III. MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah tingkat toksisitas limbah cair penyamakan kulit terhadap tingkat mortalitas ikan mas *(Cyprinus carpio)* dan pengukuran kualitas air berupa pH, suhu dan kadar oksigen terlarut serta uji karakteristik limbah berupa kadar kromium (Cr). Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian terlampir di Lampiran 1.

3.2 Metode Peneltian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang menggunakan hewan uji ikan mas sebagai objek penelitian. Menurut Jaedun (2011), metode eksperimen merupakan penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap dampaknya dalam kondisi yang terkendalikan. Dalam penelitian ini juga diukur parameter kualitas air yaitu suhu, pH dan kadar oksigen terlarut. Data yang diambil dari penelitian ini yaitu data primer dan data sekunder.

3.2.1 Data

a. Data Primer

Data primer adalah data asli yang dikumpulkan oleh peneliti untuk menjawab masalah risetnya secara khusus. Data ini tidak tersedia karena memang belum ada riset sejenis yang pernah dilakukan atau hasil riset yang sejenis kadaluwarsa. Jadi, peneliti perlu melakukan pengumpulan atau pengadaan data sendiri karena tidak bisa mengandalkan data dari sumber lain. Dalam riset pemasaran, data primer diperoleh secara langsung dari sumbernya, sehingga peneliti merupakan “tangan pertama” yang memperoleh data tersebut (Istijanto, 2005). Data primer yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah data

kematian ikan mas yang diamati selama 96 jam, kondisi fisiologis ikan mas yang terpapar limbah cair penyamakan kulit, serta data parameter kualitas air berupa kadar oksigen terlarut, derajat keasaman (pH) dan suhu.

b. Data Sekunder

Data sekunder merupakan data yang sudah ada. Data tersebut sudah cukup dikumpulkan sebelumnya untuk tujuan-tujuan yang tidak mendesak. Keuntungan data sekunder ialah tersedia, ekonomis dan cepat didapat. Kelemahan data sekunder ialah tidak dapat menjawab secara keseluruhan masalah yang sedang diteliti. Kelemahan lainnya ialah kurangnya akurasi karena data sekunder dikumpulkan oleh orang lain untuk tujuan tertentu dengan menggunakan metode yang tidak diketahui (Soegoto, 2008). Data sekunder dalam penelitian ini didapatkan dari jurnal, majalah, internet, buku-buku serta instansi pemerintahan yang terkait guna menunjang keberhasilan penelitian ini.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dalam penelitian ini ikan mas sebagai objek penelitian dipelihara dalam limbah cair industri penyamakan kulit dengan konsentrasi yang berbeda – beda. Rumus dari Rancangan Acak Lengap menurut Ulfatin (2004) adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

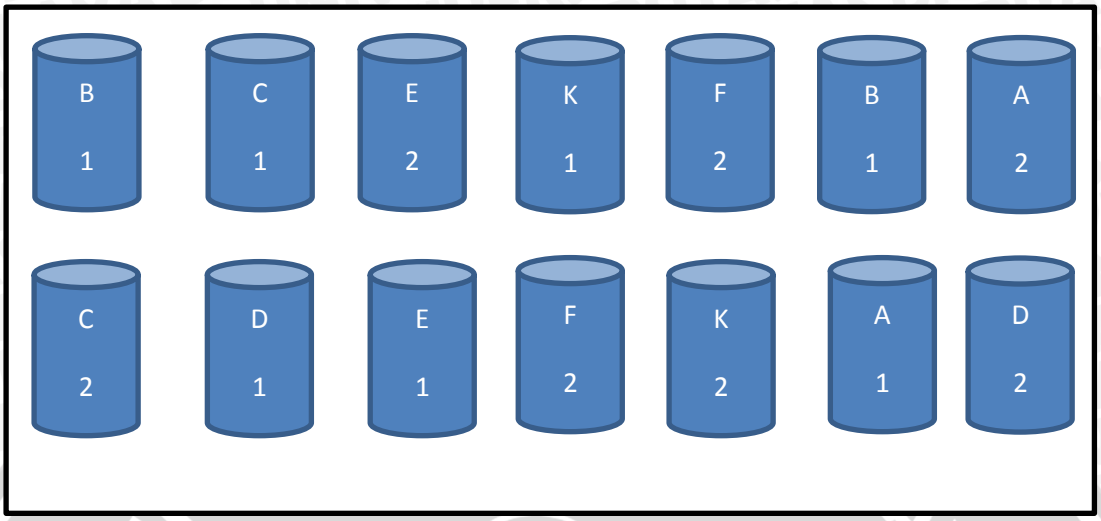
Y_{ij} = nilai pengamatan pada perlakuan ke – i dan ulangan ke – j

μ = nilai tengah umum

T_i = pengaruh perlakuan ke – i

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

Tata letak percobaan dilakukan secara acak. Adapun denah percobaan yang akan dilakukan sebagai berikut:



Gambar 2. Denah Penelitian

Keterangan:

A, B, C, D, E, F adalah perlakuan

1 dan 2 adalah ulangan

3.4 Tahapan Penelitian

Terdapat tiga tahap penelitian dalam uji toksisitas ini yaitu pengadaptasian hewan uji (aklamatisasi), uji pendahuluan dan uji toksisitas akut ($LC_{50\text{-}96jam}$). Masing – masing uji dilakukan selama 4 hari (96 jam).

3.4.1 Pengadaptasian Hewan Uji (Aklimatisasi)

Sebelum dilakukan serangakain uji toksisitas akut, hewan ujii diadaptaasikan terlebih dengan tujuan agar hewan uji dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru sehingga hewan uji terhindar dari “stress”. Dalam tahap aklimatisasi, hewan uji diberi makan pelet PF 1000 dengan frekuensi 2 kali sehari dan dilakukan penggantian media air tiap 2 hari sekali. Diberikan aerasi yang

cukup untuk menjaga kadar oksigen terlarut dalam toples yang digunakan sebagai wadah hewan uji (EPA, 1996).

3.4.2 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dimaksudkan untuk menentukan kisaran kadar yang tepat dari limbah cair penyamakan kulit yang berlangsung secara singkat. Kisaran kadar ini dinyatakan sebagai ambang letal yang terdiri dari ambang letal bawah dan ambang atas. Berikut ini adalah prosedur pengujiannya:

- Menyiapkan bak – bak percobaan berkapasitas 10 liter sebanyak 5 buah
- Membuat konsentrasi limbah cair penyamakan kulit dengan konsentrasi 0,00%; 0,1%; 1%;10% dan 100%
- Memasukkan hewan uji ikan mas (*Cyprinus carpio)* dengan ukuran 3-5 cm sebanyak 10 ekor tiap perlakuan
- Selama pengamatan dilakukan aerasi
- Mengamati setiap 3 jam sekali selama 96 jam untuk mengetahui mortalitasnya. Hewan uji yang mati pada pengamatan segera dihitung dan dikeluarkan dari media.

Dalam menentukan konsentrasi pada uji pendahuluan diambil berdasarkan basis angka pada skala logaritmik kolom 1 (Guthrie dan Jerome, 1980). Berikut ini penjelasan penggunaan konsentrasi:

- K = konsenrasi bahan uji 0 % (10 liter air) sebagai kontrol
- A = konsentrasi bahan uji 0,1 % (0,01 liter limbah cair + 9,99 liter air
- B = konsentrasi bahan uji 1 % (0,1 liter limbah cair + 9,9 liter air
- C = konsentrasi bahan uji 10 % (1 liter limbah cair + 9 liter air)
- D = konsentrasi bahan uji 100 % (10 liter limbah cair)

3.4.3 Uji Toksisitas Akut ($LC_{50\text{-}96jam}$)

Tahapan uji toksisitas akut ($LC_{50\text{-}96jam}$) yang dilakukan pada limbah cair penyamakan kulit terhadap ikan mas adalah sebagai berikut:

- Menentukan variasi kadar uji sesungguhnya berdasarkan skala logaritmik (Guthrie & Jerome, 1980)
- Mempersiapkan media dengan konsentrasi sesuai dengan perhitungan dari rentang nilai pada uji pendahuluan
- Media diaerasi terlebih dahulu selama 5 – 10 menit sebelum ikan mas dimasukkan ke dalam media percobaan
- Memasukkan ikan mas ke dalam media sebanyak 10 ekor setiap toples dengan 3 kali ulangan
- Mengamati mortalitas hewan uji setiap 2 jam sekali dan mengukur parameter kkualitas air yakni, kadar oksigen terlarut dan pH setiap 4 jam sekali pada masing – masing toples percobaan selama 96 jam

3.4.4 Analisis Data

Perolehan data dilakukan dengan cara pengamatan dan perhitungan terhadap mortalitas ikan pada masing – masing konsentrasi. Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji regresi linier yaitu analisis probit. Adapun caranya adalah dengan melakukan pengujian antara dosis limbah cair penyamakan kulit dengan mortalitas hewan uji (ikan mas). Untuk menentukan analisis probit dapat dihitung melalui data statistik dengan Microsoft Excel.

Menurut Wardlaw, 1985 *dalam* Riyadi, (1984), langkah – langkah melakukan analisis probit nilai Lc_{50} adalah sebagai berikut:

- Membuat tabel probit
- Memasukkan nilai konsentrasi perlakuan (mg/l)
- Memasukkan nilai log 10 konsentrasi perlakuan

- Memasukkan jumlah sampel atau organisme uji yang digunakan
- Memasukkan jumlah kematian hewan uji pada setiap konsentrasi perlakuan
- Mempresentase jumlah kematian (M_{obs})
- Menghitung nilai koreksi kematian dengan rumus Abbot's:

$$\text{Koreksi kematian (\%)} = \frac{M_{obs} - M_{cont}}{1oo - M_{cont}}$$

- Mentransformasi nilai koreksi kematian ke dalam tabel transformasi probit, namun hanya tiga konsentrasi terbawah yang digunakan dalam penentuan nilai LC_{50}
- Membuat grafik regresi untuk nilai LC_{50}, sumbu Y merupakan nilai transformasi probit, sedangkan sumbu X nilai log 10 konsentrasi perlakuan. Selanjutnya dari grafik tersebut ditentukan rumus regresi yaitu: y = ax + b. Nilai antilog x merupakan nilai LC_{50}

3.5 Pengukuran Parameter Kualitas Air

3.5.1 Oksigen Terlarut

Alat yang digunakan adalah DO meter merek Lutron DO-5510. Menurut Suprapto (2011), prosedur pengukuran oksigen terlarut sebagai berikut :

1. Menekan tombol power dan dibiarkan ± 3 – 5 menit sampai dalam keadaan stabil.
2. Menekan tanda panah ke atas dan ke bawah bersamaan lalu dilepaskan.
3. Menekan mode sampai terbaca % oksigen.
4. Menaikan atau menurunkan nilai altitude dengan menggunakan tombol tanda panah ke atas dan ke bawah sampai sesuai dengan nilai altitude dan tekan enter.

5. DO meter siap digunakan, memasukan probe ke perairan. Menyalakan DO meter, ditunggu sampai angka stabil dimana angka atas menunjukan nilai oksigen terlarut (DO) dan mencatat hasilnya.

3.5.2 Suhu

Alat yang digunakan untuk mengukur suhu adalah termometer Hg. Menurut Subarijanti (1990), prosedur pengukuran suhu sebagai berikut:

1. Menyiapkan Termometer Hg
2. Memasukkan termometer ke dalam perairan dengan membelakangi matahari dan termometer tidak menyentuh tangan.
3. Menunggu selama ± 2 menit. Membaca skala termometer pada saat termometer masih diperairan
4. Mencatat hasil pengukuran dalam skala ^{0}C

3.5.3 Derajat Keasaman (pH)

Menurut Suprapto (2011), prosedur penggunaan pH meter sebagai berikut:

1. Melakukan kalibrasi pH meter dengan menggunakan larutan buffer atau aquades.
2. Memasukkan pH meter ke dalam perairan selama 2 menit
3. Menekan tombol “HOLD” pada pH meter untuk menghentikan angka yang muncul pada pH meter.