

**BAB IV**  
**METODOLOGI PENELITIAN**

**A. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini pada skala laboratorium dan dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik, Jurusan Biologi, Universitas Diponegoro Semarang. Waktu pelaksanaan pada bulan Agustus- Desember 2000.

**B. Alat dan Bahan**

Alat :

Alat	Kegunaan
Stoples plastik volume 3 l.	Tempat kultur
Aerator elektrik	Pengaturan aerasi
Thermometer	Mengukur temperatur
pHmeter	Mengukur pH
DO- meter	Mengukur DO
Lampu TL 40 watt	Sebagai sumber cahaya
Refraktosalinometer	Mengukur salinitas
Luxmeter	Mengukur intensitas cahaya
Haemocytometer	Menghitung populasi <i>Chlorella</i> sp
Mikroskop	Mengamati sel <i>Chlorella</i> sp
Rak	Tempat bejana penelitian

**Bahan :**

- a. Biakan murni *Chlorella* sp.
- b. Cd dalam bentuk senyawa  $\text{CdCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
- c. Air laut sebagai media
- d. Pupuk media (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995)
  - ZA 10 ppm
  - Urea 100 ppm
  - TSP 30 ppm
- e. Zat tambahan terdiri dari :
  - $\text{FeCl}_3$  3 ppm
  - EDTA 2 ppm
- f. Chlorin
- g. Natrium thiosulfat
- h. Senyawa kimia untuk menguji  $\text{CO}_2$

**C. Cara Kerja****C.1. Persiapan****C.1.1. Persiapan biakan *Chlorella* sp.**

Kultur murni *Chlorella* sp. diperoleh dari BPAP Jepara kemudian diaklimatisasi dalam bejana penelitian pada kondisi laboratorium. Tujuan dari aklimatisasi adalah untuk mengkondisikan spesies pada lingkungan laboratorium.

### C.1.2 Sterilisasi alat dan air media

Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), sterilisasi alat dengan menggunakan Chlorin 150 ppm kemudian dinetralkan dengan natrium thiosulfat 60 ppm. Sterilisasi air media dengan cara mendidihkan air media dan kemudian menyaring air tersebut dengan menggunakan kapas.

### C.1.3. Pengaturan faktor Fisik dan Kimia Air media

a. Pengaturan intensitas cahaya dan temperatur digunakan lampu TL 40 watt dengan intensitas cahaya 3100 lux.

b. Pengaturan salinitas dimana salinitas dibuat 26 permil dengan menggunakan rumus seperti yang terdapat pada Isnansetyo dan Kurniastuty (1995)

$$S_n = \frac{S_1 V_1 + S_2 V_2}{V_1 + V_2}$$

$$V_1 + V_2$$

Dimana :  $S_n$  = Salinitas air laut yang diinginkan

$S_1$  = Salinitas air laut yang diencerkan

$S_2$  = Salinitas air untuk pengenceran

$V_1$  = Volume air laut yang diencerkan

$V_2$  = Volume air tawar untuk pengenceran

c. Pengaturan aerasi dengan menggunakan aerator elektrik.

### C.1.4. Pembuatan larutan $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (APHA, 1984)

$\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  mempunyai BM 183,306 dan BA 112,4. Untuk membuat konsentrasi Cd 1 mg/l (1 ppm), berat  $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  yang dibutuhkan adalah sebesar  $183,306 \times 1/112,4 = 1,6$  mg, kemudian ditambah air sampai volume 1 liter.

## C.2. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mencari kisaran konsentrasi Cd yang masih bisa ditolerir oleh *Chlorella* sp. Data yang diperoleh digunakan untuk menentukan kisaran konsentrasi pada penelitian utama.

Kepadatan awal dari sel *Chlorella* sp yang digunakan adalah 100.000 sel/ml dan perlakuan diberikan pada saat fase eksponensial yaitu pada hari ke -5 (Thongra-ar, 1990 dalam Hastutiningsih, 1998).

Perhitungan volume inokulum yang diinginkan dengan rumus seperti yang terdapat pada Mujiman (1984):

$$V_1 = \frac{N_2 \times V_2}{N_1}$$

Dimana :  $V_1$  = Volume inokulum yang diinginkan

$V_2$  = Volume medium kultur

$N_1$  = Kepadatan stok (sel/ml)

$N_2$  = Kepadatan sel yang diinginkan

Pada penelitian pendahuluan ini, perlakuan dibagi menjadi 5 kelompok dimana pembagian tersebut mengacu pada Bowen (1979) yang menyebutkan bahwa alga laut mampu hidup pada kisaran konsentrasi 0,3 – 2,5 ppm Cd.

Perlakuan tersebut adalah :

- |  |               |
|--|---------------|
| A. 0,0702 ppm (Konsentrasi Cd awal air laut = A) | D. 2,0702 ppm |
| B. 1,0702 ppm                                    | E. 2,5702 ppm |
| C. 1,5702 ppm                                    |               |

### C.3. Penelitian Utama

Dari penelitian pendahuluan diketahui bahwa perlakuan konsentrasi Cd yang masih bisa ditolerir oleh *Chlorella* sp. adalah 1,5702 ppm. Pada penelitian utama ini, perlakuan yang diberikan pada kisaran konsentrasi di atas dan di bawah 1,5702 ppm. Perlakuan dibagi menjadi 5 variasi perlakuan dan 1 kontrol. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Perlakuan tersebut adalah:

- A. 0,0702 ppm (Konsentrasi Cd awal air laut =A)
- B. 1,0702 ppm
- C. 1,3202 ppm
- D. 1,5702 ppm
- E. 1,8202 ppm
- F. 2,0702 ppm

#### C.3.1. Penghitungan populasi *Chlorella* sp

Penghitungan populasi *Chlorella* sp dilakukan dengan menggunakan haemocytometer dan diamati dengan menggunakan mikroskop. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), penghitungan sel *Chlorella* sp. dengan cara Sampel ditetaskan pada bagian tengah haemocytometer yang volume pada bagian tengahnya adalah  $0,1 \text{ mm}^3$  atau sama dengan 0,0001 ml. Jadi jika jumlah sel yang terhitung adalah n, maka jumlah sel tiap ml :  $n \times 10.000 \text{ sel/ml}$ .

#### C.3.2. Penghitungan konsentrasi logam Cd pada air media

Penghitungan konsentrasi logam pada saat awal dan akhir penelitian dianalisis pada Laboratorium Balai Teknik Kesehatan Lingkungan (BTKL)

Yogyakarta.

#### D. Parameter Yang Diamati

- ♦ Persentase Penurunan konsentrasi logam berat Cd dengan rumus :

Penurunan Konsentrasi Cd = Konsentrasi Cd awal – Konsentrasi Cd akhir

$$\text{Persentase Penurunan Konsentrasi Cd} = \frac{\text{Penurunan}}{\text{konsentrasiCdawal}} \times 100\%$$

- ♦ Populasi *Chlorella* sp.
- ♦ Parameter fisik dan kimia air media : Temperatur, pH, DO, Salinitas, CO<sub>2</sub>.

#### E. Analisis Data

Disain percobaannya adalah RAL. Data persentase penurunan logam berat Cd dianalisis dengan ANOVA. Untuk melihat adanya beda nyata antar perlakuan dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf kepercayaan 99 %. Untuk mengetahui adanya hubungan dan bentuk hubungan antara populasi *Chlorella* sp. dan persentase penurunan logam berat Cd dilakukan analisis korelasi dan regresi (Steel and Torrie, 1993)

Untuk Mengetahui korelasi dengan rumus :

$$r = \frac{n \sum X_i Y_i - \sum X_i \sum Y_i}{\sqrt{(n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2)(n \sum Y_i^2 - (\sum Y_i)^2)}}$$

Persamaan regresi :

$Y = a + bX$ , dimana  $X$  = populasi *Chlorella* sp

$Y$  = Persentase penurunan logam berat Cd

$a$  = Koefisien regresi

$b$  = Intersep