

3. METODE PENELITIAN

3.1 Peta lokasi penelitian

Lokasi penelitian mengenai distribusi mikroplastik dilaksanakan di beberapa Area Produksi Garam, Pesisir Utara Jawa Timur yang dilakukan pada tiga kota, yaitu Lamongan, Probolinggo, dan Surabaya. Ketiga kota tersebut merupakan tiga kota dengan produksi garam terbanyak yang ada di Pesisir Utara Jawa Timur, seperti yang terdapat pada Tabel 2. Setiap kota memiliki dua stasiun untuk diambil sampel air dan sampel garam. Sampel air diambil pada kolam penampungan pembuatan garam, sedangkan sampel garam diambil pada tambak garam. Adapun peta lokasi penelitian dapat dilihat pada Gambar 7, sedangkan koordinat pada setiap titik dapat dilihat pada Tabel 4.



Sumber: Google Earth, 2017

Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel. Pengambilan sampel dilakukan di tiga lokasi yaitu Probolinggo, Surabaya dan Lamongan

Tabel 1. Tabel Produksi Garam Nasional

No.	Kab/Kota	Produksi (%)	No.	Kab/Kota	Produksi (%)
1	Cirebon	12,56	23	Gresik	0,35
2	Indramayu	12,43	24	Bangkalan	0,35
3	Sumenep	11,67	25	Buleleng	0,25
4	Pati	11,51	26	Sumbawa	0,18
5	Sampang	10,25	27	Pidie	0,16
6	Bima	6,25	28	Karawang	0,15
7	Kota Surabaya	6,24	29	Kupang	0,13
8	Rembang	5,67	30	Kota Bima	0,12
9	Demak	4,22	31	Aceh Utara	0,12
10	Pamekasan	3,57	32	Lombok Tengah	0,08
11	Jepara	2,91	33	Nagekeo	0,07
12	Pangkep	2,19	34	Karangasem	0,06
13	Lamongan	1,31	35	Kota Palu	0,04
14	Brebes	1,02	36	Selayar	0,03
15	Probolinggo	1,00	37	Ende	0,03
16	Tuban	1,00	38	Aceh Timur	0,03
17	Jeneponto	0,98	39	Sumba Timur	0,02
18	Lombok Timur	0,91	40	Aceh Besar	0,02
19	Pasuruan	0,64	41	Manggarai	0,01
20	Takalar	0,64	42	Alor	0,01
21	Kota Pasuruan	0,43	43	TTU	0,01
22	Lombok Barat	0,37		TOTAL	100,00

Sumber: Salim and Munadi, 2017

Tabel 2. Titik Koordinat Pengambilan Sampel

No.	Nama Stasiun	Lintang	Bujur
1	Garam Probolinggo	7°44'15.68"S	113°25'17.86"E
2	Air Probolinggo	7°44'15.29"S	113°25'18.14"E
3	Garam Surabaya	7°12'57.10"S	112°39'26.24"E
4	Air Surabaya	7°12'57.35"S	112°39'25.78"E
5	Garam Lamongan	6°52'54.35"S	112°16'13.04"E
6	Air Lamongan	6°52'54.88"S	112°16'11.98"E

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan selama di lapang yaitu GPS, sendok *stainless steel*, botol, dan lainnya, sedangkan alat yang digunakan ketika pengolahan sampel di laboratorium yaitu labu erlenmayer, spatula, cawan petri, dan lainnya. Adapun secara detailnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 3. Alat - alat Penelitian

Alat	Keterangan	Fungsi
A. Peralatan Lapang		
GPS	1 Unit	Untuk menentukan titik pengambilan sampel
Sendok <i>Stainless Steel</i>	1 Buah	Untuk mengambil sampel garam
Botol	9 Buah	Sebagai wadah sampel Air
Plankton Net	1 Unit	Untuk mengambil sampel air
Cool box		Sebagai tempat penyimpanan sampel
B. Peralatan Laboratorium		
Labu Erlenmayer	1000 ml	Sebagai wadah untuk memisahkan mikroplastik
Spatula	1 Buah	Untuk menghomogenkan larutan
Cawan Petri	10 Buah	Sebagai wadah untuk kertas saring
Corong	1 Buah	Untuk membantu memasukkan larutan
<i>Sprayer</i>	1 Buah	Sebagai wadah ethanol untuk membilas sampel
Pinset	1 Buah	Untuk membantu identifikasi mikroplastik dibawah mikroskop
<i>Diaphragm Vacuum Pump</i>	<i>Shimadzu</i>	Untuk membantu proses penyaringan
Temperature Shaker	<i>Shimadzu</i>	Untuk melakukan pemisahan mikroplastik
Mikroscope	<i>Olympus CX 21</i>	Untuk identifikasi fisik dari mikroplastik
μ -FTIR Spectroscopy	<i>Shimadzu Thermo Nicolet In10 Mx</i>	Untuk identifikasi jenis Polimer dari mikroplastik
Smartphone	Samsung Note 3	Untuk dokumentasi penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Selain alat – alat yang telah disebutkan pada Tabel 5, juga diperlukan bahan – bahan untuk melakukan pengambilan sampel maupun pengolahan sampel. Bahan yang digunakan untuk pengambilan sampel di lapang yaitu plastik klip dan alat tulis. Sedangkan bahan – bahan yang digunakan dalam pengolahan sampel di laboratorium yaitu cairan hidrogen prioksida, kertas saring, dan lainnya. Adapun secara lengkapnya, telah disajikan pada Tabel 6.

Tabel 4. Bahan - bahan Penelitian

Bahan	Keterangan	Fungsi
A. Bahan Lapang		
Plastik Clip	-	Sebagai wadah sampel
Alat Tulis	-	Untuk membuat catatan
B. Bahan Laboratorium		
Cairan H ₂ O ₂ (hidrogen perioksida)	2 Liter	Sebagai pencerna bahan organic pada sampel
Sampel garam	250 g x 9 sampel	Sebagai bahan uji
Sampel Air	200 mL x 9 sampel	Sebagai bahan uji
Kertas Saring 25 dan 100 µm	10 Lembar	Untuk menyaring mikroplastik pada sampel
Air	9 Liter	Untuk melarutkan sampel garam dan membilas alat sebagai <i>Quality Control</i>

3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dimulai dengan melakukan studi literatur yang digunakan sebagai acuan untuk menentukan metode pengambilan sampel dan pengolahan data mikroplastik dengan tepat sehingga didapatkan hasil yang sesuai. Prosedur selanjutnya yaitu melakukan penentuan titik koordinat untuk pengambilan sampel. Titik lokasi pengambilan sampel dilakukan dengan metode *random sampling*, dimana peneliti menentukan titik lokasi secara acak. Metode ini memungkinkan

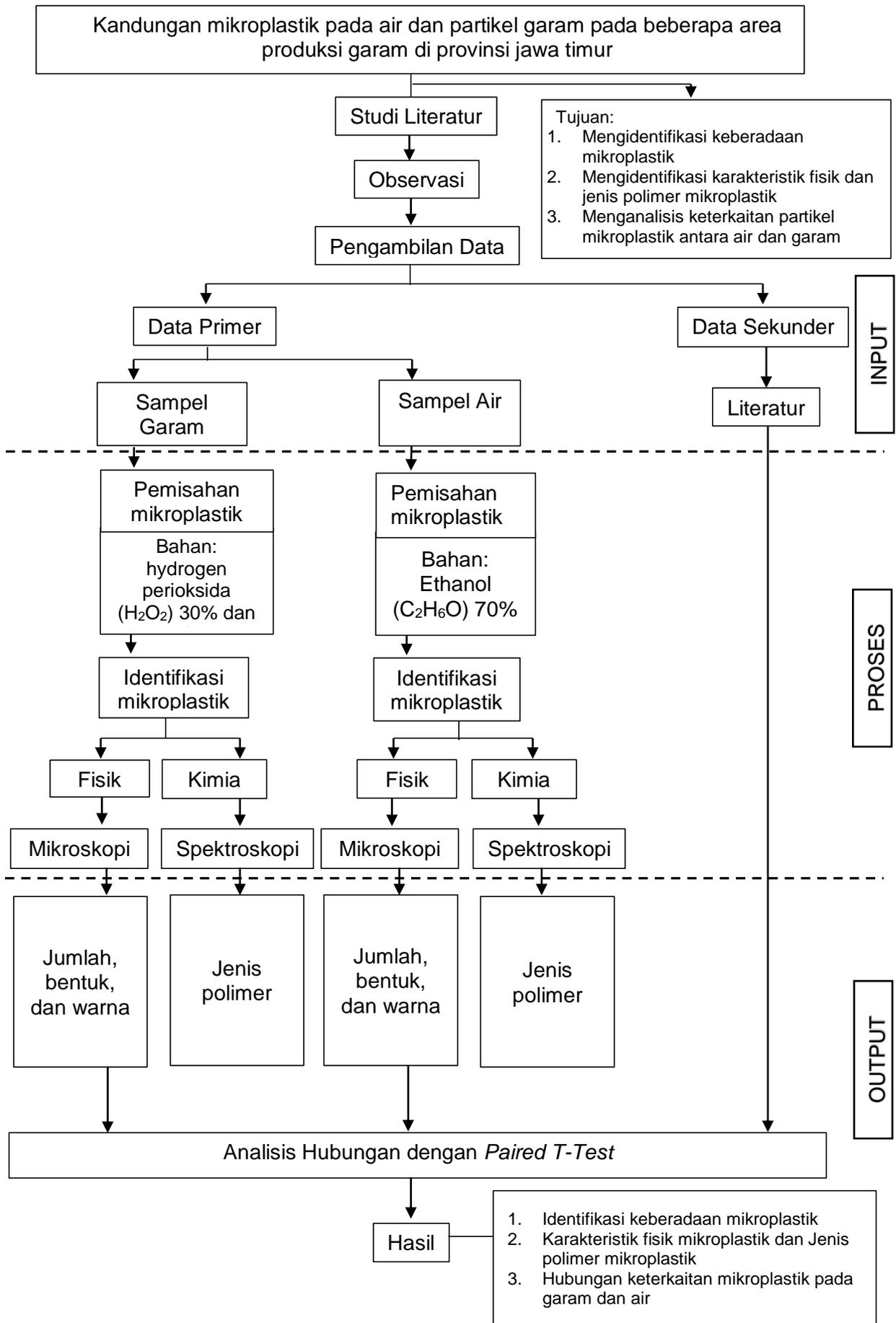
untuk mendapatkan jenis mikroplastik yang beragam dalam satu kali pengambilan sampel. Pada penelitian ini terdapat 3 stasiun yang dilakukan pada tiga kota. Masing – masing stasiun diambil 2 titik untuk pengambilan sampel garam di tambak garam, dan sampel air di kolam penampungan pembuatan garam. Kedua titik berada pada satu area dengan jarak antar titik kurang dari 5 m. Setiap titik dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pengambilan sampel.

Pengambilan sampel garam dilakukan langsung pada tambak garam dengan menggunakan sendok *stainless steel* sebanyak 250 g garam. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam plastik klip. Sedangkan untuk sampel air diambil pada kolam penampungan pembuatan garam. Sampel air diambil sebanyak 10 liter, kemudian disaring menggunakan plankton net. Setelah semua sampel air tersaring, plankton net dibilas dengan air steril agar mikroplastik yang tertinggal di jaring akan ikut masuk kedalam wadah plankton net. Sampel yang terdapat pada wadah plankton net, dipindahkan ke dalam botol. Kedua sampel yang telah didapatkan kemudian dianalisis di laboratorium untuk melakukan pemisahan mikroplastik dan identifikasi secara fisik maupun kimia. Adapun prosedur penelitian, dapat dilihat pada Gambar 8.

3.4 Proses pemisahan mikroplastik

3.4.1 Pemisahan Mikroplastik pada Sampel Garam

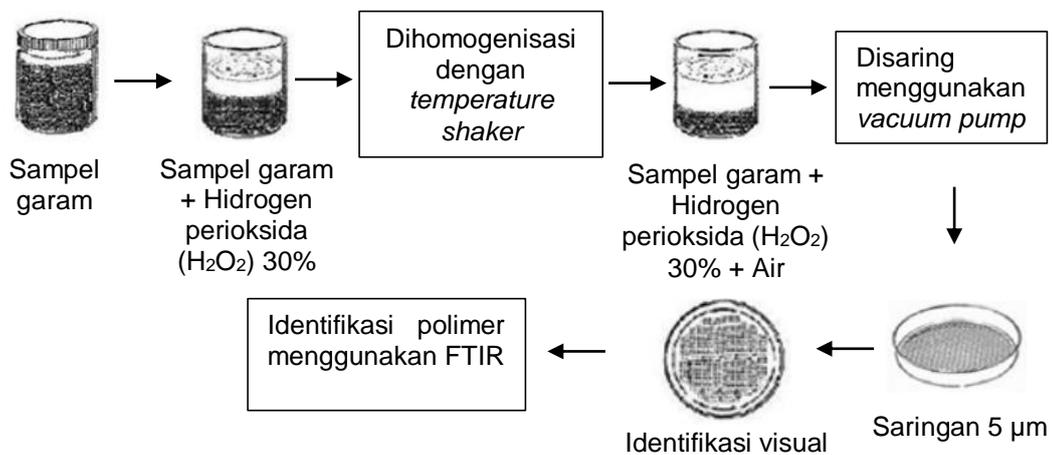
Proses pemisahan mikroplastik pada sampel garam memiliki beberapa tahapan sebelum akhirnya partikel mikroplastik dapat diidentifikasi. Sebagai *Quality Control* semua larutan yang digunakan untuk memisahkan mikroplastik harus disaring terlebih dahulu menggunakan kertas saring *whatman* dengan *mesh size* 100 μm . Hal tersebut dimaksudkan untuk mencegah agar tidak ada kontaminasi mikroplastik dari luar seperti serpihan pakaian sintesis yang bisa



Gambar 2. Alur Penelitian Penelitian dimulai dengan studi literatur, input data, proses data, hingga didapatkan hasil yang sesuai dengan tujuan.

kapan saja masuk ke dalam sampel. Alat yang digunakan untuk melakukan pemisahan mikroplastik juga perlu dilakukan *Quality Control* yaitu dengan mencuci semua alat sebelum digunakan untuk melakukan pemisahan mikroplastik (Yang *et al.*, 2015).

Pemisahan mikroplastik diawali dengan menambahkan 100 ml 30% H_2O_2 ke dalam 250 gr sampel garam yang sudah dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml. H_2O_2 atau hidrogen peroksida digunakan untuk menguraikan bahan organik yang ada di dalam sampel agar tidak terjadi kesalahan saat melakukan identifikasi visual. Setelah penambahan hidrogen peroksida kemudian labu erlenmeyer dimasukkan ke dalam *shaker* dengan suhu $65^\circ C$ pada 80 rpm selama 24 jam. Sampel kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama 48 jam. Adapun proses pemisahan mikroplastik dapat dilihat pada Gambar 9.



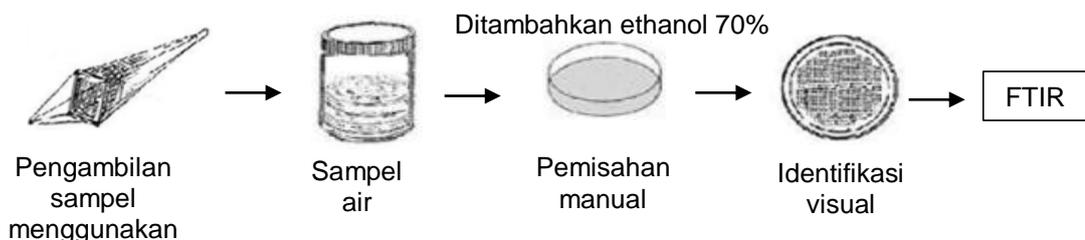
Gambar 3. Tahap pemisahan dan identifikasi mikroplastik pada garam (Modifikasi dar Yang *et al.*, 2015).

Proses pemisahan tersebut kemudian ditambahkan air sebanyak 800 ml untuk mengencerkan larutan hidrogen peroksida yang pekat dan membuat partikel mikroplastik terapung. Proses penyaringan dilakukan menggunakan kertas saring dengan *mesh size* 5 μm yang diletakkan pada alat *Diaphragm Vacuum Pump* yaitu semacam pompa hisap, sehingga dapat mempercepat proses penyaringan. Kemudian kertas saring tersebut diletakkan di dalam cawan petri dan dibiarkan

selama 1 x 24 jam. Proses selanjutnya yaitu melakukan identifikasi fisik berupa jumlah partikel, tipe, dan warna, serta identifikasi kimia berupa jenis polimer.

3.4.2 Pemisahan Mikroplastik pada sampel air

Proses pemisahan partikel mikroplastik pada sampel air diawali dengan identifikasi visual pada sampel air, jika di dalam sampel terdapat partikel yang memiliki ukuran lebih dari 5 mm maka perlu dilakukan pemisahan terlebih dahulu untuk memisahkan partikel mikro yang menempel agar memudahkan dalam proses identifikasi. Pemisahan dapat dilakukan dengan cara membilas partikel yang lebih besar dengan air menggunakan *sprayer* sehingga partikel kecil ikut kedalam sampel air. Proses selanjutnya adalah pemisahan air dari semua partikel yang ada di dalam sampel menggunakan saringan dengan *mesh size* 75 μm . Partikel yang tersaring kemudian dibilas menggunakan ethanol 70% menggunakan *sprayer* dan dimasukkan kedalam cawan petri untuk dilakukan pemisahan antara partikel mikroplastik dengan partikel non – mikroplastik yang ikut kedalam sampel menggunakan mikroskop. Ethanol sangat berperan dalam pemisahan partikel mikroplastik, karena ethanol menghitamkan partikel non – mikroplastik sehingga lebih memudahkan untuk menemukan partikel mikroplastik (Viršek *et al.*, 2016). Adapun proses pemisahan dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 4. Tahapan pemisahan dan identifikasi mikroplastik pada sampel air (Modifikasi dari Viršek *et al.*, 2016).

3.5 Identifikasi Mikroplastik

Identifikasi mikroplastik dibedakan menjadi dua, yaitu fisika dan kimia. Identifikasi fisika berupa karakteristik dari mikroplastik seperti bentuk, warna, dan ukuran, sedangkan identifikasi kimia merupakan jenis polimer yang terkandung dalam mikroplastik. Oleh karena itu, identifikasi keduanya membutuhkan dua metode yang berbeda. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Shim *et al.* (2016), Identifikasi karakteristik fisiknya cukup menggunakan metode mikroskopi yaitu menggunakan alat bantu mikroskop untuk identifikasi secara visual dan untuk karakteristik kimia diperlukan metode μ -FTIR (*micro-Fourier Transform Infrared*) Spektroskopi untuk mengetahui gugus fungsi pada polimer mikroplastik. Proses identifikasi pada penelitian ini dilakukan di tempat yang berbeda, identifikasi fisik dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Malang, sedangkan identifikasi kimia dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.

3.5.1 Identifikasi mikroplastik secara fisik

a. Tipe mikroplastik

Partikel mikroplastik yang telah terpisah dari sampel kemudian dilakukan identifikasi berupa tipe dari mikroplastik. Mikroplastik memiliki tipe yang berbeda sesuai dengan bentuknya. Mikroplastik yang berbentuk seperti serat dinamakan *fibre* (fiber), mikroplastik yang berbentuk spons disebut *foam*, dan masih banyak tipe partikel mikroplastik yang secara detail dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 5. Tipe mikroplastik (Crawford dan Quinn, 2017).

Abbreviation	Type	Size	Definition
PT	Pellet	<5 mm–1 mm	<i>A small spherical piece of plastic less than 5 mm to 1 mm in diameter</i>
MBD	Microbead	<1 mm–1 μ m	<i>A small spherical piece of plastic less than 1 mm to 1 μm in diameter</i>

Abbreviation	Type	Size	Definition
FR	Fragment	<5 mm–1 mm	<i>An irregular shaped piece of plastic less than 5 mm to 1 mm in size along its longest dimension</i>
MFR	Microfragment	<1 mm–1 µm	<i>An irregular shaped piece of plastic less than 1 mm to 1 µm in size along its longest dimension</i>
FB	Fibre	<5 mm–1 mm	<i>A strand or filament of plastic less than 5 mm to 1 mm in size along its longest dimension</i>
MFB	Microfibre	<1 mm–1 µm	<i>A strand or filament of plastic less than 1 mm to 1 µm in size along its longest dimension</i>
FI	Film	<5 mm–1 mm	<i>A thin sheet or membrane-like piece of plastic less than 5 mm to 1 mm in size along its longest dimension</i>
MFI	Microfilm	<1 mm–1 µm	<i>A thin sheet or membrane-like piece of plastic less than 1 mm to 1 µm in size along its longest dimension</i>
FM	Foam	<5 mm–1 mm	<i>A piece of sponge, foam, or foam-like plastic material less than 5 mm to 1 mm in size along its longest dimension</i>
MFM	Microfoam	<1 mm–1 µm	<i>A piece of sponge, foam, or foam-like plastic material less than 1 mm to 1 µm in size along its longest dimension</i>

Sumber: Crawford dan Quinn (2017)

b. Warna mikroplastik

Mikroplastik memiliki warna yang berbeda tergantung dari komposisi mikroplastik tersebut. Ada beberapa warna yang sering ditemukan dalam melakukan identifikasi visual mikroplastik, seperti hitam, biru, coklat dan lainnya. Jenis warna pada mikroplastik dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 6. Warna mikroplastik (Crawford dan Quinn, 2017)

Colour	Abbreviation
<i>Any colour</i>	<i>ALL</i>
<i>All opaque</i>	<i>AO</i>

Colour	Abbreviation
<i>All transparent</i>	<i>AT</i>
<i>Amber</i>	<i>AM</i>
<i>Beige</i>	<i>BG</i>
<i>Black</i>	<i>BK</i>
<i>Blue</i>	<i>BL</i>
<i>Brown</i>	<i>BN</i>
<i>Bronze</i>	<i>BZ</i>
<i>Charcoal</i>	<i>CH</i>
<i>Clear</i>	<i>CL</i>
<i>Dark</i>	<i>DK</i>
<i>Gold</i>	<i>GD</i>
<i>Green</i>	<i>GN</i>
<i>Grey</i>	<i>GY</i>
<i>Ivory</i>	<i>IV</i>
<i>Light</i>	<i>LT</i>
<i>Metallic</i>	<i>MT</i>
<i>Olive</i>	<i>OL</i>
<i>Opaque</i>	<i>OP</i>
<i>Orange</i>	<i>OR</i>
<i>Pink</i>	<i>PK</i>
<i>Purple</i>	<i>PR</i>
<i>Red</i>	<i>RD</i>
<i>Silver</i>	<i>SV</i>
<i>Speckled</i>	<i>SP</i>
<i>Tan</i>	<i>TN</i>
<i>Transparent</i>	<i>TP</i>
<i>Turquoise</i>	<i>TQ</i>
<i>Violet</i>	<i>VT</i>
<i>White</i>	<i>WT</i>
<i>Yellow</i>	<i>YL</i>

c. Kelimpahan mikroplastik

Sampel yang diambil memiliki jumlah partikel mikroplastik yang berbeda. Dalam prosedur ini, perhitungan jumlah partikel dilakukan berdasarkan karakteristik yang telah diidentifikasi pada proses sebelumnya. Sehingga dari jumlah partikel yang diperoleh dapat dianalisis sumber dari mikroplastik yang dominan dari suatu lokasi.

3.5.2 Identifikasi Mikroplastik secara kimia

Partikel mikroplastik yang telah disaring, dipilih secara acak untuk dianalisis gugus fungsi pada partikel mikroplastik menggunakan μ -FT-IR. Rentang spektrum ditetapkan pada angka 4000 – 400 cm^{-1} dengan waktu pengumpulan 3 detik dan resolusi spektral adalah 4 cm^{-1} untuk semua sampel, dan ukuran aperture atau *holder sample* yaitu 10 mm. Semua spektrum yang dihasilkan oleh FTIR kemudian dibandingkan dengan tabel pita absorpsi inframerah (Tabel 6) untuk menentukan jenis polimer (Field et al., 2012). Adapun jenis – jenis polimer dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 7. Pita absorpsi inframerah pada FTIR

<i>Functional Group</i>	<i>Band Position (cm^{-1})</i>	<i>Appearance</i>
<i>free O-H</i>	3590 - 3600	<i>sharp</i>
<i>alcohol O-H (H bonded)</i>	3300 - 3500	<i>medium to strong</i>
<i>carboxylic acid O-H</i>	2400 - 3600	<i>variable, broad*</i>
<i>amine N-H</i>	3200 - 3400	<i>medium, generally sharper than OH; two bands if 1°, one or two bands if 2°</i>
<i>amide N-H</i>	3200 - 3400	<i>medium, sharp, often two bands</i>
<i>sp C-H (C\equivC-H)</i>	3260 - 3390	<i>strong</i>
<i>sp² (C=C-H)</i>	3000 - 3100	<i>medium</i>
<i>aromatic C-H</i>	3000 - 3050	<i>weak (see below)</i>
<i>sp³ C-H (C-C-H)</i>	2850 - 2960	<i>medium to strong</i>
<i>aldehyde C-H</i>	2700 - 2900	<i>weak, two bands</i>
<i>nitrile C\equivN</i>	2200 - 2270	<i>medium</i>
<i>alkyne C\equivC</i>	2100 - 2250	<i>weak, may be absent if symmetric</i>
<i>anhydride C=O</i>	1800 - 1850 1740 - 1790	<i>strong, two bands**</i>
<i>acid chloride C=O</i>	1790 - 1810	<i>strong**</i>
<i>ester C=O</i>	1730 - 1750	<i>strong**</i>

<i>Functional Group</i>	<i>Band Position (cm⁻¹)</i>	<i>Appearance</i>
<i>aldehyde and ketone C=O</i>	1695 - 1740	<i>strong**</i>
<i>carboxylic acid C=O</i>	1700 - 1730	<i>strong, usually broad**</i>
<i>amide C=O</i>	1640 - 1690	<i>strong**</i>
<i>alkene C=C</i>	1640 - 1680	<i>often weak, may be absent</i>
<i>conjugated C=C</i>	1600 - 1650	<i>intensity increased by conjugation</i>
<i>aromatic C=C</i>	1500 - 1600	<i>medium, two or three bands</i>
<i>nitro NO₂</i>	1500 - 1570	<i>strong, two bands</i>
	1320 - 1360	
<i>amine C-N</i>	1180 - 1360	<i>strong</i>
<i>sp² C-O</i>	1200 - 1250	<i>strong</i>
<i>sp³ C-O</i>	1000 - 1200	<i>strong</i>
<i>chloride C-Cl</i>	700 - 800	<i>strong</i>
<i>aromatic C-H</i>	650 - 850	<i>may distinguish substitution pattern</i>
- <i>monosubstituted benzene</i>	690 - 710	<i>strong, two bands</i>
- <i>disubstituted benzene</i>	735 - 770	<i>strong</i>
- <i>disubstituted benzene</i>	690 - 710	<i>strong, two bands</i>
	750 - 810	
	880	<i>sometimes observed</i>
- <i>disubstituted benzene</i>	810 - 833	<i>strong</i>

**generally strong, but hydrogen bonded carboxylic acids may show a very weak O-H stretch*

***lowered by 15-30 cm⁻¹ by unsaturation (e.g. unsaturated aldehydes & ketones ca. 1670-1700cm⁻¹)*

Sumber: (Field et al., 2012)

3.6 Analisis hubungan antara mikroplastik pada air dan garam

Analisis hubungan mikroplastik pada air dan garam dilakukan dengan uji *Paired T-Test* dengan menggunakan program SPSS versi 16.0. Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh air laut terhadap input mikroplastik yang ada pada

garam. Syarat pengujian ini adalah data harus terdistribusi secara normal. Normalitas data menggunakan uji *One Sample Kolmogorov-Smirnov Test*. Menurut Trihendradi (2010), apabila data memiliki nilai signifikansi $>0,05$ ($p > 0,05$), maka data terdistribusi secara normal. Interpretasi hasil uji statistik *Paired T-Test* sebagai berikut:

- a. Jika $p \text{ value} \leq 0,01$ maka hasil uji dinyatakan sangat signifikan
- b. Jika $p \text{ value} > 0,01$ tetapi $\leq 0,05$ maka hasil uji dinyatakan signifikan
- c. Jika $p \text{ value} > 0,05$ maka hasil uji dinyatakan tidak signifikan