

BAB III

METODE PENELITIAN

1.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan November 2019. Pengambilan sampel air di Desa Beloaja Kecamatan Tanjung Bunga. Pengujian sampel di UPT Laboratorium Dinas Lingkungan Hidup.

1.2. Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: pH meter, spektrofotometer uv-vis, termometer, peralatan gelas, erlenmeyer, tabung inkubasi, desikator, pipet ukur, pipet tetes, pipet volum, neraca analitik, magnetik stirrer, kertas saring, timbangan, penjepit, seperangkat alat titrasi, oven, alat penyaring, meter, rak tabung reaksi, ember, dan GPS.

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: sampel air sungai turapan, akuades, serbuk K_2CrO_4 , H_2SO_4 , KH_2PO_4 , serbuk Ag_2SO_4 , $MnSO_4$, HNO_3 , $HgSO_4$, $K_2Cr_2O_7$, NH_4OH , NH_4Cl , $Na_2S_2O_4$, $NaCl$, $AgNO_3$, K_2CrO_4 , aluminium kalium sulfat ($AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$) atau aluminium ammonium sulfat ($AlNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$), NH_4OH , hidrogen peroksida (H_2O_2), $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$, asam sulfamat (NH_2SO_3H), $Na_2S_2O_3$, indikator feroin, asam sulfanilik, kalium antimonil tartrat, ammonium molibdat, asam askorbat, EDTA. NED-dihidroklorida.

3.1. Metode Kerja

3.3.1. Teknik Sampling dan Teknik Pengambilan Sampel

Metode penentuan lokasi sampling ditentukan secara *purposive sampling* yaitu kondisi yang dominan pada lokasi pengambilan sampel air adalah yang dapat memberikan kontribusi terhadap kualitas air sungai yang baik penampungan, dengan mempertimbangkan jumlah penggunaan air serta aktivitas yang diduga berpengaruh besar terhadap konsentrasi parameter-parameter yang dipilih.

Pengambilan sampel air sungai pada bak dilakukan melalui langkah-langkah kerja sebagai berikut :

Disiapkan alat pengambilan sampel yang sesuai dengan keadaan sumber air. Alat-alat tersebut dibilas sebanyak tiga kali dengan sampel air yang akan diambil. Dilakukan pengambilan sampel air sesuai dengan keperluan. Sampel diambil dengan hati-hati agar endapan dasar/sedimen tidak terambil. Sampel yang telah terambil masing-masing dimasukkan dalam jerigen dan botol PE (untuk analisis sifat kimia) dan dianalisis di laboratorium.

3.3.2 Analisis parameter di laboratorium

1. Analisis suhu

Sampel diukur langsung suhu-nya menggunakan termometer Hg skala 0 – 50°C pada lokasi pengambilan sampel tersebut.

2. Analisis pH

100 mL sampel air dalam gelas kimia yang bersih dan diukur pH-nya menggunakan pH meter. Pengukuran pH sebaiknya dilakukan secara langsung (insitu).

3. TSS

Pengujian TSS mengacu pada SNI 06-6989.3-2004 Air dan air limbah-
Bagian 3: Cara uji padatan tersuspensi total (Total Suspended Solid, TSS) secara gravimetri

Prinsip

Contoh uji yang telah homogen disaring dengan kertas saring yang telah ditimbang. Residu yang tertahan pada saringan dikeringkan sampai mencapai berat konstan pada suhu 103°C sampai dengan 105°C. Kenaikan berat saringan mewakili padatan tersuspensi total (TSS). Jika padatan tersuspensi menghambat saringan dan memperlama penyaringan, diameter pori-pori saringan perlu diperbesar atau mengurangi volume contoh uji. Untuk memperoleh estimasi TSS, dihitung perbedaan antara padatan terlarut total dan padatan total.

Persiapan dan pengawetan contoh uji

Persiapan contoh uji Gunakan wadah gelas atau botol plastik polietilen atau yang setara.

Pengawetan contoh

Contoh uji diawetkan pada suhu 4°C, untuk meminimalkan dekomposisi mikrobiologikal terhadap padatan. Contoh uji sebaiknya disimpan tidak lebih dari 24 jam.

Pengurangan gangguan

a) Dipisahkan partikel besar yang mengapung.

- b) Residu yang berlebihan dalam saringan dapat mengering membentuk kerak dan menjebak air, untuk itu batasi contoh uji agar tidak menghasilkan residu lebih dari 200 mg.
- c) Untuk contoh uji yang mengandung padatan terlarut tinggi, bilas residu yang menempel dalam kertas saring untuk memastikan zat yang terlarut telah benar-benar dihilangkan.
- d) Hindari melakukan penyaringan yang lebih lama, sebab untuk mencegah penyumbatan oleh zat koloidal yang terperangkap pada saringan.

Persiapan pengujian

Persiapan kertas saring atau cawan Gooch

- a) Diletakkan kertas saring pada peralatan filtrasi. Pasang vakum dan wadah pencuci dengan air suling berlebih 20 mL. Lanjutkan penyedotan untuk menghilangkan semua sisa air, matikan vakum, dan hentikan pencucian.
- b) Dipindahkan kertas saring dari peralatan filtrasi ke wadah timbang aluminium. Jika digunakan cawan Gooch dapat langsung dikeringkan.
- c) Dikeringkan dalam oven pada suhu 103°C sampai dengan 105°C selama 1 jam, dinginkan dalam desikator kemudian timbang.
- d) Diulangi langkah pada butir c) sampai diperoleh berat konstan atau sampai perubahan berat lebih kecil dari 4% terhadap penimbangan sebelumnya atau lebih kecil dari 0,5 mg.

Prosedur

- a) Dilakukan penyaringan dengan peralatan vakum. Basahi saringan dengan sedikit air suling.
- b) Diaduk contoh uji dengan pengaduk magnetik untuk memperoleh contoh uji yang lebih homogen.
- c) Contoh uji dipipet dengan volume tertentu, pada waktu contoh diaduk dengan pengaduk magnetic
- d) Kertas saring dicuci, saringan dengan 3 x 10 mL air suling, biarkan kering sempurna, dan dilanjutkan penyaringan dengan vakum selama 3 menit agar diperoleh penyaringan sempurna. Contoh uji dengan padatan terlarut yang tinggi memerlukan pencucian tambahan.
- e) Dipindahkan kertas saring secara hati-hati dari peralatan penyaring dan pindahkan ke wadah timbang aluminium sebagai penyangga. Jika digunakan cawan Gooch pindahkan cawan dari rangkaian alatnya.
- f) Dikeringkan dalam oven selama 1 jam pada suhu 103°C sampai dengan 105°C, dinginkan dalam desikator untuk menyeimbangkan suhu dan timbang.
- g) Diulangi tahapan pengeringan, pendinginan dalam desikator, dan lakukan penimbangan sampai diperoleh berat konstan atau sampai perubahan berat lebih kecil dari 4% terhadap penimbangan sebelumnya atau lebih kecil dari 0,5 mg.

$$\text{Perhitungan mg TSS per liter} = (A - B) \times 1000 / \text{Volume contoh uji, mL} \quad (\text{II.8})$$

dengan pengertian: A adalah berat kertas saring + residu kering, mg; B adalah berat kertas saring, mg.

4. COD

Pengujian COD mengacu pada SNI 6989.2:2009 Air dan air limbah–
Bagian 2: Cara uji Kebutuhan Oksigen Kimiawi (*Chemical Oxygen Demand*/COD) dengan refluks tertutup secara spektrofotometri.

Ruang lingkup

Reduksi $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ secara spektrofotometri pada kisaran nilai COD 100 mg/L sampai dengan 900 mg/L pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 600 nm dan nilai COD lebih kecil atau sama dengan 90 mg/L pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 420 nm.

Pengawetan contoh uji

Bila contoh uji tidak dapat segera diuji, maka contoh uji diawetkan dengan menambahkan H_2SO_4 pekat sampai pH lebih kecil dari 2 dan disimpan dalam pendingin pada temperatur $4\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ dengan waktu simpan maksimum yang direkomendasikan 7 hari.

Prosedur

Proses digestion

Dipipet volume contoh uji atau larutan kerja, tambahkan *digestion solution* dan tambahkan larutan pereaksi asam sulfat yang memadai ke dalam tabung atau ampul,

- a. Tabung ditutup dan kocok perlahan sampai homogen;
- b. Tabung diletakan pada pemanas yang telah dipanaskan pada suhu $150\text{ }^\circ\text{C}$, lakukan refluks selama 2 jam.

Pengukuran contoh uji

Untuk contoh uji COD 100 mg/L sampai dengan 900 mg/L

- a. Didinginkan perlahan-lahan contoh yang sudah direfluks sampai suhu ruang untuk mencegah terbentuknya endapan. Jika perlu, saat pendinginan sesekali tutup contoh dibuka untuk mencegah adanya tekanan gas;
- b. Dibiarkan suspensi mengendap dan pastikan bagian yang akan diukur benar-benar jernih;
- c. Diukur serapan contoh uji pada panjang gelombang yang telah ditentukan (600 nm);
- d. Dihitung kadar COD berdasarkan persamaan linier kurva kalibrasi;
- e. Dilakukan analisa duplo.

Untuk contoh uji COD lebih kecil dari atau sama dengan 90 mg/L

- a. Didinginkan perlahan-lahan contoh yang sudah direfluks sampai suhu ruang untuk mencegah terbentuknya endapan. Jika perlu, saat pendinginan sesekali tutup contoh dibuka untuk mencegah adanya tekanan gas;
- b. Dibiarkan suspensi mengendap dan pastikan bagian yang akan diukur benar-benar jernih.
- c. Digunakan pereaksi air sebagai larutan;
- d. Diukur serapannya contoh uji pada panjang gelombang yang telah ditentukan (420 nm);
- e. Dihitung kadar COD berdasarkan persamaan linier kurva kalibrasi;
- f. Dilakukan analisa duplo.

5. Analisis NO₂

Kedalam beker 150 mL, dimasukan 50 mL sampel (atau sampel yang telah diencerkan dan telah disesuaikan pH-nya dengan HCl atau NaOH 0,1 N sampai menjadi 7), ditambahkan 1 mL sulfanilamide, dikocok dibiarkan 2-8 menit dan ditambahkan 1 mL NED-dihidroklorida, di campurkan segera dan dibiarkan 10 menit sampai 2 jam. Ditentukan absorbansi larutan pada panjang gelombang 543 nm.

Penentuan kadar nitrit dilakukan dengan metode spektrofotometer (SNI 06-6989-2004) menggunakan metode brusin dengan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm.

Pembuatan kurva kalibrasi

1. Spektrofotometer dioptimalkan sesuai petunjuk penggunaan alat.
2. Ke dalam masing-masing 50 mL larutan kerja tambahkan 1 mL larutan sulfanilamida, kocok dan biarkan 2 menit sampai dengan 8 menit.
3. Ditambah 1 mL larutan NED dihydrochlorida, kocok dan biarkan selama 10 menit dan segera dilakukan pengukuran absorbansi (pengukuran tidak boleh dilakukan lebih dari 2 jam).
4. Dibaca masing-masing absorbansinya pada panjang gelombang 543 nm.
5. Dibuat kurva kalibrasinya.

Prosedur kerja

1. Sebanyak 50 mL contoh uji dituang ke dalam labu ukur 50 mL
2. Sebanyak 1 mL larutan asam sulfanilamida ditambahkan dan dibiarkan larutan tersebut bereaksi selama 2-8 menit.

3. Sebanyak 1 mL larutan NED dihidroklorida ditambahkan, diaduk dan dibiarkan paling sedikit 10 menit, tetapi tidak lebih dari 2 jam.
4. Larutan sampel dimasukkan ke dalam kuvet pada alat spektrofotometer, dibaca dan dicatat serapannya pada panjang gelombang 543 nm.

Perhitungan

1. Kadar nitrit

- A. Hasil pembacaan absorbansi contoh uji dimasukkan ke dalam kurva kalibrasi.
- B. Kadar nitrit adalah hasil pembacaan larutan konsentrasi contoh uji dari kurva kalibrasi.

2. Persen temu balik (% Recovery)

Pembuatan spike matrix:

1. Sebanyak 45 mL contoh uji ditambah 5 mL larutan baku NO_2^- 0,5 mg/L.
2. Sebanyak 1 mL larutan asam sulfanilamida ditambahkan dan dibiarkan larutan tersebut bereaksi selama 2-8 menit.
3. Sebanyak 1 mL larutan NED dihidroklorida ditambahkan, diaduk dan dibiarkan paling sedikit 10 menit, tetapi tidak lebih dari 2 jam.
4. Larutan sampel dimasukkan ke dalam kuvet pada alat spektrofotometer, dibaca dan dicatat serapannya pada panjang gelombang 543 nm.

$$\% \text{Recovery} = \frac{(E-F)(100)}{G}$$

Dengan pengertian:

E adalah kadar contoh uji yang di spike, mg/L

F adalah kadar contoh uji yang tidak di spike, mg/L

G adalah kadar standar yang ditambahkan (target value), mg/L

6. Analisis Belerang sebagai H₂S

Analisa sulfida dapat menggunakan SNI 96-6989.75.2009 yaitu cara uji sulfida secara iodometri.

Persiapan Sampel

Contoh untuk analisa sulfida harus segera dilakukan setelah disampling, bila contoh uji tidak dapat segera diuji, maka contoh uji diawetkan. Sebelum diawetkan, ukur dan catat volume contoh uji (V₁). Pengawetan dilakukan sesuai petunjuk di bawah ini:

Wadah : Botol plastik (polyethylene) atau botol gelas.

Pengawet : Tambahkan 4 tetes 2N seng asetat/100 mL dan NaOH

Pengaturan pH lebih besar dari 9

Lama Penyimpanan : 2 minggu.

Kondisi Penyimpanan : 4°C ± 2°C.

Prosedur

- a. Diukur sejumlah volume tertentu larutan iodine 0,0250 N dan masukan dalam labu Erlenmeyer. Tambahkan air bebas mineral sampai volumenya 20 ml;
- b. Ditambahkan 2 ml HCl 6N. Ambil 200,0 ml sampel dan masukan dalam labu Erlenmeyer atur ujung pipet berada dibawah permukaan larutan;
- c. Jika warna iodin hilang ditambahkan larutan iodin sampai timbul warna kuning muda, catat volume iodin yang digunakan. (A) (1 ml iodine 0,0250 N bereaksi dengan 0,4 mg S²⁻)

- d. Dititrasi menggunakan larutan natrium tiosulfat 0,0250 N, tambahkan beberapa tetes indikator kanji (amilum) sampai warna biru muda, titrasi kembali sampai titik akhir yang ditunjukkan dengan hilangnya warna biru muda.

7. Analisis NH₃

Penentuan kadar amonia dilakukan dengan metode spektrofotometer secara fenat (SNI 06-6989.30-2005) dengan panjang gelombang 640 nm.

a. Persiapan sampel

Sebanyak 100 mL sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Ditambahkan 1 mL larutan ZnSO₄ dan dikocok. Menambahkan beberapa tetes NaOH 6 M, kemudian diaduk perlahan-lahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Larutan tersebut ditambahkan 1 tetes reagen EDTA dan dikocok.

b. Pembuatan larutan kerja amonia

Pipet 0,0 mL; 1,0 mL; 2,0 mL; 3,0 mL dan 5,0 mL larutan baku amonia 10 mg N/L dan masukkan masing-masing ke dalam labu ukur 100 mL, dan tambahkan air suling sampai tepat pada tanda tera sehingga diperoleh kadar amonia 0,0 mg N/L; 0,1 mg N/L; 0,2 mg N/L; 0,3 mg N/L dan 0,5 mg N/L.

Prosedur

- a. Dipipet 25 ml contoh uji masukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml;
- b. Ditambahkan 1 ml larutan fenol, dihomogenkan;
- c. Ditambahkan 1 ml natrium nitroprusid, dihomogenkan;
- d. Ditambahkan 2,5 ml larutan pengoksidasi, dihomogenkan;

- e. Ditunggalkan erlenmeyer tersebut dengan plastik parafin film;
- f. Dibiarkan selama 1 jam untuk pembentukan warna;
- g. Dimasukkan ke dalam kuvet pada alat spektrofotometer, baca dan catat serapannya pada panjang gelombang 640 nm.

8. Analisis Total Fosfat

Penentuan kadar fosfat dilakukan dengan metode spektrofotometer secara asam askorbat (SNI 06-6989.31-2005). Persiapan pengujian

- a) Disiapkan alat dan bahan
- b) Pembuatan larutan campuran
Larutan campuran terdiri dari 50 mL asam sulfat 5 N, 5 mL kalium antimonil tartat, 15 mL amonium molibdat dan 30 mL asam askorbat
- c) Dipipet 50 mL contoh uji secara duplo dan masukkan masing-masing ke dalam erlenmeyer.
- d) Ditambahkan 8 mL larutan campuran dan diaduk sampai merata.
- e) Didiamkan selama 10-30 menit, lihat perubahan warna yang terjadi pada larutan dari warna bening menjadi warna biru
- f) Dimasukkan sampel sebanyak 10 ml ke dalam tabung reaksi dan masukkan pada alat spektrofotometer, catat serapannya pada panjang gelombang 420 nm.

Persen temu balik (% recovery, %R)

$$\left[\frac{A - B}{C} \right] \times 100\%$$

Keterangan:

A adalah kadar contoh uji yang di *spike* (mg/L);

B adalah kadar contoh uji yang tidak di *spike* (mg/L);

C adalah kadar standar yang di-*spike*-kan (*target value*) (mg/L).

9. Total Coliform

Prosedur Analisis

- a. Disaring contoh air dengan menggunakan filter yang pori-porinya 0,45 μm dan diameternya 47 mm yang telah diletakan dalam alat penyaring. Volume contoh air yang disaring diharapkan dapat menghasilkan pertumbuhan bakteri (dalam bentuk koloni) antara 20-80 koloni menyebar di permukaan filter.
- b. Setelah contoh air disaring kemudian gelas alat saring dibilas dengan menggunakan air dari tempat contoh air yang sama yang sudah disterilkan. Maksudnya ialah untuk membilas atau membersihkan sisa-sisa bakteri yang masih menempel pada saringan tempat contoh air disaring. Secara aseptis ambil filter membran tersebut kemudian ditumbuhkan pada media MF-C-agar yang terdapat pada cawan petri yang telah dipersiapkan sebelumnya.
- c. Diinkubasi pada suhu 44,5 $^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam.
- d. Diamati pertumbuhan koloni bakteri yang berada di atas filter membran.

Pesiapan Benda Uji

- a. Disiapkan air pengencer steril.
- b. Disiapkan contoh yang akan dianalisis pada kondisi ruang.
- c. Contoh yang akan dianalisa jika perlu diencerkan dengan air pengencer steril dengan pengenceran minimal 2 macam pengencern. Misalnya 10^0 dan 10^{-1} .
- d. Disiapkan petrifilm sesuai bakteri yang akan dianalisis (*Coliform* atau *E. Coli*) dan jumlah yang dibutuhkan.
- e. Petrifilm diberi label informasi yang lengkap sebelum diinokulasi contoh uji.

Pengujian

- a. Disiapkan petrifilm di tempat yang datar dan inokulasi 1 mL contoh uji dengan pipet volum 1 ml yang sudah disterilkan, pada bagian tengah petrifilm, diusahakan jangan sampe terluka.
- b. Ditutup bagian atas petrifilm secara hati-hati jangan sampai terjadi gelembung udara, dan yakinkan contoh uji merata pada permukaan gel dengan menggunakan alat perata (sudah disediakan oleh produsen petrifilm), biarkan sampai gel menjadi solid untuk beberapa menit pada suhu ruang.
- c. Diinkubasi dalam inkubator selama $24-48 \pm 2$ jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- d. Diamati dan catat jumlah koloni warna biru (untuk *E. coli*) dan merah (coliform) dengan gelembung gas disekitarnya setelah waktu inkubasi. Jumlah koloni yang tumbuh dianggap memenuhi yaitu 100 ± 50 CFU/petrifilm.
- e. Dimasukkan data dalam worksheet dengan satuan ciu per 100 mL sampel, cfu (clony forming unit)

3.3.3. Penentuan Status Mutu Air

Penentuan status mutu air menggunakan metode Indeks

Pencemaran dengan persamaan :

$$P_{ij} = \frac{\sqrt{(C_i/L_{ij})_M^2 + (C_i/L_{ij})_R^2}}{2} \dots\dots\dots (III.4)$$

Keterangan :

- P_{ij} = Indeks Pencemaran bagi peruntukan (j)
- C_i = Konsentrasi parameter kualitas air hasil pengukuran
- L_{ij} = Konsentrasi parameter kualitas air yang dicantumkan dalam baku mutu peruntukan air (j)
- $(C_{ij}/L_{ij})_M$ = Nilai C_{ij}/L_{ij} maksimum
- $(C_{ij}/L_{ij})_R$ = Nilai C_{ij}/L_{ij} rata-rata
- (j) = Peruntukan Kualitas Air Baku mutu Kelas 1 Peraturan Pemerintah No.82 Tahun 2001 dalam (deviasi) dan (mg/L)
- (i) = Suhu (deviasi) pH (mg/L), TSS (mg/L), COD (mg/L), Nitrit sebagai N (mg/L), Belerang sebagai H_2S (mg/L), NH_3 (mg/L), P-Fosfat (mg/L), Total *Coliform*.

Tabel III.1 Evaluasi terhadap nilai Indeks Pencemaran

No.	Nilai IP	Kategori
1	$0 \leq PI_j \leq 1,0$	Baku mutu (kondisi baik)
2.	$1,0 < PI_j \leq 5,0$	Cemar ringan
3.	$5,0 < PI_j \leq 10$	Cemar sedang
4.	$PI_j > 10$	Cemar berat

Sumber : KepMen LH No.115 Tahun 2003