

**UJI TOKSISITAS AKUT (LC_{50-96 Jam}) LIMBAH CAIR PABRIK KERTAS
TERHADAP KEPADATAN *Chlorella vulgaris* PADA BAK-BAK PERCOBAAN**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :

**WINDA KURNIA APRIANI
NIM. 125080100111056**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**UJI TOKSISITAS AKUT (LC_{50-96 Jam}) LIMBAH CAIR PABRIK KERTAS
TERHADAP KEPADATAN *Chlorella vulgaris* PADA BAK-BAK PERCOBAAN**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

**WINDA KURNIA APRIANI
NIM. 125080100111056**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2016

SKRIPSI

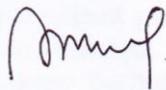
UJI TOKSISITAS AKUT (LC₅₀₋₉₆ Jam) LIMBAH CAIR PABRIK KERTAS
TERHADAP KEPADATAN *Chlorella vulgaris* PADA BAK-BAK PERCOBAAN

Oleh :
WINDA KURNIA APRIANI
NIM. 125080100111056

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 17 Juni 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

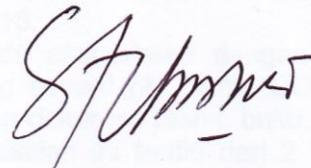
Menyetujui,

Dosen Penguji I



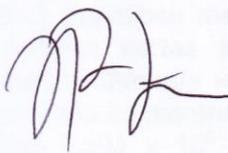
(Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si)
NIP.19730404 200212 2 001
Tanggal : 19 JUL 2016

Dosen Pembimbing I



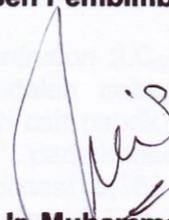
(Dr. Ir. Umi Zakiyah, M.Si)
NIP. 19610303 198602 2 001
Tanggal : 19 JUL 2016

Dosen Penguji II



(Nanik Retno Buwono, S.Pi, MP)
NIP. 19840420 201404 2 002
Tanggal : 19 JUL 2016

Dosen Pembimbing II



(Dr. Ir. Muhammad Musa, MS)
NIP. 19570507 198602 1 002
Tanggal : 19 JUL 2016

Ketua Jurusan



(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001

19 JUL 2016

RINGKASAN

WINDA KURNIA APRIANI. Skripsi tentang Uji Toksisitas Akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) Limbah Cair Pabrik Kertas Terhadap Kepadatan *Chlorella vulgaris* Pada Bak-Bak Percobaan (Dibawah bimbingan **Dr. Ir Umi Zakiyah, M.Si** , **Dr. Ir. Muhammad Musa, MS**)

Pabrik kertas dalam proses produksinya menggunakan berbagai macam bahan-bahan kimia yang dapat menyebabkan limbah cair sebagai sisa hasil produksinya mengandung berbagai macam bahan kimia serta logam berat seperti Pb dan Cd yang apabila dibuang secara langsung ke dalam perairan tanpa adanya pengolahan yang baik maka akan dapat menimbulkan pencemaran yang merugikan dan berbahaya bagi organisme yang ada di dalam perairan. Dengan adanya kandungan logam berat seperti Pb dan Cd dalam limbah cair pabrik kertas, maka perlu dilakukan suatu penelitian untuk menguji tingkat toksisitas limbah cair pabrik kertas terhadap organisme, khususnya organisme air.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai *Lethal Concentration* ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair pabrik kertas terhadap *Chlorella vulgaris*, kepadatan *Chlorella vulgaris* setelah terpapar limbah cair pabrik kertas, serta nilai faktor-faktor pendukung yang mempengaruhi pertumbuhan *Chlorella vulgaris* seperti pH, suhu, DO, dan intensitas cahaya. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Maret 2016.

Metode yang digunakan pada adalah metode eksperimen dengan data primer meliputi pengukuran parameter pendukung seperti pH, suhu, DO, dan intensitas cahaya. Data sekunder meliputi dokumen-dokumen resmi, buku, serta jurnal yang berhubungan dengan penelitian. Penelitian ini terdiri dari 2 tahap yaitu uji pendahuluan dan uji sesungguhnya. Pada uji pendahuluan terdapat 5 perlakuan 2 kali ulangan dengan konsentrasi dosis yang berbeda masing-masing 0%, 0,09%, 0,9%, 9%, dan 90%. Sedangkan pada uji sesungguhnya terdapat 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan dengan konsentrasi dosis yang berbeda masing-masing 0%, 1,215%, 2,16%, 3,78%, 6,75%. Analisis data yang digunakan adalah analisis probit dan uji anova.

Hasil penelitian menunjukkan nilai *Lethal Concentration* ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair industri kertas terhadap *Chlorella vulgaris* adalah sebesar 9,57 ml/l. Kepadatan *Chlorella vulgaris* setelah terpapar limbah cair pabrik kertas selama 96 jam pada konsentrasi 0% (kontrol) sebesar 9×10^6 , pada konsentrasi 1,215% sebesar $0,591 \times 10^6$, pada konsentrasi 2,16% sebesar $0,362 \times 10^6$, pada konsentrasi 3,78% sebesar $0,191 \times 10^6$, pada konsentrasi 6,75% sebesar $0,075 \times 10^6$. Nilai kisaran faktor-faktor pendukung yang mempengaruhi pertumbuhan *Chlorella vulgaris* masing-masing sebesar: suhu 29-30, pH 7-8, DO 4,9-5,8, intensitas cahaya 5600-5900 lux.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nilai *Lethal Concentration* ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair pabrik kertas terhadap *Chlorella vulgaris* adalah sebesar 9,57 ml/l. Semakin besar konsentrasi limbah yang diberikan maka mortalitas semakin besar. Penelitian mengenai uji toksisitas akut limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* pada bak-bak percobaan diharapkan dapat dijadikan acuan bagi pengelola limbah cair pabrik kertas agar dilakukan pengolahan yang baik agar limbah cair pabrik kertas yang dibuang ke badan perairan sudah memenuhi standar baku mutu limbah cair pabrik kertas yang sudah ditetapkan serta tidak melebihi nilai $LC_{50-96 \text{ Jam}}$ dari limbah cair pabrik kertas tersebut.

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam laporan skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan yang telah disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa laporan skripsi ini merupakan hasil penjiplakan atau plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku.



Malang, 25 April 2016

Penulis

Winda Kurnia Apriani

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, taufik, hidayah serta karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul **“UJI TOKSISITAS AKUT (LC₅₀₋₉₆ Jam) LIMBAH CAIR PABRIK KERTAS TERHADAP KEPADATAN *Chlorella vulgaris* PADA BAK-BAK PERCOBAAN”**.

Dalam laporan skripsi ini, penulis memiliki tujuan untuk memberikan informasi kepada pembaca tentang pengaruh limbah cair pabrik kertas terhadap lingkungan perairan melalui suatu uji toksisitas akut dengan *Chlorella vulgaris* sebagai biota uji. Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis dengan senang hati menerima kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca demi sempurnanya laporan ini.

Akhir kata, saya selaku penulis memohon maaf kepada semua pihak apabila dalam penyusunan laporan ini terdapat kesalahan. Semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi setiap orang yang membacanya.

Malang, 25 April 2016

Penulis

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berperan serta dalam membantu kelancaran hingga penulisan laporan skripsi ini dapat terselesaikan.

Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada :

1. Orang tua tercinta, Bapak Supriyanto dan Ibu Siti Jayani atas kasih sayang dan do'a yang tak terbatas, dukungan moral dan materil demi tercapainya hasil studi yang terbaik bagi penulis.
2. Dr. Ir. Umi Zakiyah, M.Si dan Dr. Ir. Muhammad Musa, MS selaku Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II atas kesabaran, motivasi serta ilmu dan saran-saran selama membimbing penulis.
3. Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS selaku dekan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Perikanan
4. Ibu Dr. Ir. Arning Wilujeng E., MS. selaku Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan
5. Bapak Ir. Mulyanto selaku Ketua Prodi Manajemen Sumberdaya Perairan
6. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen pengajar di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
7. Rekan satu penelitian Yulia Susanti, Lailatus Silviah, dan Siti Sholeha atas kerjasama yang luar biasa selama penelitian
8. Seluruh saudaraku ARMY'12 atas doa, dukungan moral dan motivasi yang diberikan.

Malang, 25 April 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
KATA PENGANTAR	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Kegunaan.....	7
1.5 Tempat dan Waktu	8
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Limbah	9
2.2 Limbah Cair Pabrik Kertas	
2.2.1 Sumber Limbah Cair Pabrik Kertas.....	9
2.2.2 Karakteristik Limbah Cair Pabrik Kertas.....	10
2.3 Dampak Limbah Cair Pabrik Kertas.....	12
2.4 Toksisitas	13
2.5 Uji Toksisitas	15
2.6 Lethal Concentration (LC _{50-96 Jam}).....	17
2.7 <i>Chlorella vulgaris</i>	
2.7.1 Klasifikasi	18
2.7.2 Morfologi	19
2.7.3 Pertumbuhan	20
2.8 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	
2.8.1 Suhu	23
2.8.2 pH	24
2.8.3 DO	24
2.8.4 Intensitas Cahaya	25
2.8.5 Nutrien	25



2.9 Mekanisme Logam Berat Masuk ke dalam Sel Mikroorganisme.....	26
3. MATERI DAN METODE	
3.1 Materi Penelitian	28
3.2 Alat dan Bahan	
3.2.1 Alat	28
3.2.2 Bahan	29
3.3 Metode Penelitian.....	29
3.3.1 Data Primer.....	29
3.3.2 Data Sekunder	30
3.4 Lokasi Pengambilan Sampel	30
3.5 Rancangan Penelitian	31
3.6 Tahapan Penelitian	32
3.6.1 Preparasi Penelitian	33
3.6.2 Uji Pendahuluan.....	39
3.6.3 Uji Sesungguhnya	40
3.7 Analisis Data	
3.7.1 Analisis Probit	41
3.7.2 Analisis Statistik	42
3.8 Teknik Pengukuran Sampel	
3.8.1 DO	43
3.8.2 Suhu	44
3.8.3 pH	44
3.8.4 Intensitas Cahaya	45
3.8.4 Perhitungan Kepadatan <i>Chlorella vulgaris</i>	46
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Kandungan Limbah Cair Pabeik Kertas.....	48
4.2 Uji Pendahuluan	49
4.3 Uji Sesungguhnya	50
4.4 Analisis Probit	53
4.5 Analisis Statistik	54
4.6 Parameter Pendukung	55
4.6.1 Suhu	56
4.6.2 pH	57
4.6.3 DO.....	59
4.6.4 Intensitas Cahaya.....	60
4.6.5 BOD (<i>Biological Oxygen Demand</i>)	61
4.6.6 COD (<i>Chemical Oxygen Demand</i>).....	62
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	63
5.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA.....	65
LAMPIRAN	73

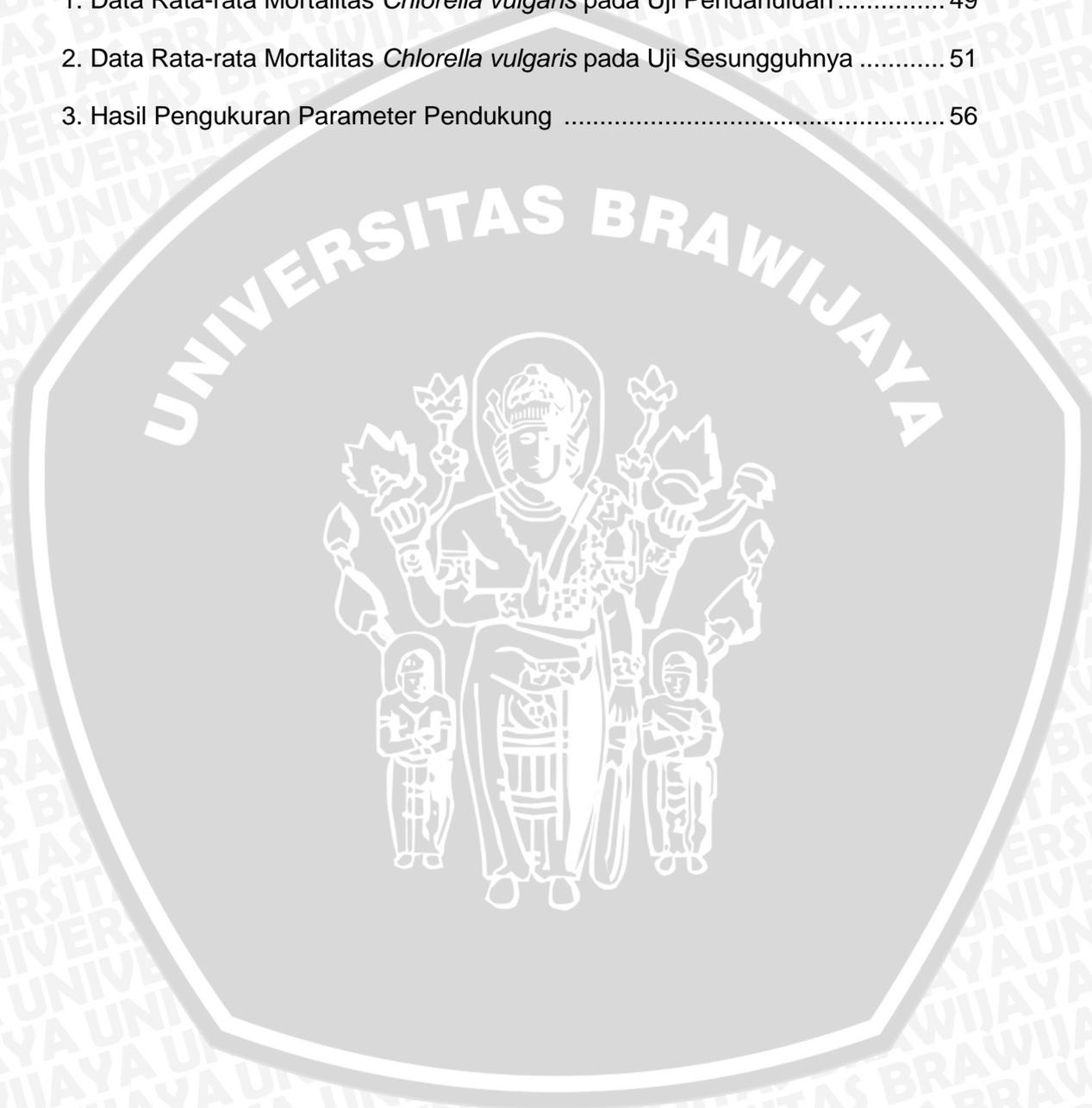
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan Diagram Alir	5
2. <i>Chlorella vulgaris</i>	18
3. Struktur Sel <i>Chlorella vulgaris</i>	20
4. Tahapan Pembentukan Spora <i>Chlorella vulgaris</i>	22
5. Pola Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	23
6. Denah Penelitian	32
7. Contoh Grafik Probit	42
8. Grafik Hasil Analisis Probit	53
9. Grafik Hasil Analisis Anova	54
10. Grafik Suhu.....	57
11. Grafik pH.	58
12. Grafik Oksigen Terlarut.....	59



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Rata-rata Mortalitas <i>Chlorella vulgaris</i> pada Uji Pendahuluan	49
2. Data Rata-rata Mortalitas <i>Chlorella vulgaris</i> pada Uji Sesungguhnya	51
3. Hasil Pengukuran Parameter Pendukung	56



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Fungsi.....	73
2. Bahan dan Fungsi.....	74
3. Tabel Skala Logaritmik	75
4. Analisa Probit	76
5. Tabel Transformasi Probit.....	78
6. Hasil Uji Anova	80
7. Data Hasil Perhitungan Kepadatan <i>Chlorella vulgaris</i>	82
8. Data Pengukuran Suhu.....	84
9. Data Pengukuran pH	85
10. Data Pengukuran DO	86
11. Hasil Uji Limbah Cair Pabrik Kertas	87
12. Baku Mutu Limbah Cair Pabrik Kertas	88
13. Data Hasil Kultur	90
14. Dokumentasi	94

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sumber daya perairan seperti sungai, danau, waduk dan rawa memiliki beragam potensi dan manfaat baik secara ekologis maupun ekonomis. Secara ekologis, ekosistem perairan mempunyai fungsi sebagai tempat hidup beranekaragam hayati serta sebagai pengatur keseimbangan alam. Secara ekonomis, sumber daya perairan dapat berfungsi untuk kebutuhan irigasi, industri, pertanian, transportasi, rumah tangga, perikanan dan pariwisata. Saat ini fungsi-fungsi dari sumber daya perairan tersebut mulai terganggu dan mengalami perubahan karena adanya masalah-masalah perairan salah satunya adalah pencemaran (Sukimin, 2007). Menurut Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 32 tahun 2009, pencemaran adalah masuk atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi atau komponen lain kedalam lingkungan atau perairan akibat kegiatan manusia yang dapat melampaui daya tampung lingkungan serta baku mutu lingkungan yang telah ditetapkan.

Menurut Rohmad (2013), salah satu kegiatan yang berpotensi menimbulkan pencemaran adalah kegiatan industri. Kegiatan industri merupakan salah satu kegiatan yang dapat memberikan dampak positif serta dampak negatif. Dampak positifnya yaitu dalam hal meningkatkan perekonomian melalui meningkatnya penyerapan tenaga kerja, perkembangan teknologi dan meningkatnya devisa negara. Sedangkan dampak negatifnya yaitu dampak yang merugikan bagi lingkungan sekitarnya akibat limbah yang dihasilkan dari sisa proses produksi yang apabila tidak dikelola dengan baik dan benar maka akan mengganggu keseimbangan lingkungan (Syarifudin, 2011).

Menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 101 Tahun 2014, limbah adalah sisa suatu usaha atau kegiatan, limbah juga dapat diartikan sebagai suatu zat atau bahan berbahaya dan beracun yang berdasarkan sifat, konsentrasi, serta jumlahnya, baik secara langsung maupun tidak langsung dapat mencemari atau merusak lingkungan, membahayakan kesehatan serta kelangsungan hidup manusia dan makhluk hidup lainnya. Salah satu kegiatan industri yang menghasilkan limbah dari sisa proses produksinya adalah pabrik kertas (Rohmad, 2013).

Pabrik kertas merupakan salah satu bagian dari industri yang banyak menggunakan air dalam proses produksinya yang digunakan untuk membilas zat kimia dan senyawa yang tidak diinginkan dari *pulp* (Haryoto dan Ahmad, 2007). Dalam setiap proses produksinya, pabrik kertas memerlukan pasokan air sebanyak 35 - 220 m³. Kandungan logam berat yang ada dalam limbah cair pabrik kertas meliputi Pb, Hg, dan Cd, namun yang lebih dominan adalah Pb dan Hg yang dihasilkan dari proses *deinking* (Gottsching dan Pakarinen, 2000). Proses *deinking* merupakan proses penghilangan tinta dan bahan-bahan *non* serat dari kertas bekas dengan cara melarutkan tinta secara kimia dan memisahkan tinta dari *pulp* secara mekanis (Hayati, 2011). Selain itu, dalam proses pengolahannya, pabrik kertas juga menggunakan berbagai macam zat kimia diantaranya kalsium karbonat CaCO₃, titan dioksida (TiO₂), kaolin (Al₂O₃SiO₃2H₂O). Menurut Cahyono (2007), kandungan bahan kimia yang terkandung dalam limbah cair pabrik kertas tersebut apabila tidak diolah dengan baik maka akan dapat mencemari lingkungan disekitar kawasan pabrik. Pencemaran limbah cair pabrik kertas pada badan perairan dapat menyebabkan peningkatan TSS (*Total Susspended Solid*) dan logam berat (Silva *et al.*, 2002). Peningkatan kadar TSS (*Total Susspended Solid*) menyebabkan tingkat kekeruhan pada perairan semakin tinggi. Kekeruhan yang tinggi menyebabkan

organisme autotrof yang berada dalam perairan dapat mengalami kematian karena berkurangnya penetrasi cahaya matahari kedalam perairan (Savin dan Butnaru, 2008). Limbah cair pabrik kertas dapat tersebar ke seluruh ekosistem di sekitarnya. Dalam percobaan laboratorium yang pernah dilakukan sebelumnya, limbah cair yang dihasilkan oleh pabrik kertas menyebabkan penyimpangan reproduktif pada zooplankton dan invertebrata yang merupakan makanan dari ikan serta kerusakan genetik dan reaksi sistem kekebalan tubuh pada ikan (Easton *et al.*, 1997).

Menurut Asosiasi Pulp dan Kertas Indonesia (2007), Indonesia tercatat memiliki 71 pabrik kertas yang tersebar di seluruh Indonesia. Salah satunya berada di Jawa Timur yaitu PT. Adiprima Suraprinta. PT. Adiprima Suraprinta merupakan salah satu pabrik kertas yang bergerak dalam bidang pendaurulangan kertas (Qonitah dan Sutijo, 2012). Menurut Handayani (2008), jenis kertas yang dihasilkan PT. Adiprima Suraprinta yaitu *newsprint paper*, *telephone directory paper*, dan *ground wood paper*. PT. Adiprima Suraprinta terletak di Desa Sumengko, Kecamatan Wringinanom, Gresik, Jawa Timur (Apriliansari, 2012). Dalam proses pembuatan maupun pendaurulangan kertas tersebut, PT. Adiprima Suraprinta menghasilkan limbah berupa limbah cair, padat, dan gas sebagai hasil samping dari proses produksinya (Cahyono, 2007).

Adanya kandungan limbah cair pabrik kertas yang dapat menimbulkan dampak yang membahayakan bagi lingkungan perairan, maka dilakukan suatu penelitian untuk menguji tingkat toksisitas limbah cair pabrik kertas terhadap organisme, khususnya organisme air. Hal ini sesuai dengan Peraturan Pemerintah No. 85 tahun 1999 tentang limbah yang mengharuskan dilakukan pengujian berbagai limbah secara *Toxicity Concentration Leaching Procedure* (TCLP) dan *bioassay* untuk menentukan limbah tergolong kedalam Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) atau bukan.

Menurut Tahir (2012), toksisitas adalah potensi nilai konsentrasi dari sifat relatif bahan kimia dalam menimbulkan dampak yang membahayakan bagi organisme dalam kurun waktu tertentu. Uji toksisitas merupakan salah satu metode penilaian kualitas lingkungan baik pada organisme perairan maupun organisme terrestrial yang bertujuan untuk menilai efek akut, sub kronis dan kronis serta mencari dosis aman bagi manusia atau mencari kriteria untuk standarisasi kualitas lingkungan (Rahmawati, 2008). Uji toksisitas akut dengan menggunakan hewan uji merupakan salah satu bentuk penelitian toksikologi perairan yang berfungsi untuk mengetahui apakah *effluent* atau badan perairan penerima mengandung senyawa toksik dalam konsentrasi yang menyebabkan toksisitas akut. Sehingga uji ini juga dapat digunakan dalam menilai kinerja suatu unit pengolahan. Parameter yang diukur berupa perhitungan kepadatan sel dalam waktu satu sampai empat hari atau 96 Jam (Esmiralda, 2010).

Mikroalga merupakan salah satu organisme yang sesuai untuk mendeterminasi dampak beracun dalam suatu badan perairan karena sifatnya yang sensitif terhadap berbagai jenis bahan pencemar. Menurut Fukuyo (2000), jenis-jenis mikroalga yang dapat menjadi indikator pencemaran dalam perairan adalah *Phormodium*, *Pyrobotrys*, *Oscillatoria*, *Chlorella*, *Anacystis*, *Nitzschia*, *Tetraedron*, *Phacus*, *Stigeoclonium*, *Agemenellum*, *Lepocinclis*, *Chlorococcum*, *Ghomponema*, *Chlamydomonas*, *Lyngbya*, *Carteria*, *Anabaena*, *Euglena*, *Spyrogyra*, *Chlorogonium*, dan *Arthrospira*. Adanya kandungan logam berat seperti Pb dan Cd dalam limbah cair pabrik kertas dapat menghambat pertumbuhan dan kepadatan sel karena adanya pemanfaatan ion logam berat oleh organisme (Ting *et al.*, 1990).

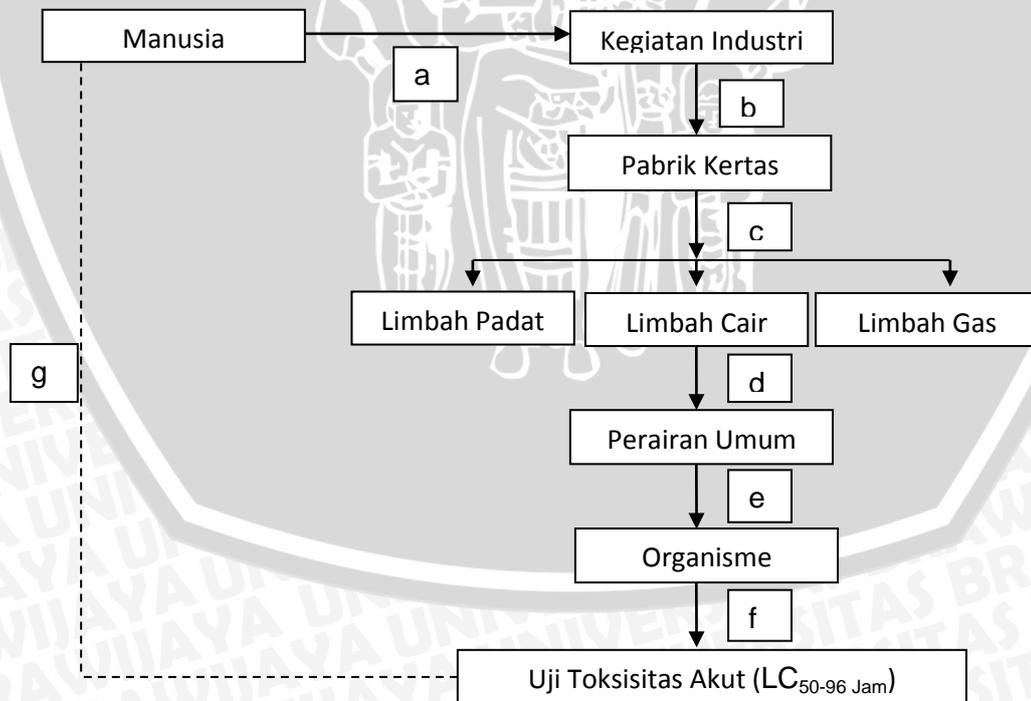
Chlorella vulgaris hidup di air tawar, laut serta tempat basah lainnya. Keberadaan *Chlorella vulgaris* sangat penting dalam suatu perairan karena dapat melakukan fotosintesis dan menghasilkan oksigen bagi organisme. Selain itu,

Chlorella vulgaris merupakan sumber pakan alami dalam ekosistem perairan (Lestari *et al.*, 2014).

Pabrik kertas dalam proses produksinya menggunakan berbagai macam bahan-bahan kimia yang dapat menyebabkan limbah cair sebagai sisa hasil produksinya mengandung berbagai macam bahan kimia serta logam berat yang apabila dibuang secara langsung ke dalam perairan tanpa adanya pengolahan yang baik maka akan dapat menimbulkan pencemaran yang merugikan dan berbahaya bagi organisme yang ada di dalam perairan. Penelitian tentang uji toksisitas ini diharapkan dapat digunakan untuk mengetahui seberapa besar tingkat toksisitas limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris*.

1.2 Rumusan Masalah

Melihat penjelasan yang telah diuraikan pada latar belakang diatas, maka dapat diambil suatu rumusan masalah yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagan Diagram Alir

Keterangan:

- a. Meningkatnya aktivitas manusia untuk memenuhi kesejahteraan ekonomi, khususnya dalam bidang industri menimbulkan masalah pencemaran
- b. Salah satu kegiatan industri yang berpotensi menimbulkan pencemaran yaitu pabrik kertas
- c. Pabrik kertas dalam proses produksinya menghasilkan hasil samping berupa limbah padat, cair dan gas
- d. Limbah cair yang dihasilkan pada akhirnya dibuang ke badan perairan
- e. Limbah cair yang dibuang ke perairan berpotensi menimbulkan pencemaran dan penurunan kualitas perairan
- f. Pencemaran dan penurunan kualitas perairan akan berdampak pada kelangsungan hidup organisme yang ada didalamnya, baik terganggunya pertumbuhan maupun kematian dari organisme tersebut
- g. Pertumbuhan yang terhambat dapat dilihat dari jumlah kepadatan organisme uji yang dapat menyebabkan menurunnya tingkat produktivitas perairan
- h. Maka perlu dilakukan uji toksisitas akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) untuk mengetahui pengaruh limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris*.

Sehingga, dapat ditarik beberapa poin rumusan masalah yaitu sebagai berikut:

1. Berapa nilai *Lethal Concentration* ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair pabrik kertas terhadap *Chlorella vulgaris* ?
2. Berapa kepadatan *Chlorella vulgaris* setelah terpapar limbah cair pabrik kertas ?
3. Berapa nilai faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *Chlorella vulgaris* seperti pH, suhu, DO, dan intensitas cahaya ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian Uji Toksisitas Akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* adalah sebagai berikut

1. Mengetahui nilai *Lethal Concentration* ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair pabrik kertas terhadap *Chlorella vulgaris*
2. Mengetahui kepadatan *Chlorella vulgaris* setelah terpapar limbah cair pabrik kertas
3. Mengetahui nilai faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *Chlorella vulgaris* seperti pH, suhu, DO, dan intensitas cahaya

1.4 Kegunaan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat atau pembaca maupun pihak-pihak terkait akan dampak dan bahaya yang dapat ditimbulkan limbah cair Industri kertas terhadap lingkungan. Adapun manfaat secara khusus yaitu sebagai berikut

1. Mahasiswa

Dapat menambah wawasan, pengetahuan serta informasi mengenai pengaruh limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris*

2. Program Studi Manajemen Sumber Daya Perairan

Dapat digunakan sebagai media informasi dalam bidang keilmuan yang berguna untuk penelitian yang lebih lanjut mengenai pengaruh limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* melalui uji toksisitas akut ($LC_{50-96 \text{ JAM}}$). Selain itu juga dapat digunakan sebagai kepustakaan yang bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan peningkatan pembekalan di bangku perkuliahan.

3. Lembaga Perguruan Tinggi

Dapat digunakan sebagai media informasi bahan kepustakaan dan wawasan dasar untuk penelitian yang lebih lanjut.

4. Industri kertas

Dapat digunakan sebagai informasi akan dampak dan bahaya limbah cair pabrik kertas terhadap lingkungan perairan sehingga dapat meningkatkan kualitas dari pengolahan limbah cair pabrik kertas.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian tentang Uji Toksisitas Akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* dilakukan di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada Bulan Maret 2016 .



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah

Secara umum, limbah dapat diartikan sebagai sisa dari suatu kegiatan atau proses produksi yang mengandung bahan berbahaya dan beracun (B3) karena sifat (*toxicity*, *flammability*, *reactivity*, dan *corrosivity*) serta konsentrasi atau jumlahnya baik secara langsung maupun tidak langsung dapat mencemari lingkungan, serta membahayakan kesehatan manusia (BAPEDAL, 1995). Limbah juga dapat diartikan sebagai suatu bahan sisa atau bahan buangan yang dihasilkan dari suatu proses produksi baik industri maupun domestik (rumah tangga) yang kehadirannya pada suatu saat dan tempat tertentu tidak dikehendaki karena tidak memiliki nilai ekonomis (Kristanto, 2013). Limbah industri adalah semua jenis bahan sisa atau bahan buangan yang berasal dari suatu proses perindustrian (Palar, 2004). Menurut Setiawan (2011), berdasarkan dari wujud limbah yang dihasilkan, limbah dibagi menjadi tiga yaitu limbah padat, limbah cair dan gas.

Limbah cair adalah air buangan atau sisa dari aktivitas atau kegiatan masyarakat, rumah tangga, industri, air tanah, air permukaan serta buangan lainnya. Limbah cair mempunyai efek negatif bagi lingkungan karena mengandung zat-zat beracun yang dapat mengganggu keseimbangan lingkungan dan kehidupan makhluk hidup di dalamnya (Sutapa, 1999).

2.2 Limbah Cair Pabrik Kertas

2.2.1 Sumber Limbah Cair Pabrik Kertas

Pabrik kertas merupakan salah satu bagian dari industri terbesar di dunia dengan menghasilkan 178 juta ton *pulp*, 278 juta ton kertas dan karton, serta

menghabiskan 670 juta ton kayu per tahun (Audina, 2015). Proses pembuatan kertas berasal dari *pulp* dengan proses kimia menggunakan sodium sulfat yang dikenal sebagai proses *Kraft* (*Kraft Process*) (Isyuniarto *et al.*, 2007). Bahan baku untuk produksi kertas terdiri dari serat selulosa dari kayu, kertas bekas, bagase, jerami padi, jerami goni, jerami rami atau jerami gandum. Sedangkan bahan baku non selulose untuk produksi kertas terdiri dari soda kostik, natrium sulfat, kapur, klorin, tanah liat, resin, alum, zat pewarna dan getah. Selain itu, sebagai bahan penunjang dalam proses produksinya, pabrik kertas juga menggunakan senyawa kimia sebagai pelarut ataupun pemutih seperti H_2SO_3 yang digunakan dalam proses pembentukan bubur kertas dari kayu lapis (Vesilind dan Peirce 1993).

Proses pembuatan maupun pendaurulangan kertas menghasilkan limbah berupa limbah cair, limbah padat, dan limbah gas sebagai hasil samping dari proses produksinya (Cahyono, 2007). Bahan pencemar yang terdapat dalam limbah cair kertas merupakan sisa bahan kimia yang dipakai pada proses *pulping*. *Pulp* yang dihasilkan oleh proses ini hanya 40% dari total berat masa kayu, sedangkan sekitar 60 % dikeluarkan sebagai limbah bahan organik terlarut atau air limbah (Fiedler *et al.*, 1990).

2.2.2 Karakteristik Limbah Cair Pabrik Kertas

Industri kertas merupakan industri yang menggunakan air dalam jumlah yang sangat besar untuk membilas zat kimia dan senyawa yang tidak diinginkan dari *pulp* (Haryoto dan Ahmad, 2007). Dalam setiap proses produksinya, pabrik kertas memerlukan pasokan air sebanyak 35 – 220 m³. Untuk satu ton *pulp* dengan muatan bahan pencemar sebesar 30 m³ (Joyce, 1983). Hal tersebut menyebabkan tingginya buangan kadar BOD, COD dan TSS pada limbah cair pabrik kertas (Santi, 2004).

Menurut Potter *et al.*, (1994), komponen utama dari limbah cair pabrik kertas adalah air dari proses pencucian *pulp* setelah pemanasan dan pemisahan serat secara mekanis serta air dari proses pengelantangan konvensional dengan klorin dan penghilangan lignin pada pembuatan *pulp* secara kimiawi. Menurut Sunoko (2005), limbah cair pabrik kertas mengandung logam berat seperti Zn (seng), Cd (kadmium), Cr (kromium), Cu (tembaga), Pb (timah hitam) dan Hg (air raksa). Logam berat Pb dan Cd lebih dominan yang dihasilkan dari proses *deinking* (Gottsching dan Pakarinen, 2000). Proses *deinking* merupakan proses penghilangan tinta dan bahan-bahan *non* serat dari kertas bekas dengan cara melarutkan tinta secara kimia dan memisahkan tinta dari *pulp* secara mekanis (Hayati, 2011).

Sebagian besar pabrik kertas menggunakan pemutih yang mengandung klorin. Klorin akan bereaksi dengan senyawa organik dalam kayu membentuk senyawa toksik seperti dioksin. Dioksin ditemukan dalam proses pembuatan kertas, air limbah, bahkan di dalam produk kertas yang dihasilkan. Dioksin adalah senyawa organik yang sukar terdegradasi dan konsentrasinya akan berlipat ganda jika masuk ke dalam rantai makanan karena adanya proses biomagnifikasi (Johnston *et al.*, 1996). Selain itu, pabrik kertas juga menggunakan berbagai macam zat kimia seperti kalsium karbonat (CaCO_3), titan dioksida (TiO_2), kaolin ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{SiO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) serta bahan kimia lainnya untuk proses produksinya. Pada proses pembuatan *pulp* secara kimia dengan menggunakan soda untuk proses pemutihan akan mengeluarkan buangan tersuspensi sebesar 25-55 lb/ton (pound/ton) produksi dan bahan padat terlarut dengan kadar BOD sebesar 45-80 lb/ton produksi, sedangkan tanpa proses pemutihan akan mengeluarkan buangan bahan padat tersuspensi sebesar 20-30 lb/ton (pound/ton) produksi dan bahan organik dengan BOD sebesar 25-50 lb/ton (pound/ton) produksi (Billings dan Haas, 1971).

Buangan limbah cair pabrik kertas pada umumnya berwarna putih susu kecoklatan dengan busa yang memenuhi permukaan air limbah. Hal ini disebabkan karena limbah cair pabrik kertas mengandung selulosa (bahan dasar *pulp*), bila tertimbun di dasar sungai atau lahan terbuka akan menimbulkan bau busuk. Bau telur busuk pada kebanyakan pabrik kertas disebabkan karena adanya senyawa sulfur pada limbah cair pabrik kertas (Isyuniarto *et al.*, 2007).

2.3 Dampak Limbah Cair Pabrik Kertas

Akibat yang ditimbulkan oleh limbah dapat bersifat langsung dan tidak langsung. Bersifat langsung misalnya, penurunan atau peningkatan suhu dan pH akan menyebabkan terganggunya hewan binatang atau sifat fisika atau kimia daerah pembuangan, sedangkan akibat tidak langsung adalah defisiensi oksigen. Dalam proses perombakan limbah diperlukan oksigen yang ada disekitarnya, akibatnya daerah pembuangan limbah kekurangan oksigen (Kasmidjo, 1991). Menurut Arisandi (2004), limbah pabrik kertas memiliki nilai BOD/ COD yang sangat tinggi sehingga apabila dibuang ke perairan akan mengakibatkan degradasi kualitas air yang ditandai dengan matinya ikan dan biota air lainnya. Sedangkan Isyuniarto *et al.*, (2007), pada umumnya pencemaran lingkungan yang dapat ditimbulkan oleh industri kertas antara lain:

1. Membunuh ikan, kerang, mikroorganisme, serta organisme akuatik lainnya.
2. Memasukkan zat kimia karsinogen dan zat pengganggu aktivitas hormon ke dalam lingkungan.
3. Menghabiskan jutaan liter air tawar.
4. Menimbulkan risiko terpaparnya masyarakat oleh buangan zat kimia berbahaya dari limbah industri yang mencemari lingkungan.

Banyaknya zat pencemar pada air limbah dapat menyebabkan menurunnya kadar oksigen yang terlarut di dalam air limbah. Dengan demikian akan

menyebabkan kehidupan didalam air yang membutuhkan oksigen akan terganggu. Selain itu, kehidupan di dalam air juga dapat terganggu dengan adanya pengaruh fisik seperti a tempertur tinggi yang di keluarkan oleh industri yang memerlukan proses pendinginan. Panasnya air limbah dapat mematikan semua organisme apabila tidak dilakukan pendinginan terlebih dahulu sebelum dibuang ke dalam saluran air limbah (Santi, 2004).

2.4 Toksisitas

Toksisitas adalah sifat relatif toksikan yang berpotensi mengakibatkan efek negatif bagi makhluk hidup. Sifat relatif ini merupakan fungsi dari konsentrasi dan durasi pemaparan toksikan. Sebagai sifat relatif maka data toksisitas dipakai sebagai perbandingan toksikan. Identifikasi toksikan dilakukan melalui uji toksisitas (Samudro dan Mangkoedihardjo, 2009). Toksikan merupakan zat (berdiri sendiri atau dalam campuran zat, limbah, dan sebagainya) yang dapat menghasilkan efek negatif bagi semua atau sebagian dari tingkat organisasi biologis (populasi, individu, organ, jaringan, sel, biomolekul) dengan merubah struktur fungsional baik secara akut, kronis maupun sub kronis. Efek tersebut dapat bersifat reversible sehingga dapat pulih kembali dan dapat pula bersifat irreversible yaitu tidak dapat pulih (Halang, 2004).

Tingkat toksisitas dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yang berkaitan dengan toksikan itu sendiri, lingkungan maupun biota lainnya. Menurut Samudro dan Mangkoedihardjo (2009), tingkat toksisitas dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah sebagai berikut

1. Berkaitan dengan toksikan itu sendiri

Toksisitas toksikan dapat dipengaruhi oleh komposisi toksikan. Ada kemungkinan komponen toksikan mempunyai perbedaan toksisitas. Faktor lain adalah sifat fisika dan kimia toksikan.

2. Berkaitan dengan pemaparan toksitas

Toksikan akan menghasilkan efek negatif jika mengalami kontak langsung dan bereaksi dengan target biota pada konsentrasi tertentu dan waktu tertentu. Faktor-faktor yang berkaitan dalam pemaparan toksikan adalah sebagai berikut:

1. Jenis toksikan

Toksikan hidrofilik (suka air) akan terlarut dalam air dan lebih cepat mengadakan kontak reaksi dibanding toksikan hidrofobik bagi biota pelagik.

2. Durasi pemaparan

Pemaparan jangka pendek (skala waktu jam dan hari) secara umum sangat pendek dibandingkan umur reproduksi biota dari toksikan (misalnya hidrofilik) dapat memberikan efek akut. Pemaparan jangka panjang (skala waktu hari, minggu, bulan dan tahun) secara umum meliputi umur generasi biota (misalnya hidrofobik) agar memberi kesempatan toksikan mengadakan kontak reaksi dan memberikan efek kronis.

3. Frekuensi pemaparan

Frekuensi pemaparan bisa sekali, berulang atau kontinu.

4. Konsentrasi toksikan

Pada umumnya berkaitan dengan frekuensi pemaparan. Pemaparan sekali terjadi pada konsentrasi tinggi dan menurun untuk pemaparan berulang hingga kontinu.

3. Berkaitan dengan lingkungan

Sifat-sifat lingkungan yang mempengaruhi toksikan yang telah diuraikan di atas juga mempengaruhi toksisitas toksikan.

4. Berkaitan dengan biota

Toksistas toksikan berbeda untuk berbagai spesies biota karena adanya perbedaan ketahanan dan kemudahan spesies biota uji dalam menerima respon toksikan. Perbedaan diantara spesies biota tersebut berkaitan dengan faktor-faktor genetik, umur dan status kesehatan.

2.5 Uji Toksisitas

Uji toksistas merupakan uji hayati yang berguna untuk menentukan tingkat toksistas dari suatu zat atau bahan pencemar dan digunakan juga untuk pemantauan rutin suatu limbah (Husni dan Esmiralda, 2010). Uji toksistas juga dapat diartikan sebagai suatu uji yang digunakan untuk mengevaluasi besarnya konsentrasi toksikan dan durasi pemaparan yang dapat menimbulkan efek toksik pada jaringan biologis suatu organisme (Pararaja, 2008).

Penelitian toksikologi dalam perairan dilakukan untuk mengetahui atau mengidentifikasi apakah *effluent* dan badan air penerima mengandung senyawa toksik dalam konsentrasi yang menyebabkan toksistas akut atau toksistas kronis. Selain itu, penelitian toksikologi juga dapat digunakan untuk menentukan toksistas suatu senyawa spesifik yang terdapat dalam *effluent* (Soemirat, 2005). Parameter yang diukur berupa kematian hewan uji yang hasilnya dinyatakan sebagai konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji ($LC_{50-96 \text{ JAM}}$) dalam waktu yang relatif pendek yaitu berkisar satu sampai empat hari atau 96 jam (Husni dan Esmiralda, 2010).

Uji toksistas dilakukan pada kondisi tertentu dan tetap, yang dapat diulang secara konsisten sehingga memungkinkan perbandingan antar toksikan yang diuji (Samudro dan Mangkoedihardjo, 2009). Uji toksistas dapat dilakukan di laboratorium dengan ijin dari yang berwenang (EPA, 1992). Salah satu biota yang dapat digunakan untuk hewan uji pada penelitian toksistas adalah

mikroalga. Syarat penggunaan mikroalga sebagai biota uji dalam uji toksisitas adalah spesies fitoplankton yang bersel tunggal. Hal ini dikarenakan pertumbuhan fitoplankton selama kegiatan uji dapat diketahui dengan melakukan perhitungan kepadatan selnya (Lestari *et al.*, 2014).

Menurut Guthrie dan Perry (1980), beberapa istilah yang dapat digunakan untuk menggambarkan dampak yang diakibatkan oleh toksikan adalah sebagai berikut:

1. *Akut*

Merupakan respon terhadap stimulus yang menimbulkan efek parah yang terjadi secara cepat dan singkat. Pada ikan dan organisme air biasanya pengujian dilakukan dalam waktu 4 hari (96 jam). Jumlah kematian pada hewan uji digunakan untuk menentukan seberapa besar pengaruh bahan toksik tersebut.

2. *Sub Akut*

Merupakan respon terhadap stimulus yang efeknya tidak terlalu parah jika dibandingkan dengan respon akut. Perlu waktu yang lebih lama sehingga menjadi kronis.

3. *Kronis*

Merupakan respon terhadap stimulus yang terjadi secara terus menerus dalam waktu yang lama, yaitu sekitar 1%-10% dari total waktu hidup organisme. Untuk tujuan *bioassay* uji kronis untuk organisme air, biota uji diteliti pada seluruh siklus hidupnya untuk menentukan efek terhadap pertumbuhan, reproduksi, dan perkembangan. Tingkatan selanjutnya akan menjadi letal atau sub letal.

4. *Lethal*

Merupakan respon suatu stimulus dan konsentrasi yang menyebabkan kematian secara langsung.



5. *Sub Lethal*

Merupakan respon terhadap suatu stimulus dari konsentrasi dibawah level letal.

2.6 *Lethal Concentration (LC_{50-96 Jam})*

Lethal Concentration atau LC_{50-96 Jam} merupakan suatu besaran statik yang bertujuan untuk menyatakan konsentrasi suatu senyawa yang diperkirakan dapat mematikan atau menimbulkan efek toksik sebanyak 50% hewan uji setelah diberi perlakuan selama 96 jam (Jenova, 2009). Hal tersebut juga sesuai dengan pernyataan dari Klaassen (1986), bahwa LC_{50-96 Jam} adalah jumlah konsentrasi dari suatu zat yang dapat menyebabkan mortalitas hewan uji sebesar 50% yang dilakukan dalam perlakuan secara inhalasi atau percobaan toksisitas dalam media air.

Pada umumnya, (LC_{50-96 Jam}) dapat ditentukan dalam jangka waktu 96 jam pemaparan. Namun juga dapat dilakukan dalam jangka waktu pemaparan 24, 48 dan 72 jam (Boyd, 2005). Menurut Sprague (1969), nilai LC (*Lethal Concentration*) menentukan nilai ambang batas di suatu lingkungan. Uji toksisitas menggunakan mikroalga berguna untuk menentukan toksisitas suatu toksikan terhadap mikrolaga yang ditentukan oleh nilai kepadatan sel (Rand dan Petrocelli, 1987). Salah satu syarat penggunaan alga sebagai biota uji dalam uji toksisitas adalah spesies fitoplankton yang bersel tunggal, karena pertumbuhannya selama kegiatan uji dapat diketahui dengan melakukan perhitungan kepadatan selnya (Lestari *et al.*, 2014).

Penentuan (LC_{50-96 Jam}) dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain dengan grafik probit log konsentrasi, metode grafik, serta perhitungan secara matematik. Penentuan metode grafik probit konsentrasi dilakukan dengan

menempatkan persentase respon dari tiap kelompok hewan pada ordinat dan logaritma konsentrasi yang diberikan secara absis (Loomis, 1987).

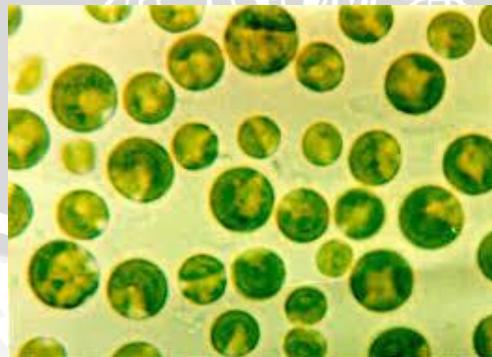
2.7 *Chlorella vulgaris*

2.7.1 Klasifikasi

Chlorella vulgaris merupakan mikroalga yang dominan di wilayah perairan darat Indonesia (Dianursanti, 2012) yang merupakan salah satu spesies fitoplankton bersel tunggal yang memenuhi persyaratan sebagai bioindikator pencemaran perairan serta mudah dibudidayakan (Arifin, 1997). *Chlorella vulgaris* diketahui telah hidup di bumi sejak 2,5 milyar tahun yang lalu dengan sifat genetik yang tidak mengalami mutasi hingga sekarang (Wirosaputro, 2002).

Adapun klasifikasi *Chlorella vulgaris* menurut Kumar dan Singh (1976) adalah sebagai berikut:

Divisi	: Chlorophyta
Kelas	: Chlorophyceae
Ordo	: Chlorococcales
Sub-ordo	: Autosporinaceae
Familia	: Chlorellaceae
Genus	: Chlorella
Spesies	: <i>Chlorella vulgaris</i>

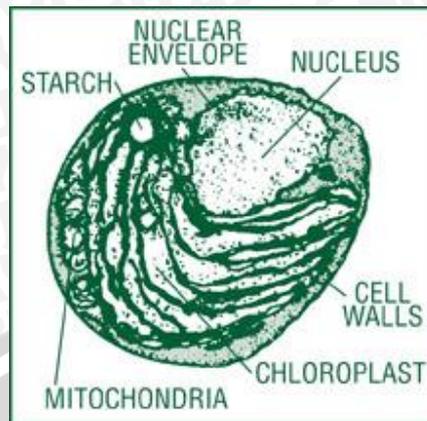


Gambar 2. *Chlorella vulgaris*

2.7.2 Morfologi

Menurut Suriawiria (1987), *Chlorella vulgaris* berbentuk bulat atau bulat telur dengan diameter sel berkisar antara 2-8 μm , berwarna hijau dan hidup secara soliter. Warna hijau pada *Chlorella vulgaris* disebabkan karena adanya kandungan klorofil a dan b dalam jumlah yang besar (Volesky, 1990). Kandungan pigmen klorofil-a, klorofil-b, klorofil-c, karoten dan xantofil dalam menyebabkan *Chlorella vulgaris* dapat melakukan fotosintesis. Pigmen hijau (klorofil) yang terkandung dalam sel *Chlorella vulgaris* berfungsi sebagai katalisator dalam proses fotosintesis (Sachlan, 1982). *Chlorella vulgaris* merupakan organisme autotrof dan eukariotik. Autotrof berarti jenis tumbuhan yang belum mempunyai akar, batang dan daun sebenarnya, tetapi sudah memiliki klorofil. Sedangkan eukariotik artinya telah mengandung inti sel dan organel-organel lain.

Struktur sel *Chlorella vulgaris* terdiri dari dinding sel, mitokondria, kloroplast dan inti sel (Bold dan Wynne, 1985). Dinding sel *Chlorella vulgaris* berbentuk keras terdiri dari selulosa dan pektin, tiap-tiap selnya memiliki satu buah inti sel dan satu kloroplast serta protoplasma berbentuk cawan yang diliputi oleh suatu membran yang sangat selektif terhadap apa saja yang masuk kedalam sel. Kloroplast pada *Chlorella vulgaris* memiliki sigma yang sensitif terhadap cahaya (Djarajah, 1995). Mitokondria terletak didalam sitoplasma, didalam mitokondria terjadi proses pembentukan energi untuk kelangsungan hidup sel dan aktivitas sehari-hari (Hansakul, 1991). *Chlorella vulgaris* mempunyai cadangan makanan yang terbuat dari polisakarida (Labina, 1994). *Chlorella vulgaris* dapat bergerak tetapi sangat lambat sehingga pada pengamatan seakan-akan tidak bergerak (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Hal tersebut disebabkan karena *Chlorella vulgaris* tidak memiliki flagella (Kumar dan Singh, 1976). Struktur sel *Chlorella vulgaris* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Sel *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris merupakan alga yang kosmopolit, terdapat di air payau, air laut dan air tawar (Lin wu *et al.*, 2000), dengan salinitas 0-35 ppt dengan suhu optimum berkisar antara 25⁰-30⁰C serta dapat tumbuh baik pada pH 9-9,5 dengan intensitas cahaya berkisar antara 1000-10.000 lux (Hirata, 1980 dalam Balai Budidaya Laut Lampung, 2002).

2.7.3 Pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai pertumbuhan secara teratur pada semua komponen yang ada didalam sel hidup. Pada organisme multiseluler, yang disebut pertumbuhan adalah peningkatan jumlah sel per organisme serta bertambahnya ukuran sel menjadi lebih besar. Pada organisme uniseluler (ber sel tunggal) pertumbuhan adalah penambahan jumlah sel yang berarti juga penambahan jumlah organisme, misalnya pertumbuhan yang terjadi pada suatu kultur jasad renik.

Pertumbuhan fitoplankton ditandai dengan bertambah besarnya ukuran sel atau bertambah banyaknya jumlah sel. *Chlorella vulgaris* berkembangbiak dengan cara aseksual, yaitu dengan membelah diri membentuk autospora atau dalam arti lain dengan mengeluarkan beberapa spora yang dinamakan *apinanospora* dari sel induknya. Dalam kondisi normal pembelahan sel terjadi

sekali dalam sehari (Afandi, 2003). Puncak pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dapat dilihat pada hari ke 3-4 dan setelah hari ke 5-6 *Chlorella vulgaris* dapat dipanen.

Menurut Prescott (1970), *Chlorella vulgaris* memiliki empat fase atau siklus dalam hidupnya, yaitu fase pertumbuhan (*growth*), fase pematangan awal (*early revening*), fase pematangan akhir (*late revening*) dan fase autospora (*autospora liberation*).

1. Fase pertumbuhan (*growth*)

Fase pertumbuhan (*growth*) adalah fase awal dimana autospora mengalami periode perkembangan aktif sel massa menjadi besar. Pada saat autospora mencapai ukuran maksimal maka autospora akan masuk pada fase pematangan awal (*early revening*).

2. Fase pematangan awal (*early revening*)

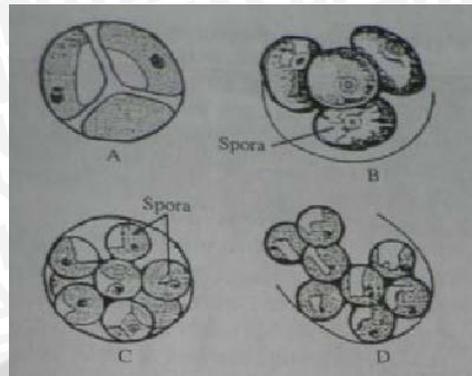
Fase pematangan awal (*early revening*) adalah fase dimana autospora yang telah tumbuh menjadi besar mengalami peningkatan sintesa untuk persiapan membagi selnya menjadi sel-sel baru.

3. Fase pematangan (*late revening*)

Pada akhir fase pematangan (*late revening*) sel-sel yang baru mengadakan pembelahan menjadi 2, 4, 8 hingga 16.

4. Fase autospora (*autospora liberation*)

Fase autospora (*autospora liberation*) merupakan fase akhir dimana induk akan pecah dan akhirnya terlepas menjadi sel-sel baru. Tahapan pembentukan autospora *Chlorella* sp. dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Tahapan pembentukan spora

Sedangkan menurut Martosudarmo dan Wulan (1990), pertumbuhan fitoplankton secara umum ditandai dengan lima tahap terpisah yaitu sebagai berikut:

1. Fase Induksi

Fase induksi merupakan tahap adaptasi terhadap lingkungan baru. Dimana pada fase ini sel menyesuaikan diri dengan media kultur yang sudah diberi nutrisi. Fase ini ditandai dengan perubahan ukuran sel sesaat setelah inokulasi ke dalam media. Namun pembelahan belum terjadi sehingga kepadatan sel belum meningkat dan populasi tidak mengalami perubahan.

2. Fase Eksponensial/ Logaritmik

Fase ini diawali dengan pembelahan sel dengan laju pertumbuhan yang tetap. Pada kultur yang optimum, laju pertumbuhan pada fase ini mencapai tahap maksimum. Laju pertumbuhan *Chlorella vulgaris* mengalami fase eksponensial selama 4 hari, kemudian pertumbuhan berlangsung lambat dan memasuki fase stasioner hingga hari ke-11.

3. Fase Perlambatan Pertumbuhan

Kecepatan tumbuh mulai melambat, faktor yang berpengaruh adalah kekurangan nutrisi, laju suplai CO₂ atau O₂ serta perubahan nilai pH.

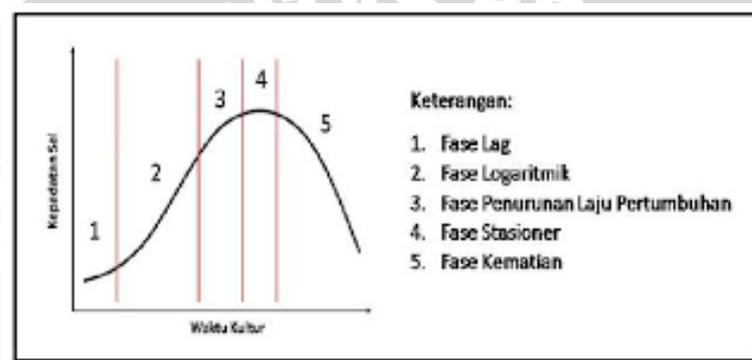
4. Fase Stasioner

Pada fase ini terjadi penurunan kecepatan perkembangan secara bertahap, dimana laju reproduksi sama dengan laju kematian.

5. Fase Kematian

Pada fase ini, tingkat kematian lebih tinggi dari tingkat perkembangan. Jumlah sel menurun secara geometrik.

Adapun pola pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pola Pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

2.8 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

2.8.1 Suhu

Suhu merupakan faktor pembatas yang penting untuk kehidupan organisme karena setiap organisme memiliki kemampuan yang berbeda dalam merespon perubahan suhu yang terjadi pada lingkungan sekitarnya. Organisme akan tumbuh baik pada suhu optimalnya. Kondisi suhu dibawah atau diatas optimal dapat menyebabkan terhambatnya proses pertumbuhan dan perkembangan organisme. Bahkan pada suhu yang ekstrim dapat menyebabkan kematian pada biota (Wahyudi, 1999). Suhu mempengaruhi aktivitas enzim dalam sel alga. Penyerapan pada tingkat fotosintesis maksimum akan meningkat seiring dengan meningkatnya suhu.

Chlorella vulgaris dapat dikatakan mempunyai kemampuan yang tinggi dalam menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Hal ini terlihat dari habitatnya yang sangat luas. Menurut Sutamihardja (1975), *Chlorella vulgaris* mampu hidup dan tumbuh pada kisaran suhu 5-35°C. Suhu optimalnya berkisar antara 23-30 °C (Wahyudi, 1999).

2.8.2 pH

pH atau derajat keasaman merupakan indikator intensitas asam basa suatu perairan atau jumlah konsentrasi ion hidrogen dalam perairan. pH merupakan salah satu faktor yang berpengaruh secara langsung terhadap produksi dan pertumbuhan fitoplankton. Kecepatan pertumbuhan alga akan menurun pada saat pH melampaui batas optimum (Pescott, 1970).

Beberapa alga melakukan fotosintesis pada pH 7-8. Pada pH diatas 8 proses fotosintesis akan terhambat sehingga penyerapan nutrisi dan pertumbuhan juga terhambat (Afandi, 2003). Secara umum, alga hijau dapat tumbuh baik pada pH 8-9. Diluar kisaran tersebut, alga masih dapat hidup namun pertumbuhannya tidak optimal.

2.8.3 DO

Oksigen merupakan unsur vital yang sangat diperlukan dalam proses respirasi dan metabolisme semua organisme perairan termasuk fitoplankton dan alga. Oksigen yang diperlukan organisme air adalah dalam bentuk oksigen terlarut atau DO (*Dissolved Oxygen*). Sumber oksigen didalam perairan berasal dari udara yang masuk kedalam perairan dengan cara difusi, hasil fotosintesis alga serta adanya gerakan air (Smith *et al.*, 1987). Adapun faktor yang sangat mempengaruhi kadar oksigen dalam perairan adalah suhu dan salinitas

(Subarijanti, 1990). Semakin tinggi suhu, salinitas dan tekanan gas-gas yang terlarut dalam air, maka kelarutan oksigen akan semakin berkurang (Labina,1994).

2.8.4 Intensitas Cahaya

Pertumbuhan fitoplankton sangat tergantung pada intensitas cahaya. Dimana intensitas cahaya diperlukan oleh alga untuk berfotosintesis. Selain itu, intensitas cahaya juga mempengaruhi alga dalam mengabsorpsi nutrisi terutama nitrogen. Penyerapan nitrat dan nitrit oleh alga membutuhkan intensitas cahaya yang lebih tinggi (Afandi, 2003). Proses fotosintesis *Chlorella vulgaris* membutuhkan intensitas cahaya rata-rata 5000-10000 lux (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

2.8.5 Nutrien

Nutrien atau unsur hara merupakan parameter pendukung yang penting bagi pertumbuhan mikroalga selain cahaya, oksigen terlarut, salinitas, pH dan suhu (Sen *et al.*, 2005). Secara umum defisiensi nutrisi pada mikroalga dapat mengakibatkan penurunan protein, pigmen fotosintesis, serta kandungan produk karbohidrat dan lemak (Healey 1973).

Nutrien atau unsur hara yang dibutuhkan untuk pertumbuhan alga terdiri dari unsur makro dan mikro. Makronutrien yaitu unsur-unsur yang dibutuhkan dalam jumlah yang besar meliputi C, H, O, N, P, K, Si, S, Ca dan Cl. Makronutrien adalah unsur yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit dan merupakan koenzim meliputi Fe, Zn, Cu, dan Mg. Menurut Eyster (1978), kandungan makronutrien yang dibutuhkan *Chlorella vulgaris* antara lain N, P, Ca, K dan S dimana masing-masing berperan penting dalam pertumbuhan *Chlorella vulgaris*. Mikronutrien yang dibutuhkan dalam jumlah kecil antara lain Fe, Mg, Cu, Zn dan

Mn. Diantara nutrisi tersebut, N dan P sering dijadikan faktor pembatas pertumbuhan mikroalga.

Sumber nitrogen dimanfaatkan alga dalam pembentukan protein yang dibutuhkan adalah dalam bentuk amonium dan nitrat. Fosfor dimanfaatkan alga sebagai sumber energi universal dalam melakukan aktivitas di dalam sel baik dalam proses fotosintesis, respirasi maupun pembentukan protein, perbandingan kebutuhan nitrogen dan fosfor antara 15 :1 hingga 30 : 1 (Reynolds 1990). Pengaruh nutrisi terhadap mikroalga ditentukan dengan laju pertumbuhan spesifik mikroalga yang diketahui dari penambahan densitas mikroalga. (Kawaroe *et al.*, 2009).

2.9 Mekanisme Logam Berat Masuk Kedalam Sel Mikroorganisme

Penyerapan logam berat oleh mikroorganisme terjadi dalam dua tahap. Tahap awal berupa penyerapan pasif yang berlangsung cepat, diikuti oleh penyerapan aktif yang berlangsung lambat. Tingkat selular penyerapan pasif berawal ketika logam berinteraksi dengan dinding sel. Dinding sel mengandung enzim ekstraselular yang berfungsi dalam penyerapan unsur-unsur yang dibutuhkan sel. Pada penyerapan aktif, logam berat tersebut ditransportasikan melalui membran sel menuju sitoplasma (Ting dalam Purbonegoro, 2008). Proses masuknya logam berat melintasi membrane sel dapat terjadi jika logam berat tersebut bersifat lipofilik (mudah larut dalam lipid atau lemak) (Lu, 1995). Lapisan membrane sel terbentuk dari dua lapisan lipid (lipid bilayer). Logam berat yang bersifat lipofilik tersebut akan larut dalam lipid dan berikatan dengan protein sel (Darmono, 1995). Membran sel bersifat sukar dilalui (*impermeable*) oleh ion-ion yaitu natrium (Na⁺) dan kalium (K⁺), serta ion-ion logam berat seperti tembaga (Cu), seng (Zn), dan cadmium (Cd). Untuk dapat melintasi membrane sel, ion logam berat tersebut mengalami proses difusi terfasilitasi (*facilitated*

diffusion). Dalam proses tersebut, ion logam berat mendapat bantuan suatu enzim di dalam membran sel yang disebut permease. Enzim permease adalah suatu protein membrane sel yang berikatan dengan ion logam berat sehingga ion logam berat tersebut dapat melintasi lapisan lipid bilayer membrane sel (Kimball, 1998).

Selain itu, menurut Ridhowati (2013), mekanisme logam berat masuk ke dalam sel mikroorganisme adalah melalui 2 tahap yaitu *passive uptake* yaitu proses ini terjadi ketika ion logam berat terikat pada dinding sel biosorben. Mekanisme *passive uptake* dapat dilakukan dengan dua cara, pertama dengan cara pertukaran ion di mana ion pada dinding sel digantikan oleh ion-ion logam berat; dan kedua adalah pembentukan senyawa kompleks antara ion-ion logam berat dengan gugus fungsional seperti karbonil, amino, thiol, hidroksi, fosfat, dan hidroksi-karboksil secara bolak balik dan cepat. Kedua, *Aktif uptake* merupakan mekanisme masuknya logam berat melewati membran sel sama dengan proses masuknya logam esensial melalui sistem transpor membran, hal ini disebabkan adanya kemiripan sifat antara logam berat dengan logam esensial dalam hal sifat fisika-kimia secara keseluruhan. Proses *aktif uptake* pada mikroorganisme dapat terjadi sejalan dengan konsumsi ion logam untuk pertumbuhan dan akumulasi intraselular ion logam.

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah $LC_{50-96 \text{ Jam}}$ limbah cair pabrik kertas PT. Adiprima Suraprinta, kepadatan *Chlorella vulgaris* dan faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *Chlorella vulgaris* seperti pH, suhu, DO, dan intensitas cahaya. Penelitian ini menggunakan metode uji toksisitas akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) untuk mengetahui kepadatan *Chlorella vulgaris* yang dipapar oleh limbah cair pabrik kertas. Uji toksisitas akut dilakukan untuk mengetahui konsentrasi limbah cair pabrik kertas dalam wadah yang mampu membunuh 50% organisme uji (*Chlorella vulgaris*).

Penelitian uji toksisitas akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) ini menggunakan *Chlorella vulgaris* sebagai mikroorganisme uji, karena *Chlorella vulgaris* merupakan salah satu fitoplankton yang merupakan pakan alami bagi organisme yang ada di perairan, khususnya ikan herbivor dan zooplankton. Selain itu, keberadaan *Chlorella vulgaris* sangat penting dalam suatu perairan karena dapat melakukan fotosintesis dan menghasilkan oksigen bagi organisme. Pada penelitian ini juga dilakukan pengukuran kualitas air pendukung yang meliputi parameter fisika dan kimia air. Parameter fisika berupa suhu. Parameter kimia berupa pH, suhu, dan DO (*Disolved Oxygen*).

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Adapun alat-alat beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian uji toksisitas akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* disajikan pada Lampiran 1.

3.2.2 Bahan

Adapun bahan-bahan beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian uji toksisitas akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* disajikan pada Lampiran 2.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode percobaan atau eksperimen. Menurut Jaedun (2011), metode percobaan atau eksperimen merupakan penelitian terhadap sebuah variabel dengan melakukan pemberian perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati dampaknya dimana dampak tersebut dijadikan sebuah data hasil penelitian yang belum ada sebelumnya. Suyanto dan Jihad (2013), menjelaskan bahwa metode percobaan memiliki kelebihan antara lain peneliti lebih percaya terhadap sebuah kebenaran atau penelitian berdasarkan percobaan yang dilakukan sendiri, peneliti dapat lebih mengembangkan sikap untuk mengadakan studi eksplorasi tentang ilmu dan teknologi serta dengan metode percobaan maka sumber daya manusia akan lebih baik karena dapat membawa terobosan baru melalui penemuannya dari hasil percobaan.

Metode percobaan atau eksperimen dalam penelitian ini adalah penelitian tentang uji toksisitas akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris*.

3.3.1 Data Primer

Menurut Narimawati (2008), yang dimaksud data primer adalah data yang diperoleh secara langsung dari sumber aslinya atau yang biasa disebut dengan sumber pertama. Data primer tidak tersedia dalam bentuk kompilasi maupun dalam bentuk file. Data primer pada penelitian ini dilakukan dengan cara

observasi secara langsung yaitu dengan mengamati secara langsung uji pendahuluan serta uji sesungguhnya. Observasi pada penelitian uji toksisitas akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) ini yaitu dengan melihat kepadatan *Chlorella vulgaris* dari tiap toples yang sudah diberi konsentrasi yang berbeda-beda serta pengukuran kualitas air serta faktor yang mempengaruhi pertumbuhan fitoplankton seperti pH, suhu, DO, dan intensitas cahaya di Laboratorium Ilmu-Ilmu Perairan dan Bioteknologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

3.3.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data atau informasi yang dikumpulkan dan dilaporkan oleh seseorang untuk suatu tujuan tertentu maupun sebagai pengetahuan ilmiah. Data ini biasanya diperoleh dari pustaka-pustaka atau dari laporan-laporan penelitian terdahulu. Menurut Sugiyono (2008) yang dimaksud data sekunder adalah sumber data yang tidak langsung memberikan data kepada pengumpul data. Data sekunder ini merupakan data yang sifatnya mendukung keperluan data primer seperti buku literatur dan bacaan. Data yang diperoleh melalui sumber lain secara tidak langsung (data sekunder) diperoleh melalui dokumen-dokumen resmi, buku-buku perpustakaan, dokumentasi dan keterangan lain yang berhubungan dengan penelitian. Data sekunder dalam penelitian ini diperoleh dari instansi terkait, jurnal, buku-buku, serta laporan skripsi yang digunakan untuk melengkapi literatur atau pustaka dalam tinjauan pustaka dan metode penelitian dalam penelitian ini.

3.4 Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel limbah cair kertas didapatkan dari saluran akhir unit proses produksi kertas (*inlet* Instalasi Pengolahan Air Limbah) PT. Adiprima

Suraprinta yang berlokasi di Desa Sumengko, Kecamatan Wringinanom, Gresik, Jawa Timur. Sedangkan *Chlorella vulgaris* didapatkan dari hasil kultur di Laboratorium Ilmu-Ilmu Perairan dan Bioteknologi Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

3.5 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan percobaan dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap dapat didefinisikan sebagai rancangan percobaan dengan menggunakan beberapa perlakuan pada seluruh unit percobaan yang disusun secara acak. Rancangan Acak Lengkap digunakan karena percobaan dilakukan di Laboratorium dan kondisi lingkungan dapat di kontrol (Nazir, 2003).

Rancangan percobaan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan perbedaan konsentrasi (a) sebanyak 5 konsentrasi dan ulangan perlakuan (n) sebanyak 3 kali ulangan. Rumus Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang digunakan pada penelitian ini adalah rumus Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Loomis (1978), yaitu sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = Nilai pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke j.

μ = Nilai tengah umum

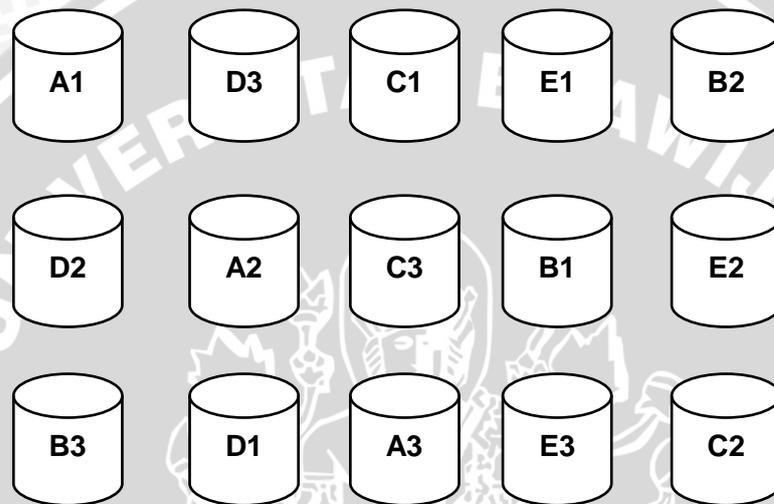
T_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = Kesalahan (galat) percobaan pada perlakuan ke-l dan ulangan ke-j

Percobaan dilakukan menurut EPA (2002), dan EPA (1996) untuk uji toksikologi *Chlorella vulgaris* di laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Peletakkan bak-bak percobaan diatur secara acak (*random*). Pengacakan

repository.ub.ac.id

dilakukan agar analisis data menjadi lebih akurat. Adapun beberapa metode yang digunakan antara lain (a) diundi (lotre), (b) daftar angka acak, (c) menggunakan software. Adapun denah bak percobaan yang dilakukan pada uji inti uji toksisitas akut (LC_{50-96} Jam) limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* dengan menggunakan metode pengundian (lotre) dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Denah Penelitian

Keterangan:

- A = Konsentrasi 0% Limbah Cair Pabrik kertas (Kontrol)
- B = Konsentrasi 0,09% Limbah Cair Pabrik kertas
- C = Konsentrasi 0,9% Limbah Cair Pabrik kertas
- D = Konsentrasi 9% Limbah Cair Pabrik kertas
- E = Konsentrasi 90% Limbah Cair Pabrik kertas

3.6 Tahapan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap yaitu tahap preparasi penelitian, uji pendahuluan, serta uji sesungguhnya.

3.6.1 Preparasi Penelitian

a. Pemasangan Lampu

Pemasangan lampu dilakukan sebelum melakukan eksperimen. Lampu yang digunakan dalam penelitian ini adalah lampu jenis tubular lamp (TL) dengan daya 36 watt. Lampu tersebut dipasang tepat diatas kayu yang telah disediakan untuk penelitian. Lampu ini berfungsi sebagai penerangan atau sumber cahaya yang dibutuhkan *Chlorella vulgaris*. Pada pemeliharaan *Chlorella vulgaris* penyinaran merupakan faktor yang sangat penting. Pada skala laboratorium, penyinaran pada saat pemeliharaan mikroalga biasanya menggunakan lampu Tubular Lamp (TL) dengan daya minimal 20 watt. Lama penyinaran dilakukan berturut hingga eksperimen selesai (Setyaningsih *et al.*, 2012).

b. Sterilisasi Media

Kegiatan eksperimen atau percobaan jenis apapun harus terlebih dahulu diawali dengan sterilisasi alat dan bahan. Sterilisasi alat dan bahan adalah suatu perlakuan untuk menjadikan suatu alat atau bahan yang bebas dari mikroorganisme yang tidak diinginkan (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Adapun tahapan dalam sterilisasi yang pertama adalah sebagai berikut:

1. Mencuci toples hingga bersih
2. Mengeringkan toples hingga benar-benar kering
3. Menyemprot toples dengan larutan alkohol 75%
4. Mengeringkan toples kembali menggunakan tissue hingga benar-benar kering
5. Memasukkan 2 liter air tawar yang akan digunakan sebagai media hidup *Chlorella vulgaris* ke dalam toples.
6. Memasukkan 2 ml chlorine ke dalam air sebagai larutan sterilisasi media dari mikroba dan bakteri

7. Menghomogenkan hingga larutan tercampur seluruhnya dengan air.
8. Mendinginkan selama satu hari satu malam.
9. Memasukkan 4 ml larutan Natrium tiosulfat ke dalam media sebagai pengikat chlorine
10. Menghomogenkan dengan menggunakan spatula.

c. Pengadaptasian *Chlorella vulgaris*

Aklimatisasi merupakan hal yang penting untuk menyesuaikan kondisi bahan uji dengan lingkungan yang baru. Aklimatisasi dilakukan selama tujuh hari pada setiap uji pendahuluan maupun uji sesungguhnya (EPA, 1996). Sebelumnya, *Chlorella vulgaris* yang akan digunakan berasal dari Laboratorium Nutrisi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Adapun langkah-langkah dalam aklimatisasi organisme uji adalah sebagai berikut

1. Menyiapkan toples-toples percobaan berkapasitas 3 liter
2. Mengisi toples dengan air sebanyak 1,5 liter
3. Membiarkan selama satu hari agar kotoran mengendap
4. Memasukkan 500 ml *Chlorella vulgaris* yang diambil dari tempat yang sama.
5. Memelihara *Chlorella* sp. yang akan digunakan sebagai organisme uji selama ± 7 hari
6. Memberi 2 ml pupuk walne (berbentuk cair) dan 2 ml vitamin (berbentuk cair) sebanyak 1 kali sehari yaitu pada pukul 12.00 WIB.

Adapun komposisi pupuk walne dan vitamin yang digunakan adalah Na_2EDTA 45 gr, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 20 gr, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1,5 gr, H_3BO_3 33,6 gr, MnCl_2 0,36 gr, NaNO_3 100 gr, tracemetal solution 1 ml, vitamin ml, dan akuades 1 liter.

d. Persiapan Konsentrasi Limbah Cair Pabrik kertas

Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap yaitu uji pendahuluan dan uji sesungguhnya yaitu dengan menghitung kepadatan *Chlorella vulgaris* setelah terpapar limbah cair pabrik kertas dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Pada penelitian ini, baik pada uji pendahuluan maupun uji sesungguhnya menggunakan 5 perlakuan. Pada uji pendahuluan dilakukan dengan pemberian 5 perlakuan konsentrasi yang berbeda dengan 2 kali ulangan yaitu pada perlakuan A, B, C, D, dan E masing-masing dengan dosis limbah cair sebanyak 0%, 0,09%, 0,9%, 9%, dan 90%. Pada uji sesungguhnya, dilakukan dengan pemberian 5 perlakuan konsentrasi yang berbeda dengan 3 kali ulangan yaitu pada perlakuan A, B, C, D, dan E masing-masing dengan dosis limbah cair sebanyak 0%, 1,215%, 2,16%, 3,78%, dan 6,75%. Penentuan dosis pada uji sesungguhnya didasarkan pada hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya yaitu dari hasil ambang atas dan ambang bawah yang diperoleh.

Penentuan konsentrasi limbah cair tersebut didasarkan pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya tentang uji toksisitas dengan dosis yang digunakan pada uji toksisitas menggunakan limbah cair untuk organisme uji adalah 0%, 0,01%, 0,1%, 1%, 10%, 100% dari media. Sedangkan menurut Syafridiman (2007), konsentrasi limbah yang digunakan pada uji toksisitas yang menggunakan fitoplankton sebagai hewan uji disesuaikan dengan bentuk fitoplankton yang digunakan pada pengujian. Bentuk padat menggunakan konsentrasi maksimal 100%, sedangkan bentuk cair menggunakan konsentrasi maksimal <100%.

Persiapan konsentrasi limbah cair pabrik kertas untuk uji pendahuluan menggunakan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu sebagai berikut:

Terdapat 5 perlakuan, yaitu:

Perlakuan A = kontrol (0%) limbah cair pabrik kertas

Perlakuan B = 0,09 % limbah cair pabrik kertas

Perlakuan C = 0,9 % limbah cair pabrik kertas

Perlakuan D = 9 % limbah cair pabrik kertas

Perlakuan E = 90 % limbah cair pabrik kertas

Sehingga apabila dihitung didapatkan hasil konsentrasi limbah cair pabrik kertas dari masing-masing perlakuan yaitu sebagai berikut:

Volume media = 1 liter = 1000 ml

Perlakuan A = 0 %

$$= \frac{0}{100} \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 0 \text{ ml}$$

Perlakuan B = 0,09 %

$$= \frac{0,09}{100} \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 0,9 \text{ ml}$$

Perlakuan C = 0,9 %

$$= \frac{0,9}{100} \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 9 \text{ ml}$$

Perlakuan D = 9 %

$$= \frac{9}{100} \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 90 \text{ ml}$$

Perlakuan E = 90 %

$$= \frac{90}{100} \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 900 \text{ ml}$$

Penentuan konsentrasi pada uji pedahuluan uji toksisitas akut (LC_{50-96} Jam) pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* diambil berdasarkan baris angka pada skala logaritmik kolom 1 (Rand, 1960). Adapun penjelasan dari penggunaan konsentrasi-konsentrasi diatas adalah sebagai berikut:

- Perlakuan A : Konsentrasi bahan uji 0% (1000 ml larutan terdiri dari: 100 ml kultur *Chlorella vulgaris* + 900 ml air media)
- (Kontrol)
- Perlakuan B : Konsentrasi bahan uji 0,09% (1000 ml larutan terdiri dari: 100 ml kultur *Chlorella vulgaris* + 899,1 ml air media + 0,9 ml limbah cair pabrik kertas)
- Perlakuan C : Konsentrasi bahan uji 0,9 % (1000 ml larutan terdiri dari: 100 ml kultur *Chlorella vulgaris* + 891 ml air media + 9 ml limbah cair pabrik kertas)
- Perlakuan D : Konsentrasi bahan uji 9 % (1000 ml larutan terdiri dari: 100 ml kultur *Chlorella vulgaris* + 810 ml air media + 90 ml limbah cair pabrik kertas)
- Perlakuan E : Konsentrasi bahan uji 90 % (1000 ml larutan terdiri dari: 100 ml kultur *Chlorella vulgaris* + 900 ml limbah cair pabrik kertas)

Uji pendahuluan dilakukan sebanyak 5 kali perlakuan dengan konsentrasi tersebut selama 96 jam dengan 2 kali ulangan.

Setelah didapatkan nilai ambang atas dan ambang bawah pada uji pendahuluan yaitu (0,9% dan 9%), selanjutnya dilakukan persiapan konsentrasi limbah cair pabrik kertas untuk uji sesungguhnya, yaitu sebagai berikut:

Konsentrasi yang digunakan diperoleh berdasarkan skala logaritmik yang terdapat pada tabel Rand pada kolom 4 (Lampiran 3). Sehingga apabila dihitung didapatkan hasil konsentrasi limbah cair pabrik kertas dari masing-masing perlakuan untuk uji penelitian yang terdiri dari 5 perlakuan, yaitu:

- A = 0% dari volume media (Kontrol)
- B = 1,215 % dari volume media
- C = 2,16 % dari volume media
- D = 3,78 % dari volume media

E = 6,75 % dari volume media

Dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan A = 0 %

$$\text{(Kontrol)} = \frac{0}{100} \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 0 \text{ ml}$$

Perlakuan B = 1,215 %

$$= \frac{1,215}{100} \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 12,15 \text{ ml}$$

Perlakuan C = 2,16 %

$$= \frac{2,16}{100} \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 21,6 \text{ ml}$$

Perlakuan D = 3,78 %

$$= \frac{3,78}{100} \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 37,8 \text{ ml}$$

Perlakuan E = 6,75 %

$$= \frac{6,75}{100} \times 1000 \text{ ml}$$

$$= 67,5 \text{ ml}$$

Adapun penjelasan dari penggunaan konsentrasi-konsentrasi diatas adalah sebagai berikut:

Perlakuan A (Kontrol) : 1000 ml terdiri dari 900 ml air media + 100 ml *Chlorella vulgaris*.

Perlakuan B : 1000 ml terdiri dari 887,85 ml air media + 100 ml *Chlorella vulgaris* + 12,15 ml limbah cair pabrik kertas.

Perlakuan C : 1000 ml terdiri dari 878,4 ml air media + 100 ml *Chlorella vulgaris* + 21,6 ml limbah cair pabrik kertas.

Perlakuan D : 1000 ml terdiri dari 862,2 ml air media + 100 ml

Chlorella vulgaris + 37,8 ml limbah cair pabrik kertas.

Perlakuan E : 1000 ml terdiri dari 832,5 ml air media + 100 ml

Chlorella vulgaris + 67,5 ml limbah cair pabrik kertas.

3.6.2 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan batas kisaran kritis (*critical range test*) yang menjadi dasar dari penentuan konsentrasi yang digunakan dalam uji lanjutan atau uji toksisitas sesungguhnya, yaitu konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian terbesar mendekati 50% dan kematian terkecil mendekati 50% (Husni dan Esmiralda, 2012).

Adapun prosedur dalam uji pendahuluan adalah sebagai berikut:

1. Menyiapkan dan memasang lampu Tubular Lamp (TL) dengan daya 36 watt sebanyak 3 buah.
2. Menyiapkan 5 toples berkapasitas 3 liter dengan diameter 29 cm, tinggi 28 cm dan diisi air tawar untuk 4 konsentrasi dan 1 kontrol.
3. Memasukkan organisme uji yaitu 100 ml *Chlorella vulgaris* yang berasal dari kultur atau tempat yang sama
4. Memasukkan limbah cair pabrik kertas dengan konsentrasi yang sudah didapat dari perhitungan ke dalam masing-masing toples.
5. Memberi aerasi sampai dasar untuk memberikan suplai oksigen selama pengujian.
6. Mengamati organisme uji setiap 8 jam sekali yaitu pada pukul 05.00 WIB, 13.00 WIB, dan 21.00 WIB selama 96 jam untuk mengetahui mortalitas organisme uji tersebut.
7. Menghitung kepadatan *Chlorella vulgaris* dengan mikroskop okuler dengan metode perhitungan duplo.

8. Mencatat hasil pengamatan mortalitas *Chlorella vulgaris* pada masing-masing konsentrasi untuk penentuan konsentrasi pada uji sesungguhnya sesuai dengan skala Rand.

3.6.3 Uji Sesungguhnya

Uji sesungguhnya dilakukan selama 4 hari (96 Jam) yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris*. Perlakuan menggunakan konsentrasi yang didapatkan dari uji pendahuluan. Perlakuan pada uji sesungguhnya yaitu satu perlakuan tanpa pemberian limbah cair pabrik kertas (kontrol) dan empat perlakuan dengan pemberian limbah cair pabrik kertas yang berbeda-beda.

Adapun prosedur dari uji sesungguhnya adalah sebagai berikut:

1. Menghitung konsentrasi limbah cair pabrik kertas yang telah diperoleh dari hasil ambang atas dan ambang bawah pada uji pendahuluan.
2. Memasukkan *Chlorella vulgaris* yang telah diaklimatisasi ke dalam toples-toples percobaan masing-masing sebanyak 100ml.
3. Memasukkan limbah cair dengan konsentrasi yang telah dihitung dari hasil ambang atas dan ambang bawah yang diperoleh dari uji pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya.
4. Selama penelitian berlangsung, toples diberi pencahayaan, aerasi, dan diberi vitamin dan pupuk 1 kali saat pertama kali *Chlorella vulgaris* dimasukkan.
5. Menghitung kepadatan *Chlorella vulgaris* menggunakan mikroskop okuler setiap 8 jam sekali dengan metode duplo disertai dengan pengukuran parameter kualitas air (pH, suhu, DO).
6. Mencatat hasil pengamatan mortalitas *Chlorella vulgaris* serta kualitas air yang meliputi pH, suhu, dan DO pada masing-masing konsentrasi.

3.7 Analisis Data

3.7.1 Analisis Probit

Analisis probit merupakan model *non* linier yang digunakan untuk menganalisis hubungan antara satu variabel respon dan beberapa variabel bebas, dengan variabel respon berupa data kualitatif dikotomi yaitu bernilai 1 untuk menyatakan keberadaan sebuah karakteristik dan bernilai 0 untuk menyatakan ketidakberadaan sebuah karakteristik (Wulandari dan Sutanto, 2009). Model regresi ini pertama kali diperkenalkan oleh Chester Bliss pada tahun 1935. Analisa probit digunakan dalam pengujian biologis untuk mengetahui respon subjek yang diamati dan diteliti oleh adanya stimuli limbah atau bahan pencemar dengan mengetahui respon berupa mortalitas (Umniyati, 1990)

Nilai LC (*Lethal Concentration*) ditentukan dengan tujuan penelitian nilai ambang batas yang layak disuatu lingkungan perairan (Sprague, 1969). Menurut Wardlaw (1985), langkah-langkah melakukan analisa probit nilai LC_{50-96} Jam adalah sebagai berikut :

1. Membuat tabel probit
2. Memasukkan nilai konsentrasi perlakuan (ppm)
3. Memasukkan nilai log 10 konsentrasi perlakuan
4. Memasukkan jumlah sampel atau organisme uji yang digunakan
5. Memasukkan jumlah mortalitas hewan uji pada setiap konsentrasi perlakuan
6. Mempersentase jumlah mortalitas (M_{obs})
7. Memasukkan jumlah nilai organisme uji dalam bak percobaan (M_{cont})
8. Menghitung nilai koreksi mortalitas dengan rumus Abbot's) :

$$\text{Koreksi Mortalitas \%} = \frac{M_{obs} - M_{cont}}{100 - M_{cont}}$$

9. Menstansformasikan nilai koreksi mortalitas ke dalam tabel trasformasi probit, dengan syarat hanya tiga nilai konsentrasi terbawah yang digunakan dalam penentuan nilai $LC_{50-96 \text{ Jam}}$

10. Membuat grafik regresi untuk nilai $LC_{50-96 \text{ Jam}}$, sumbu Y merupakan nilai transformasi probit sedangkan sumbu X adalah bilangan log 10 konsentrasi perlakuan. Selanjutnya dari grafik tersebut ditentukan rumus regresi yaitu :

$$Y = ax + b$$

Nilai antilog X merupakan nilai $LC_{50-96 \text{ Jam}}$

Dengan $Y = \text{nilai probit}$

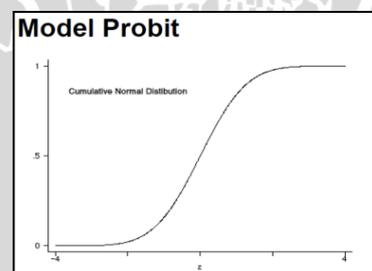
$X = \text{konsentrasi perlakuan}$

$$Y = 5,00$$

(5,00 diasumsiikam kematian 50%, karena penelitian ini mencari LC_{50} atau *Lethal Concentration* 50%)

$LC_{50-96 \text{ Jam}}$ ditentukan dengan analisis probit pada taraf kepercayaan 95%.

Gambar grafik probit dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Model Grafik Hasil Analisa Probit

3.7.2 Analisis Statistik

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan software SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) 16.0. Analisis pengaruh pemberian perbedaan konsentrasi limbah cair pabrik kertas terhadap mortalitas *Chlorella vulgaris* pada tiap perlakuan menggunakan analisis ANOVA satu arah (*one-way ANOVA*) karena bertujuan untuk memberikan informasi mengenai ada tidaknya pengaruh

perbedaan pemberian konsentrasi limbah cair pabrik kertas terhadap mortalitas *Chlorella vulgaris*. Menurut Santoso (2009), prosedur *One Way Anova* atau merupakan salah satu analisis statistik ANOVA (*Analysis of variance*) yang bersifat satu arah. Alat uji ini digunakan untuk menguji 2 populasi atau lebih yang independen, memiliki rata-rata sama atau tidak sama. Teknik anova akan menguji variabilitas dari observasi masing-masing group dan variabilitas antar mean group. Melalui kedua estimasi variabilitas tersebut, akan dapat ditarik kesimpulan mengenai mean populasi.

Sedangkan analisis pengaruh pemberian konsentrasi limbah cair pabrik kertas yang berbeda terhadap mortalitas *Chlorella vulgaris* menggunakan *Independent T- Test*, karena bertujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan rata-rata (mean) antara perbedaan konsentrasi terhadap mortalitas *Chlorella vulgaris*. Setelah pengujian dapat diambil hipotesis berdasarkan t hitung dan t - tabel atau nilai probabilitasnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Jainuri (2014), uji-T atau T-Test adalah salah satu test statistik yang dipergunakan untuk menguji kebenaran atau kepalsuan hipotesis nol/nihil (H_0) yang menyatakan bahwa di antara dua buah mean sampel yang diambil secara random dari populasi yang sama tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Penarikan kesimpulan dalam pengujian hipotesis selain dengan membandingkan nilai t hitung dengan nilai pada tabel t, di SPSS juga bisa menggunakan nilai *Sig*, jika $Sig > 0,05$ maka H_0 diterima dan jika $Sig < 0,05$ maka H_0 ditolak.

3.8 Teknik Pengukuran Sampel

3.8.1 Oksigen Terlarut

Adapun langkah-langkah pengukuran DO menggunakan DO meter menurut Salmin (2005), adalah sebagai berikut:

1. Mengkalibrasi alat sensor pada DO meter dengan menggunakan aquadst

2. Mengeringkan alat sensor pada DO meter dengan menggunakan tissue
3. Memasukkan sensor DO meter kedalam sampel yang akan diuji
4. Menyalakan DO meter dengan menekan tombol ON
5. Menunggu hingga muncul tulisan "READY" untuk pertama kali
6. Mencatat hasil penelitian sebagai mg/L
7. Mematikan DO meter dengan menekan tombol OFF

3.8.2 Suhu

Adapun langkah-langkah pengukuran suhu menggunakan DO meter menurut Salmin (2005) adalah sebagai berikut

1. Mengkalibrasi alat sensor pada DO meter dengan menggunakan aquadest
2. Mengeringkan alat sensor DO meter dengan tissue
3. Memasukkan sensor DO meter ke dalam sampel yang akan diuji
4. Menyalakan DO meter dengan menekan tombol ON
5. Menunggu hingga muncul tulisan "READY" yang pertama kali
6. Mencatat hasil pengukuran dalam satuan $^{\circ}\text{C}$
7. Mematikan DO meter dengan menekan tombol OFF

3.8.3 pH

Adapun langkah-langkah pengukuran pH menggunakan pH meter menurut Kiwol (2008) adalah sebagai berikut:

1. Mengkalibrasi pH meter dengan menggunakan aquadest
2. Mengeringkan pH meter dengan tissue
3. Merendam pen (elektroda) ke dalam sampel contoh selama kurang lebih 1 menit
4. Mengeringkan pen (elektroda) dengan tissue

5. Merendam pen (elektroda) kedalam sampel contoh sampai pH meter menunjukkan pembacaan angka yang tetap
6. Memasukkan pen (elektroda) kedalam sampel yang akan diukur hingga pH meter menunjukkan nilai berhenti beberapa detik atau stabil
7. Mencatat hasil pengukuran pH

3.8.4 Intensitas Cahaya

Adapun langkah-langkah pengukuran intensitas cahaya menurut SNI No : 16-7062-2004 (2004) dalam Yanuar (2011) menggunakan *Lux meter* adalah sebagai berikut :

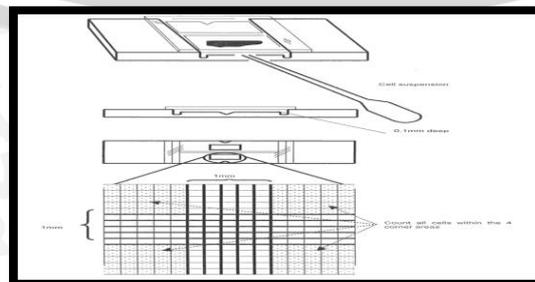
- a. Menghidupkan *luxmeter* yang telah dikalibrasi dengan membuka penutup sensor.
- b. Membawa *Lux meter* ke tempat cahaya yang akan di ukur.
- c. Menutupi sensor cahaya dengan penutup sensor yang telah disediakan.
- d. Menggeser tombol "*Range Switch*" ke posisi Lux 2000.
- e. Menekan tombol "*Zero button*" sampai layar menampilkan nilai angka nol
- f. Memindahkan penutup sensor apabila telah selesai.
- g. Memilih unit atau tempat pengukuran yang diinginkan dengan menekan tombol "*LUX/FC*". Layar akan menunjukkan pilihan satuan LUX atau Ft-cd.
- h. Menentukan jenis pencahayaan (tungssen/matahari, neon (TL), *mercury lamp*) dengan menekan tombol "*Light Source Select Button*".
- i. Memilih nilai maksimum dengan menggunakan "*Range Switch*"
- j. Memposisikan sensor cahaya tepat langsung di bawah sumber cahaya utama.
- k. Membaca hasil pengukuran pada layar monitor setelah menunggu beberapa saat sehingga didapat nilai angka yang stabil.

- l. Mencatat hasil pengukuran untuk intensitas cahaya yang diperoleh dengan satuan "LUX".
- m. Mematikan *luxmeter* setelah selesai digunakan dengan menekan tombol "Power Off".

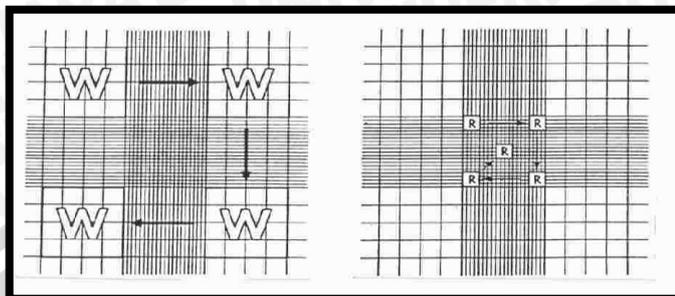
3.8.5 Perhitungan Kelimpahan *Chlorella vulgaris*

Adapun perhitungan kepadatan plankton menurut SNI (2004) dalam Herniwati (2012) dilakukan dengan menggunakan Haemocytometer secara duplo. Adapun langkah-langkah dalam perhitungan kepadatan plankton adalah sebagai berikut.

1. Menyiapkan haemocytometer yang akan digunakan.
2. Membersihkan permukaan haemocytometer dan cover glass dengan menggunakan tissue kering.
3. Menutup bagian tengah haemocytometer menggunakan cover glass.
4. Mengambil fitoplankton yang akan dihitung kepadatannya dengan menggunakan pipet tetes.
5. Menambahkan lugol/formalin apabila alga bergerak aktif.
6. Meneteskan satu tetes fitoplankton ke salah satu sisi cekungan haemocytometer hingga merata.
7. Meneteskan satu tetes lagi ke sisi lainnya hingga merata.
8. Memasukkan fitoplankton ke dalam haemocytometer secara hati-hati (jangan sampai berlebih) dan jangan sampai ada gelembung udara.



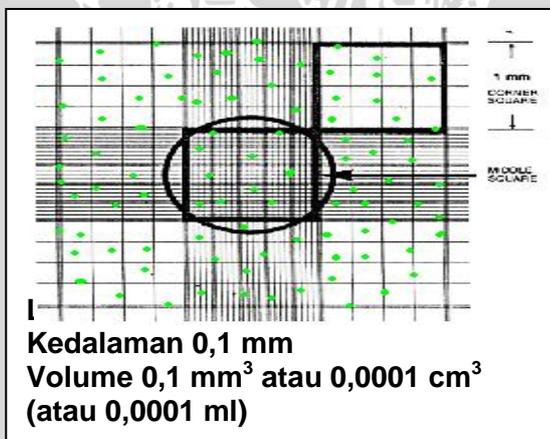
9. Meletakkan dan mengamati fitoplankton dibawah mikroskop dengan perbesaran 100X.
10. Membagi bidang pandang menjadi 5 bagian



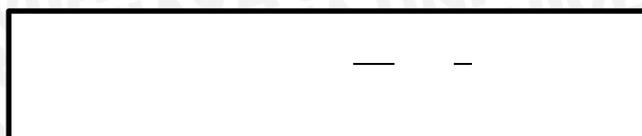
Keterangan:

- W = W-box (White Blood Cells)
- R = R-box (Red Blood Cells)

11. Menghitung jumlah fitoplankton dari 5 bidang pandang tersebut.
12. Perhitungan fitoplankton dilakukan hanya pada fitoplankton yang berada dalam bidang pandang



13. Menghitung jumlah total sel fitoplakton pada kelima bidang pandang kemudian di rata-rata dan dihitung sebagai (n)
14. Menghitung total kepadatan fitoplankton dihitung dengan rumus sebagai berikut:



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kandungan Limbah Cair Pabrik Kertas

Pabrik kertas merupakan salah satu pabrik yang menghasilkan limbah cair dalam proses produksinya. Penggunaan bahan-bahan kimia yang digunakan pada proses produksinya serta adanya proses *deinking* pada proses produksinya, membuat limbah cair pabrik kertas mengandung logam berat dan bahan pencemar yang cukup tinggi. Kandungan limbah cair pabrik kertas diantaranya BOD, COD, TSS, serta Pb .

Adapun hasil pengujian limbah cair pabrik kertas sebelum diolah adalah sebagai berikut kandungan BOD limbah cair pabrik kertas sebelum diolah adalah sebesar 936 ppm, COD sebesar 1370 ppm, TSS sebesar 1750 ppm, dan Pb sebesar 3,25 ppm. Hasil tersebut sudah pasti melampaui batas baku mutu limbah cair pabrik kertas yang sudah ditetapkan menurut Peraturan Gubernur Jawa Timur karena limbah cair yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah cair yang belum diolah atau limbah cair yang baru saja keluar dari proses produksi sebelum masuk *inlet* Instalasi Pengolahan Air Limbah. Hal tersebut dilakukan dengan tujuan agar mengetahui kandungan limbah cair pabrik kertas yang benar-benar masih murni sehingga dapat diketahui seberapa besar tingkat toksisitasnya terhadap *Chlorella vulgaris*. Sehingga diharapkan setiap pabrik kertas dapat melakukan pengolahan limbah cairnya dengan lebih baik sehingga limbah cair yang akan dibuang sesuai dengan baku mutu limbah cair pabrik kertas yang sudah ditetapkan.

Adapun baku mutu limbah cair pabrik kertas menurut Peraturan Gubernur Jawa Timur nomor 72 Tahun 2013 adalah BOD sebesar 150 ppm, COD 350 ppm, TSS 150 ppm, dan Pb 0,1 ppm.

4.2 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan merupakan rangkaian uji yang dilakukan dengan tujuan untuk mencari nilai kisaran konsentrasi yang akan digunakan pada uji sesungguhnya (Husni dan Esmiralda, 2010). Nilai kisaran konsentrasi yang dimaksud adalah nilai ambang atas dan ambang bawah. Dimana nilai ambang atas adalah konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian terbesar mendekati 50%, sedangkan ambang bawah merupakan konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian terkecil mendekati 50%. Dalam penelitian ini, telah dilakukan uji pendahuluan mengenai Uji Toksisitas Akut ($LC_{50-96 \text{ jam}}$) Limbah Cair Pabrik Kertas Terhadap Kepadatan *Chlorella vulgaris* Pada Bak-Bak Percobaan dan telah didapatkan hasil rata-rata dari 2 kali ulangan yang dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil tersebut selanjutnya digunakan untuk menentukan kisaran konsentrasi pada uji sesungguhnya. Konsentrasi uji pendahuluan ditentukan sesuai dengan skala logaritmik yang dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 1. Data Rata-Rata Mortalitas *Chlorella vulgaris* pada Uji Pendahuluan

Konsentrasi (%)	Kepadatan Awal (sel/ml)	Kepadatan <i>Chlorella vulgaris</i> (sel/ml)				Mortalitas (sel/ml)	% Mortalitas
		24 Jam	48 Jam	72 Jam	96 Jam		
0	1.35×10^6	1.625×10^6	2.225×10^6	2.762×10^6	3.6×10^6	0	0 %
0.09	1.35×10^6	0.825×10^6	1.175×10^6	1.275×10^6	1.312×10^6	0.038×10^6	2 %
0.9*	1.35×10^6	1.10×10^6	0.925×10^6	0.80×10^6	0.725×10^6	0.625×10^6	46.29 %
9 *	1.35×10^6	0.625×10^6	0.387×10^6	0.225×10^6	0.037×10^6	1.313×10^6	97.25 %
90	1.35×10^6	0.512×10^6	0.275×10^6	0.075×10^6	0	1.35×10^6	100 %

Keterangan : * = ambang batas bawah

** = ambang batas atas

Berdasarkan data hasil rata-rata mortalitas *Chlorella vulgaris* pada uji pendahuluan pada tabel 1, dapat diketahui bahwa pada konsentrasi 0 % (kontrol) tidak terjadi kematian atau hasil persen mortalitas yang didapat adalah sebesar

0%, pada konsentrasi 0,09 % persen mortalitas *Chlorella vulgaris* yang didapat adalah sebesar 2%, pada konsentrasi 0,9 % persen mortalitas *Chlorella vulgaris* sebesar 46,29%, pada konsentrasi 9 % persen mortalitas *Chlorella vulgaris* yang didapat sebesar 97,25%. Sedangkan pada konsentrasi 90 % persen mortalitas *Chlorella vulgaris* yang didapatkan adalah sebesar 100%. Dari hasil uji pendahuluan, maka dapat ditentukan kisaran konsentrasi yang akan digunakan untuk penelitian inti yaitu antara 0,9 % dengan 9 %, dimana konsentrasi 0,9 % sebagai ambang bawah dan 9 % sebagai ambang atas.

Menurut Guthrie dan Perry (1980), penentuan konsentrasi untuk penelitian didasarkan pada skala logaritmik yang berkisar antara ambang atas dan ambang bawah yang diperoleh dari uji pendahuluan. Penentuan dosis yang akan dipakai pada penelitian dilakukan secara *progressive bisection* yang dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.3 Uji Sesungguhnya

Pada uji sesungguhnya, konsentrasi limbah yang digunakan ditentukan berdasarkan hasil konsentrasi yang diperoleh dari hasil uji pendahuluan yaitu dengan menggunakan kisaran dari ambang atas dan ambang bawah. Dimana ambang atas adalah kematian terbesar di waktu yang paling singkat mendekati 50% dan ambang bawah adalah kematian terbesar di waktu yang paling lama mendekati 50%. Ambang atas yang diperoleh adalah 0,9 % sedangkan ambang atas yang diperoleh adalah 9 %, sehingga berdasarkan skala logaritmik yang terdapat pada Tabel Rand pada kolom 4, konsentrasi yang digunakan yaitu 1,215 %, 2,16 %, 3,78 % dan 6,75 %. Hasil penelitian mengenai Uji Toksisitas Akut ($LC_{50-96 \text{ jam}}$) Limbah Cair Pabrik Kertas Terhadap Kepadatan *Chlorella vulgaris* Pada Bak-Bak Percobaan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Rata-Rata Mortalitas *Chlorella vulgaris* pada Uji Sesungguhnya

Kon-sen-trasi (%)	Kon-sen-trasi (ml/l)	Kepadatan Awal (sel/ml)	Kepadatan <i>Chlorella vulgaris</i> (sel/ml)				Mortalitas (sel/ml)	% Mortalitas
			24 Jam	48 Jam	72 Jam	96 Jam		
0	0	1.25×10^6	1.783×10^6	2.2×10^6	5.066×10^6	9×10^6	0	0
1.215	12.15	1.25×10^6	1.091×10^6	0.85×10^6	0.683×10^6	0.591×10^6	0.658×10^6	52.64
2.16	21.6	1.25×10^6	0.766×10^6	0.583×10^6	0.458×10^6	0.362×10^6	0.888×10^6	71.04
3.78	37.8	1.25×10^6	0.758×10^6	0.558×10^6	0.375×10^6	0.191×10^6	1.058×10^6	88.67
6.75	67.5	1.25×10^6	0.558×10^6	0.383×10^6	0.266×10^6	0.075×10^6	1.175×10^6	94

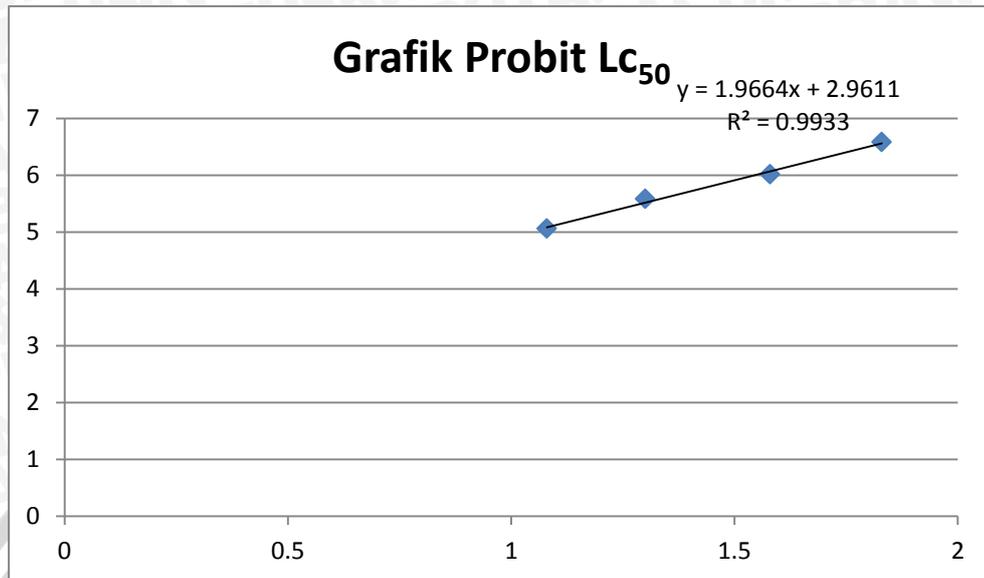
Berdasarkan dari uji sesungguhnya yang telah dipaparkan pada Tabel 2, dapat dilihat bahwa terjadi perbedaan kepadatan *Chlorella vulgaris* pada masing-masing konsentrasi limbah cair pabrik kertas. Dimana pada konsentrasi 0 % (kontrol) dari semua toples tidak terjadi adanya penurunan kepadatan *Chlorella vulgaris* dan cenderung mengalami peningkatan. Sedangkan pada konsentrasi 1,21% dari ketiga toples rata-rata terjadi penurunan kepadatan yaitu dari kepadatan awal $1,25 \times 10^6$ menjadi $0,591 \times 10^6$. Hal tersebut berarti bahwa pada konsentrasi 1.21% terjadi mortalitas sebesar $0,658 \times 10^6$ atau sebesar 52,67%. Pada konsentrasi 2,16% dari ketiga toples rata-rata terjadi penurunan kepadatan yaitu dari kepadatan awal $1,25 \times 10^6$ menjadi $0,362 \times 10^6$. Hal tersebut berarti bahwa pada konsentrasi 2,16% terjadi mortalitas sebesar $0,888 \times 10^6$ atau sebesar 71,04%. Pada konsentrasi 3,78% dari ketiga toples rata-rata terjadi penurunan kepadatan yaitu dari kepadatan awal $1,25 \times 10^6$ menjadi $0,191 \times 10^6$. Hal tersebut berarti bahwa pada konsentrasi 3,78 % terjadi mortalitas sebesar $1,058 \times 10^6$ atau sebesar 88,67 %. Dan yang terakhir pada konsentrasi 6,75 % dari ketiga toples rata-rata terjadi penurunan kepadatan yaitu dari kepadatan

awal $1,25 \times 10^6$ menjadi $0,075 \times 10^6$. Hal tersebut berarti bahwa pada konsentrasi 6,75% terjadi mortalitas sebesar $1,175 \times 10^6$ atau sebesar 94 %.

Pada hasil penelitian dapat dilihat semakin tinggi konsentrasi limbah yang diberikan maka dapat menyebabkan jumlah kepadatan *chlorella vulgaris* semakin menurun. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan timbal dan kadmium dalam limbah cair kertas. Menurut Ting *et al.*, (1990), logam berat timbal dan kadmium mampu menghambat kepadatan sel karena adanya pemanfaatan ion logam berat oleh organisme dalam sistem kultur yang terjadi dalam dua tahap, yaitu sistem pasif dan sistem aktif. Penyerapan pasif terjadi ketika logam berat berinteraksi dengan dinding sel dan penyerapan aktif berarti logam berat tersebut ditransportasi melalui membran sel menuju sitoplasma. Proses aktif ini dapat terjadi jika logam berat tersebut bersifat lipofilik. Karena kadmium dan timbal termasuk logam yang susah larut dalam lipid (Darmono, 1995) maka ion logam tersebut mengalami proses difusi terfasilitasi. Setelah ion logam berat melewati membran sel, maka enzim dan organel sel menjadi tujuan ion logam berat tersebut dimana secara struktural sel-sel ini mengalami kehilangan banyak karbohidrat, penurunan jumlah vakuola, penegangan dinding sel dan pengaruh yang paling nyata adalah gangguan pada kloroplas (Wang *et al.*, 1997).

Selain itu, kadmium dan timbal yang berlebih akan berpengaruh terhadap kloroplas, hal ini akan terjadi pada struktur dan proses metabolisme di dalamnya. Dimana akan menyebabkan degradasi membran tilakoid, dimana tilakoid adalah satu bagian dari kloroplas yang menerima cahaya matahari. Degradasi membran tilakoid akan menyebabkan terhambatnya reaksi kimia (Setiawati, 2009).

4.4 Analisis Probit



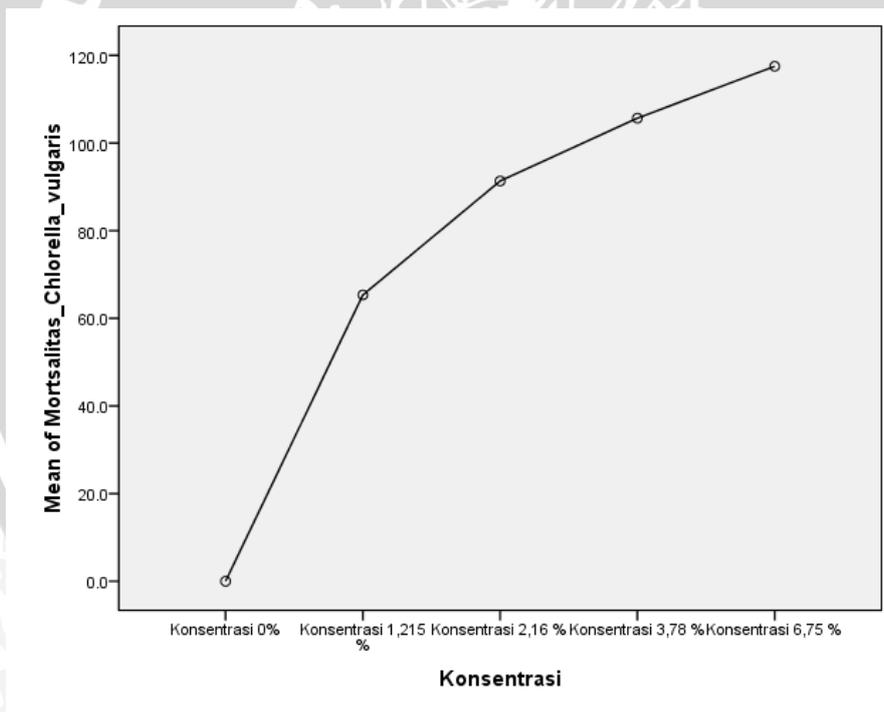
Gambar 8. Grafik Analisa Probit

Analisis menggunakan analisis probit merupakan model perhitungan non linier yang dapat digunakan untuk menganalisis hubungan antara satu variabel respon dengan beberapa variabel bebas. Variabel respon berupa data kualitatif yaitu data yang bernilai 1 untuk menyatakan ketidakberadaan sebuah karakteristik. Dalam penentuan $LC_{50-96 \text{ jam}}$ dapat diketahui total keaktifan hewan uji pada penelitian. Dalam penelitian ini, penentuan mortalitas hewan uji didasarkan pada perhitungan jumlah kepadatan awal hewan uji dikurangi dengan jumlah kepadatan akhir hewan uji yang telah diberi perlakuan selama 96 jam yang telah disajikan pada Tabel 2. Selanjutnya, data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis probit yang disajikan pada Lampiran 4. Perhitungan probit dilakukan dengan cara memasukkan nilai konsentrasi perlakuan (mg/l) yang kemudian memasukkan nilai Log_{10} dari tiap konsentrasi perlakuan. Selanjutnya memasukkan data jumlah kepadatan akhir hewan uji pada tiap konsentrasi setelah diperoleh data, kemudian membuat grafik regresi untuk menentukan nilai $LC_{50-96 \text{ jam}}$. Dimana sumbu y merupakan nilai transformasi probit. Sedangkan sumbu x merupakan Log_{10} dari konsentrasi perlakuan. Dari grafik tersebut dapat

ditentukan rumus regresi yaitu $y = ax + b$ hasil dari rumus tersebut di anti Log dan didapatkan nilai $LC_{50-96 \text{ jam}}$.

Sehingga, dari hasil perhitungan analisis probit didapatkan nilai $LC_{50-96 \text{ jam}}$ sebesar 9,57 ml/l. Dari hasil analisis probit tersebut dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 9,57 ml/l dapat menyebabkan kematian sebesar 50% hewan uji dalam waktu 96 jam pemaparan. Sehingga, dapat disimpulkan pula bahwa limbah cair kertas bersifat toksik dan dapat menyebabkan pengaruh letal terhadap hewan uji serta dapat disimpulkan pula bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin besar pula kematian hewan uji.

4.5 Analisis Statistik



Gambar 9. Grafik Hasil Analisis *One Way Anova*

Hasil analisis Anova menunjukkan pada konsentrasi 0% diperoleh hasil mean dan standar deeviasi sebesar $0,000 \pm 0,000$. Pada konsentrasi 1,215% sebesar $65,333 \pm 7,6376$. Pada konsentrasi 2,16% sebesar $91,333 \pm 4.0415$. Pada konsentrasi 3,78% sebesar $105,667 \pm 6,0277$. Pada konsentrasi 6,75% sebesar

117,500±3,5355. Serta nilai F hitung sebesar 233,477 dan nilai sig (probabilitas) sebesar 0,000. Hasil tersebut menunjukkan perbedaan pemberian konsentrasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap mortalitas *Chlorella vulgaris*. Hal tersebut dibuktikan dengan menggunakan analisis *One Way Anova* yang menunjukkan bahwa F hitung (233,477) > F tabel (3,48) dan juga dibuktikan dengan analisis *Independent T-Test* menunjukkan nilai probabilitas (0,000) < 0,05 (Lampiran 6). Hal ini menjadikan H_0 ditolak, sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan antara nilai mortalitas *Chlorella vulgaris* pada pemberian konsentrasi limbah cair pabrik kertas yang berbeda dengan taraf kepercayaan 95%.

Menurut Jainuri (2012), uji-T atau *T-test* adalah salah satu test statistik yang digunakan untuk menguji kebenaran atau kepalsuan hipotesa nol/nihil (H_0) yang menyatakan bahwa diantara dua buah mean sampel yang diambil secara random dari populasi yang sama tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Penarikan kesimpulan dalam pengujian hipotesis selain dengan membandingkan nilai t hitung dengan nilai pada tabel 1 pada software SPSS juga bias menggunakan nilai Sig. jika Sig > 0,05 maka H_0 diterima dan jika Sig < 0,05 maka H_0 ditolak.

4.6 Parameter Pendukung

Pada penelitian Uji Toksisitas Akut ($LC_{50-96 \text{ jam}}$) Limbah Cair Pabrik Kertas Terhadap Kepadatan *Chlorella vulgaris* Pada Bak-Bak Percobaan ini, parameter kualitas air yang diukur meliputi suhu, pH, DO, dan intensitas cahaya yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Tabel Hasil Pengukuran Parameter Pendukung

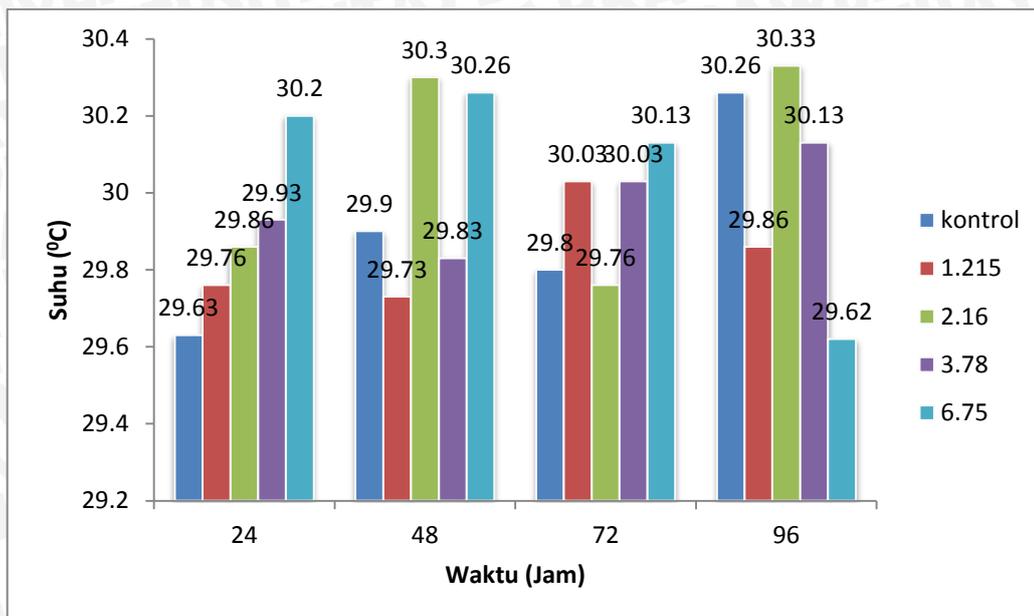
Parameter Pendukung	Hasil Pengamatan
Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	29 – 30
Ph	7 – 8
DO (mg/l)	4.9 – 5.8
Intensitas Cahaya (lux)	5600 – 5900

4.6.1 Suhu

Suhu merupakan faktor fisika yang sangat berpengaruh terhadap kondisi air diperairan. Menurut Wardoyo (1992), setiap organisme mempunyai toleransi suhu maksimum, optimum dan juga minimum untuk kelangsungan hidupnya. Selain itu Supiyati *et al.*, (2012), juga menjelaskan bahwa suhu merupakan suatu hal yang sangat penting dalam perairan, dimana peranan suhu diperairan dapat berpengaruh terhadap kehidupan dan juga pertumbuhan biota air. Kelarutan berbagai jenis gas didalam air serta seluruh aktivitas biologis didalam perairan sangat dipengaruhi oleh suhu. Dapat diketahui juga bahwa meningkatnya suhu sebesar 10°C akan meningkatkan laju metabolisme sebesar 2 – 3 kali lipat.

Pada suatu perairan suhu memegang peranan penting dalam siklus materi, yang akan mempengaruhi sifat fisik kimia dan biologi perairan. Suhu berpengaruh terhadap kelarutan oksigen dalam air, proses metabolisme dan reaksi-reaksi kimia dalam perairan. Kenaikan suhu dalam perairan dapat meningkatkan metabolisme tubuh organisme termasuk bakteri pengurai, sehingga proses dekomposisi bahan organik juga meningkat. Proses ini menyebabkan kebutuhan akan oksigen terlarut menjadi tinggi yang selanjutnya kandungan oksigen terlarut di dalam air menjadi menurun (Sastrawijaya, 1991).

Berikut adalah Grafik pengukuran kualitas air berupa suhu dapat dilihat pada Gambar 8 dan Tabel pengukuran suhu dapat dilihat pada Lampiran 8.

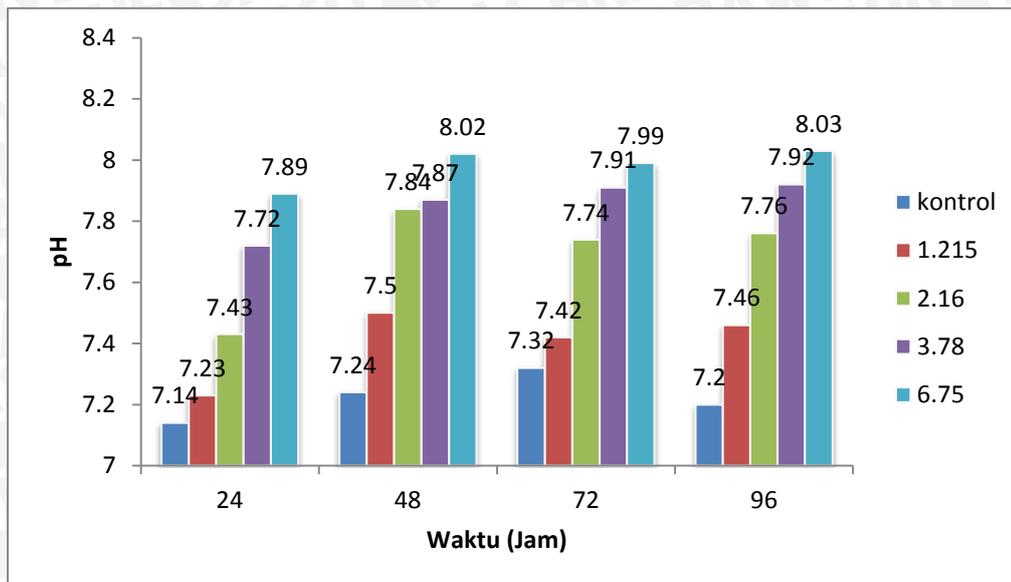


Gambar 10. Grafik Suhu

Berdasarkan Grafik pengukuran parameter kualitas air diatas, suhu yang diperoleh pada saat penelitian yaitu berkisar antara 29-30°C. Dari hasil pengukuran suhu tersebut menunjukkan bahwa suhu dalam perlakuan masih dalam kisaran yang normal dimana menurut Sutamihardja (1975), suhu optimum bagi kehidupan *Chlorella vulgaris* adalah berkisar antara 5-35°C dengan suhu optimalnya berkisar antara 23-30°C (Wahyudi, 1999).

4.6.2 pH

Berdasarkan pengukuran parameter kualitas air, pH yang diperoleh pada saat penelitian yaitu berkisar antara 7-8. Hasil dari pengukuran pH tersebut menunjukkan bahwa pH pada saat perlakuan masih dalam kisaran yang normal dimana menurut Ekawati (2005), kisaran pH untuk budidaya alga adalah berkisar antara 7-9, dengan kisaran optimal 8,2-8,7. Berikut adalah Grafik pengukuran kualitas air berupa pH dapat dilihat pada Gambar 9 dan Tabel pengukuran pH dapat dilihat pada Lampiran 9.



Gambar 11. Grafik pH

Berdasarkan Grafik pengukuran pH diatas dapat dilihat bahwa nilai rata-rata pH yang terukur selama penelitian pada setiap perlakuan berbeda - beda. Kisaran pH yang berbeda disebabkan karena perbedaan pemberian konsentrasi limbah cair pabrik kertas disetiap perlakuan. Dapat dilihat pula bahwa semakin bertambahnya konsentrasi limbah cair pabrik kertas yang diberikan maka semakin basa pula nilai derajat keasamannya. Hal ini diakibatkan karenalimbah cair pabrik kertas mengandung bahan anorganik seperti NaOH, Na₂SO₄ dan klorin (Cahyono, 2007).

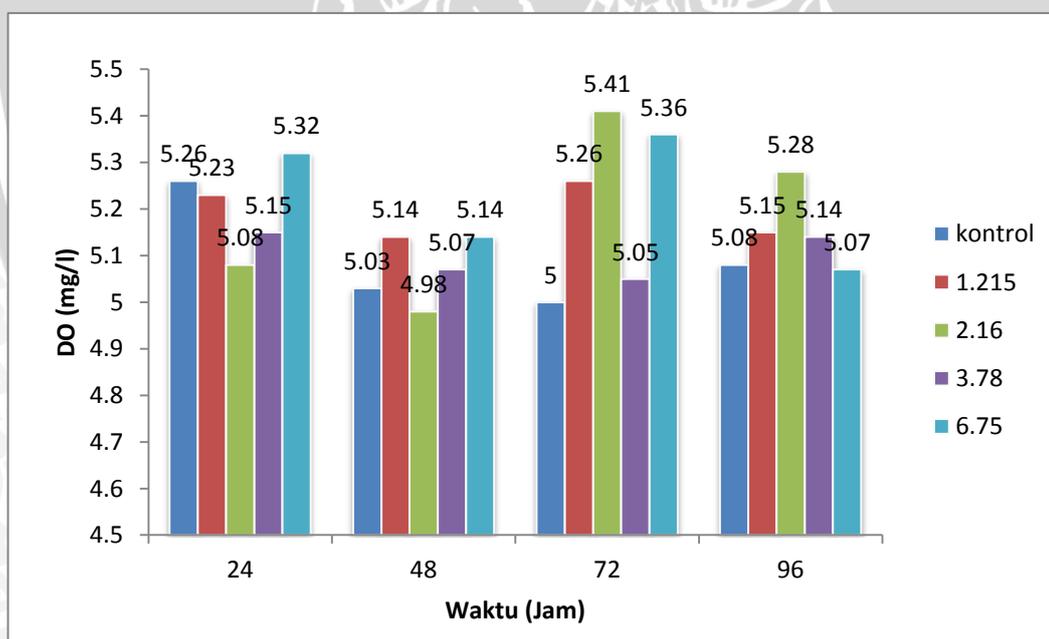
Derajat keasaman (pH) adalah ukuran untuk menentukan sifat asam dan basa. Perubahan pH di suatu perairan sangat berpengaruh terhadap proses fisika, kimia, maupun biologi dari organisme yang hidup di dalamnya. Derajat keasaman diduga sangat berpengaruh terhadap daya racun bahan pencemaran dan kelarutan beberapa gas, serta menentukan bentuk zat didalam air. pH suatu cairan merupakan kepekatan ion hidrogen yang ada didalam zat cair tersebut (Afrianto dan Liviawaty, 1991). Menurut Sugiharto (1987), konsentrasi ion hidrogen adalah ukuran kualitas air maupun limbah, adapun kadar yang baik

adalah kadar dimana masih memungkinkan kehidupan biologis di dalam air berjalan dengan baik.

4.6.3 DO (*Dissolved Oxygen*)

Hasil pengukuran parameter kualitas air DO (*Dissolved Oxygen*) yang diperoleh pada saat penelitian yaitu berkisar antara 4.9 – 5.8 mg/l. Dimana hasil pengukuran DO (*Dissolved Oxygen*) tersebut menunjukkan bahwa DO (*Dissolved Oxygen*) masih dalam kisaran normal. Kadar oksigen terlarut pada perairan alami biasanya kurang dari 10 mg/l. Sumber oksigen terlarut dapat berasal dari difusi oksigen dan aktivitas fotosintesis oleh tumbuhan air dan fitoplankton (Novotny dan Olem, 1994).

Grafik pengukuran kualitas air berupa DO dapat dilihat pada Gambar 10 dan Tabel pengukuran DO dapat dilihat pada Lampiran 10.



Gambar 12. Grafik DO (*Dissolved Oxygen*)

Oksigen terlarut (DO) dibutuhkan untuk proses respirasi, metabolisme atau pertukaran zat yang kemudian akan menghasilkan energi untuk pertumbuhan

dan perkembangbiakan. Oksigen terlarut (DO) juga dibutuhkan untuk oksidasi bahan organik dan anorganik dalam proses aerobik (Salmin, 2005). Menurut Effendi (2003), jika perairan terpapar oleh limbah dengan kadar yang cukup tinggi maka kadar oksigen terlarut diperairan akan cepat mengalami pengurangan. Perairan dengan kadar oksigen terlarut yang rendah maka akan berbahaya bagi organisme perairan. Hal tersebut juga sesuai dengan pendapat Tjokrokusumo (1999), bahwa pada umumnya badan air yang telah tercemar memiliki kandungan oksigen yang sangat rendah, karena oksigen terlarut di dalam air digunakan untuk mendegradasi bahan organik yang terkandung dalam badan air menjadi bahan yang mudah menguap. Semakin banyak bahan organik yang terkandung dalam badan perairan, maka semakin sedikit oksigen terlarut yang ada di dalam perairan tersebut.

4.6.4 Intensitas Cahaya

Salah satu faktor yang penting bagi pertumbuhan fitoplankton adalah cahaya. Menurut Harnadiemas (2012), cahaya memegang peranan yang penting dalam pertumbuhan organisme yang bersifat fotoautotrof seperti halnya *Chlorella vulgaris*. Cahaya dibutuhkan oleh *Chlorella vulgaris* untuk melakukan fotosintesis. Selain itu cahaya juga dibutuhkan *Chlorella vulgaris* untuk melakukan pembelahan.

Pengukuran intensitas cahaya pada penelitian ini dilakukan setiap hari sekali tepatnya pada pukul 13.00 WIB. Alat yang digunakan untuk pengukuran intensitas cahaya pada penelitian ini adalah Lux meter. Adapun data hasil pengukuran intensitas cahaya pada uji toksisitas akut ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* adalah pada hari pertama sebesar 5875 lux, hari kedua sebesar 5765 lux, hari ketiga sebesar 5735 lux, serta hari keempat sebesar 5695 lux.

Hal tersebut sesuai dengan pendapat dari Tjahyo *et al.*, (2002), bahwa intensitas cahaya yang mempengaruhi pertumbuhan *Chlorella vulgaris* adalah berkisar antara 2000-8000 lux. Sedangkan menurut Sachlan 1982, intensitas cahaya yang dapat mendukung fotosintesis *Chlorella vulgaris* adalah berkisar antara 2000-8000 lux.

4.6.5 BOD (*Biological Oxygen Demand*)

Kandungan *Biological Oxygen Demand* (BOD) dalam limbah cair menunjukkan jumlah oksigen yang dibutuhkan mikroorganisme untuk mendegradasi senyawa organik (Bosnic *et al.*,2000). Berdasarkan sampel limbah yang dianalisis menunjukkan kadar BOD yang terkandung di dalam limbah cair pabrik kertas adalah sebesar 936 mg/L, hal tersebut sudah jelas melebihi kadar maksimum yang diperbolehkan berada dilingkungan yaitu hanya sebesar 150 mg/L. Hal tersebut sudah jelas terjadi karena limbah cair pabrik kertas yang digunakan dalam penelitian ini merupakan limbah cair pabrik kertas yang belum diolah.

Tingginya nilai BOD diduga karena tingginya aktifitas mikroba pada perairan. BOD₅ merupakan gambaran kadar bahan organik, yaitu jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh mikroba aerob untuk mengoksidasi bahan organik menjadi karbondioksida dan air. Apabila nilai BOD yang tinggi dibuang ke perairan maka mikroorganisme yang terdapat dalam perairan akan mulai mendegradasi bahan organik dalam limbah tersebut. Proses ini akan menghabiskan oksigen dalam perairan. Bila kadar oksigen berkurang maka akan mengganggu kelangsungan hidup biota dalam perairan tersebut. Selain itu, semakin tinggi jumlah COD yang terkandung di dalam sampel maka nilai LC₅₀ semakin rendah (Sjafei *et al.*, 2002).

4.6.6 COD (*Chemical Oxygen Demand*)

Hasil pengujian yang dilakukan menunjukkan kadar COD yang ada dalam limbah cair pabrik kertas adalah sebesar 1370 mg/L, jumlah ini juga jelas melebihi batas maksimal kandungan COD yang ada dilingkungan yang hanya sebesar 350 mg/L karena limbah cair pabrik kertas yang digunakan dalam penelitian ini merupakan limbah cair pabrik kertas yang belum diolah. Menurut Clare (2002), kandungan COD yang tinggi dalam limbah bukan menjadi penyebab kematian mikroorganismenya, karena mikroorganismenya seperti *Chlorella vulgaris* diketahui memiliki kemampuan mensintesis hemoglobin untuk bertahan hidup dalam kondisi lingkungan yang rendah kadar oksigen.

Pada air buangan limbah cair menunjukkan bahwa nilai COD lebih tinggi dibandingkan nilai BOD. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa organik dalam air limbah tersebut sangat tinggi. Hal ini dikarenakan kandungan limbah dalam perairan tersebut tidak dapat didegradasi oleh mikroorganismenya. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Sjafei *et al.*, (2002), bahwa dalam kandungan limbah cair apabila memiliki nilai COD yang tinggi namun nilai BOD rendah hal ini menunjukkan bahwa dalam limbah tersebut mengandung senyawa-senyawa yang tidak terurai secara biologis. *Chlorella vulgaris* mampu berkembang dengan baik meskipun dalam kandungan BOD₅ dan COD yang tinggi pada air limbah tersebut. Hal ini dikarenakan *Chlorella vulgaris* mampu menyerap kandungan BOD₅ dan COD dalam limbah cair.

Menurut Sriharti (2004), *Chlorella vulgaris* mampu mereduksi kadar COD dan BOD₅ sebesar 56,24% dalam kandungan limbah cair. Limbah cair yang diintroduksi oleh *Chlorella vulgaris* dapat meningkatkan pertumbuhan sel, biomassa, dan kandungan klorofil. Semakin tinggi nilai COD akan menyebabkan turunnya nilai oksigen terlarut. Semakin menurunnya kadar oksigen terlarut akan mengakibatkan kematian hewan uji (Effendi, 2003).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian mengenai uji toksisitas akut limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* pada bak-bak percobaan maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Nilai *Lethal Concentration* ($LC_{50-96 \text{ Jam}}$) limbah cair industri kertas terhadap *Chlorella vulgaris* adalah sebesar 9,57 ml/l.
2. Kepadatan *Chlorella vulgaris* setelah terpapar limbah cair pabrik kertas selama 96 jam pada konsentrasi 0% (kontrol) sebesar 9×10^6 sel/ml, pada konsentrasi 1,215% sebesar $0,591 \times 10^6$ sel/ml, pada konsentrasi 2,16% sebesar $0,362 \times 10^6$ sel/ml, pada konsentrasi 3,78% sebesar $0,191 \times 10^6$ sel/ml, pada konsentrasi 6,75% sebesar $0,075 \times 10^6$ sel/ml. Semakin besar konsentrasi limbah cair pabrik kertas yang diberikan maka semakin besar pula prosentase mortalitas dari hewan uji atau tingkat kepadatannya semakin menurun.
3. Nilai kisaran faktor-faktor pendukung yang mempengaruhi pertumbuhan *Chlorella vulgaris* masing-masing sebesar: suhu 29-30°C, pH 7-8, DO 4,9-5,8 mg/l, intensitas cahaya 5600-5900 lux.

5.2 Saran

Penelitian mengenai uji toksisitas akut limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan *Chlorella vulgaris* pada bak-bak percobaan diharapkan dapat dijadikan acuan untuk pengolahan limbah cair pabrik kertas yang lebih baik agar limbah yang dibuang ke badan perairan sudah memenuhi standar baku mutu limbah cair pabrik kertas serta tidak melebihi nilai $LC_{50-96 \text{ Jam}}$ dari limbah cair pabrik kertas tersebut. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas

akut limbah cair pabrik kertas terhadap kepadatan mikroalga maupun organisme lain yang berada diperairan.



DAFTAR PUSTAKA

- Afandi, Y. D. 2003. Uji Penurunan Kandungan Nitrat Dan Fosfat oleh Algae Hijau (*Chlorella sp*) Secara Kontinyu. *Laporan Tugas Akhir*. Jurusan Teknik Lingkungan ITS. Surabaya.
- Afrianto, E. dan E. Liviawaty. 1991. Teknik Pembuatan Tanah Tambak. Kanisius. Yogyakarta.
- Apriliansari, D. 2012. *Perencanaan Pemeliharaan Mesin Produksi Menggunakan Metode Markov Chain di PT. Adiprima Suraprinta Gresik*. Skripsi. Fakultas Teknologi dan Industri. Universitas Pembangunan Nasional "Veteran": Surabaya.
- Arifin. 1997. Studi Interaksi Antara Kadmium dan Fitoplankton Lingkungan Laut. Program Pasca Sarjana Program Studi Kimia FMIPA UGM: Yogyakarta.
- Arisandi, P. 2004. Mewaspadaai Bahaya Timbal di Surabaya. *Ecological Observation and Wetlands Conservation (Ecoton)*. Driyorejo. Gresik
- Asosiasi Pulp dan Kertas Indonesia. 2007. Indonesian Pulp and Paper Industry Directory 2007. PT Gramedia. Jakarta.
- Audina, G. R. 2015. Pembuatan Pulp dari Serabut Kelapa Muda Menggunakan Metode Organosolv. *Laporan Tugas Akhir*. Jurusan Teknik Kimia. Politeknik Negeri Sriwijaya.
- Balai Budidaya Laut Lampung. 2002. Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. Balai Budidaya Laut Lampung. Hal 135.
- Bapedal. 1995. Teknologi Pengendalian Dampak Lingkungan Industri Penyamakan Kulit. Jakarta.
- Billngs, R.M. dan G. G. Haas. 1971. Popullation Control The Pulp and Paper Industri. *Industrial Popullation Control. Hand Book*, H.F.Lund (Ed), Mcgraw-Hill, New York.
- Bold, H. C dan M.J. Wyne. 1985. Introduction to The Algae, Second Edition, Prentice Hall. Inc. New Jersey.
- Boyd, C. E. 2005. LC₅₀ Calculations Help Protect Toxicity. Global Aquaculture Advocate. Department of Fisheries and Allied Aquacultures. Auburn University.
- Cahyono, R. 2007. Dampak Limbah Cair PT. Kertas Basuki Rachmat Banyuwangi terhadap Kesehatan Masyarakat. Tesis. Program Magister Ilmu Lingkungan. Program Pascasarjana. Universitas Diponegoro: Semarang.

- Darmono. 1995. Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. Jakarta: UI-Press.
- Dianursanti. 2012. Pengembangan Sistem Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* Dalam Reactor Plat Datar Melalui Optimasi Pencahayaan Menggunakan Teknik Altrasi Pada Aliran Kultur Media. *Disertasi*. Program Studi Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Indonesia. Depok.
- Djarjah, A.S. 1995. Pakan Alami. Kanisius: Yogyakarta.
- Easton, M.D.L., G.M. Kmzynski., I.I. Solar and H.M. Dye. 1997. Genetic Toxicity of Pulp Mill Effluent on Juvenile Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) Using Flow Cytometry. Water Science Technology. Canada.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan. Cetakan Kelima. Yogyakarta: Kanisius.
- Ekawati, A.W. 2005. Diktat Kuliah Budidaya Pakan Alami. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal. 348.
- Emiralda. 2010. Uji Toksisitas Akut Limbah Cair Industri Biodiesel Hasil Biodegradasi Secara Aerob Skala Laboratorium. Fakultas Teknik Universitas Andalas.
- Environmental Protection Agency. 1996. Method 8270C Semivolatile Organics Compounds For Standard Reference
- EPA. 1992. Methods For Measuring The Acute Toxicity Of Effluents And Receiving Waters To Freshwater Organisms 14th edition. Weber, C. I, Editor, USEPA: Ohio.
- Eyster, C. 1978. Nutrient Concentration Requirements for *Chlorella sorokiniana*. Available from The Author or The Mobile College Library, Mobile, Alabama 36613. 78-81.
- Fiedler, H., O. Hutzinger dan C.W. Timms. 1990. Dioxins: sources of Environmental Load and Human Exposure. *Toxicol. Environ. Chem.* 29:157-234.
- Gottsching, L dan H. Pakarinen. 2000. Recycled Fiber and Deinking. Papermaking Science and Technology, TAPPI Press and Finnish Paper Engineers Association.
- Guthrie, F dan J. Perry. 1980. Introduction to Environmental Toxicology. Elsevier. New York.
- Halang, B. 2004. Toksisitas Air Limbah Deterjen terhadap Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). *Bioscientiae*. 1(1): 39-49.

Handayani, N. 2008. Analisis Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aliran Perdagangan dan Strategi Pengembangan Ekspor Kertas Indonesia. *Skripsi*. Program Sarjana Ekstensi Manajemen Agribisnis. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor: Bogor.

Hansakul W. 1991. Research and Workshop Mass Culture of Microalgae. University Nakorn Pathon. Thailand.

Harnaedimas. 2012. Evaluasi Pertumbuhan dan Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris* Pada Kultivasi Fotobioreaktor Outdoor Skala Pilot dengan Pencahayaan Terang Gelap Alam. *Skripsi*. Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Haryoto dan S. W. Ahmad. 2007. Tingkat Toksisitas Limbah Cair Pulp dan Kertas PT. Blabak Magelang Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan dan Kadar Protein Biji Tanaman Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris L*). Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Hayati, N. 2011. Uji Efektivitas Wastetreat™ Untuk Bioremediasi Logam Berat Dalam Sludge Pabrik Kertas Deinking. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.

Healey F. P. 1973. Inorganic Nutrient Uptake and Deficiency In Algae. *CRC Critical Review In Microbiology*, 69-113

Husni, H dan Esmiralda. 2010. Uji Toksisitas Akut Limbah Cair Industri Tahuterhadap Ikan Mas (*Cyprinus Carpio Lin*). Jurusan Teknik Lingkungan, Universitas Andalas. Padang.

Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton untuk Pembenihan Organisme Laut. Kanisius. Jakarta.

Isyuniarto., W. Usada dan A. Purwadi. 2007. Degradasi Limbah Cair Industri Kertas Menggunakan Oksidan Ozon dan Kapur. *Prosiding PPI*: Yogyakarta.

Jainuri, M. 2012. Analisis Data Komparative (Anova). Aplikasi Komputer (SPSS).

Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. Fakultas Teknik Universitas Negeri Yogyakarta

Jenova, R. 2009. Uji Toksisitas Akut yang di Ukur dengan Penentuan LD₅₀ Ekstrak Putri Malu terhadap Mencit. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro: Semarang.

Johnston, P., R. L. Stringer., D. Santillo., A.D. Stephenson., I.P. Labounskaia dan H.M.A. McCartney. 1996. Towards Zero-Effluent Pulp and Paper Production. Greenpeace Research Laboratories. Earth Resource Centre. University of Exeter. UK.

- Joyce, T.W dan W.H Petke. 1983. Effluent Decolorization Technologies For The Pulp And Paper Industry. Departement of Wood and Paper Science, Nort Carolina State University Raleigh, NC USA.
- Kasmidjo, R. B. 1991. Penanganan Limbah Pertanian, Perkebunan dan Industri Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Kaplowitz, N. 2002. Biochemical and Cellular Mechanisms of Toxic Liver Injury. Semin. Liver. Dis. 22: 137-144.
- Kawaroe, M., T. Prartono, A. Sunuddin, D. Wulansari dan D. Augustine. 2010. Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar. IPB Press. Bogor.
- Kiwol, C. B. D. J. 2008. Analisis Logam Berat Merkuri (Hg) Pada Gastropoda Lumpur dan Air Di Teluk Amurang Kabupaten Minahasa Selatan. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Kristen Indonesia.
- Klaassen, C. D. 1986. Toxicology: The Basic Science of Poisons, Mc Millan Publishing Compene, New York.
- Kristanto, P. 2013. Ekologi Industri. Edisi Kedua. Andi Yogyakarta.
- Kumar, H. D dan H. N. A. Singh. 1976. Textbook Of Algae, Second Edition, Affiliated East West PUT Ltd. New Delhi.
- Labina, F. A. P. 1994. Pengaruh Perbedaan Salinitas terhadap Tumbuhan Populasi *Chlorella sp* di Bak-Bak Percobaan. Jurusan Budidaya Perairan. Universitas Hang Tuah. Surabaya
- Lestari, P. A., Haeruddin dan C. Ain. 2014. Karakteristik dan Toksisitaas Limbah Cair Dari Kegiatan Perikanan Di Pasar Kobong, Semarang Terhadap *Chlorella sp. Diponegoro Journal Of Maquares*. Prograam Studi Manajemen Sumber Daya Perairan. Universitas Diponegoro: Semarang.
- Lin Wu, H., R. S. Hseu dan L. P. Lin. 2000. Identification Of *Chlorella Sp.* Isolated Using Ribosomal DNA Sequences. Raduate Institute of Agricultural Chemistry. National Taiwan University. Taipei. Taiwan. Republic of China
- Loomis, T. A. 1987. Toksikologi Dasar. Terjemahan Oleh Donatus I.A., Edisi III. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi UGM, UGM Press. Yogyakarta.
- Martosudarmo dan Wulan .1990. Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murni dan Massal Mikroalga. Proyek Pengembangan Budidaya Udang Situbondo. Situbondo.
- Narimawati, U. 2008. Metodologi Penelitian Kualitatif dan Kuantitatif. Teori dan Aplikasi. Bandung: Agung Media

- Nazir. 2003. Metode Penelitian. Jakarta: Ghalia Indonesia
- Novotny, V dan H. Olem. 1994. Water Quality, Prevention, Identification, and Management Of Diffuse Pollution. New York. Van Nostrand Reinhold.
- Oh Hama, T dan S. Miyachi. 1992. Microalgae Biotechnology. Scientific Publishing. New York.
- Palar, H. 1994. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat. Rineka Cipta. 23-56.
- Pararaja. 2008. Ikan Mas (*Cyprinus caprio Linn*) sebagai *Early Warning System* Pencemaran Lingkungan. Prosiding Seminar Nasional Aplikasi Sains dan Teknologi (SNAST) Periode III. Yogyakarta.
- Rand, G. M. dan S. R. Petrocelli. 1987. Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and Applications. Bioscience.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 101 Tahun 2014 Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya Dan Beracun.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 85 Tahun 1999 Pengelolaan Limbah Perlindungan Dan Pengelolaan Lingkungan Hidup.
- Potter, C., M. Soeparwadi dan A. Gani. 1994. Limbah Cair Berbagai Industri di Indonesia. Sumber Pengendalian dan Baku mutu. Environmental Management Development in Indonesia (EMDI).
- Prescott G.W. 1970. How to Know the Freshwater Algae In Aerobic Culture. Applied and Environmental Microbiology.
- Qonitah, N dan B. Sutijo. 2011. Optimasi Multirespon Pembuatan Kertas di Paper Machine II PT. Adiprima Suraprinta Gresik dengan Pendekatan Metode Fuzzy Logic. Jurusan Statistika. Institut Teknologi Sepuluh Nopember: Surabaya.
- Rahmawati. 2008. Ekotoksitas Biodiesel dari Minyak Jelantah (Sumber: Rumah Makan Cepat Saji) Dengan Bioindikator *Daphnia Magna Linn*. Skripsi. Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah: Jakarta.
- Reynolds, C.S. 1990. The Ecology of Fresh Water Phytoplankton. Cambridge University Press. Cambridge. New York.
- Rohmad, I.B. 2013. Pengelolaan Limbah Cair PG-PS Madukismo sebagai Upaya Pengendalian Pencemaran Lingkungan di Kabupaten Bantul. Skripsi. Universitas Atma Jaya. Jogjakarta.
- Sachlan, M. 1982. Planktonologi. Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Diponegoro. Semarang.

- Salmin. 2005. Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) Sebagai Salah Satu Indikator untuk Menentukan Kualitas Perairan. Volume XXX No. 3, 2005, Hlm. 1-6
- Samudro, G dan S. Mangkoedihardjo. 2009. Ekotoksikologi Teknosfer. Guna Widya. Surabaya.
- Santi, D. N. 2004. Pengelolaan Limbah Cair Pada Industri Penyamakan Kulit Industri Pulp dan Kertas Industri Kelapa Sawit. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Santoso, S. 2009. Panduan Lengkap Menguasai Statistik dengan SPSS 17. PT Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Sastrawijaya, A. T. 1991. Pencemaran Lingkungan. Rineka Cipta: Jakarta.
- Savin, I dan R. Butnaru. 2008. Wastewater Characteristics In Textile Finishing Mills. Environmental Engineering and Management Journal. "Gheorghe Asachi" Technical University of Iasi. Romania.
- Sen B, M.T. Alp dan M.A.T Kocer. 2005. Studies Ongrowth Of Marine Microalgae In Batch Culture: II. Isochrysis Galbana(Haptophyta).Asian Journal Of Plant Sciences. 4(6): 639-641
- Setiawan, B. 2011. Tahapan-Tahapan Dalam Penentuan Tapak Disposasi Limbah Radioaktif Aktivitas Rendah Di Pulau Jawa. Jurnal Teknologi Pengelolaan Limbah (Journal Of Waste Management Technology). Pusat Teknologi Limbah Radioaktif-Batan, Kawasan PUSPIPTEK. Serpong-Tangerang.
- Setiawati, M. D. 2009. Uji Toksisitas Kadmium dan Timbal Pada Mikroalga *Chaetoceros gracilis*. *Skripsi*. Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Setyaningsih, I., Desniar dan E. Purnamasari. 2012. Antimikroba dari *Chaetoceros gracilis* yang Dikultivasi dengan Lama Penyinaran yang Berbeda. *Jurnal Akuatika*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB
- Silva, E. S. da., J. V. B. de Souza dan T. C. B. de Paiva. 2002. Evaluation of Lentinus adodes UEC 2019 Efficiency of Bioremediation an ECF Effluent. CIADICYP Journal 34:1-6
- Smith, L.L., J.M. Fox dan G.D. Treece. 1987. Intensive Algae Culture Techniques. CRC Hand Book of Mariculture, CRC Press. Inc. Boca Ranton. Florida
- Soemirat. 2005. Toksikologi Lingkungan. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.

- Sprague, J.B. 1969. Measurement of Pollutant Toxicity to Fish. I. Bioassay Methods for Acute Toxicity. Fisheries Research Board of Canada. Biological Station. New Brunswic. Canada.
- Subarijanti, H.E.1990. Kesuburan dan Pemupukan Perairan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Sugiharto. 1987. Dasar-Dasar Pengolahan Air Limbah. UI Press Jakarta
- Sugiyono. 2008. Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D. Bandung Alfabeta.
- Sukimin, S. 2007. Penggunaan Index of Biotic Integrity (IBI) untuk Menilai Kualitas Lingkungan Perairan. Jurnal Teknik Lingkungan: Jakarta.
- Sunoko. H. R. A. 2005. The Effect of Pulp Waste on SFG of The Mussels. Environmental Studies Center. Research Institute of Diponegoro University.
- Supiyati., Halauddin dan G. Arianty. 2012. Karakteristik dan Kualitas Air Di Muara Sungai Hitam Provinsi Bengkulu dengan Software Som Toolbox 2. *Jurnal Ilmu Fisika Indonesia*. Jurusan Fisika. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Bengkulu. Bengkulu. Indonesia.
- Suriawiria, U. 1987. Simbiosis dan Karakteristik *Chlorella*. Jakarta: Intermedia.
- Sutamihardja, R. T. M. 1975. Pengetrapan *Chlorella sp* dan Ganggang Lainnya Sebagai Penambah Bahan Makanan di Indonesia. Bull Biokimia. Departemen Biokimia. Fakultas Kedokteran Hewan. IPB. Bogor.
- Sutapa, I.D.A. 1999. Lumpur Aktif: Alternatif Pengolah Limbah Cair. *Jurnal Studi Pembangunan, Kemasyarakatan dan Lingkungan*. Cibinong. 3: 25-38.
- Suyanto dan A. Jihad. 2013. Menjadi Guru Profesional (Strategi Meningkatkan Kualifikasi dan Kualitas Guru di Era Global). Jakarta: Esensi Erlangga Group
- Syarifudin, U. 2011. Proses Pembuatan Pulp dan Kertas. Gramedia. Jakarta
- Tahir, A. 2012. Prinsip Umum Toksikologi Perairan. Gramedia: Jakarta
- Ting Y. P., F. Lawson dan I. G. Prince. 1990. The Uptake of Heavy Metals Ions By Algae. *Australian Journal of Biotechnology*. 4(3):197-200.
- Tjahyo W, Lydia dan S. Hanung. 2002. Biologi Fitoplankton dalam Seri Budidaya Laut No.9. Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. Departemen Kelautan dan Perikanan. Lampung.
- Tjokrokusumo, 1999. Pengantar Enjiniring Lingkungan. Sekolah Tinggi Teknik Lingkungan YLH. Yogyakarta.

- Umniyati, S.R. 1990. Analisa Probit Secara Aritmatis untuk Pengujian Toksisitas Insektisida terhadap Serangga. Fakultas Kedokteran. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2009. Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup.
- Vesilind, P. A., J. J. Pierce dan R. F. Weiner. 1993. Environment Engineering Butterworth-Heinemann. New York.
- Volesky, B. 1990. Biosorption and Biosorbents. In: Volesky, Bohumil ed. *Biosorption of Heavy Metals*. Boca Raton, FL, CRC Press.
- Wahyudi, P. 1999. *Chlorella*: Mikroalga Sumber Protein Sel Tunggal. *Jurnal Sains Dan Teknologi*. 1 (5) : 35-41.
- Wahyudi. 2006. Pengaruh Penggunaan Aerator dan Padat Penebaran Terhadap Efisiensi Pakan dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Linn.) dalam Keramba Jaring Apung Di Waduk Cirata. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Jatinangor
- Wang, C.L., P.C. Michel., S.C. Dawson., S. Kitisakkul., J.A. Baross., J.D.Keasling and D.S. Clark. 1997. Cadmium Removal By a New Strain of *Pseudomonas aeruginosa* in Aerobic Culture. *Applied and Environmental Microbiology*.
- Wardlaw, A.C. 1985. Practical Statistics for Experimental Biologists. John Wiley and Sons, Chichester
- Wardoyo, T. H. 1992. Pengelolaan Kualitas Air Tambak Udang. Makalah Pada Pelatihan Manajemen Tambak Udang dan Hatchery. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, IPB. Bogor.
- Wirosaputro, S. 2002. *Chlorella* untuk Kesehatan Global. Gadjah Mada University Press.
- Wulandari, E dan H.T. Sutanto. 2009. Model Regresi Probit untuk Mengetahui Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Jumlah Penderita Diare di Jawa Timur. Jurusan Matematika. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Surabaya. Surabaya.
- Yanuar, R. 2011. Prosedur Penggunaan *Sound Lux Meter*. Fakultas Teknik. Universitas Brawijaya: Malang.

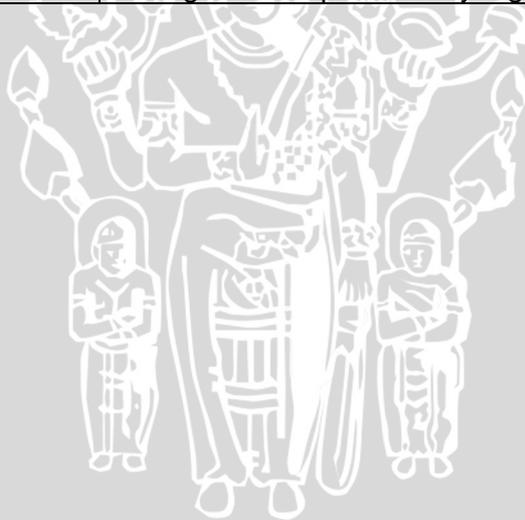
LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Fungsi

Alat	Fungsi
Toples Kaca Kapasitas 3 Liter	Sebagai wadah eksperimen perlakuan mikroalga
Aerator	Sebagai penyuplai oksigen didalam media
Selang aerasi	Sebagai jalan masuknya udara dari aerator
Batu aerasi	Sebagai pembuat gelembung oksigen
Gelas ukur 1000 ml	Sebagai wadah untuk mengukur larutan atau bahan
Gelas ukur 100 ml	Sebagai wadah untuk mengukur larutan atau bahan
Beaker glass 1000 ml	Sebagai wadah takaran limbah yang digunakan pada toples percobaan
Beaker glass 250 ml	Sebagai wadah takaran limbah yang digunakan pada toples percobaan
Pipet tetes	Sebagai alat untuk mengambil larutan dalam skala kecil
Mikroskop okuler	Sebagai alat untuk mengamati kepadatan atau jumlah mikroalga <i>Chlorella vulgaris</i> dengan perbesaran 40x dan 10x
Haemositometer	Sebagai tempat untuk meletakkan objek yang akan diamati
Cover glass	Sebagai penutup objek yang akan diamati pada mikroskop
DO meter	Sebagai alat untuk mengukur kaadar oksigeen terlarut dan suhu pada media
pH meter	Sebagai alat untuk mengukur derajat keasaman pada media
Lux meter	Sebagai alat ukur untuk mengukur intensitas cahaya pada saat penelitian
Lampu tubular (<i>Tubular Lamp</i>) 36 Watt	Sebagai sumber cahaya bagi mikroalga <i>Chlorella vulgaris</i>
Papan kayu	Sebagai alat untuk peletakkan lampu
Nampan	Sebagai tempat untuk meletakkan alat dan bahan
Spatula	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
Botol semprot	Sebagai wadah aquades
Dirigen kapasitas 5 liter	Sebagai wadah sementara limbah cair pabrik kertas
Timbangan digital	Sebagai alat untuk mengukur sampel Na tiosulfat
Sprayer	Sebagai wadah alkohol 75%
Kabel roll	Sebagai sumber listrik

Lampiran 2. Bahan dan Fungsi

Bahan	Fungsi
<i>Chlorella vulgaris</i>	Sebagai objek penelitian yang akan diamati
Kertas label	Sebagai bahan untuk memberi tanda pada sampel perlakuan
Air tawar	Sebagai media hidup <i>Chlorella vulgaris</i>
Aquades	Sebagai larutan untuk mengencerkan larutan serta kalibrasi alat
Tissue	Sebagai bahan untuk membersihkan alat
Alkohol 75%	Sebagai larutan sterilisasi awal pada tempat media
Plastik	Sebagai bahan untuk penutup toples
Karet	Sebagai bahan untuk mengikat plastic pada toples
Trash Bag	Sebagai bahan untuk menutup perlakuan
Chlorine	Sebagai larutan untuk sterilisasi media
Natrium tiosulfat	Sebagai larutan untuk menetralkan chlorine
Pupuk walne	Sebagai pakan untuk pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>
Vitamin	Sebagai nutrisi tambahan untuk <i>Chlorella vulgaris</i>
Limbah cair pabrik kertas	Sebagai bahan pencemar yang diuji



Lampiran 3. Tabel Skala Logaritmik

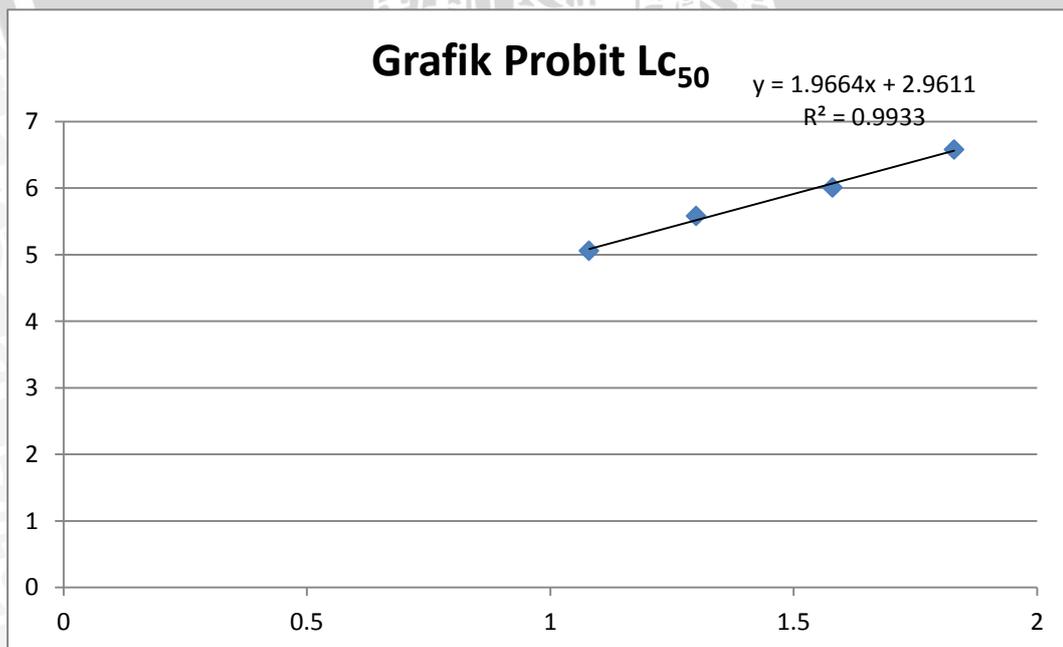
Menurut Guthrie dan Perry (1980), skala konsentrasi yang dapat digunakan untuk menentukan variasi konsentrasi pada perlakuan suatu bioassay adalah interval progressive bisection pada suatu skala logaritmik. Adapun skala variasi konsentrasi perlakuan yang diperoleh dari uji pendahuluan Uji Toksisitas Limbah Cair Kertas Terhadap Kepadatan *Chlorella vulgaris* Pada Bak-Bak Percobaan adalah sebagai berikut

Kolom				
1	2	3	4	5
9	-	-	-	-
-	-	-	-	7.83
-	-	-	6.75	-
-	-	-	-	5.85
-	-	5.04	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	3.78	-
-	-	-	-	3.33
-	2.88	-	-	-
-	-	-	-	2.52
-	-	-	2.16	-
-	-	-	-	1.89
-	-	1.62	-	-
-	-	-	-	1.395
-	-	-	1.215	-
-	-	-	-	1.035
0.9	-	-	-	-

Lampiran 4. Analisa Probit

Adapun tabel hasil analisa probit *Chlorella vulgaris* hasil uji sesungguhnya dari Uji Toksisitas Limbah Cair Kertas Terhadap Kepadatan *Chlorella vulgaris* Pada Bak-Bak Percobaan yang dipapar oleh limbah cair kertas selama 96 jam adalah sebagai berikut

Konsentrasi (%)	Konsentrasi (ml/l)	Log ₁₀ Konsentrasi	Kepadatan Awal (sel/ml)	Mortalitas (sel/ml)	% Mortalitas	Probit
0	0	0	1.25×10^6	0	0	0
1.215	12.15	1.08	1.25×10^6	0.658×10^6	52.64	5.06
2.16	21.6	1.3	1.25×10^6	0.888×10^6	71.04	5.58
3.78	37.8	1.58	1.25×10^6	1.058×10^6	84.64	6.01
6.75	67.5	1.83	1.25×10^6	117.5×10^6	94	6.58



Dari grafik probit diatas diperoleh rumus regresi sebagai berikut

$$y = 2.0325x + 2,9611$$

diasumsikan nilai probit 5, maka:

$$y = 1,9664x + 2,9611$$

$$5 = 1,9664x + 2,9611$$

$$5 - 2,9611 = 1,9664x$$

$$2,00389 = 1,9664x$$

$$x = \frac{1,9664}{2,00389}$$

$$x = 0,98129139$$

$$LC_{50-96Jam} = \text{antilog } x$$

$$= \text{antilog } 0,98129139$$

$$= 9,57 \text{ ml/l.}$$

Darii hasil perhitungan diatas, maka dapat dikatakan bahwa kepadatan *Chlorella vulgaris* akan menurun atau mengalami mortalitas sebesar 50%, setelah dipapar oleh limbah cair pabrik kertas selama 96 jam pada konsentrasi 9,57 ml/l.

Lampiran 5. Tabel Transformasi Probit (Finney, 1992)

z	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
0		1.9368	2.1718	2.2527	2.3479	2.4242	2.4879	2.5427	2.5911	2.6344
1	2.6737	2.7096	2.7429	2.7738	2.8027	2.8299	2.8556	2.8799	2.9031	2.9251
2	2.9463	2.9665	2.9856	3.0046	3.0226	3.0400	3.0569	3.0732	3.0890	3.1043
3	3.1192	3.1337	3.1478	3.1616	3.175	3.1881	3.2009	3.2134	3.2256	3.2376
4	3.2480	3.2608	3.2721	3.2831	3.294	3.3046	3.3151	3.3253	3.3354	3.3454
5	3.3551	3.3648	3.3742	3.3836	3.3928	3.4018	3.4107	3.4196	3.4282	3.4368
6	3.4452	3.4536	3.4618	3.4699	3.478	3.4859	3.4937	3.5015	3.5091	3.5167
7	3.5242	3.5315	3.5389	3.5462	3.5534	3.5605	3.5675	3.5745	3.5813	3.5882
8	3.5949	3.6016	3.6083	3.6148	3.6213	3.6278	3.6342	3.6405	3.6468	3.6531
9	3.6592	3.6654	3.6715	3.6775	3.6835	3.6894	3.6953	3.7012	3.707	3.7127
10	3.7184	3.7241	3.7298	3.7354	3.7409	3.7464	3.7519	3.7574	3.7628	3.7681
11	3.7735	3.7788	3.784	3.7893	3.7945	3.7998	3.8048	3.8099	3.815	3.82
12	3.825	3.83	3.835	3.8396	3.8448	3.8497	3.8545	3.8593	3.8641	3.8689
13	3.8736	3.8783	3.883	3.8877	3.8923	3.8969	3.9015	3.9061	3.9107	3.9152
14	3.9197	3.9242	3.9286	3.9331	3.9375	3.9419	3.9463	3.9508	3.955	3.9593
15	3.9636	3.9678	3.9721	3.9763	3.9806	3.9848	3.989	3.9931	3.9973	4.0014
16	4.0055	4.0096	4.0137	4.0178	4.0218	4.0259	4.0299	4.0339	4.0379	4.0419
17	4.0458	4.0498	4.0537	4.0576	4.0615	4.0654	4.0693	4.0731	4.077	4.0808
18	4.0846	4.0884	4.0922	4.096	4.0998	4.1035	4.1073	4.1111	4.1147	4.1184
19	4.1221	4.1258	4.1295	4.1331	4.1367	4.1404	4.144	4.1475	4.1512	4.1548
20	4.1584	4.1619	4.1655	4.169	4.1726	4.1761	4.1796	4.1831	4.1866	4.1901
21	4.1936	4.197	4.2005	4.2039	4.2074	4.2108	4.2142	4.2176	4.221	4.2244
22	4.2278	4.2312	4.2345	4.2379	4.2412	4.2446	4.2479	4.2512	4.2546	4.2579
23	4.2612	4.2644	4.2677	4.271	4.2743	4.2775	4.2808	4.284	4.2872	4.2905
24	4.2937	4.2969	4.3001	4.3033	4.3065	4.3097	4.3129	4.316	4.3192	4.3224
25	4.3256	4.3287	4.3318	4.3349	4.338	4.3412	4.3443	4.3474	4.3505	4.3536
26	4.3567	4.3597	4.3628	4.3659	4.3689	4.372	4.375	4.3781	4.3811	4.3842
27	4.3872	4.3902	4.3932	4.3962	4.3992	4.4022	4.4052	4.4082	4.4112	4.4142
28	4.4172	4.4201	4.4231	4.426	4.429	4.4319	4.4349	4.4378	4.4406	4.4437
29	4.4466	4.4495	4.4524	4.4554	4.4583	4.4612	4.4641	4.467	4.4699	4.4727
30	4.4756	4.4785	4.4813	4.4842	4.4871	4.4899	4.4928	4.4956	4.4985	4.5013
31	4.5041	4.507	4.5098	4.5126	4.5155	4.5183	4.5211	4.5239	4.5267	4.5295
32	4.5323	4.5351	4.5379	4.5407	4.5435	4.5462	4.549	4.5518	4.5546	4.5573
33	4.5601	4.5628	4.5656	4.5684	4.5711	4.5738	4.5766	4.5793	4.5821	4.5848
34	4.5875	4.5903	4.593	4.5957	4.5984	4.6011	4.6039	4.6066	4.6093	4.612
35	4.6147	4.6174	4.6201	4.6228	4.6255	4.6281	4.6308	4.6335	4.6362	4.6389
36	4.6415	4.6442	4.6469	4.6495	4.6522	4.6549	4.6575	4.6602	4.6628	4.6655
37	4.6681	4.6708	4.6734	4.6761	4.6787	4.6814	4.684	4.6866	4.6892	4.6919
38	0.6945	4.6971	4.6998	4.7024	4.705	4.7075	4.7102	4.7129	4.7155	4.7181
39	4.7207	4.7233	4.7259	4.7285	4.7311	4.7337	4.7363	4.7389	4.7415	4.7441
40	4.7467	4.7492	4.7518	4.7544	4.757	4.7596	4.7622	4.7647	4.7673	4.7699
41	4.7725	4.775	4.7776	4.7802	4.7827	4.7853	4.7879	4.7904	4.793	4.7955
42	4.7981	4.8007	4.8032	4.8058	4.8083	4.8109	4.8134	4.816	4.8185	4.8211
43	4.8236	4.8262	4.8287	4.8313	4.8338	4.8363	4.8389	4.8414	4.844	4.8465
44	4.849	4.8516	4.8541	4.8566	4.8592	4.8617	4.8642	4.8668	4.8693	4.8718
45	4.8743	4.8769	4.8794	4.8819	4.8844	4.887	4.8895	4.892	4.8945	4.897
46	4.8996	4.9021	4.9046	4.9071	4.9096	4.9122	4.9147	4.9172	4.9197	4.9222
47	4.9247	4.9272	4.9298	4.9323	4.9348	4.9373	4.9398	4.9423	4.9448	4.9473
48	4.9498	4.9524	4.9549	4.9574	4.9599	4.9624	4.9649	4.9674	4.9699	4.9724
49	4.9749	4.9774	4.9799	4.9825	4.985	4.9875	4.99	4.9925	4.995	4.9975
50	5.0000	5.0025	5.005	5.0075	5.01	5.0125	5.015	5.0175	5.0201	5.0226
51	5.0251	5.0276	5.0301	5.0326	5.0351	5.0375	5.0401	5.0426	5.0451	5.0476
52	5.0502	5.0527	5.0552	5.0577	5.0602	5.0627	5.0652	5.0677	5.0702	5.0727
53	5.0753	5.0778	5.0803	5.0828	5.0853	5.0878	5.0904	5.0929	5.0954	5.0979
54	5.1004	5.103	5.1055	5.108	5.1105	5.113	5.1156	5.1181	5.1206	5.1231
55	5.1257	5.1282	5.1307	5.1332	5.1358	5.1383	5.1408	5.1434	5.1459	5.1484
56	5.151	5.1535	5.156	5.1586	5.1611	5.1637	5.1662	5.1688	5.1713	5.1738

Lanjutan Lampiran 5. Tabel Transformasi Probit (Finney, 1992)

57	5.1754	5.1789	5.181	5.184	5.1866	5.1891	5.1917	5.1942	5.1966	5.1993
58	5.2019	5.2045	5.207	5.2096	5.2121	5.2147	5.2173	5.2198	5.2224	5.225
59	5.2275	5.2301	5.2327	5.2353	5.2378	5.2404	5.243	5.2456	5.2482	5.2508
60	5.2533	5.2559	5.2585	5.2611	5.2637	5.2666	5.2689	5.2715	5.2741	5.2767
61	5.2793	5.2819	5.2845	5.2871	5.2898	5.2924	5.295	5.2976	5.3002	5.3029
62	5.3056	5.3081	5.3107	5.3134	5.316	5.3186	5.3213	5.3239	5.3266	5.3292
63	5.3319	5.3345	5.3372	5.3398	5.3425	5.3451	5.3478	5.3505	5.3531	5.3558
64	5.3585	5.3611	5.3638	5.3665	5.3692	5.3719	5.3745	5.3772	5.3799	5.3826
65	5.3853	5.388	5.3907	5.3934	5.3961	5.3989	5.4016	5.4043	5.407	5.4097
66	5.4125	5.4152	5.4179	5.4207	5.4234	5.4261	5.4289	5.4316	5.4344	5.4372
67	5.4399	5.4427	5.4454	5.4482	5.451	5.4538	5.4565	5.4593	5.4621	5.4649
68	5.4677	5.4705	5.4733	5.4761	5.4789	5.4817	5.4845	5.4874	5.4902	5.493
69	5.4959	5.4987	5.5015	5.5044	5.5072	5.5101	5.5129	5.5158	5.5187	5.5215
70	5.5244	5.5273	5.5302	5.533	5.5358	5.5388	5.5417	5.5446	5.5476	5.5505
71	5.5534	5.5563	5.5592	5.5622	5.5651	5.5681	5.571	5.574	5.577	5.5799
72	5.5828	5.5858	5.5888	5.5918	5.5948	5.5978	5.6008	5.6038	5.6068	5.6098
73	5.6128	5.6158	5.6189	5.6219	5.625	5.628	5.6311	5.6341	5.6372	5.6403
74	5.6433	5.6464	5.6495	5.6526	5.6557	5.6588	5.662	5.6651	5.6682	5.6713
75	5.6745	5.6776	5.6808	5.684	5.6871	5.6903	5.6935	5.6967	5.6999	5.7031
76	5.7063	5.7096	5.7128	5.716	5.7192	5.7225	5.7257	5.729	5.7323	5.7356
77	5.7388	5.7421	5.7454	5.7488	5.7521	5.7554	5.7588	5.7621	5.7655	5.7688
78	5.7722	5.7756	5.779	5.7824	5.7858	5.7892	5.7926	5.7961	5.7995	5.803
79	5.8064	5.8099	5.8134	5.8169	5.8204	5.8238	5.8274	5.831	5.8345	5.8381
80	5.8416	5.8452	5.8488	5.8524	5.856	5.8596	5.8633	5.8669	5.8705	5.8742
81	5.8775	5.8816	5.8853	5.889	5.8927	5.8965	5.9002	5.904	5.9078	5.9115
82	5.9154	5.9192	5.923	5.9269	5.9307	5.9346	5.9385	5.9424	5.9463	5.9502
83	5.9542	5.9581	5.9621	5.9661	5.9701	5.9741	5.9782	5.9822	5.9863	5.9904
84	5.9945	5.9986	6.0027	6.0069	6.011	6.0152	6.0194	6.0237	6.0279	6.0322
85	6.0364	6.0407	6.045	6.0494	6.0537	6.0581	6.0625	6.0669	6.0714	6.0758
86	6.0803	6.0848	6.0893	6.0939	6.0985	6.1031	6.1077	6.1123	6.117	6.1217
87	6.1254	6.1311	6.1359	6.1407	6.1455	6.1503	6.1552	6.1601	6.165	6.17
88	6.175	6.18	6.185	6.1901	6.1952	6.2004	6.2055	6.2107	6.216	6.2212
89	6.2265	6.2319	6.2372	6.2428	6.2481	6.2536	6.2591	6.2646	6.2702	6.2759
90	6.2815	6.2873	6.293	6.2988	6.3047	6.3106	6.3165	6.3225	6.3285	6.3346
91	6.3408	6.3469	6.3532	6.3595	6.3658	6.3722	6.3787	6.3852	6.3917	6.3984
92	6.4051	6.4118	6.4187	6.4256	6.4325	6.4395	6.4466	6.4538	6.4611	6.4684
93	6.4758	6.4833	6.4909	6.4985	6.5063	6.5141	6.522	6.5301	6.5382	6.5464
94	6.5548	6.5632	6.5718	6.5805	6.5893	6.5982	6.6072	6.6164	6.6256	6.6352
95	6.6449	6.6546	6.6645	6.6747	6.6849	6.6954	6.706	6.7169	6.7279	6.7392
96	6.7507	6.7524	6.7744	6.7866	6.7991	6.8119	6.825	6.8384	6.8522	6.8663
97	6.8808	6.8957	6.911	6.9268	6.9431	6.96	6.9774	6.9954	7.0141	7.0335
98	7.2537	7.0749	7.0925	7.1201	7.1444	7.1707	7.1973	7.2262	7.2571	7.2904
99	7.3293	7.3656	7.4037	7.4571	7.512	7.5758	7.652	7.7478	7.8782	8.0382

Lampiran 6. Hasil Uji Anova

Descriptives

Mortalitas *Chlorella vulgaris*

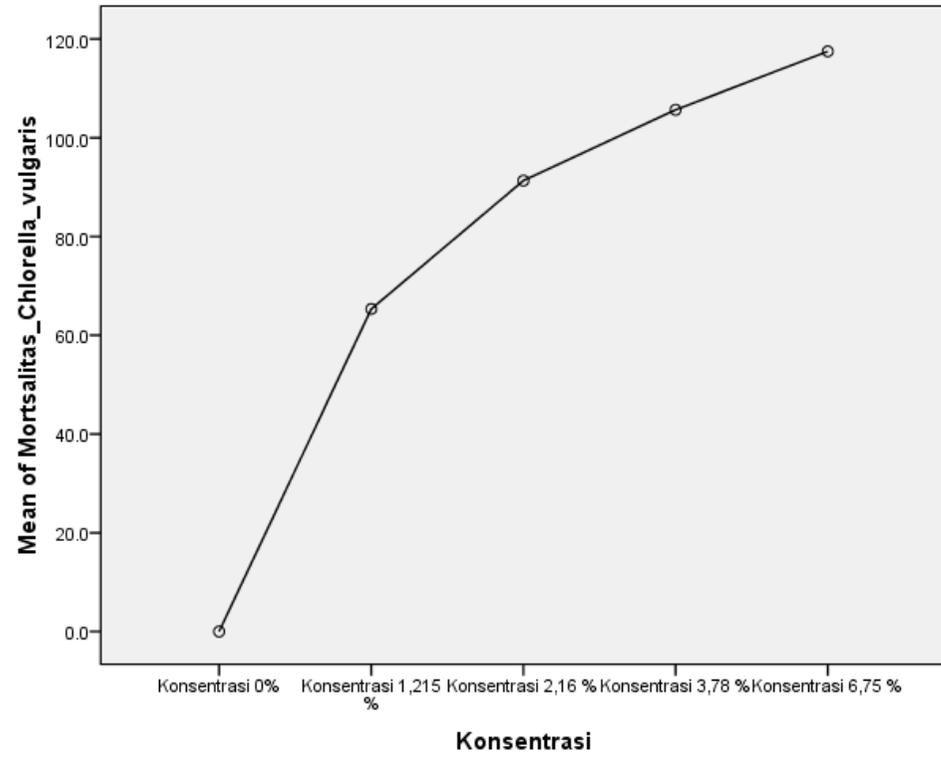
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Konsentrasi 0%	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
Konsentrasi 1,215 %	3	65.333	7.6376	4.4096	46.360	84.306	57.0	72.0
Konsentrasi 2,16 %	3	91.333	4.0415	2.3333	81.294	101.373	87.0	95.0
Konsentrasi 3,78 %	3	105.667	6.0277	3.4801	90.693	120.640	100.0	112.0
Konsentrasi 6,75 %	2	117.500	3.5355	2.5000	85.734	149.266	115.0	120.0
Total	14	73.000	43.4724	11.6185	47.900	98.100	.0	120.0

ANOVA

Mortalitas *Chlorella vulgaris*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24333.500	4	6083.375	233.477	.000
Within Groups	234.500	9	26.056		
Total	24568.000	13			

Grafik Hasil Uji Anova



Lampiran 7. Tabel Pengamatan Kepadatan *Chlorella vulgaris* setiap 8 Jam Sekali

Konsentrasi (%)	Kepadatan <i>Chlorella vulgaris</i> (sel/ml)													Mortalitas (sel/ml)	% Mortalitas
	Jam ke-														
	0	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96		
0 (A)	1.25 x 10 ⁶	1.275 x 10 ⁶	1.35 x 10 ⁶	1.50 x 10 ⁶	1.85 x 10 ⁶	2.00 x 10 ⁶	2.10 x 10 ⁶	2.20 x 10 ⁶	2.50 x 10 ⁶	3.95 x 10 ⁶	6.625 x 10 ⁶	7.75 x 10 ⁶	9.00 x 10 ⁶	0	0
0 (B)	1.25 x 10 ⁶	1.55 x 10 ⁶	1.725 x 10 ⁶	1.80 x 10 ⁶	1.90 x 10 ⁶	1.975 x 10 ⁶	2.025 x 10 ⁶	2.50 x 10 ⁶	3.575 x 10 ⁶	5.75 x 10 ⁶	7.00 x 10 ⁶	8.75 x 10 ⁶	9.50 x 10 ⁶	0	0
0 (C)	1.25 x 10 ⁶	1.725 x 10 ⁶	1.8 x 10 ⁶	2.05 x 10 ⁶	2.175 x 10 ⁶	2.35 x 10 ⁶	2.475 x 10 ⁶	3.25 x 10 ⁶	4.75 x 10 ⁶	5.50 x 10 ⁶	6.75 x 10 ⁶	7.25 x 10 ⁶	8.50 x 10 ⁶	0	0
1.215 (A)	1.25 x 10 ⁶	1.225 x 10 ⁶	1.20 x 10 ⁶	1.15 x 10 ⁶	1.10 x 10 ⁶	0.925 x 10 ⁶	0.875 x 10 ⁶	0.80 x 10 ⁶	0.725 x 10 ⁶	0.70 x 10 ⁶	0.65 x 10 ⁶	0.60 x 10 ⁶	0.575 x 10 ⁶	0.675 x 10 ⁶	54
1,215 (B)	1.25 x 10 ⁶	1.175 x 10 ⁶	1.15 x 10 ⁶	1.10 x 10 ⁶	0.95 x 10 ⁶	0.875 x 10 ⁶	0.80 x 10 ⁶	0.725 x 10 ⁶	0.65 x 10 ⁶	0.625 x 10 ⁶	0.60 x 10 ⁶	0.55 x 10 ⁶	0.525 x 10 ⁶	0.725 x 10 ⁶	58
1,215 (C)	1.25 x 10 ⁶	1.20 x 10 ⁶	1.175 x 10 ⁶	1.025 x 10 ⁶	1.00 x 10 ⁶	0.925 x 10 ⁶	0.875 x 10 ⁶	0.805 x 10 ⁶	0.775 x 10 ⁶	0.725 x 10 ⁶	0.705 x 10 ⁶	0.65 x 10 ⁶	0.675 x 10 ⁶	0.575 x 10 ⁶	46

2.16 (A)	1.25 $\times 10^6$	0.95 $\times 10^6$	0.875 $\times 10^6$	0.80 $\times 10^6$	0.725 $\times 10^6$	0.65 $\times 10^6$	0.60 $\times 10^6$	0.55 $\times 10^6$	0.50 $\times 10^6$	0.45 $\times 10^6$	0.425 $\times 10^6$	0.325 $\times 10^6$	0.30 $\times 10^6$	0.95×10^6	76
2,16 (B)	1.25 $\times 10^6$	0.975 $\times 10^6$	0.85 $\times 10^6$	0.775 $\times 10^6$	0.705 $\times 10^6$	0.675 $\times 10^6$	0.625 $\times 10^6$	0.55 $\times 10^6$	0.525 $\times 10^6$	0.50 $\times 10^6$	0.45 $\times 10^6$	0.425 $\times 10^6$	0.375 $\times 10^6$	0.875×10^6	70
2,16 (C)	1.25 $\times 10^6$	0.875 $\times 10^6$	0.805 $\times 10^6$	0.725 $\times 10^6$	0.675 $\times 10^6$	0.60 $\times 10^6$	0.525 $\times 10^6$	0.475 $\times 10^6$	0.45 $\times 10^6$	0.425 $\times 10^6$	0.40 $\times 10^6$	0.375 $\times 10^6$	0.325 $\times 10^6$	0.925×10^6	74
3.78 (A)	1.25 $\times 10^6$	0.90 $\times 10^6$	0.85 $\times 10^6$	0.775 $\times 10^6$	0.705 $\times 10^6$	0.675 $\times 10^6$	0.55 $\times 10^6$	0.475 $\times 10^6$	0.375 $\times 10^6$	0.30 $\times 10^6$	0.275 $\times 10^6$	0.25 $\times 10^6$	0.125 $\times 10^6$	1.125×10^6	90
3,78 (B)	1.25 $\times 10^6$	0.875 $\times 10^6$	0.805 $\times 10^6$	0.775 $\times 10^6$	0.725 $\times 10^6$	0.705 $\times 10^6$	0.625 $\times 10^6$	0.575 $\times 10^6$	0.50 $\times 10^6$	0.475 $\times 10^6$	0.425 $\times 10^6$	0.30 $\times 10^6$	0.25 $\times 10^6$	1.0×10^6	80
3,78 (C)	1.25 $\times 10^6$	0.80 $\times 10^6$	0.775 $\times 10^6$	0.725 $\times 10^6$	0.675 $\times 10^6$	0.575 $\times 10^6$	0.50 $\times 10^6$	0.45 $\times 10^6$	0.425 $\times 10^6$	0.35 $\times 10^6$	0.30 $\times 10^6$	0.25 $\times 10^6$	0.20 $\times 10^6$	1.05×10^6	84
6.75 (A)	1.25 $\times 10^6$	0.650 $\times 10^6$	0.60 $\times 10^6$	0.55 $\times 10^6$	0.475 $\times 10^6$	0.45 $\times 10^6$	0.425 $\times 10^6$	0.37 $\times 10^6$	0.30 $\times 10^6$	0.25 $\times 10^6$	0.15 $\times 10^6$	0.125 $\times 10^6$	0.10 $\times 10^6$	1.15×10^6	92
6,75 (B)	1.25 $\times 10^6$	0.675 $\times 10^6$	0.625 $\times 10^6$	0.575 $\times 10^6$	0.50 $\times 10^6$	0.425 $\times 10^6$	0.35 $\times 10^6$	0.325 $\times 10^6$	0.30 $\times 10^6$	0.275 $\times 10^6$	0.10 $\times 10^6$	0.075 $\times 10^6$	0.05 $\times 10^6$	1.2×10^6	96
6,75 (C)	1.25 $\times 10^6$	0.625 $\times 10^6$	0.575 $\times 10^6$	0.55 $\times 10^6$	0.475 $\times 10^6$	0.40 $\times 10^6$	0.375 $\times 10^6$	0.35 $\times 10^6$	0.30 $\times 10^6$	0.275 $\times 10^6$	0.20 $\times 10^6$	0.175 $\times 10^6$	0.075 $\times 10^6$	1.175×10^6	94

Lanjutan Lampiran 7. Tabel Pengamatan Rata-rata Kepadatan *Chlorella vulgaris* setiap 8 Jam Sekali

Konsentrasi (%)	Kepadatan <i>Chlorella vulgaris</i> (sel/ml)													Mortalitas (sel/ml)	% Mortalitas
	Jam ke-														
	0	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96		
0	1.25 x 10 ⁶	1.516 x 10 ⁶	1.625 x 10 ⁶	1.783 x 10 ⁶	1.975 x 10 ⁶	2.108 x 10 ⁶	2.2 x 10 ⁶	2.65 x 10 ⁶	3.608 x 10 ⁶	5.066 x 10 ⁶	6.791 x 10 ⁶	7.916 x 10 ⁶	9 x 10 ⁶	0	0
1.215	1.25 x 10 ⁶	1.2 x 10 ⁶	1.175 x 10 ⁶	1.091 x 10 ⁶	1.016 x 10 ⁶	0.908 x 10 ⁶	0.85 x 10 ⁶	0.776 x 10 ⁶	0.716 x 10 ⁶	0.683 x 10 ⁶	0.651 x 10 ⁶	0.6 x 10 ⁶	0.591 x 10 ⁶	0.658 x 10 ⁶	52.64
2.16	1.25 x 10 ⁶	0.933 x 10 ⁶	0.843 x 10 ⁶	0.766 x 10 ⁶	0.701 x 10 ⁶	0.641 x 10 ⁶	0.583 x 10 ⁶	0.525 x 10 ⁶	0.491 x 10 ⁶	0.458 x 10 ⁶	0.425 x 10 ⁶	0.375 x 10 ⁶	0.362 x 10 ⁶	0.888 x 10 ⁶	71.04
3.78	1.25 x 10 ⁶	0.858 x 10 ⁶	0.81 x 10 ⁶	0.758 x 10 ⁶	0.701 x 10 ⁶	0.651 x 10 ⁶	0.558 x 10 ⁶	0.5 x 10 ⁶	0.433 x 10 ⁶	0.375 x 10 ⁶	0.333 x 10 ⁶	0.267 x 10 ⁶	0.191 x 10 ⁶	1.058 x 10 ⁶	84.64
6.75	1.25 x 10 ⁶	0.65 x 10 ⁶	0.6 x 10 ⁶	0.558 x 10 ⁶	0.483 x 10 ⁶	0.425 x 10 ⁶	0.383 x 10 ⁶	0.348 x 10 ⁶	0.3 x 10 ⁶	0.266 x 10 ⁶	0.15 x 10 ⁶	0.125 x 10 ⁶	0.075 x 10 ⁶	1.175 x 10 ⁶	94

Lampiran 8. Data Hasil Pengukuran Kualitas Air

Konsentrasi (%)	Jam Ke-												
	0	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96
0 (A)	29.1	29.5	29.5	29.1	29.9	29.8	30.6	29.8	30.0	29.6	30.0	30.2	30.2
0 (B)	29.8	29.6	30.2	29.8	29.3	30.2	30.1	30.7	30.9	29.9	30.3	29.2	30.1
0 (C)	30	29.7	30.2	30.0	30.4	30.3	29.0	30.7	30.9	29.9	29.1	29.8	30.5
1.215 (A)	29.7	29.1	30.4	29.5	30.2	30.0	28.4	30.5	29.7	29.7	30.5	30.4	30.1
1.215 (B)	30.8	29.9	29.8	30.2	30.0	30.9	30.8	30.8	30.3	30.6	30.1	30.9	29.8
1.215 (C)	30.1	29.5	30.4	29.6	30.3	29.3	30.0	30.9	30.7	29.8	29.6	30.9	29.7
2.16 (A)	29.5	29.3	30.3	29.4	30.3	30.0	30.2	30.5	30.3	28.9	30.5	29.3	30.7
2.16 (B)	30.2	29.7	30.5	30.0	30.2	30.4	31.2	30.5	30.5	30.7	30.7	30.5	29.7
2.16 (C)	29.6	29.1	29.9	30.2	30.4	30.2	29.5	30.5	30.4	29.7	29.6	30.6	30.6
3.78 (A)	29.4	29.5	30.0	30.2	30.1	30.3	30.6	30.7	30.5	29.7	30.9	30.8	29.7
3.78 (B)	30	29.4	30.4	30.3	30.4	30.7	30.5	30.9	30.7	30.2	30.2	30.5	29.8
3.78 (C)	30.2	29.6	30.8	29.3	30.9	30.5	28.4	30.7	29.3	30.2	30.9	30.9	30.9
6.75 (A)	30.2	29.7	30.9	29.7	30.9	30.8	30.5	30.2	30.1	30.5	30.1	30.2	29.5
6.75 (B)	30.3	29.7	30.6	30.8	30.8	30.6	30.7	31.0	29.7	30.3	30.2	30.0	29.4
6.75 (C)	29.3	29.0	29.9	30.1	30.1	30.0	29.6	30.4	30.4	29.6	30.4	30.6	30.0

Data Hasil Pengukuran Suhu (°C)

Lanjutan Lampiran 9. Data Hasil Pengukuran Kualitas Air

Data Hasil Pengukuran pH

Konsentrasi (%)	Jam Ke-												
	0	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96
0 (A)	7.15	7.40	7.34	7.14	7.15	7.47	7.50	7.34	7.38	7.24	7.43	7.45	7.23
0 (B)	7.16	7.23	7.25	7.16	7.04	7.31	7.21	7.18	7.20	7.31	7.29	7.30	7.15
0 (C)	7.19	7.18	7.19	7.14	7.10	7.35	7.01	7.03	7.15	7.43	7.20	7.25	7.24
1.215 (A)	7.45	7.60	7.57	7.25	7.67	7.78	7.57	7.55	7.57	7.50	7.68	7.70	7.54
1.215 (B)	7.52	7.54	7.39	7.24	7.56	7.69	7.51	7.41	7.55	7.49	7.59	7.67	7.37
1.215 (C)	7.65	7.60	7.65	7.21	7.58	7.76	7.44	7.52	7.54	7.39	7.64	7.65	7.34
2.16 (A)	7.89	7.70	7.65	7.45	7.58	7.89	7.86	7.67	7.69	7.67	7.78	7.82	7.89
2.16 (B)	7.64	7.67	7.67	7.40	7.67	7.80	7.86	7.63	7.64	7.89	7.69	7.75	7.65
2.16 (C)	7.98	7.71	7.87	7.46	7.85	7.89	7.82	7.81	7.65	7.68	7.74	7.82	7.76
3.78 (A)	8.00	7.92	8.09	7.67	8.01	8.08	7.89	7.89	7.90	7.89	7.99	8.04	7.98
3.78 (B)	8.02	7.96	8.02	7.78	7.94	8.11	7.82	7.89	7.90	7.91	8.00	8.09	7.89
3.78 (C)	8.04	8.10	8.04	7.71	7.99	8.17	7.91	7.98	7.99	7.95	8.11	8.15	7.91
6.75 (A)	7.15	7.40	7.34	7.14	7.15	7.47	7.50	7.34	7.38	7.24	7.43	7.45	7.23
6.75 (B)	7.16	7.23	7.25	7.16	7.04	7.31	7.21	7.18	7.20	7.31	7.29	7.30	7.15
6.75 (C)	7.19	7.18	7.19	7.14	7.10	7.35	7.01	7.03	7.15	7.43	7.20	7.25	7.24

Lanjutan Lampiran 10. Data Hasil Pengukuran Kualitas Air

Data Hasil Pengukuran DO (Oksigen Terlarut)

Konsentrasi (%)	Jam Ke-												
	0	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96
0 (A)	4.22	5.19	5.79	5.09	5.50	5.70	4.86	5.29	5.44	6.00	4.94	5.38	5.28
0 (B)	5.23	5.19	6.44	5.31	5.07	5.80	5.03	5.81	4.14	4.53	4.88	4.75	5.11
0 (C)	5.25	5.28	6.11	5.38	6.18	5.66	5.22	4.80	4.16	4.48	4.87	4.82	4.87
1.215 (A)	4.21	5.72	6.22	5.32	4.38	4.12	5.17	5.96	5.04	4.84	4.94	5.51	5.47
1.215 (B)	4.41	5.27	5.92	5.27	5.89	5.45	5.10	5.36	5.45	5.11	4.31	4.51	5.13
1.215 (C)	4.47	5.15	6.02	5.10	4.72	6.08	5.16	6.57	5.44	5.85	5.06	5.12	4.86
2.16 (A)	4.20	5.43	6.23	4.51	5.93	4.21	5.00	4.51	5.61	5.76	4.64	5.99	5.91
2.16 (B)	4.56	5.32	6.15	5.24	6.65	4.61	4.89	5.65	4.92	5.48	4.15	4.17	5.30
2.16 (C)	4.59	4.71	6.39	5.51	5.74	5.64	5.06	6.37	5.49	4.99	4.76	4.85	4.64
3.78 (A)	5.18	5.35	6.45	4.47	5.53	5.96	5.31	5.77	4.43	5.12	4.62	5.15	5.14
3.78 (B)	4.54	5.38	6.01	5.60	5.95	5.37	5.06	6.60	5.36	4.03	5.94	4.01	5.85
3.78 (C)	4.70	4.34	6.16	5.40	5.42	4.61	4.86	4.37	5.29	6.01	4.70	4.97	4.44
6.75 (A)	5.04	5.88	6.11	5.24	5.88	5.58	4.78	5.38	4.86	5.28	4.74	5.05	5.55
6.75 (B)	4.42	6.48	6.00	5.31	5.62	5.68	5.01	5.77	5.50	5.04	4.78	5.43	5.00
6.75 (C)	4.89	5.23	6.06	5.43	5.43	5.12	5.64	6.04	5.04	5.76	4.75	4.45	4.68

Lampiran 11. Hasil Uji Limbah Cair Pabrik Kertas



Lampiran. 12 Baku Mutu Limbah Cair Kertas

LAMPIRAN I PERATURAN GUBERNUR JAWA TIMUR
 NOMOR : 72 TAHUN 2013
 TANGGAL : 16 OKTOBER 2013

**BAKU MUTU AIR LIMBAH
 BAGI INDUSTRI KIMIA ORGANIK DAN TURUNANNYA**

Industri Pulp dan Kertas

BAKU MUTU AIR LIMBAH UNTUK INDUSTRI PULP DAN KERTAS					
Jenis Produk	Volume Max (M ³ /ton)	Parameter Kadar Maksimum (mg/L)			
		BOD ₅	COD	TSS	Pb
A. Produk Pulp					
- Kraft dikelantang	80	100	300	100	-
- Pulp Larut	90	100	300	100	-
- Kraft yang tidak dikelantang	50	75	200	60	-
- Kimia Mekanik dan Ground Wood	60	50	120	75	-
- Semi Kimia	70	100	200	100	-
- Pulp Soda	80	100	300	100	-
- Deinking Pulp (dari kertas bekas)	60	100	300	100	0,1
B. Produk Sampai Kertas					
- Kertas Halus	130	100	250	100	0,1
- Kertas Kasar	90	80	200	80	-
- Kertas Sigaret	170	60	185	70	-
- Kertas lain yang dikelantang	95	80	160	80	0,1
pH		6 - 9			

2. Industri Kertas

BAKU MUTU AIR LIMBAH UNTUK INDUSTRI KERTAS					
Jenis Produk Kertas	Volume Max (M ³ /ton)	Parameter Kadar Maksimum (mg/L)			
		BOD ₅	COD	TSS	Pb ⁺)
- Kertas Halus	50	70	150	70	0,1
- Kertas Kasar	40	70	150	70	-
- Kertas Sigaret	80	30	70	35	-
- Kertas lain yang dikelantang	35	70	150	70	0,1
pH		6 - 9			

LAMPIRAN A.V

BAKU MUTU LIMBAH CAIR UNTUK INDUSTRI PULP DAN KERTAS

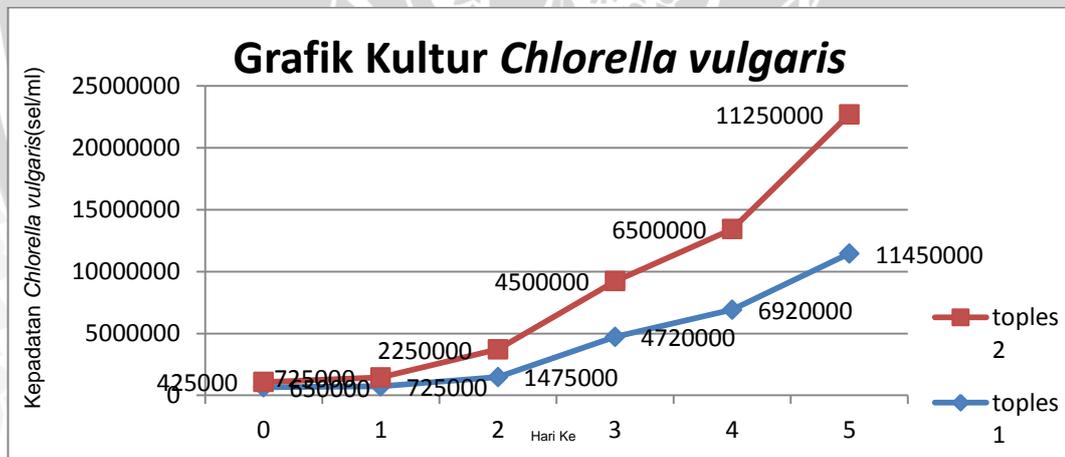
PARAMETER	PABRIK PULP		PABRIK KERTAS		PABRIK PULP DAN KERTAS	
	KADAR MAKSIMUM (mg/L)	BEBAN PENCEMARAN MAKSIMUM (kg/ton)	KADAR MAKSIMUM (mg/L)	BEBAN PENCEMARAN MAKSIMUM (kg/ton)	KADAR MAKSIMUM (mg/L)	BEBAN PENCEMARAN MAKSIMUM (kg/ton)
BOD ₅	150	15	125	10	150	25,5
COD	350	35	250	20	350	59,5
TSS	200	20	125	10	150	25,5
pH	6,0 - 9,0		6,0 - 9,0		6,0 - 9,0	
Debit Limbah Maksimum	100 m ³ per ton pulp kering		80 m ³ per ton produk kertas kering		170 m ³ per ton produk kertas kering	



Lampiran 13. Hasil Kultur *Chlorella Vulgaris*

KULTUR STOK 1

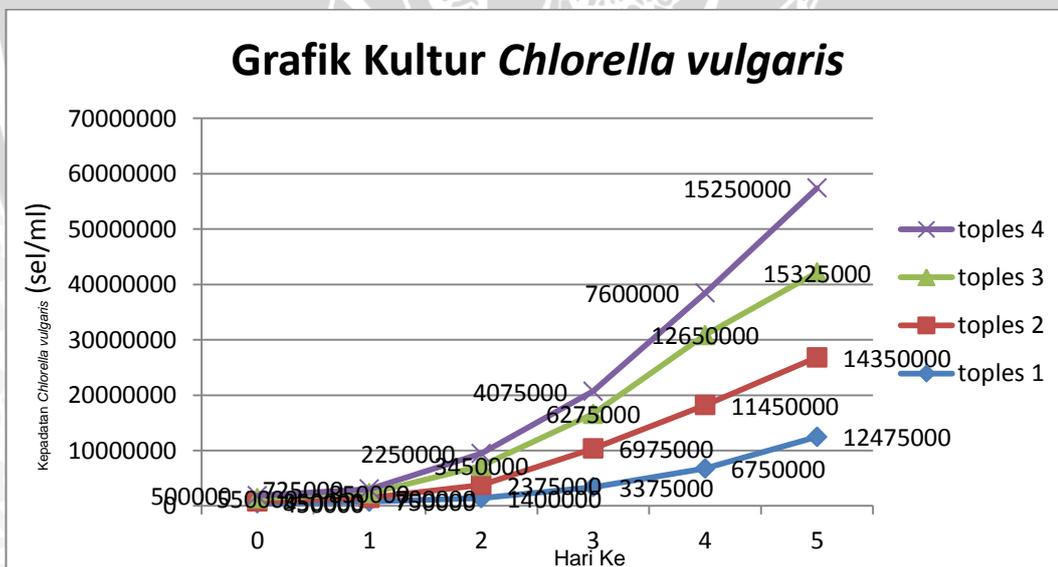
Pengamatan Hari Ke-	Kepadatan <i>Chlorella vulgaris</i> (sel/ml)	
	Toples 1	Toples 2
0	$6,5 \times 10^5$	$4,25 \times 10^5$
1	$7,25 \times 10^5$	$7,25 \times 10^5$
2	$1,475 \times 10^6$	$2,25 \times 10^6$
3	$4,72 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$
4	$6,92 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$
5	$1,145 \times 10^7$	$1,125 \times 10^7$



Lanjutan Lampiran 13. Hasil Kultur *Chlorella Vulgaris*

KULTUR STOK 2

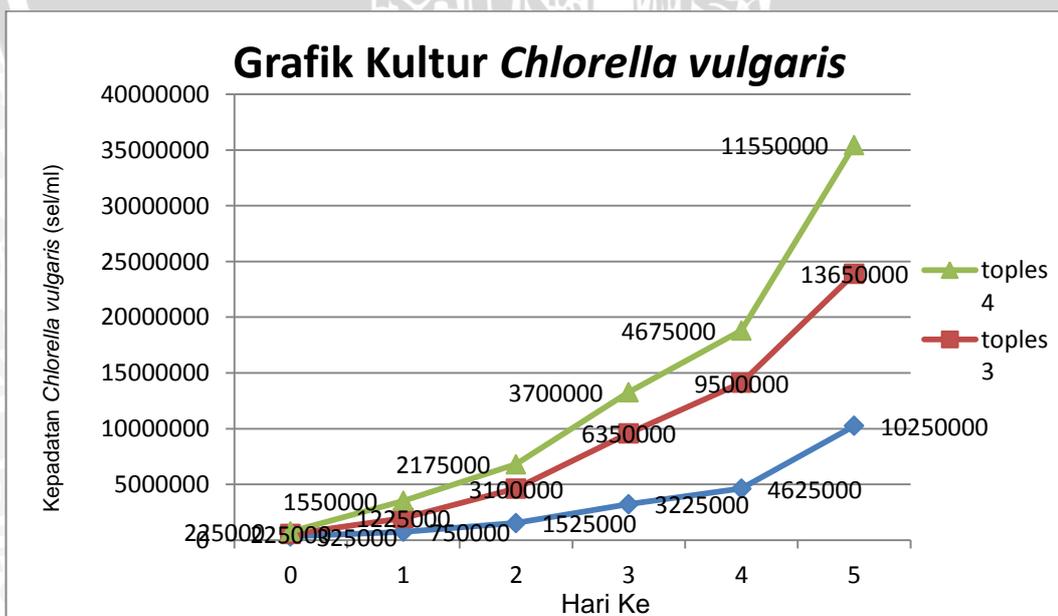
Pengamatan Hari Ke-	Kepadatan <i>Chlorella vulgaris</i> (sel/ml)			
	Toples 1	Toples 2	Toples 3	Toples 4
0	$4,5 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$5,5 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$
1	$7,5 \times 10^5$	$7,0 \times 10^5$	$8,5 \times 10^5$	$7,25 \times 10^5$
2	$1,4 \times 10^6$	$2,375 \times 10^6$	$3,45 \times 10^6$	$2,25 \times 10^6$
3	$3,375 \times 10^6$	$6,975 \times 10^6$	$6,275 \times 10^6$	$4,075 \times 10^6$
4	$6,75 \times 10^6$	$1,145 \times 10^7$	$1,265 \times 10^7$	$7,60 \times 10^6$
5	$1,2475 \times 10^7$	$1,435 \times 10^7$	$1,5325 \times 10^7$	$1,525 \times 10^7$



Lanjutan Lampiran 13. Hasil Kultur *Chlorella Vulgaris*

KULTUR STOK 3

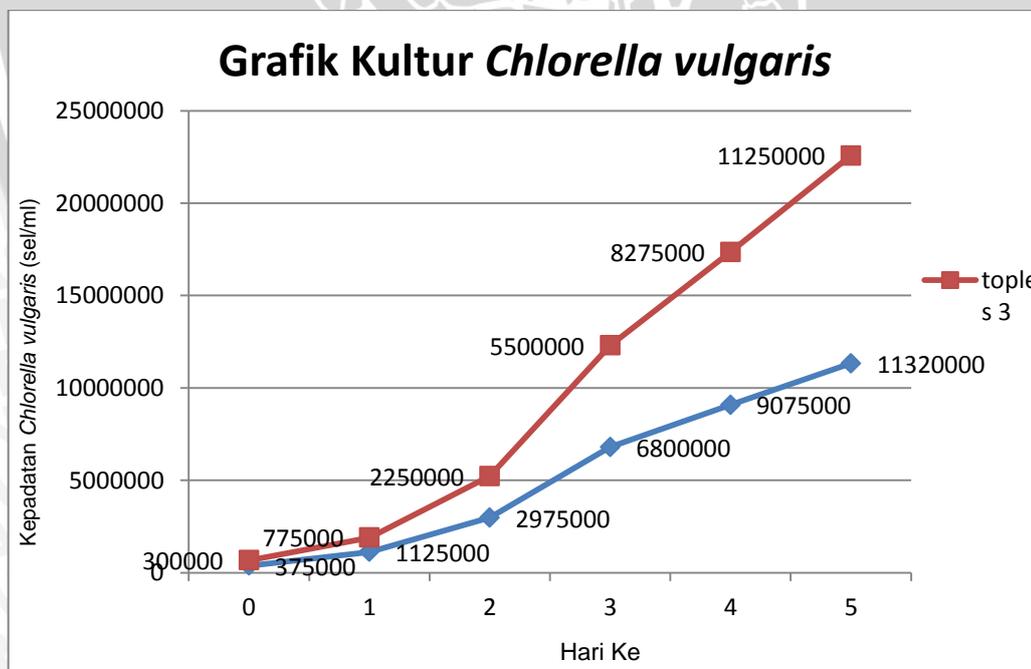
Pengamatan Hari Ke-	Kepadatan <i>Chlorella vulgaris</i> (sel/ml)		
	Toples 1	Toples 3	Toples 4
0	$3,25 \times 10^5$	$2,25 \times 10^5$	$2,25 \times 10^5$
1	$7,5 \times 10^5$	$1,225 \times 10^6$	$1,55 \times 10^6$
2	$1,525 \times 10^6$	$3,10 \times 10^6$	$2,175 \times 10^6$
3	$3,225 \times 10^6$	$6,35 \times 10^6$	$3,7 \times 10^6$
4	$4,625 \times 10^6$	$9,5 \times 10^6$	$4,675 \times 10^6$
5	$1,025 \times 10^7$	$1,365 \times 10^7$	$1,155 \times 10^7$



Lanjutan Lampiran 13. Hasil Kultur *Chlorella Vulgaris*

KULTUR STOK 4

Pengamatan Hari Ke-	Kepadatan <i>Chlorella vulgaris</i> (sel/ml)	
	Toples 2	Toples 3
0	$3,75 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$
1	$1,125 \times 10^6$	$7,75 \times 10^5$
2	$2,975 \times 10^6$	$2,25 \times 10^6$
3	$6,8 \times 10^6$	$5,5 \times 10^6$
4	$9,075 \times 10^6$	$8,275 \times 10^6$
5	$1,132 \times 10^7$	$1,125 \times 10^7$



Lampiran 14. Dokumentasi



