

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Umum

Sebelum penelitian ini berjalan, semua media pasir halus, pasir kasar, dan kerikil serta filter sebagai alat yang digunakan harus dalam keadaan siap. Penelitian selanjutnya adalah mengetahui pertumbuhan *biofilm* setelah beberapa lama ditumbuhkan pada media pasir, lalu kemudian menguji parameter *e.coli* dan *fecal coli* setelah melalui *biosand filter*.

Penelitian ini berlangsung kurang lebih selama 2,5 bulan. Adapun tahap awal penelitian ini adalah menyaring seluruh media pasir halus, pasir kasar, dan kerikil. Penyaringan dilakukan agar semua media mendapatkan variasi diameter yang sama. Adapun uji foto mikroskop dilakukan untuk mengetahui perkembangan *biofilm* pada permukaan pasir, lalu selanjutnya menguji sampel air baku untuk di uji kandungan bakteri *e.coli* dan *fecal coli*. Hasil dari penelitian ini akan ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik.

3.2 Objek Penelitian

Sebagai objek penelitian ini adalah kandungan bakteri *Eschericia coli* dan *fecal coliform* dari sumber air baku yaitu air tanah.

3.3. Lokasi Penelitian

- a. Lokasi pengambilan sampel air bertempat di rumah penduduk jln. Jambon III RT. I / RW. I Kricak Jogjakarta
- b. Analisa ayakan media pasir halus, pasir kasar, dan kerikil dilakukan di laboratorium Jalan Raya, Teknik Sipil Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.
- c. Analisa lapisan *biofilm*, dilakukan di laboratorium Bio Manajemen Fakultas Biologi Atma Jaya Jogjakarta.
- d. Analisa sampel untuk bakteriologis, yaitu *E.Coli* dan *Fecal Coli* dilakukan di laboratorium Teknik Lingkungan, Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.

3.4. Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini terdiri atas dua, yaitu:

3.4.1 Variabel bebas (*Independent Variable*)

Pada penelitian ini, media yang digunakan merupakan variabel bebas yang terdiri dari tinggi / ketebalan media 40,50,60 cm untuk pasir halus, Pasir kasar 15,10,5 cm, kerikil 15,10,5 cm dengan diameter media pasir halus = 0.25 mm, pasir kasar 0.85 mm, dan Kerikil 6.3 mm. Untuk lebih jelas bisa dilihat pada Tabel 3.1 berikut ini:

Tabel 3.1 Ketinggian Media

Pasir Halus (cm)	Pasir Kasar (cm)	Kerikil(cm)	Total(cm)
40	15	15	70
50	10	10	70
60	5	5	70

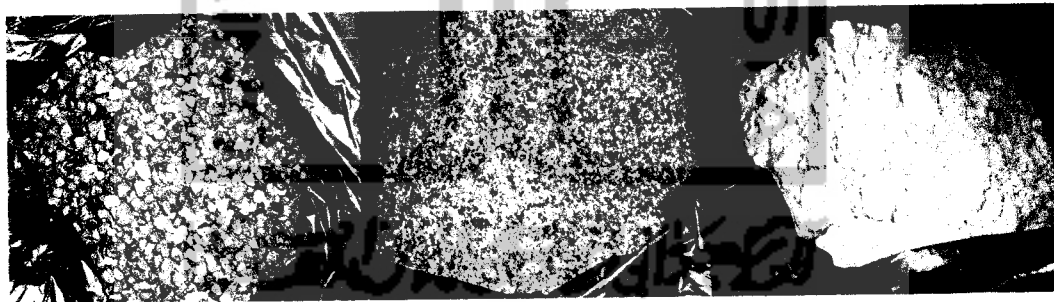
3.4.2 Variabel terikat (*Dependent Variable*)

Parameter yang diteliti adalah bakteri *Eschericia coli* dan *fecal coliform* pada air tanah.

3.5 Bahan dan alat penelitian

3.5.1 Penyediaan media pasir halus, pasir kasar dan kerikil.

Pada penelitian ini, media yang digunakan adalah pasir dan kerikil. Sebelum media dimasukkan kedalam filter, perlu dilakukan pengayakan pada media agar diameter butiran sama. Pengayakan dilakukan dengan menggunakan mesin pengayak dengan menyusun mest yang lebih besar dibagian atas. Adapun mest yang digunakan adalah mest $\frac{1}{4}$ inci dengan ukuran 6.3 mm kemudian mest 20 dengan ukuran 0.85 mm dan mest 60 dengan ukuran 0.25 mm. Sedangkan yang lolos dari mest 60 adalah PAN. Pengayakan dilakukan kurang lebih 2 minggu, hal ini selain media yang dibutuhkan banyak dan keterbatasan alat pengayakan. Hal lainnya adalah waktu pengayakan yang ± 5 menit setiap mesin dinyalakan dan keterbatasan media yang dimasukkan kedalam alat pengayakan yang terlalu sedikit.



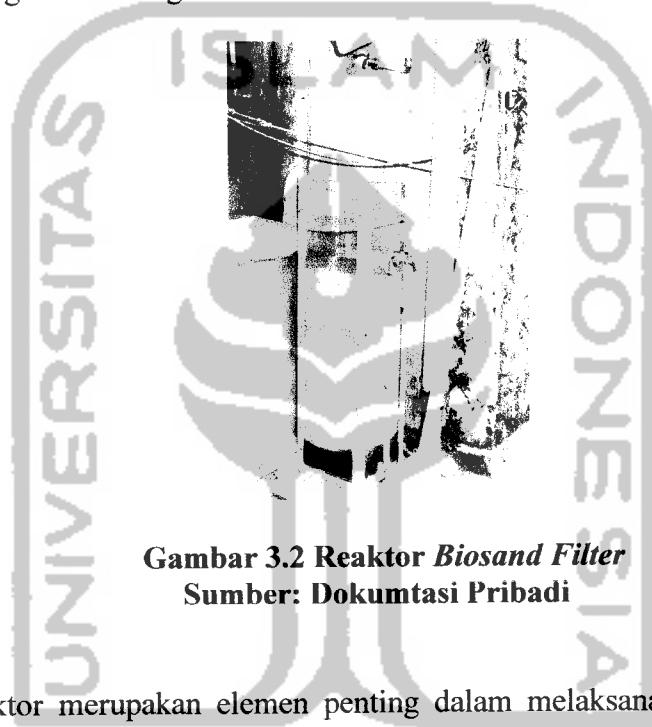
Kerikil \varnothing 6,3 mm Pasir kasar \varnothing 0,85 mm Pasir halus \varnothing 0,25 mm

Gambar 3.1 Media kerikil, pasir kasar dan pasir halus
Sumber: Dokumentasi Pribadi

3.5.2 Alat penelitian

Rangkaian alat yang digunakan untuk penelitian adalah sebagai berikut :

1. Sebuah prototype saringan berbentuk *rectangular* dari bahan kaca agar proses yang terjadi pada bagian dalam saringan dapat terlihat dari luar dan berukuran 30 cm x 30 cm x 100 cm. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar sebagai berikut :



Gambar 3.2 Reaktor *Biosand Filter*
Sumber: Dokumtasi Pribadi

Reaktor merupakan elemen penting dalam melaksanakan penelitian ini.

Dalam penelitian ini, reaktor dibuat dengan menggunakan kaca agar pembentukan lapisan *biofilm* bisa terlihat dengan mata terlanjang. Adapun dimensi dari reaktor direncanakan sendiri, disesuaikan dengan tinggi total media.

Direncanakan:

Panjang : 30 cm

Lebar : 30 cm

Tinggi reaktor : 100 cm

- Tinggi media total = 70 cm
- Tinggi air diatas media = 5 cm
- Tinggi dari muka air ke penahan kecepatan air (veber glass) = 5 cm
- freeboart (fb) = 20 cm

Lebar fiber glass = 30 cm

Panjang fiber glass = 30 cm

Jarak antara lingkaran = 3 cm dengan $\text{Ø} = 1 \text{ cm}$

2. Satu buah drum plastik tempat menampung air baku dari sumur dengan volume 250 liter. Agar pengaliran air baku ke saringan dapat berjalan dengan konstan maka pada alat ini dilengkapi dengan kran putar.
3. Satu buah drum plastik tempat menampung air baku setelah melewati saringan *biosand filter*.

3.6 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini meliputi persiapan media, persiapan alat dan tahap pelaksanaan percobaan, yang diuraikan seperti dibawah ini.

3.6.1 Persiapan media

Setelah melalui tahap pegayakan, seluruh media tersebut dicuci. Pencucian dilakukan agar debu – debu yang masih menempel di media pasir dan kerikil dapat hilang. Namun karena pengujian penelitian ini adalah bakteriologis, maka langkah selanjutnya terhadap media tersebut adalah sterilisasi. Sterilisasi pada media, dilakukan dengan cara merebus seluruh media agar bakteri- bakteri yang masih menempel pada pasir dan kerikil tersebut mati.

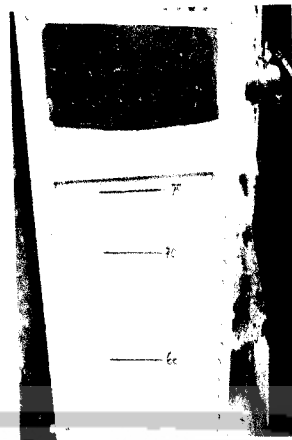
3.6.2 Pengambilan sampel awal

Air baku yang digunakan sebagai objek penelitian ini diambil dari sumur penduduk yang berada di jln. Jambon III RT.I/RW.I Kricak Jogjakarta. Sebelum penelitian dilakukan, hal terpenting yang harus diketahui adalah mengetahui kualitas air tanah guna mendapatkan data primer yang akan dipakai sebagai acuan dalam penelitian selanjutnya.

Setelah melakukan uji mikrobiologi untuk sampel air didapatkan data bahwa kandungan bakteri *E.Coli* dan *Fecal Coli* mengandung +2400 indeks JPT / 100 ml sampel air. Itu berarti pada air sumur tersebut melebihi ambang batas yang ditetapkan oleh Peraturan Pemerintah No.82 Tahun 2001, tentang Pengolahan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air yang menyebutkan kandungan maksimal bakteri untuk *Fecal Coli* 100 ml dan *Total Coliform* 1000 ml / 100 ml sampel air golongan I.

3.6.3 Persiapan alat

Biosand filter adalah reaktor yang terbuat dari kaca dengan ukuran panjang 30 cm, lebar 30 cm dan tinggi 100 cm. Setelah reaktor dalam siap, tidak mengalami kebocoran maka seluruh media dimasukkan ke reaktor dengan variasi ketinggian yang diinginkan. Untuk mempermudah dalam penelitian ini, maka reaktor *biosand filter* diletakkan pada lokasi pengambilan sampel.

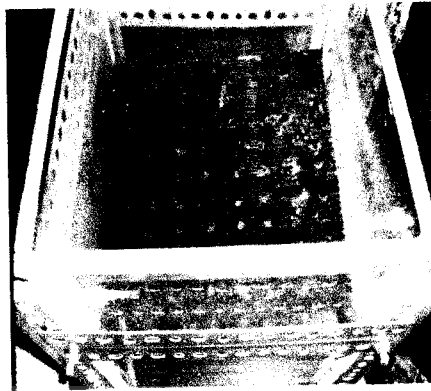


Gambar 3.3 Kondisi Biosand Filter di Lapangan
Sumber : Dokumentasi Pribadi

Seluruh media dirancang dengan ketinggian total 70 cm, dengan variasi sebagai berikut:

- a. Ketinggian pertama : 40 cm pasir halus, 15 cm pasir kasar, dan 15 cm kerikil
- b. Ketinggian kedua : 50 cm pasir halus, 10 cm pasir kasar, dan 10 cm kerikil
- c. Ketinggian ketiga : 60 cm pasir halus, 5 cm pasir kasar, dan 5 cm kerikil

Ketinggian total media pada *biosand filter* ini adalah 75 cm, dimana 70 cm merupakan tinggi total media, kemudian 5 cm diatas media pasir adalah tinggi air diatas permukaan pasir. Air tersebut berfungsi untuk mencegah pasir kering di lapisan atas tempat tumbuhnya *biofilm* pada permukaan pasir. Agar *biofilm* tersebut tidak terganggu, diatas permukaan air dipasang *fiber glass*.



Gambar 3.4 Penghalang kecepatan air
Sumber : Dokumtasi Pribadi

Filter dijalankan secara *intermitten*, maksudnya untuk menumbuhkan lapisan *biofilm* air dijalankan setiap 2 hari, lalu hari berikutnya dimatikan. Hal ini dilakukan sampai lapisan *biofilm* tersebut tumbuh. Karena lapisan *biofilm* terbentuk pada hari ke tujuh, lalu dilakukan pengambilan dan pengujian lapisan *biofilm* dengan menggunakan foto Mikroskop. Setelah dilihat lapisan *biofilm* terbentuk, lalu bisa diambil sampelnya.

3.6.4 Pengujian *Biofilm*

Uji lapisan *biofilm* dilakukan pada saat lapisan *biofilm* sudah terbentuk. Uji lapisan *biofilm* ini dilakukan mulai hari ke -7 . Dengan mengambil media pasir yang ada di permukaan filter dengan menggunakan pipet. Lalu diletakkan pada kaca objek. Setelah dikeringkan, lalu kemudian diuji dengan menggunakan mikroskop untuk mengetahui pertumbuhan *biofilm* secara jelas.

3.6.5 Pengukuran bakteri *E.Coli* dan *Fecal Coli*

Sebelum melakukan uji laboratorium untuk analisa *E.Coli* dan *fecal coli* maka perlu disiapkan media yang dibutuhkan untuk pengujian tersebut. Untuk tes perkiraan bahan yang dibutuhkan adalah laktose tunggal 13 ml dengan di tambah aquades 1000 ml, laktose ganda 9.75 ml dengan di tambah aquades 1000 ml. Karena analisa awal menunjukkan hasil JPT / MPN untuk koliform tinja dan total koliform adalah + 2400 maka sebelum sampel dimasukkan ke media laktose tunggal maupun ganda perlu dilakukan pengenceran dengan NaCl 4.25 g ditambah 500 ml aquades. Setelah semua media di masukkan ketabung reaksi, maka media tersebut disterilkan dengan outoclap dengan suhu 120 ° C selama ± 2 jam.

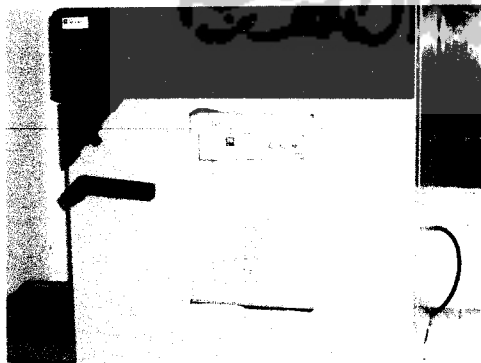


Gambar 3.5 Autoclave
Sumber : Dokumentasi Pribadi

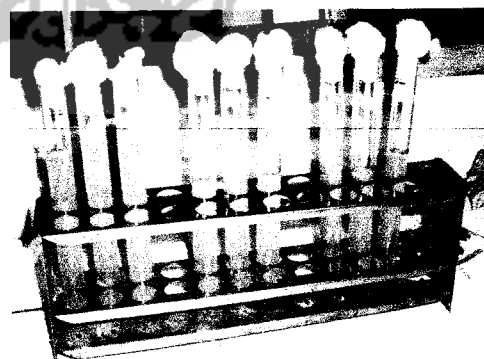
Metode yang digunakan untuk analisis laboratorium adalah metode MPN 3-3-3 yang merupakan uji deretan tabung yang menyuburkan pertumbuhan *coliform* sehingga memperoleh nilai untuk menduga jumlah *coliform* dalam sampel yang diuji. Jumlah *coliform* ini bukan perhitungan yang tepat namun

merupakan angka yang mendekati jumlah yang sebenarnya. Adapun metode 3-3-3 maksudnya adalah 3 tabung reaksi berisi tabung durham dan 5 ml media laktose steril ganda, 3 tabung reaksi berisi tabung durham dan 10 ml media laktose steril tunggal dan 3 tabung reaksi berisi tabung durham dan 10 ml media laktose steril tunggal.

Sebelum sampel dimasukkan ke media laktose tunggal dan laktose ganda maka perlu dilakukan pengencer yaitu dengan NaCl. Karena untuk 1 sampel air dibutuhkan 33.33 ml sampel, maka diperlukan 40 ml pengencer dengan perbandingan 36 ml NaCl dan 4 ml sampel air. Setelah pengenceran dilakukan, lalu hasil pengenceran dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi berisi tabung durham dan 5 ml media laktose steril ganda diinkubasikan dengan 10 ml sampel air, 3 tabung reaksi berisi tabung durham dan 10 ml media laktose steril tunggal diinkubasikan dengan 1 ml sampel air dan 3 tabung reaksi berisi tabung durham dan 10 ml media laktose steril tunggal diinkubasikan dengan 0.1 ml sampel air. Kemudian setelah semua semua sampel dimasukkan, lalu semua tabung reaksi diinkubasikan selama ± 2 hari dengan suhu 37°C .



Gambar 3.6 Alat Inkubator



Gambar 3.7 Media Laktose

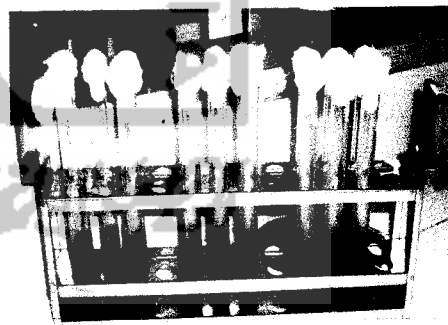
Sumber : Dokumtasi Pribadi

Setelah masa inkubasi 2 x 24 jam atau 48 jam dengan suhu 37 ° C, kemudian media dikeluarkan lalu di catat hasil tes perkiraannya. Hasil tes perkiraan / uji duga bisa dilanjutkan apabila tabung reaksi menghasilkan gas dalam masa inkubasi diduga mengandung bakteri *coliform*. Uji dinyatakan positif, bila terluhat gas dalam tabung durham.

Tabung yang memperlihatkan pembentukan gas diuji lebuah lanjut dengan uji penetapan. Tes penetapan dilakukan untuk memastikan bahwa gas yang terbentuk disebabkan oleh kuman *coliform* dan bukan disebabkan oleh kerja sama berupa spesies sehingga menghasilkan gas. Adapun media yang digunakan pada tes penetapan adalah *Briliant Green Lactose Broth* (BGLB). Dari masing – masing tabung yang memperlihatkan hasil positif, dipindahkan sedikit suspensi bakteri dengan jarum ose pada tabung reaksi berisi BGLB steril. Kemudian disimpan selama 48 jam dengan suhu 37 ° C untuk total coliform dan 48 jam dengan suhu 44 ° C untuk koliform tinja.



Gambar 3.8
Penanaman dengan jarum Ose



Gambar 3.9 Media BGLB

Setelah 48 jam masing – masing tabung diperiksa untuk mengetahui uji positif pertumbuhan bakteri golongan coliform atau tidak. Kemudian tetapkan JPT / MPN *E.Coli* dan *Fecal Coli* dalam 100 ml sampel air berdasarkan tabel JPT.

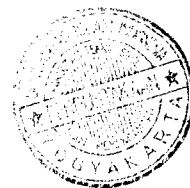
3.7 Analisa Data

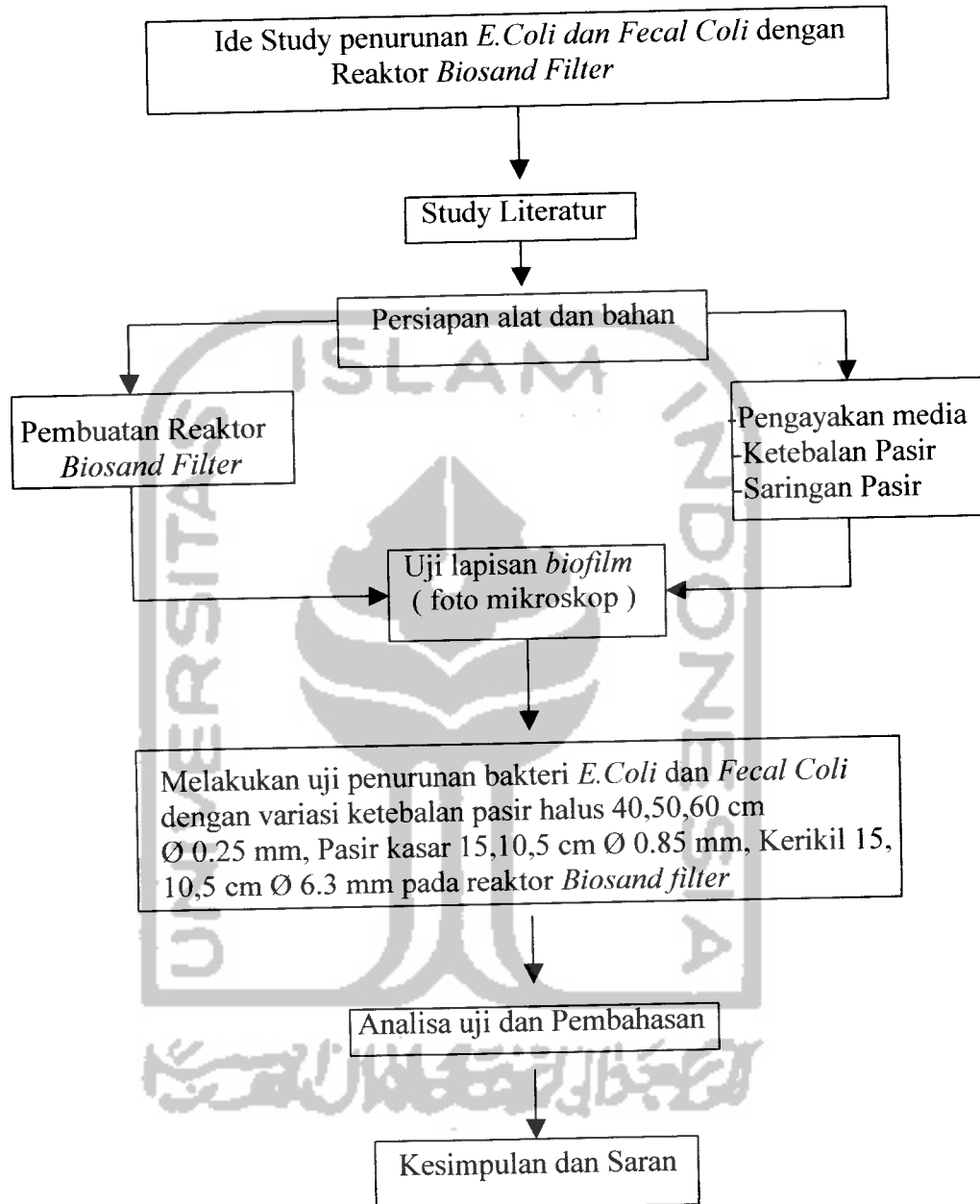
Setelah melakukan pengujian di laboratorium, kemudian didapat data – data. Untuk mendapatkan nilai efisiensi, maka digunakan rumus berikut ini:

$$\text{Rumus Efisiensi} = \frac{\text{kadar awal} - \text{kadar akhir}}{\text{kadar awal}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.1)$$

3.8 Kerangka Penelitian Tugas Akhir

Untuk mempermudah dalam proses pengerjaan penelitian tugas akhir ini dibuatlah kerangka diagram alir penelitian yang dapat dilihat pada Gambar 3.10 di bawah sebagai berikut:





Gambar 3.10 Diagram alir penelitian