

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini bersifat eksperimental. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan metode deskriptif kuantitatif melalui RAL (Rancangan Acak Lengkap) Faktorial yang terdiri atas dua macam perlakuan (variasi volume penambahan *Chlorella* sp. dan waktu kontak) dan empat kali ulangan untuk masing-masing perlakuan. Analisa logam berat menggunakan metode spektrofotometri.

Tabel 3.1 Tabel Rancangan Penelitian

Perlakuan	
Waktu (Hari)	Volume <i>Chlorella</i> sp. (ml)
0	Kontrol
	400
	600
	800
7	Kontrol
	400
	600
	800
14	Kontrol
	400
	600
	800

Keterangan:

$C_0$  = Logam awal (ppm)

$C_1$  = Logam akhir (ppm)

$C_s$  = Logam terserap (ppm)

$E_p$  = Efisiensi penyerapan (%)

### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret – Juni 2014 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Genetika, Mikrobiologi, dan Optik Jurusan Biologi serta Laboratorium Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

### 3.3 Lokasi Pengambilan Sampel



**Gambar 3.3 Peta Lokasi Sampling Lumpur Lapindo**

Pengambilan sampel diambil dari bak penampungan saluran pipa pembuangan ketiga yaitu daerah yang dekat dengan muara sungai, karena pada lokasi tersebut terjadi kegiatan agitasi yang menggunakan peralatan mekanikal berupa dredger (kapal keruk) sehingga penghanyutan lumpur ke sungai akan semakin efektif. Pada bak penampungan pipa pembuangan saluran ketiga juga sering dilakukan pemantauan

sehingga pengambilan pada titik tersebut efektif untuk pengambilan sampel penelitian.

### **3.4 Variabel Penelitian**

Variabel yang digunakan meliputi variabel tetap dan variabel bebas. Dimana variabel tetap adalah volume lumpur Lapindo Sidoarjo sebanyak 2250 ml, sedangkan untuk variabel bebasnya adalah waktu pengamatan (0, 7 dan 14 hari), dan volume penambahan *Chlorella* sp. (0 ml, 400 ml, 600 ml dan 800 ml).

### **3.5 Alat dan Bahan**

#### **3.5.1 Alat**

Timba, Lampu, Pipet ukur, Botol Jerigen, Pengaduk, Gelas ukur, Beaker glass, Erlenmeyer, Saringan, Stop Kontak, Timbangan Analitik, Hitter, Botol Aqua 1,5 L., Mikrosentrifuge, Tabung Ependorf 2 ml, Spektrofotometer AAS, Mikroskop, Obyek Glass dan Deckglass, Hemasitometer, Hand Counter, Termometer, Lux Meter, Alat tulis, dan pH Meter.

#### **3.5.2 Bahan**

Lumpur Lapindo dari pembuangan pipa saluran ketiga, mikroalga *Chlorella* sp. yang diambil dari pembiakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, Aquades, Kecambah (Tauge), Kapas,

Plastik, Karet, Kertas Label, Kertas Lakmus, Larutan HNO<sub>3</sub> Pekat, dan Reagen Standart Pb.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Pengambilan Sampel Lumpur Lapindo**

Sampel Lumpur Lapindo diambil pada 1 titik yaitu pada bak penampungan pipa pembuangan saluran ketiga, dimana sampel diambil dengan metode yang sangat sederhana yaitu langsung mengambil sampel menggunakan kantong plastik.

#### **3.6.2 Pembuatan Media Ekstrak Tauge (MET) *Chlorella* sp.**

Media Ekstrak Tauge merupakan salah satu sumber media alami yang dapat digunakan untuk media pertumbuhan mikroalga. Media tersebut mengandung unsur makro dan mikro, vitamin, mineral serta asam amino yang dibutuhkan bagi pertumbuhan mikroalga (Prihantini, 2005).

1. Disiapkan alat dan bahan di Laboratorium.
2. Ditimbang 200 gram tauge kacang hijau.
3. Dicuci tauge kacang hijau dengan air mengalir.
4. Dituangkan 1000 ml aquades ke hiter.
5. Direbus selama 60 menit hingga mendidih.
6. Disaring air rebusan tauge menggunakan saringan dan kapas secukupnya agar ekstrak terpisah dari tauge.
7. Dimasukkan ekstrak ke dalam tabung erlenmeyer 250 ml.

### 3.6.3 Pembiakan *Chlorella* sp.

1. Dimasukkan MET 56 ml ke dalam botol induk.
2. Dimasukkan aquades 1330 ml ke dalam botol induk.
3. Diukur pH dan suhu media.
4. Diambil 14 ml isolat *Chlorella* sp. dengan pipet ukur dan dimasukkan ke tabung ependorf.
5. Disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan mikroalga *Chlorella* sp. dari media.
6. Dibuang supernatan.
7. Dimasukkan pelet ke dalam botol induk kemudian dikocok.
8. Ditutup botol induk dan diletakkan di rak kultur kemudian diberi fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap
9. Diukur pertumbuhan populasi di bawah mikroskop dengan bantuan haemocytometer selama 22 hari. Menurut Wenno dkk (2010), menyatakan bahwa pertumbuhan maksimum *Chlorella* sp. yang dikultivasi dicapai setelah kultur berumur 24 hari yaitu  $6,93 \times 10^6$  sel.ml<sup>-1</sup> kemudian mengalami penurunan sampai pada hari ke-28.

### 3.6.4. Penginokulasian *Chlorella* sp. Ke Media Lumpur Lapindo

1. Dimasukkan lumpur Lapindo sebanyak 2250 ml. pada tiap timba.
2. Diukur pH dan suhu media.

3. Dimasukkan *Chlorella* sp. ke dalam timba dengan perlakuan volume 400 ml, 600 ml dan 800 ml. Sedangkan untuk kontrol tanpa ditanami *Chlorella* sp.
4. Diinkubasi di rak kultur dengan diberi fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap.
5. Dilakukan pengadukan 3 kali sehari untuk setiap perlakuan agar tidak terjadi pengendapan.
6. Dilakukan pengambilan sampel pada hari ke-0, ke-7 dan ke-14 untuk dianalisa dengan AAS.

Pengujian dilakukan hingga waktu kontak selama 14 hari karena waktu optimal penyerapan pada penelitian sebelumnya adalah 7 hari dengan hasil sebesar 90,97% Cu terserap oleh *Chlorella pyrenoidosa* (Syahputra, 2009).

### 3.6.5 Penghitungan Populasi *Chlorella* sp.

1. Diambil kultur *Chlorella* sp. pada media lumpur sebanyak 5 ml pada masing-masing perlakuan.
2. Dipipet masing-masing perlakuan sebanyak 0,5 ml dan diteteskan ke obyek glass.
3. Diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 ×.
4. Dilakukan penghitungan jumlah sel dengan bantuan handcounter.

Lingkungan terbatas pertumbuhan mengikuti persamaan (Soegianto, 1994):

$$\Delta N (N\Delta t) = (-r/K)N + r$$

Seperti telah dijelaskan di atas, persamaan itu merupakan regresi  $Y = aX + b$ ,

dengan demikian:

$$a = -r/K \qquad X = N \qquad K = \frac{-r}{a}$$

$$b = r \qquad Y = \Delta N / (N \Delta t)$$

Dimana:

- $r$  : Pertumbuhan populasi (sel)
- $t$  : Hari ke-
- $N$  : Jumlah sel(sel/cc)
- $\Delta t$  : Selisih antar hari
- $\Delta N$  : Selisih antar jumlah sel (sel/cc)
- $K$  : Daya dukung habitat (sel)

### 3.6.6 Analisa *Atomic Absorption Spectrofotometer* (AAS)

#### 3.6.6.1 Pembuatan Larutan Standart Pb

Larutan standar timbal Pb yang digunakan sebagai kurva standar timbal dibuat dari standart Pb 1000 ppm. Larutan kemudian dibuat stok 10 ppm sebanyak 250 ml.

Pembuatan larutan stok melalui rumus pengenceran (HAM, 2006):

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

$M_1$  = Molaritas larutan sebelum diencerkan (M)

$V_1$  = Volume larutan sebelum diencerkan (ml.)

$M_2$  = Molaritas setelah pengenceran (M)

$V_2$  = Volume setelah pengenceran (ml.)

Berdasarkan perhitungan tersebut kemudian diperoleh larutan Pb yang harus diambil dari larutan stok sebesar 2,5 ml. Kemudian larutan diencerkan dengan menggunakan HNO<sub>3</sub> 0,5 M hingga mencapai volume total 250 ml. Larutan kemudian digunakan untuk membuat kurva standar Pb dalam AAS dengan konsentrasi 1, 2, 4, dan 5 ppm (perhitungan pada Lampiran 3).

#### **3.6.6.2 Proses Destruksi Basah**

Proses destruksi basah dilakuakn sesuai dengan (SNI, 2000):

1. Diambil sampel (Lumpur) sebanyak 5 gr.
2. Diencerkan dengan aqudest sebanyak 40 ml.
3. Dipanaskan sampai setengah dari volume awal.
4. Dilarutkan dengan HNO<sub>3</sub> 65% (pa) sebanyak 10 ml.
5. Dianalisis pada AAS dengan panjang gelombang 217 nm.

### **3.7 Analisa Data**

#### **3.7.1 Perhitungan Efisiensi Penyerapan Logam**

Menurut Fauziyah (2011), menyatakan bahwa perhitungan konsentrasi logam Pb terserap menggunakan metode Langmuir dengan persamaan sebagai berikut:

$$C_s = C_0 - C_1$$

Efisiensi penyerapan ( $E_p$ ) logam dihitung dengan rumus (Kurniawan dan Aunurohim, 2014) :

$$E_p = \left( \frac{C_s}{C_o} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

$E_p$  = Efisiensi penyerapan (%)

$C_s$  = Logam terserap (ppm)

$C_o$  = Logam awal (ppm)

$C_1$  = Logam akhir (ppm)

### 3.7.2 Hasil Analisa Kadar Pb

Data hasil analisa kadar Pb akhir dibandingkan dengan baku mutu kualitas air DAS (Daerah Aliran Sungai) berdasarkan PP (Peraturan Pemerintah) No.82 Tahun 2001 yaitu sebesar 0,03 ppm.