

IV. METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengembangan Wilayah Pantai (LPWP) "Prof. Dr. Gatot Rahardjo Joenoed", Universitas Diponegoro, Jl. Pantai Kartini Jepara.

Waktu penelitian adalah dari bulan Pebruari sampai Maret 1997.

B. Alat dan Bahan

1. Bahan : a. Biakan murni *Chlorella sp* .

b. Pupuk yang terdiri dari :

- ZA 50 ppm
- TSP 15 ppm
- Urea 5 ppm
- FeCl_3 1,5 ppm
- EDTA 1 ppm

Komposisi di atas untuk volume media
500 ml

c. Natrium karbonat (Na_2CO_3) 0,0454 N

d. Natrium thiosulfat 0,25 N

e. Mangan sulfat (MnSO_4)

f. Indikator Amylum

g. Phenolftalein

h. Sulfamic Acid

i. H_2SO_4 Pekat

- j. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.
 - k. $\text{NaOH} + \text{KI}$
 - l. Deterjen.
 - m. Chlorin 150 ppm.
 - n. Natrium Thiosulfat 45 ppm.
2. Alat :
- a. Bejana yang bervolume 1 liter.
 - b. Pipet.
 - c. Aerator.
 - d. pH meter.
 - e. Timbangan.
 - f. Lux meter.
 - g. Gelas ukur.
 - h. Thermometer.
 - i. Kertas saring
 - j. Refraktometer.
 - k. Haemocytometer.
 - l. Lampu Neon 40 Watt.
 - m. Atomic Absorption Spectrophotometry.

C. Cara Kerja

1. Persiapan.

Pada tahap ini dilakukan sterilisasi alat dan air laut. Alat - alat yang akan digunakan, dicuci dengan deterjen , dibilas kemudian dikeringkan. Setelah itu diberi chlorin 150 ppm dan untuk menetralkannya diberi natrium thiosulfat 45 ppm (Anonim, 1985). Untuk sterilisasi air laut yang akan digunakan

sebagai media, air laut tersebut disaring dengan plankton net No 25 dan setelah itu dididihkan dalam bejana yang terbuat dari kaca (Mudjiman, 1991).

2. Penelitian Utama.

Pada penelitian ini yang dilakukan mula -mula ialah pengaturan salinitas. Untuk memperoleh salinitas yang diinginkan , maka digunakan rumus dari Sverdrup (1961), yaitu:

$$S_2 = \frac{A \times S_1}{(N + A)}$$

Keterangan :

S_2 : salinitas air laut yang diinginkan.

S_1 : salinitas air laut mula - mula.

N : volume air tawar yang digunakan untuk pengenceran.

A : volume air laut semula.

Untuk mendapatkan air medium dengan salinitas yang benar - benar tepat, sesuai dengan yang diinginkan yaitu 20 permilmaka air hasil pencampuran tersebut diukur lagi dengan refraktometer.

Kemudian medium kultur dimasukkan dalam bejana, masing - masing dengan volume 500 ml. Tiap - tiap bejana berisi masing-masing :

1. Konsentrasi Cu dalam air laut (0,017 ppm).
2. Konsentrasi Cu sebanyak 0,1 ppm.
3. Konsentrasi Cu sebanyak 0,2 ppm.
4. Konsentrasi Cu sebanyak 0,3 ppm.
5. Konsentrasi Cu sebanyak 0,4 ppm.

Pada semua perlakuan diberikan sebanyak 30 % *Chlorella sp* dari volume medium. *Chlorella sp* yang diberikan, diambil dari kultur murni yang diperoleh dari BPAP Jepara dengan kepadatan 240.000 sel/ml. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan tiga kali. Kemudian pada tiap-tiap bejana diberi aerasi dan diletakkan pada ruang budidaya, yang dilengkapi dengan lampu TL. Waktu yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 10 hari.

D. Parameter Yang Diamati

Parameter yang diukur dalam penelitian ini yaitu jumlah sel *Chlorella sp*, kandungan logam berat tembaga (Cu) ini dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan. Selain itu juga diukur mengenai kualitas air medium yang merupakan faktor pendukung kehidupan *Chlorella sp* yang meliputi suhu, pH, salinitas, CO₂ dan O₂.

D.1. Penghitungan Jumlah Sel *Chlorella sp*

Penghitungan jumlah sel dilakukan dengan menggunakan Haemocytometer selama penelitian. Pada Haemocytometer diteteskan sampel dari medium kultur sebanyak satu tetes, kemudian diamati dibawah mikroskop. Sampel diteteskan pada bagian tengah Haemocytometer, dimana volume pada bagian tersebut yaitu $0,1 \text{ mm}^3 = 0,0001 \text{ ml}$. Jika jumlah sel yang dihitung ada N buah, maka jumlah sel tiap ml = $10.000 \times N \text{ sel}$ (Mujiman, 1991).

D.2. Pengukuran Suhu

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer air raksa dengan ketelitian $0,5^{\circ}\text{C}$. Cara pengukuran ialah dengan memasukkan ujung bagian bawah termometer ke dalam botol kultur dan memegang tali yang diikatkan pada bagian ujung atas termometer.

D.3. Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Cara pengukurannya yaitu : Alat pH meter tersebut harus dialiri listrik terlebih dahulu, kemudian ujung katoda-anoda yang terbungkus dalam tabung kaca dimasukkan ke dalam medium, setelah itu diputar saklar yang menunjukkan ke arah pH, maka jarum penunjuk akan bergerak pada angka tertentu sesuai pH medium yang diukur.

D.4. Pengukuran Salinitas

Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan refraktometer dengan ketelitian 0,5 permil. Cara penggunaannya adalah sebagai berikut : Setetes air media kultur *Chlorella sp* diteteskan pada bagian prisma alat tersebut, kemudian pada prisma tersebut diarahkan ke cahaya yang terang dengan maksud agar dapat terlihat perbatasan antara bagian gelap dan terang yang menunjukkan besarnya salinitas media kultur.

D.5. Pengukuran CO₂ bebas

Dilakukan pada awal dan akhir penelitian dengan menggunakan metode titrasi Winkler. Pengambilan contoh harus sedemikian rupa sehingga terhindar dari

kontak antara air contoh dengan udara. Analisa harus dilakukan segera, yaitu dalam waktu 2 - 3 jam setelah pengambilan contoh

Diambil 25 ml air sampel dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dengan hati-hati, sedapat mungkin dikurangi pengaruh dari aerasi. Kemudian ditambahkan 3 - 4 tetes indikator phenolftalein, jika berwarna merah muda berarti tidak ada CO₂. Jika tidak berwarna berarti ada CO₂ dan segera dititrasi dengan Natrium karbonat (Na₂CO₃) 0,0454 N sampai warna merah muda yang stabil selama 30 detik. Dicatat titran yang digunakan. Perhitungannya sebagai berikut :

$$\text{CO}_2(\text{mg/l}) = \frac{\text{ml titran} \times \text{N titran} \times 44/2 \times 1000}{\text{volume sampel (25 ml)}}$$

D.6. Pengukuran Oz terlarut

Dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Dipindahkan air sampel ke dalam botol BOD sampai penuh, (jangan sampai terjadi gelembung udara), kemudian ditutup. Setelah itu ditambahkan Sulfamic Acid dengan pipet dibawah permukaan, ditutup dan diaduk dengan membolak-balik botol. Ditambahkan 2 ml Mangan Sulfat (MnSO₄), dan 2 ml NaOH + KI. Penambahan reagen-reagen ini juga dengan memasukkan pipet di bawah permukaan air dalam botol. ditutup dengan hati-hati dan diaduk dengan membolak-balikan botol kurang lebih 20 kali. Dibiarkan beberapa saat hingga endapan coklat terbentuk dengan sempurna. Kemudian ditambahkan 2 ml

H₂SO₄ pekat dengan hati-hati, diaduk dengan cara yang sama hingga endapan larut. Kalau endapan belum larut semua ditambahkan lagi 0,5 ml H₂SO₄ pekat. Setelah itu diambil 100 ml air dari botol BOD tersebut dengan menggunakan pipet Mohr atau gelas ukur, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, usahakan jangan sampai terjadi aerasi. Dititrasi dengan menggunakan Natrium thiosulfat hingga terjadi perubahan warna dari kuning tua ke kuning muda. Ditambahkan 5 - 8 tetes indikator amylum hingga terbentuk warna biru. Dilanjutkan titrasi dengan menggunakan Natrium thiosulfat hingga tepat tidak berwarna (bening).

Perhitungan :

$$\text{mg Oz/l} = \frac{(\text{ml titran})(N. \text{Thiosulfat})(1000)}{(\text{ml sampel})}$$

D.7. Pengukuran Kandungan Logam Berat Tembaga (Cu)

Pada pengukuran kandungan logam berat tembaga (Cu), dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom dengan cara sebagai berikut :

Sampel terlebih dahulu diekstraksi karena karena mengandung unsur pengganggu seperti garam atau diperkirakan kandungan logam terlalu kecil. Cara Ekstraksi : Dimasukkan sampel 250 ml ke dalam botol ekstraksi, tambahkan 2 ml larutan buffer Asetat dan larutan APDC jenuh (1%), kocok sebentar, tambahkan 25 ml Metil Isobutiril Keton (MIBK), kocok kuat-kuat

selama 1 menit. Biarkan larutan terpisah, setelah itu buang larutan air (lapisan bawah). Didalam larutan yang tersisa tambahkan 25 ml larutan Asam Nitrat, kocok kuat-kuat selama 2 menit. Biarkan larutan terpisah, setelah itu tampung larutan bagian bawah ke dalam botol analisa dan siap dianalisa dengan AAS. Prinsip kerja AAS. Kandungan logam yang ada dalam larutan yang masuk ke dalam AAS, dengan bantuan gas Asetilen, udara tekan dan api akan dirubah menjadi atom-atom. Atom-atom yang terjadi menyerap energi lampu katoda dari logam yang akan di analisa (dalam hal ini Cu). Energi yang terserap akan terdeteksi dan langsung dihitung sebagai konsentrasi kandungan logam dalam ppm oleh alat tersebut.

E. Analisa Data

Pada penelitian ini digunakan Rancangan Acak lengkap dengan lima perlakuan dan tiga kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan analisa sidik ragam berdasarkan uji nilai F. Kemudian dilanjutkan dengan uji lanjutan dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).