dari *Pyrex* untuk analisis minyak dan lemak.

##### 3.1.2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah larutan EM<sub>4</sub> keluaran *Indonesian Kyusei Natural Farming Societies* dan bahan kimia asal *Mercks* pro analisis.

#### 3.2. Prosedur Kerja

Air terproduksi yang dipakai sebagai sampel diambil dari *Cooling Pond (inlet)* Tandon *Gathering Station* Duri SBU dan dibawa ke laboratorium dalam dua wadah drum plastik. Sampel dalam wadah pertama digunakan untuk analisis baku mutu air terproduksi, sedangkan sampel dalam wadah kedua dilakukan pengolahan dengan menggunakan mikroorganisme EM. Prosedur pengambilan contoh uji kualitas air menggunakan metode SNI-06-2412-1991.

Pengolahan sampel air terproduksi dilakukan dengan tiga perlakuan. Dua perlakuan menggunakan EM aktif dan EM teradaptasi, sedangkan satu perlakuan lagi tanpa menggunakan EM. Mikroorganisme EM diinokulasikan ke sampel air terproduksi dengan perbandingan EM : sampel air terproduksi = 1 : 500. Setiap perlakuan dilakukan tiga kali pengulangan (Tabel 1)

Tabel 1. Perlakuan sampel air terproduksi

Seri	Jumlah Sampel	EM	Keterangan
A	20 liter	0,4 liter EM Aktif	Wadah pengolahan sampel adalah akuarium kaca ukuran 70x55x40 cm
B	20 liter	0,4 liter EM Teradaptasi	
C	20 liter	Tanpa EM (kontrol)	

Mikroorganisme EM aktif adalah inokulan EM *dormand* (dari botol) yang diaktifkan dengan penambahan gula (molase) dan air dengan perbandingan 1:1:10 lalu difermentasikan selama 72 jam (APNAN, 1995). Mikorganisme EM teradaptasi adalah inokulan EM yang diperoleh dari EM aktif yang disiapkan dengan tiga tahap pembuatan:

- EM aktif dibuat dengan cara mencampurkan molase, EM *dormand* dan air dengan perbandingan 1:1:10.
- EM aktif ini kemudian diinokulasikan ke sampel air terproduksi dengan perbandingan 1 : 500 selama satu bulan, selanjutnya air ini disebut air terproduksi terfermentasi.
- Air terproduksi terfermentasi diaktifkan kembali dengan mencampurkan molase (gula), EM *dormand* dan air terproduksi terfermentasi untuk difermentasi selama 72 jam dengan perbandingan 1:1:10. Mikroorganisme EM teradaptasi ini siap untuk digunakan pada pengolahan sampel air terproduksi (Tabel 1).

### 3.3. Analisis Parameter

Perubahan kualitas air sebelum dan sesudah pengolahan dianalisis dengan mengukur nilai pH, BOD, COD, amoniak, minyak dan lemak. Variabel waktu analisis parameter air terproduksi dilakukan pada 0 hari, 7 hari, 14 hari, 21 hari, 28 hari dan 35 hari. Analisis dilakukan secara *tripel* (tiga kali pengulangan) untuk mendapatkan data yang lebih akurat.

#### 3.3.1. Penentuan pH

##### a. Larutan penyangga

Beberapa larutan penyangga disiapkan yaitu pH 4; 7; dan 10.

##### b. Kalibrasi elektronik alat pH meter:

Alat pH meter dikalibrasi terlebih dahulu, kalibrasi dilakukan dengan larutan penyangga pH. Elektroda gelas (gabungan) pada alat pH meter dipasang, kemudian elektroda gelas dicelupkan ke dalam larutan penyangga yang mendekati pH sampel. Harga pH ditetapkan sama dengan larutan penyangga. Elektroda gelas dipindahkan dari larutan penyangga dan dibilas dengan air suling sampai bersih. Elektroda gelas dicelupkan ke dalam larutan penyangga kedua yang berbeda (2 sampai 4 satuan pH dari harga pH yang pertama), dan penunjukkan pH larutan penyangga kedua disamakan.

##### c. Pengukuran pH sampel

Elektroda gelas dibersihkan dengan air suling, kemudian dicelupkan ke dalam contoh yang akan diperiksa. Harga pH alat disamakan dengan contoh, lalu dibaca dan dicatat

harga pH. Pada pengukuran pH, elektroda gelas harus dicelupkan pada bagian yang aktif saja dan jangan menyentuh dinding gelas sampel.

### 3.3.2. Penentuan BOD

Sampel yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam 6 botol BOD. Tiga botol segera ditentukan DO dan dirata-ratakan hasilnya ( $X_0$  mg/L). Tiga botol lagi diinkubasi selama 5 hari pada suhu  $20^0$  C dan ditentukan DO-nya ( $X_5$  mg/L). Air pengencer diisi ke dalam 2 botol BOD. Satu botol segera ditentukan DO ( $B_0$  mg/L) dan satu botol lagi diinkubasi selama 5 hari pada suhu  $20^0$  C lalu ditentukan DO ( $B_5$  mg/L). BOD dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{BOD} = \frac{(X_0 - X_5) - \{ (B_0 - B_5) (1 - p) \}}{p}$$

$X_0$  = DO sampel pada  $t = 0$  hari (mg  $O_2$ /L)

$X_5$  = DO sampel pada  $t = 5$  hari (mg  $O_2$ /L)

$B_0$  = DO blanko pada  $t = 0$  hari (mg  $O_2$ /L)

$B_5$  = DO blanko pada  $t = 5$  hari (mg  $O_2$ /L)

$p$  = derajat pengenceran sampel

### 3.3.3. Penentuan COD

Sebanyak 1 mL larutan kalium dikromat 0,25 N, 3 mL larutan campuran asam sulfat perak sulfat dan 0,04 gram merkuri sulfat ditambahkan ke dalam 2 mL sampel. Campuran didalam tabung COD tersebut kemudian ditutup dan diaduk. Tahapan diatas diulangi terhadap 2 mL air suling sebagai larutan blanko.

Pada masing-masing tabung dipasang unit pengaman tutup, lalu dimasukan ke dalam reaktor COD pada suhu  $150^0$  C selama 2 jam. Tabung COD dikeluarkan dari reaktor setelah 2 jam dan dibiarkan dingin. Larutan dari tabung COD dipindahkan ke dalam labu Erlenmeyer 100 mL dan dibilas dengan 4 mL air suling, lalu ditambahkan 3 tetes larutan indikator ferroin.

Larutan dititrasi dengan ferro amonium sulfat 0,025 N yang telah dibakukan sampai terjadi perubahan warna dari hijau menjadi coklat merah. Dicatat mL pemakaian larutan baku ferro amonium sulfat. Nilai COD dihitung dengan menggunakan rumus:



$$\text{COD} = \frac{\{(A - B) \times N \times 8000\} \times p}{\text{mL sampel}}$$

A = mL pemakaian ferro amonium sulfat untuk titrasi blanko  
 B = mL pemakaian ferro amonium sulfat untuk titrasi sampel  
 N = kenormalan larutan baku ferro amonium sulfat  
 p = besar pengenceran sampel

### 3.3.4. Penentuan amoniak

#### a. Perlakuan pendahuluan

Ke dalam labu penyuling 500 mL dimasukkan sampel sebanyak 250 mL dan 25 mL larutan penyangga borat serta beberapa butir batu didih. Larutan natrium hidroksida 6 N di tambahkan agar pH tepat menjadi 9,5 dengan menggunakan pH meter. Alat penyuling dihidupkan dan diatur kecepatannya 6 – 10 mL/menit. Air sulingan ditampung sebanyak 120 mL ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL yang telah diisi 30 mL larutan asam borat, kemudian diencerkan menjadi 250 mL dengan penambahan air suling. Larutan ini siap diuji.

#### b. Pembuatan kurva standar amoniak

Larutan baku amonium yang konsentrasinya 0,0 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; 1,0 ppm; dan 2,0 ppm dimasukkan kedalam labu takar 50 mL sampai tanda batas, kemudian ditambahkan 2 mL larutan Nessler dan dikocok. Proses reaksi dibiarkan berlangsung paling sedikit selama 10 menit. Larutan berwarna ini dimasukkan kedalam kuvet pada alat spektrofotometer. Serapan dibaca dan dicatat.

#### c. Pengukuran amoniak

Sampel dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL sampai tepat tanda batas, kemudian ditambah 2 ml larutan nessler, dikocok dan proses reaksi dibiarkan berlangsung paling sedikit 10 menit. Larutan berwarna ini dimasukkan ke dalam kuvet pada alat spektrofotometer untuk dibaca serapannya.

Kadar amoniak dalam sampel dapat dihitung dengan menggunakan persamaan garis regresi yang diperoleh dari data kurva standar.

### 3.3.6. Penentuan minyak dan lemak

#### a. Perlakuan pendahuluan

Sampel sebanyak 250 mL dimasukkan ke dalam corong pisah 500 mL, lalu ditambahkan 1 mL larutan HCl 1 : 1 dan dikocok. Botol sampel dibilas dengan pelarut CCl<sub>4</sub> sebanyak 30 mL dan dimasukkan kedalam corong pisah yang sudah berisi sampel. Ke dalam corong pisah ditambahkan lagi 30 mL CCl<sub>4</sub> lalu dikocok kuat-kuat selama 2 menit. Fraksi CCl<sub>4</sub> dibiarkan terpisah dari fraksi air selama 1 sampai 2 menit. Lapisan fraksi CCl<sub>4</sub> dipisahkan dari sampel ke dalam gelas piala bersih. Kristal Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrous ditambahkan 1-2 g jika fraksi CCl<sub>4</sub> mengandung air (keruh). Fraksi CCl<sub>4</sub> ditampung dalam gelas piala 100 mL yang disaring dengan serat kaca dan sudah dibasahi CCl<sub>4</sub>. Sampel filtrat siap untuk diukur kadar minyaknya.

#### b. Pengukuran minyak dan lemak

Sampel dalam gelas piala dimasukkan ke dalam labu destilasi yang sudah ditimbang bobot tetap. Gelas piala dibilas dengan 30 mL CCl<sub>4</sub> dan bilasan dimasukan ke dalam labu destilasi yang telah berisi CCl<sub>4</sub>. Penyulingan dilakukan selama 15 menit diatas penangas air pada suhu  $70 \pm 2^{\circ}$  C. Setelah dingin, labu destilasi dimasukkan ke dalam eksikator selama 30 menit. Lalu labu destilasi yang berisi sampel ditimbang sampai bobot tetap. Kandungan minyak dan lemak dihitung dengan rumus:

$$\text{Minyak dan lemak (mg/L)} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{mL sampel}}$$

A = bobot labu destilasi yang berisi sampel (gram)

B = bobot labu destilasi kosong (gram)

### 3.4. Analisis Data

Data pH, BOD, COD, amoniak, minyak dan lemak dianalisis secara statistik dengan menggunakan ANOVA. Pengaruh penambahan EM (aktif dan teradaptasi) diamati dengan uji jarak berganda Duncan pada selang kepercayaan 95%.