

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan termasuk penelitian terapan dengan metode penelitian deskriptif. Objek penelitian ini adalah jenis tanaman yang baik sebagai fitoremediator dan pengenceran limbah yang optimum dalam proses fitoremediasi.

B. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan ialah air limbah industri penyamakan kulit di Kecamatan Sukaregang, Kabupaten Garut dan sejumlah tanaman yang diuji kemampuan remediasi. Sampel yang digunakan limbah sedimen yang diambil dari instalasi pengolahan air limbah (IPAL) Kecamatan Sukaregang dan *Alocasia macrorrhiza* yang berasal dari Kecamatan Pasirwangi, Kabupaten Garut.

C. Desain Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap, yaitu uji pendahuluan dan uji fitoremediasi. Pada uji pendahuluan digunakan limbah sedimen dan tanah dengan perbandingan 1:10, 1:15 dan 1:20. Tujuan dari uji pendahuluan ini didapatkan perbandingan tanah dan limbah yang digunakan pada uji fitoremediasi. Parameter yang digunakan adalah nekrosis dan klorosis tanaman. Pada penelitian inti, tanaman dilihat perkembangannya selama 10 hari dan diuji beberapa parameter. Parameter tersebut adalah biomassa, klorofil, materi organik tanah, kelembaban tanah dan kadar logam kromium pada tanah, daun, dan akar.

D. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Juni-Oktober 2015 di Laboratorium Ekologi, Laboratorium Fisiologi dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia serta Laboratorium Penelitian dan Pelayanan, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran.

Rizka Khairunnisa, 2016

POTENSI TANAMAN Alocasia macrorrhiza SEBAGAI FITOREMEDIATOR LOGAM KROMIUM PADA LIMBAH SEDIMEN PENYAMAKAN KULIT

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

E. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap yaitu tahap pra penelitian (pemilihan tanaman, pengambilan limbah, pembuatan media tanam, optimasi medium, dan aklimatisasi), tahap penelitian (perlakuan dan pengukuran parameter), dan tahap analisis data.

1. Pra Penelitian

Tahap pra penelitian merupakan tahapan awal pada penelitian yang bertujuan untuk mempersiapkan penelitian agar tidak terjadi adanya kesalahan-kesalahan yang diakibatkan oleh adanya ketidaksiapan dari komponen penelitian. Tahap pra penelitian terdiri atas pemilihan tanaman, pemilihan limbah, pembuatan media tanam, optimalisasi, dan aklimatisasi tanaman uji.

a. Pemilihan tanaman

Pemilihan tanaman bertujuan untuk memilih tanaman yang akan digunakan selama penelitian yang memenuhi beberapa kriteria yang telah ditetapkan. Pada penelitian ini digunakan satu jenis tanaman yaitu *Alocasia macrorrhiza* yang didapatkan dari daerah pertanian di Kecamatan Pasirwangi, Kabupaten Garut. Individu yang dipilih adalah individu yang belum mengalami fase generatif/dewasa, yaitu tanaman yang belum memasuki tahap perbungaan. Pemilihan tanaman ini berdasarkan syarat dari tumbuhan yang memenuhi kriteria untuk digunakan sebagai agen fitoremediasi berdasarkan Sriprang & Murooka (2007) dan Surtikanti (2013), yaitu:

- 1) pertumbuhan cepat dan membentuk biomassa yang besar
- 2) bersifat toleran terhadap lingkungan
- 3) dapat mengakumulasi logam berat dalam konsentrasi yang besar
- 4) mudah ditangani dan didapatkan
- 5) mampu meremediasi lebih dari satu polutan
- 6) bukan tanaman yang biasa dikonsumsi manusia
- 7) hidup di habitat yang kosmopolitan, artinya tidak membutuhkan syarat tertentu untuk tumbuh

b. Pengambilan Limbah

Limbah yang digunakan dalam penelitian merupakan lumpur yang diambil dari endapan pada bak-bak IPAL di Kecamatan Sukaregang, Kabupaten Garut. Lumpur berwarna abu-abu gelap, bertekstur lembek, lengket dan berbau tajam seperti yang dapat dilihat pada Gambar 3.1. Limbah kemudian dijemur hingga berbentuk padatan dan berwarna putih kebiruan. Padatan limbah disaring menggunakan saringan dengan ukuran 2 mm. Tujuan penyaringan ini agar didapatkan partikel limbah dengan ukuran yang homogen dan tidak terdapat campuran limbah lain seperti bulu, serpihan kulit dan daging (Singh, Singh, Kumar, & Shukla, 2011).



Gambar 3.1 Limbah Lumpur Penyamakan Kulit
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

c. Pembuatan media tanam

Persiapan media tanam bertujuan untuk membuat dan menyiapkan media tanam yang sesuai untuk tanaman yang akan digunakan selama penelitian. Media tanam adalah substrat tempat menempelnya tanaman uji. Media tanam yang digunakan adalah tanah gembur yang dicampurkan dengan pupuk kandang yang berasal dari kotoran domba dengan perbandingan 1:1 (Singh, Singh, Kumar, & Shukla, 2011). Masing-masing tanah dan pupuk kandang ditimbang sebanyak 2,5 kg kemudian diaduk hingga bercampur rata dan siap digunakan. Media tanam kemudian dicampur limbah penyamakan kulit dengan perbandingan limbah dan media tanam sebesar 1:10, 1:15, dan 1:20.

d. Uji Pendahuluan atau Optimasi Medium

Setiap tanaman memiliki batas toleransi tertentu terhadap polutan dalam limbah. Konsentrasi limbah yang terlalu tinggi dan tidak dapat ditoleransi oleh tanaman tidak akan menghasilkan remediasi limbah yang baik melainkan dapat menyebabkan kegagalan ketika pelaksanaan penelitian. Uji pendahuluan bertujuan untuk menentukan konsentrasi limbah yang cocok untuk remediasi menggunakan tanaman uji. Pengujian dilakukan selama 10 hari. Indikator pada tahap ini adalah gejala klorosis dan nekrosis. Dari tahap uji pendahuluan akan dihasilkan perbandingan tanah dan limbah di mana tanaman mampu bertahan hidup.

Tanaman ditimbang sebanyak 150 gram kemudian ditempatkan pada ember. Limbah yang dicampur dengan tanah dimasukkan ke dalam ember dengan perbandingan 1:10, 1:15 dan 1:20. Salah satu ember diisi dengan media tanam saja sebagai kontrol. Semua perlakuan dibuat secara duplo. Susunan tanaman dalam tahap ini dapat dilihat pada Gambar 3.2. Tanaman yang tidak bertahan akan mengalami gejala klorosis dan nekrosis. Gejala klorosis berupa daun dan petiolus yang menguning serta helai daun mengerut dan berwarna kecoklatan, sedangkan nekrosis dapat dilihat dari kematian sel yang berakhir pada kematian tanaman. Tanaman yang tidak mengalami klorosis maupun nekrosis selama pengujian berlangsung berpotensi dapat bertahan dalam konsentrasi limbah tersebut. Tanaman yang digunakan selama tahap optimalisasi tidak digunakan pada tahap penelitian.

A1	B1	C1	D1
A2	B2	C2	D2

Gambar 3.2 Susunan Tanaman pada Uji Pendahuluan

Keterangan

A : kontrol

D : perbandingan 1: 20

B : perbandingan 1: 10

1-2 : pengulangan

C : perbandingan 1: 15

e. Aklimatisasi

Tanaman yang dipindahkan dari habitat asalnya ke media tanam yang baru membutuhkan adaptasi karena lingkungannya berubah. Aklimatisasi bertujuan agar tanaman uji dipastikan dapat hidup dengan normal ketika diberi limbah penyamakan kulit, telah menempel pada substrat dan telah melewati masa stres akibat dipindahkan pada substrat tumbuh yang baru. Aklimatisasi sangat diperlukan pada penelitian yang menggunakan tanaman sebagai objek penelitian (Malik, 2013). Pada tahap ini sebanyak sepuluh tanaman uji ditanam pada media tanam tanpa limbah penyamakan kulit dan dibiarkan selama 3 hari.

2. Penelitian

a. Perlakuan

Penelitian dimulai dengan penggantian media tanam yang digunakan untuk aklimatisasi dengan media tanam yang sudah dicampur dengan limbah penyamakan kulit konsentrasi limbah yang didapatkan dari uji pendahuluan. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak lima kali pengulangan. Lima ember dibiarkan dalam media tanam tanpa campuran limbah sebagai kontrol. Susunan tanaman pada tahap ini dapat dilihat pada Tabel 3.3.

K1	P1
K2	P2
K3	P3
K4	P4
K5	P5

Gambar 3.3 Susunan Tanaman pada Tahap Penelitian

Keterangan

K : Kontrol

P : Perlakuan

1-5 : Pengulangan

b. Pengukuran Parameter Penelitian

Pengukuran parameter dilakukan pada hari ke-0 dan hari kesepuluh. Parameter penelitian meliputi parameter tanah yaitu materi organik dan kelembaban tanah, parameter fisiologis yaitu kadar klorofil dan biomassa, dan pengukuran kadar kromium total pada daun, akar, dan tanah berdasarkan prosedur tertentu.

1) Kadar klorofil a, b dan total

Pengukuran kadar klorofil bertujuan untuk mengidentifikasi adanya peningkatan atau penurunan kadar klorofil baik sebelum maupun setelah perlakuan. Penurunan maupun peningkatan klorofil serta hubungannya dapat mengindikasikan ada atau tidaknya gangguan fisiologis pada tanaman. Pada pengujian ini, diambil sampel daun dari setiap unit penelitian. Daun ditimbang sebanyak 0,1 g dan dihancurkan menggunakan mortar dan pestel dalam alkohol 96% hingga 20 ml. Setelah ampas daun menjadi berwarna putih, sampel dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan disentrifugasi 15.000 rpm selama 3 menit. Pengukuran kadar klorofil menggunakan GenesysTM 10S UV-Vis Spectrophotometer pada gelombang 649 dan 665 nm. Hasil absorbansi dicatat untuk menghitung kadar klorofilnya menggunakan rumus berikut.

$$\text{Klorofil a} = (13,7 \times A_{665}) - (5,76 \times A_{649})$$

$$\text{Klorofil b} = (25,8 \times A_{649}) - (7,6 \times A_{665})$$

$$\text{Klorofil total} = (20 \times A_{649}) - (6,1 \times A_{665})$$

2) Materi Organik Tanah

Pengujian materi organik tanah menggunakan *Walkley-Black Method* sesuai dalam Michael (1984). Sebelum diuji, tanah sampel disaring menggunakan alat sieve hingga didapatkan partikel tanah berukuran $> 0,25$ mm. Sampel tanah tersebut dimasukkan sebanyak 0,25 gram ke dalam labu Erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan K_2CrO_7 sebanyak 5 ml dan H_2SO_4 pekat sebanyak 10 ml. Larutan diaduk secara perlahan selama satu menit kemudian didiamkan selama 20-30 menit. Akuades ditambahkan hingga larutan mencapai 100 ml kemudian

ditambahkan H_3PO_4 sebanyak 5 ml, NaF sebanyak 0,1 gram, dan indikator *diphenylamine* sebanyak dua tetes. Larutan dipisahkan menjadi tiga bagian ke dalam labu Erlenmeyer yang berbeda dengan jumlah kira-kira sama. Kemudian masing-masing larutan dititrasikan menggunakan larutan ferro ammonium sulfat hingga berubah warna menjadi hijau. Percobaan dilakukan dengan cara yang sama untuk membuat blanko tanpa sampel tanah. Jumlah titrasi dihitung untuk mengetahui kadar materi organik tanah menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ MOT} = 10 \times \left(\frac{\text{ml titrasi pada sampel}}{\text{ml titrasi pada akuades}} \right) \times 1,34$$

3) Cr total tanah

Pengujian Cr total tanah dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Padjajaran menggunakan *Atomic Absorbance Spectrophotometri* (AAS). Sampel tanah dipanaskan dalam oven suhu 80°C hingga mencapai berat kering yang konstan, selanjutnya tanah dihaluskan dengan mortar dan disaring menggunakan *sieve* hingga ukuran kurang dari 0,1 mm. Tanah hasil penyaringan ditimbang 2 gram untuk digunakan dalam langkah destruksi. Proses destruksi menggunakan HNO_3 pekat (65%) dan akuades 5 ml. Setelah didestruksi dilakukan penguapan di atas *heater* hingga volume sampel 1 ml selanjutnya sampel ditambah akuades hingga tanda batas 25 ml. Sampel selanjutnya diukur menggunakan AAS. Hasil yang didapat AAS dianalisis menggunakan rumus sebagai berikut.

$$C_{y'} = C_y \times \frac{V}{W}$$

Keterangan:

$C_{y'}$ = Kandungan kromium pada tanah ($\mu\text{g/g}$)/ppm

C_y = Konsentrasi kromium terukur pada AAS ($\mu\text{g/ml}$)

V = Volume pengenceran (ml)

W = Berat kering tanah

4) Cr total tanaman

Pengujian Cr total tanaman dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Padjajaran menggunakan AAS. Tanaman dipanaskan didalam oven suhu 80°C hingga tanaman mencapai berat kering dan konstan. Setiap tanaman yang telah kering diambil 2 gram untuk diabukan dalam *furnace* suhu 600°C selama 8 jam. Setelah pengabuan tanaman dilakukan proses destruksi dengan langkah yang sama pada destruksi tanah.

3. Analisis Data

Data hasil pengukuran yang didapatkan akan dianalisis menggunakan rumus di antaranya *Translocation Factor* (TF), *Bioconcentration Factor* (BCF) dan efisiensi (E).

a. *Translocation Factor* (TF)

Translocation Factor merupakan indeks yang menunjukkan jumlah kromium yang dapat ditranslokasi oleh tanaman (Varun, D'Souza, Pratas, & Paul, 2011). Rumus *Translocation Factor* adalah sebagai berikut.

$$TF = \frac{\text{konsentrasi Cr dalam daun}}{\text{konsentrasi Cr dalam akar}}$$

b. *Bioconcentration Factor* (BCF)

Bioconcentration Factor merupakan indeks yang menunjukkan fitostabilitas tanaman dalam mengakumulasi kromium dalam area rhizosfer (Varun, D'Souza, Pratas, & Paul, 2011). Rumus *Bioconcentration Factor* adalah sebagai berikut.

$$BCF = \frac{\text{konsentrasi Cr dalam akar}}{\text{konsentrasi Cr dalam tanah}}$$

c. Efektivitas

Efektivitas fitoremediasi adalah peningkatan atau penurunan logam oleh tanaman fitoremediator (Hidayah, 2014). efektivitas fitoremediasi limbah penyamakan kulit dapat diketahui menggunakan rumus sebagai berikut.

$$Efisiensi = \frac{S_0 - S_1}{S_0} \times 100\%$$

Keterangan :

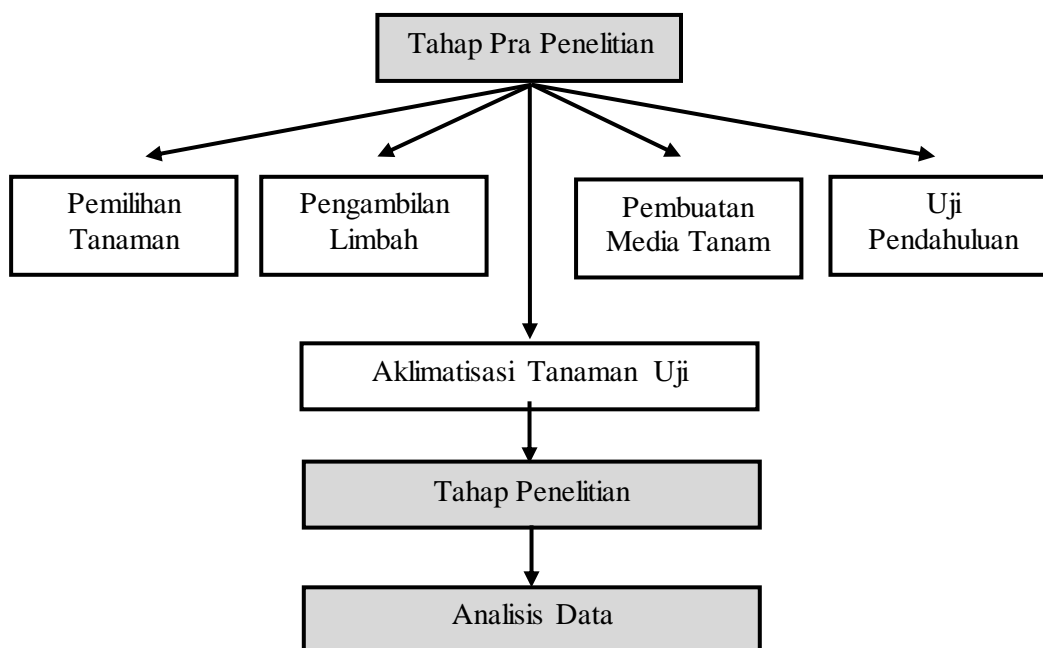
S₀ = Konsentrasi awal (mg/L)

S₁ = Konsentrasi akhir (mg/L)

d. Analisis Data Statistik

Data hasil uji parameter seperti berat basah dan kadar klorofil diolah menggunakan analisis statistik. Data dianalisis menggunakan uji homogenitas dan normalitas. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka pengolahan data dilanjutkan dengan uji parametrik *t-paired sample test* atau uji t berpasangan. Pengolahan data menggunakan perangkat lunak SPSS 16.

F. Alur Penelitian



Gambar 3.2 Diagram Alir Penelitian