

IV. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

A.1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengembangan Wilayah Pantai (LPWP), Universitas Diponegoro, Jepara.

A.2. Waktu Penelitian

Februari - April 1997.

B. Bahan dan Alat Penelitian

B.1. Bahan Penelitian

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah air laut yang telah disaring dengan "sand filter" dan kain penyaring. Hewan uji yang digunakan adalah kerang hijau dengan panjang cangkang antara 10 - 15 mm, yang diperoleh dari Pantai Pulau Mandalikan, Jepara. Hewan uji diberi pakan phytoplankton biakan murni berupa *Skeletonema* sp dan *Chlorella* sp. Sedangkan minyak mentah diperoleh dari Unit Pengolahan IV Pertamina, Cilacap. Adapun bahan yang digunakan untuk mengukur oksigen terlarut meliputi asam sulfonat, $MnSO_4$, $NaOH + KI$, H_2SO_4 , amylum, pereaksi oksigen. Kertas pH universal digunakan untuk mengukur pH media.

B.2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk memperoleh data utama meliputi: penggaris mika untuk mengukur panjang cangkang, dan timbangan Sartorius untuk mengukur berat total hewan

uji. Sedangkan alat yang digunakan untuk memperoleh data sekunder, meliputi: thermometer, refrakto-salinometer, labu erlenmeyer, botol DO, dan tabung buret. Selain alat-alat tersebut, dalam penelitian ini juga digunakan alat-alat bantu yang meliputi: pipet, gelas beker, stirer magnet, ember plastik, batu aerasi, selang, regulator, strimin plastik dan mikroskop.

C. Cara Kerja

C.1. Tahap Aklimasi

Tahap ini dilaksanakan selama tujuh hari, dengan pemberian pakan berupa phytoplankton. Pergantian media dilakukan tiap 48 jam, dengan aerasi secara terus menerus. Apabila sampai akhir masa aklimasi kematian tidak mencapai 10 %, maka satu hari sebelum uji dilakukan hewan uji dipuaskan (Komisi Pestisida, 1983).

C.2. Tahap Uji Pendahuluan

Tahap ini dilakukan untuk mendapatkan nilai ambang bawah, yaitu konsentrasi tertinggi dimana hewan uji masih hidup selama waktu pendedahan 48 jam (LC_{50} - 48 jam) dan nilai ambang atas, yaitu konsentrasi terendah dimana hewan uji mati selama waktu pendedahan 24 jam (LC_{100} - 24 jam). Pengujian dilakukan pada konsentrasi yang berbeda dengan deretan angka secara geometris dengan basis 10 (Komisi Pestisida, 1983). Konsentrasi yang diperlakukan di sini adalah 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 ppm, dengan 1 kontrol (media tanpa pemberian minyak), masing-masing diulang 3

kali. Hewan uji yang digunakan adalah 10 ekor tiap ember (kepadatan 2 ekor tiap liter). Jumlah kematian dicatat selama pengamatan. Adapun ciri kerang hijau yang mati, adalah cangkangnya membuka. Uji pendahuluan berakhir, setelah 48 jam.

Adapun cara pembuatan konsentrasi minyak pada perlakuan dilakukan pengenceran bertingkat. Minyak dengan volume tertentu (ml) dicampur dengan air laut yang telah disaring, sehingga didapatkan volume total 1 liter. Selanjutnya minyak dan air laut dicampur dengan menggunakan "stirer magnet" selama 15 menit. Setelah itu, diambil volume tertentu dari campuran tersebut untuk diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diperlukan.

C.3. Tahap Uji Utama

Uji utama yang dilakukan, menggunakan perlakuan konsentrasi minyak mentah yang dapat diperoleh dengan rumus:

$$\log \frac{N}{n} = k \left(\log \frac{a}{n} \right) \quad \text{dimana :}$$

N = nilai konsentrasi ambang atas

n = nilai konsentrasi ambang bawah

a = nilai konsentrasi terkecil yang digunakan dalam tahap ini.

k = jumlah konsentrasi yang diujikan

(Komisi Pestisida, 1983)

Setelah didapat nilai a, konsentrasi selanjutnya dihitung dengan rumus :

$$\frac{a}{n} = \frac{b}{a} = \frac{c}{b} = \frac{d}{c} = \frac{e}{d} = \frac{f}{e} = \frac{g}{f}$$

Ketujuh konsentrasi yang didapat, diperlakukan pada hewan uji pada masing-masing ember. Pada kontrol, media uji tidak diberi minyak mentah. Baik pada kontrol maupun pada perlakuan, masing-masing diulang 3 kali, dengan lama pendedahan 96 jam. Pengamatan mortalitas hewan uji dilakukan tiap pagi, siang dan sore, dan hewan uji yang mati dipisah.

Penentuan nilai LC_{50} - 96 jam menggunakan analisa probit dari Hubert (1979), dimana hubungan logaritma dari konsentrasi bahan uji dengan nilai probit dari persentase mortalitas hewan uji merupakan fungsi linear :

$$Y = a + bX$$

Nilai LC_{50} - 96 jam diperoleh dari nilai antilog "m", dimana "m" merupakan nilai X pada persamaan linear di atas, dengan $Y =$ nilai probit mortalitas 50 % (=5).

C.4. Tahap Uji Pertumbuhan

Pada tahap ini konsentrasi minyak mentah yang dipakai adalah konsentrasi subletal. Konsentrasi subletal diperoleh dari separuh konsentrasi median letal LC_{50} - 96 jam. Konsentrasi minyak yang diperlakukan pada uji pertumbuhan adalah 10% (A), 20% (B), 30% (C), 40% (D), dan 50% (E) dari konsentrasi subletal. Baik pada kontrol (K) maupun perlakuan, masing-masing diulang 3 kali, dengan lama pendedahan 30 hari.

Selama pendedahan, media uji tidak diganti (biostatis). Kelebihan biostatis ini adalah konsentrasi bahan uji dapat dikontrol dengan tepat dan teliti (Hubert, 1979). Parameter

pertumbuhan yang diamati adalah penambahan panjang cangkang dan penambahan berat kerang hijau, setelah perlakuan 30 hari.

D. Parameter Lain yang Diamati

Parameter fisik, kimia yang diamati berupa : suhu, pH, dan salinitas, diamati tiap hari. Adapun oksigen terlarut (DO) diamati satu minggu sekali, dengan metode titrasi modifikasi Winkler.

E. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap, dengan model Analisa Sidik Ragam dengan ketelitian 95%. Sedangkan uji lanjutan yang dipakai adalah Uji Beda Nyata Jujur (Srigandono, 1989).

