

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen, karena pada penelitian ini dilakukan perlakuan untuk memanipulasi objek penelitian disertai dengan adanya kontrol (Nazir,2003: 63)

B. Desain Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), desain ini digunakan karena percobaan dilakukan di laboratorium dan kondisi lingkungan dapat dikontrol (Nazir,2003: 63). Penentuan banyaknya pengulangan masing -masing konsentrasi berdasarkan perhitungan rumus :

$$(t)(r) - 1 \geq 20$$

Keterangan :

t = *Treatment* (Perlakuan)

r = *Replication* (Pengulangan)

20 = Faktor nilai derajat kebebasan umum

Berdasarkan rumus diatas jika jumlah perlakuan (t) = 5 maka jumlah pengulangan dapat diketahui sebagai berikut :

$$(t)(r) - 1 \geq 20$$

$$(5)(r) - 1 \geq 20$$

$$5r - 1 \geq 20$$

$$5r \geq 21$$

$$r \geq 4,2$$

$$r \approx 5$$

Pada penelitian ini digunakan deret logaritma yang sesuai untuk uji toksisitas untuk menentukan konsentrasi pengenceran (EPS,1990: 55). Penentuan posisi botol pengamatan dan pengambilan botol pengamatan dilakukan secara acak tanpa membedakan kontrol dan perlakuan seperti pada Tabel 3.1 dan Gambar 3.1 :

Tabel 3.1 Rancangan Blok Design Penelitian

A2	C1	B2	A1	C3	E3
D5	A5	E2	D4	F4	A4
C5	E1	B1	B3	E5	F2
F1	B4	F3	A3	D2	B5
C4	D1	C2	E4	F5	D3

Keterangan :

A = Konsentrasi Limbah tekstil 0% (kontrol)

B = Konsentrasi Limbah tekstil 10%

C = Konsentrasi Limbah tekstil 18%

D = Konsentrasi Limbah tekstil 32%

E = Konsentrasi Limbah tekstil 64%

F = Konsentrasi Limbah tekstil 100%

1, 2, 3, 4, 5 = Pengulangan



Gambar 3.1 Posisi penempatan botol vial pada uji hayati
Sumber: Dokumentasi Pribadi

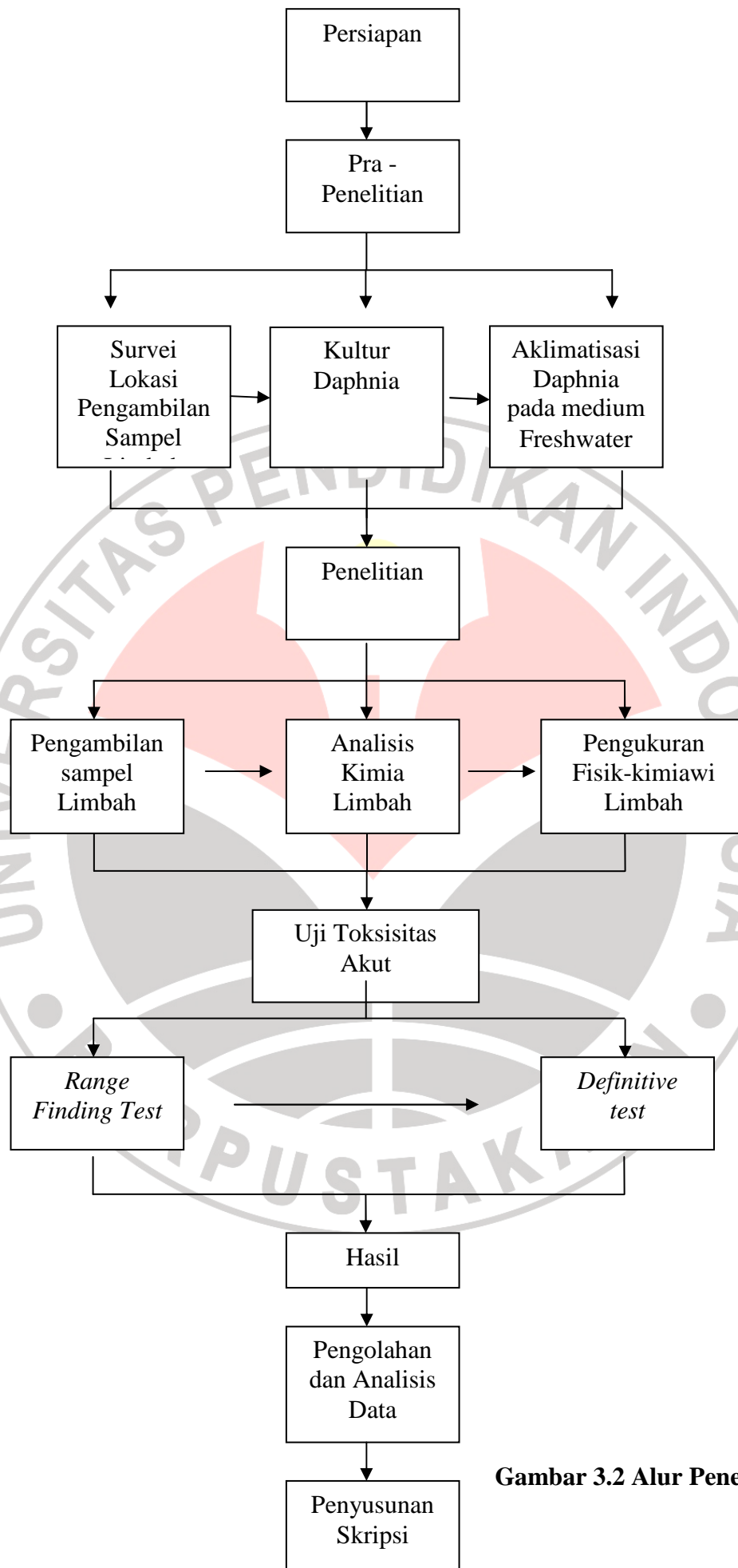
Organisme yang digunakan adalah *neonate Daphnia magna* yang merupakan hasil kultur umur <24 jam, dengan jumlah individu masing-masing 10 ekor, sehingga satu *blok design* memerlukan 300 ekor *Daphnia magna*. Hasil dari penelitian ini adalah berupa nilai *LC50* yaitu suatu nilai konsentrasi yang mengakibatkan kematian sebanyak 50% dari jumlah organisme uji. Selama penelitian dilakukan, parameter fisik dan kimiawi yaitu pH, suhu, dan konduktivitas diukur dan dikontrol agar tidak mengalami perubahan berarti dan memberikan pengaruh terhadap organisme uji

C. Populasi dan Sampel

Populasi dari penelitian yang dilakukan yaitu keseluruhan dari *neonate* yang berumur <24 jam hasil pengkulturan di laboratorium Ekologi Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI, sedangkan untuk sampel yaitu *neonate* dari *Daphnia magna* yang berjumlah sepuluh ekor yang digunakan pada setiap perlakuan dan pengulangan.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan bulan April 2009 di Laboratorium Ekologi Jurusan Pendidikan Biologi FPMIFA UPI Jl. Dr. Setiabudhi, No.229 Bandung.

**Gambar 3.2 Alur Penelitian**

E. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

Tahap ini diawali dengan pendataan, pengumpulan dan pembersihan alat yang digunakan dalam pra-penelitian dan penelitian. Selanjutnya medium air tanah dibersihkan untuk kultur *Daphnia*.

2. Pra-Penelitian

Pra-penelitian ini terdiri atas 3 tahap yaitu survei dan studi lapangan lokasi pengambilan sampel limbah tekstil, kultur *Daphnia* di Laboratorium Ekologi Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI dan aklimatisasi hewan uji (*Daphnia*) pada medium *freshwater*.

a. Survei dan Studi Lapangan Lokasi Pengambilan Sampel Limbah Tekstil

Survei dan studi lapangan ini meliputi menyelesaikan berbagai persyaratan administrasi perizinan dari instansi lokasi pengambilan sampel. Selain itu dilakukan pula pengenalan secara umum proses produksi tekstil dari bahan baku yang berupa benang sampai dengan produk berupa kain serta bahan-bahan kimia yang dipakai dalam proses produksi dan gambaran.



Gambar 3.3 Uji Dosis Pemberian Flokulan
Sumber: Dokumentasi Pribadi



Gambar 3.4 Pemberian Flokulan Pada Bak Pengaduk Cepat
Sumber: Dokumentasi Pribadi



Gambar 3.5 Bak Ekualisasi
Sumber: Dokumentasi Pribadi

Survei dan studi lapangan ini juga meliputi pengenalan sistem mekanisme IPAL secara umum diantaranya pemberian flokulan (Gambar 3.3 dan 3.4) serta bagian-bagian dari IPAL beserta fungsinya seperti bak ekualisasi (Gambar 3.5), *cooling tower*, tanki pengendap dan sebagainya.

b. Kultur *Daphnia magna*

Pada Tahap ini disiapkan alat dan bahan berupa akuarium, air tanah sebagai medium kultur dan fermipan (*yeast*) sebagai sumber makanannya serta tanaman lumut sengaja ditumbuhkan pada aquarium sebagai penyedia oksigen alami (Sutarman,2003: 26).



**Gambar 3.6 Kultur *Daphnia magna* di Laboratorium PUS AIR
Sumber : Dokumentasi Pribadi**

Daphnia diambil dari kultur yang ada di PUS AIR (Gambar 3.6) yang berlokasi di Jl I.R H. Juanda Bandung kemudian dikulturkan kembali di Laboratorium Ekologi Jurusan Biologi FPMIPA UPI (Gambar 3.7) sampai jumlahnya memenuhi untuk uji toksisitas kemudian dipilih *Daphnia magna* dewasa yang siap bereproduksi. Selain dikultur di laboratorium *Daphnia magna* juga di kultur di kolam khusus yang ada di kebun botani dengan air tanah sebagai mediumnya dan lumut yang tumbuh alami sebagai penyedia oksigen. Pemilihan species ini berdasarkan bentuk morfologi dari *Daphnia magna* yang memiliki telur yang dibawa di bagian

posterior dari badannya (EPS,1990: 18). Sebelum *Daphnia* dikultur medium diaerasi terlebih dahulu selama ± 24 jam.



Gambar 3.7 Kultur *Daphnia magna* di Laboratorium Ekologi FPMIPA UPI
Sumber : Dokumentasi Pribadi

Daphnia ini kemudian disubkultur kembali sehingga didapatkan *neonate* yang berumur <24 jam. Subkultur *Daphnia magna* dilakukan dalam gelas beaker volume 2 Liter pada suhu kamar dan diberi pakan fermipan dengan ukuran 0,1 g/mL air tanah satu kali sehari (Sutarman,2003: 27). Kultur *Daphnia* ini dilakukan selama 4 minggu dan dilakukan pengambilan *Daphnia* yang berumur <24 jam lalu dipindah ke gelas beaker yang lain hingga mencapai jumlah *Daphnia* <24 jam yang cukup untuk digunakan dalam uji toksisitas (EPS,1990: 17).

c. Aklimatisasi *Daphnia* Dalam Medium *Freshwater*

Salah satu bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah larutan *freshwater* dengan konduktivitas 300 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Untuk membuat *freshwater* dengan konduktivitas 380 $\mu\text{S}/\text{cm}$ dilakukan dengan cara melarutkan 0,192 gr NaHCO_3 , 0,120 gr $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,244 gr $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 0,008 gr KCl ke dalam 2000

mL aquadest (ASTM,1984 dalam Oliva,2005: 212). Nilai konduktivitas 300 $\mu\text{S}/\text{cm}$ berdasarkan pra penelitian penentuan jenis medium kultur oleh Andi Sutarman (2003: 27) yang menunjukkan bahwa *Daphnia magna* lebih cocok berada pada nilai konduktivitas 300 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Untuk mendapatkan nilai konduktivitas 300 $\mu\text{S}/\text{cm}$ maka dari larutan *freshwater* dengan konduktivitas 380 $\mu\text{S}/\text{cm}$ diambil sebanyak 500 mL dan digenapkan dengan aquadest hingga volumenya 700 mL. Dari pengenceran tersebut didapatkan nilai konduktivitas 300 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Setelah didapatkan larutan *freshwater* dengan konduktivitas 300 $\mu\text{S}/\text{cm}$, *Daphnia magna* diaklimatisasi pada medium *freshwater* selama ± 2 jam yang nantinya akan dijadikan sebagai kontrol pada pelaksanaan uji hayati.

3. Penelitian

Penelitian terdiri dari pengambilan sampel limbah di lapangan, analisa kimiawi limbah tekstil, pengukuran faktor fisik-kimiawi larutan uji, dan uji toksisitas akut *Daphnia magna*.

a. Pengambilan Sampel Limbah di Lapangan

Proses pengambilan sampel limbah ini mengikuti prosedur yang terdapat dalam buku “Prinsip Pengelolaan Pengambilan Sampel Lingkungan” (Hadi,2005), yaitu dilakukan dengan cara mencuplik langsung kemudian dimasukkan ke dalam jerigen plastik polietilen (Gambar 3.8), ditutup rapat lalu dimasukkan ke dalam *cool box* pada suhu 4 $^{\circ}\text{C}$. Sampel limbah dibawa ke laboratorium untuk disimpan (Gambar 3.8) dan dilakukan uji toksisitas dalam waktu kurang dari atau sama dengan satu bulan sejak pengambilan sampel (Alaerts,1987: 27) . Volume sampel yang dicuplik adalah 2 Liter dari outlet IPAL, 2 Liter di state I dan 2 Liter di state II. Ketiga sampel tersebut dicampurkan dalam satu wadah.



Gambar 3.8 Jerigen Plastik Polietilen Tempat Penyimpanan Sampel Limbah Tekstil

Sumber : Dokumentasi Pribadi

b. Analisis Kimiawi Limbah Tekstil

Pada saat pengambilan sampel limbah tekstil yang akan diuji hayati (*bioassays*) dilakukan juga pengambilan sampel limbah ditempat yang sama dan pada hari yang sama untuk dianalisa secara fisik-kimiawi kandungan zat dalam limbah tekstil. Analisa ini dilakukan dengan kerja sama dari pihak perusahaan yang mengacu pada standar baku mutu yang dikeluarkan oleh Kementerian Lingkungan Hidup RI yang nantinya dijadikan sebagai salah satu data penunjang dalam uji hayati.

c. Pengukuran Faktor Fisik-kimiawi Larutan Uji Hayati

Pada saat uji hayati faktor fisik-kimiawi larutan uji diukur kembali. Faktor fisik-kimiawi yang diukur antara lain : Pengukuran suhu dengan menggunakan termometer, pH dengan pH meter *Fisher model 156* (Gambar 3.9), dan

pengukuran konduktivitas dilakukan dengan menggunakan Conductivity meter HORIBA *Twin Cond B – 173* (Gambar 3.10) (SNI,2004).



Gambar 3.9 pH meter *Fisher model 156*
Sumber : Dokumentasi Pribadi



Gambar 3.10 Conductivity meter HORIBA *Twin Cond B – 173*
Sumber : Dokumentasi Pribadi

d. Uji Toksisitas Akut *Daphnia magna*

Prosedur dalam uji toksisitas ini berdasarkan metode yang dimodifikasi dari EPS (1990). Uji ini diawali dengan uji pendahuluan (*Range Finding Test*) untuk menentukan konsentrasi lumpur tertinggi yang menyebabkan kematian total *Daphnia* dan konsentrasi terendah yang tidak menyebabkan kematian total *Daphnia* selama 24 jam. Uji toksisitas ini dilakukan dengan menggunakan botol vial ukuran 20 mL. Setiap botol vial berisi limbah tekstil dengan konsentrasi 10%,

18%, 32%, 64%, 100% dan kontrol (0%) dalam medium *freshwater*. Setiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak lima kali. Untuk setiap botol vial berisikan sampel limbah sebanyak 10 mL dan 10 ekor *Daphnia*. Pengukuran parameter fisik-kimiawi (suhu, pH, dan konduktivitas) diukur sebagai penunjang uji toksisitas, dilakukan pada awal dan akhir perlakuan dan nantinya akan diambil nilai rata-ratanya (Mean). Jumlah *Daphnia* yang mati dan yang masih hidup dicatat dan uji ini dilakukan selama 2 x 24 jam (APHA,2005: 8-104). Uji selanjutnya adalah *definitive test* sebagai uji lanjutan dari *range finding test* dengan prosedur yang hampir sama dengan dengan *range finding test* dengan konsentrasi pengenceran yang dipersempit. Uji lanjutan ini bertujuan untuk mendapatkan nilai *LC50* yang sesungguhnya.

F. Analisis Data

Data yang dikumpulkan adalah nilai parameter fisik-kimiawi awal dan akhir perlakuan dan jumlah individu dari *Daphnia magna* yang hidup per 24 jam. Untuk mendapatkan nilai *LC50* ini dilakukan dengan menggunakan program komputer yang dalam hal ini menggunakan *software Trimmed Spearman - Karber Method* (Gambar 3.11) dengan derajat kesalahan 5% ($\alpha = 0,05$) (Hamilton, 1977 dalam EPA, 2008:1).

```

D:\b\veee\BAHANS-1\SKRIPS-1\SOFTWA-1\tsk\tsk.exe
h
ENTER DURATION OF TEST:
24
ENTER THE NUMBER OF MORTALITIES AT EACH EXPOSURE CONCENTRATION:
15 23 30 37 45
WOULD YOU LIKE THE AUTOMATIC TRIM CALCULATION<Y/N>?
y

DATE: 18/05/09          TEST NUMBER: 1          DURATION: 24 h
TOXICANT: Textile Waste water
SPECIES: Daphnia magna

RAW DATA:
Concentration      Number      Mortalities
(% Effluent)      Exposed
.00                50          0
18.00              50          15
26.00              50          23
32.00              50          30
48.00              50          37
64.00              50          45

SPEARMAN-KARBER TRIM: 30.00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:
LC50: 27.36
95% LOWER CONFIDENCE: 23.36
95% UPPER CONFIDENCE: 32.04

WOULD YOU LIKE TO HAVE A COPY SENT TO THE PRINTER<Y/N>?

```

Gambar 3.11 Software Trimmed Spearman - Karber Method
Sumber : Dokumentasi Pribadi

Pada *software Trimmed Spearman - Karber Method* dimasukkan angka-angka konsentrasi pengenceran limbah tekstil hasil dari *definitive test* masing-masing 24 jam dan 48 jam. Hasil analisis data diperoleh nilai *LC50-24h* dan *48h* yang mengindikasikan nilai konsentrasi limbah tekstil yang mengakibatkan kematian 50% dari organisme uji toksisitas tersebut selama 24 dan 48 jam.