

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanah dan di Laboratorium Limbah Agroindustri Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung dari bulan Agustus 2013 sampai dengan September 2013.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batuan fosfat, limbah cair industri tahu, larutan asam sulfat (H_2SO_4 1 N), dan bahan-bahan kimia untuk analisis P-total (HCl 25%), P-larut (asam sitrat 2%), N-total (metode kjeldahl), dan pH (metode elektrometrik). Batuan fosfat yang digunakan berasal dari PTPN Bergen. Limbah cair industri tahu diambil dari industri tahu milik Bapak Dadi di Kelurahan Gunung Sulah Bandarlampung.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain toples, *mixer*, alat tulis, pipa, timbangan, dan alat-alat laboratorium lainnya yang digunakan dalam analisis di laboratorium.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah perlakuan faktorial 5x4 yang disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 ulangan (kelompok).

Faktor pertama adalah perbandingan campuran limbah cair tahu dengan asam sulfat (P), yaitu:

- P1 = 100% limbah cair tahu (500 ml) : 0% asam sulfat (0 ml H_2SO_4 1 N)
 P2 = 95% limbah cair tahu (475 ml) : 5% asam sulfat (25 ml H_2SO_4 1 N)
 P3 = 85% limbah cair tahu (425 ml) : 15% asam sulfat (75 ml H_2SO_4 1 N)
 P4 = 75% limbah cair tahu (375 ml) : 25% asam sulfat (125 ml H_2SO_4 1 N)
 P5 = 0% limbah cair tahu (0 ml) : 100% asam sulfat (500 ml H_2SO_4 1 N)

Faktor kedua adalah lama inkubasi perendaman batuan fosfat (T), yaitu:

- T1 = 1 hari setelah perendaman
 T2 = 3 hari setelah perendaman
 T3 = 7 hari setelah perendaman
 T4 = 14 hari setelah perendaman

Data dikelompokkan berdasarkan keserentakan dalam analisis batuan fosfat di laboratorium. Kemudian data yang diperoleh diuji homogenitasnya dengan Uji Bartlett dan aditivitasnya dengan Uji Tukey. Apabila asumsi terpenuhi, data kemudian dianalisis ragam dan dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf 5%. Selanjutnya dibuat korelasi antara peubah utama (P-larut) dengan peubah pendukung (P-total dan pH).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 *Pengambilan Limbah Cair Tahu*

Limbah cair industri tahu diambil dari industri tahu milik Bapak Dadi di Kelurahan Gunung Sulah Bandarlampung. Limbah cair tahu yang digunakan dalam penelitian ini yaitu limbah cair dalam keadaan segar hasil dari proses pemasakan bubur kedelai yang telah disaring karena memiliki pH yang cukup rendah mendekati pH pelarut asam sulfat. Limbah cair industri tahu tersebut dianalisis awal untuk mengetahui kadar COD, BOD, fosfor, N-total, dan pH. Analisis awal dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanah dan di Laboratorium Limbah Agroindustri Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung. Hasil analisis awal limbah cair tahu tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisis awal limbah cair tahu.

No	Parameter	Satuan	Sampel Segar	Metode
1	pH	-	3,76	Elektrometrik
2	COD	mg l ⁻¹	9900	Spektrophotometri
3	BOD	mg l ⁻¹	924,97	DO Metri
4	Fosfor (P)	mg l ⁻¹	5,37	Spektrophotometri
5	N-total	mg l ⁻¹	673,01	Kjeldahl

3.4.2 *Persiapan Pelarut Asam Sulfat*

Normalitas pelarut asam sulfat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 1 N. Kemudian pelarut asam sulfat dianalisis pH-nya. Analisis awal dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanah Unila. Hasil analisis pH pelarut asam sulfat tertera pada Tabel 3.

Tabel 3. Analisis pH asam sulfat.

No	Parameter	Satuan	Asam Sulfat	Metode
1	pH	-	1	Elektrometrik

3.4.3 Persiapan Awal Batuan Fosfat

Batuan fosfat diambil dari PTPN Bergen dalam keadaan tepung batuan fosfat yang sudah lolos ayakan 1 mm. Kemudian tepung batuan fosfat ditimbang sebanyak 0,5 kg toples⁻¹. Batuan fosfat dianalisis awal untuk mengetahui kadar P-total, P-larut, dan pH. Analisis awal dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanah Unila. Hasil analisis awal batuan fosfat tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Analisis awal batuan fosfat.

No	Parameter	Satuan	Sampel Segar	Metode
1	pH	-	7,72	Elektrometrik
2	P-total	%P ₂ O ₅	25,09	HCl 25% (SNI)
3	P-larut	%P ₂ O ₅	6,08	Asam sitrat 2% (SNI)

3.4.4 Perendaman Batuan Fosfat

Limbah cair industri tahu disiapkan dalam keadaan segar dan pelarut asam (H₂SO₄ 1 N). Tepung batuan fosfat (lolos saringan 1 mm) ditimbang sebanyak 0,5 kg toples⁻¹. Kemudian tepung batuan fosfat sebanyak 0,5 kg toples⁻¹, limbah cair industri tahu, dan pelarut asam sulfat (kombinasi pelarut 500 ml toples⁻¹) secara bersamaan dan perlahan-lahan dimasukkan ke dalam *mixer* selama 5 menit. Setelah itu campuran tersebut dituang ke dalam toples dan toples ditutup rapat. Kemudian seluruh toples perendaman ditempatkan di lokasi pada suhu normal selama inkubasi.

3.4.5 *Pengambilan Sampel dan Analisis*

Pada waktu awal inkubasi 1 hari setelah pencampuran (perendaman), dari setiap toples diambil sampelnya menggunakan pipa sebanyak 5 titik kemudian dicampurkan. Masing-masing sampel ditimbang sesuai kebutuhan untuk analisis P-larut, P-total, dan pH. Analisis sampel dilakukan serentak untuk setiap ulangan (kelompok). Pengambilan sampel dan analisis berikutnya dilakukan pada inkubasi 3 hari, 7 hari, dan 14 hari.

3.5 **Prosedur Analisis**

3.5.1 *Analisis pH*

Metode yang digunakan dalam analisis pH yaitu metode elektrometrik. Analisis pH dilakukan dengan cara 8 g batuan fosfat ditimbang dan dimasukkan ke dalam botol film. Kemudian 25 ml aquades ditambahkan dan dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 30 menit. Selanjutnya sampel diukur dengan menggunakan pH-meter (Tipe Horiba F-51) yang sudah dikalibrasi dengan larutan *buffer* pH 4 dan pH 7.

3.5.2 *Analisis P- total*

Metode yang digunakan dalam analisis P-total yaitu metode HCl 25%. Analisis P-total dilakukan dengan cara 4 g batuan fosfat ditimbang dan dimasukkan ke

dalam erlenmeyer 250 ml. Kemudian ditambahkan 20 ml HCl 25% ke dalam erlenmeyer tersebut. Kemudian dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 5 jam. Setelah dikocok selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring dan terdapat filtrat berwarna kuning (sampel). Setelah itu dengan menggunakan *bubble bulb* diambil 1 ml sampel (filtrat berwarna kuning) dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan aquades 99 ml (pengenceran 100×). Selanjutnya diambil 1 ml dari pengenceran tersebut dan dimasukkan ke botol film kemudian ditambahkan 24 ml aquades (pengenceran menjadi 2500×). Dari pengenceran diatas diambil 1 ml sampel dengan menggunakan *bubble bulb* dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 4 ml aquades (sehingga total pengenceran yang digunakan menjadi 12.500×). Selanjutnya ditambahkan 10 ml pereaksi P (pereaksi 1 terdiri dari amonium molibdat, antimonil kalium tartad, asam sulfat pekat, aquades, dan pereaksi 2 yaitu asam askorbat). Kemudian dibiarkan selama 10 menit, lalu diukur dengan menggunakan spektrophotometer (Tipe Spectronic 20) pada panjang gelombang 693 nm. Adanya senyawa kompleks berwarna biru menunjukkan P-total.

3.5.3 Analisis P- larut

Metode yang digunakan dalam analisis P-larut yaitu metode asam sitrat 2% yang mengacu pada prosedur kerja SNI (Sulaeman, Suparto, dan Eviati, 2005).

Analisis P-larut dilakukan dengan cara 0,25 g batuan fosfat ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Kemudian ditambahkan 50 ml asam sitrat 2% ke dalam erlenmeyer tersebut. Kemudian dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 1 jam. Setelah dikocok selanjutnya disaring dengan menggunakan

kertas saring dan terdapat filtrat berwarna kuning kecoklatan (sampel). Setelah itu dengan menggunakan *bubble bulb* diambil 1 ml sampel (filtrat berwarna kuning kecoklatan) dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 9 ml pereaksi campuran (pereaksi 1 dan pereaksi 2 dengan perbandingan 1 : 1). Pereaksi 1 terbuat dari 10 g amonium molibdat ($\text{NH}_4\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) dalam 1.000 ml aquades. Pereaksi 2 terbuat dari 0,5 g amonium vanadat (NH_4VO_3) + 70 ml HNO_3 dalam 1.000 ml aquades. Pereaksi campuran digunakan dalam keadaan segar, tidak dapat digunakan lebih dari 1 malam. Kemudian diukur dengan menggunakan spektrophotometer (Tipe Spectronic 20) pada panjang gelombang 466 nm. Adanya senyawa kompleks berwarna kuning menunjukkan P-larut.

3.5.4 Analisis COD

Metode yang digunakan dalam analisis COD yaitu metode spektrophotometri. Analisis COD limbah cair tahu dilakukan dengan cara 0,2 ml atau 200 μL larutan sampel (standar tanpa pengenceran) diambil kemudian ditambahkan 5 ml larutan regen COD (larutan pencerna 1,5 ml + larutan pereaksi asam sulfat 3,5 ml). Selanjutnya dipanaskan pada DRB 200 dengan suhu 150 °C selama 2 jam kemudian didinginkan selama 30 menit. Diukur kadar COD dengan alat spektrophotometer (Tipe Hach DR/ 4000U) pada panjang gelombang 620 nm.

3.5.5 Analisis BOD

Metode yang digunakan dalam analisis BOD yaitu metode DO Metri. Analisis BOD limbah cair tahu dilakukan dengan cara aquades dimasukkan ke dalam gelas beker, diaduk dengan *stirrer* dan diberi aerasi selama 15 menit, kemudian aquades

dimasukkan ke dalam botol BOD sampai penuh sambil terus diaduk dengan *stirrer*. Selanjutnya angka pada DO meter dibaca, pada saat stabil ditekan tombol cal pada DO meter. Setelah itu disiapkan *buffer* (magnesium sulfat, ferri klorida, kalsium klorida, fosfat) dan *seed* bakteri. Selanjutnya dimasukkan masing-masing *buffer* sebanyak 1 ml ke dalam erlenmeyer ukuran 1.000 ml (sampel dan blanko) kecuali *seed*. Kemudian ditambahkan larutan sampel sebanyak 20 ml ke dalam masing-masing erlenmeyer dan ditambahkan aquades sebanyak 800 ml ke dalam masing-masing erlenmeyer. Setelah itu ditambahkan *seed* bakteri 10 tetes ke dalam erlenmeyer kemudian diaduk dengan *stirrer* selama 5–10 menit dan blanko yang telah disiapkan diaduk dengan *stirrer* selama 3 menit. Setelah itu dimasukkan blanko ke dalam botol BOD (sebelumnya dicatat volume botol) dan diukur dengan DO meter (Tipe DO 24-P), dan terus diulang untuk sampel berikutnya (dibilas bila sampel yang digunakan berbeda). Kemudian botol BOD yang telah diukur dipenuhi dan disimpan dalam inkubator dengan suhu 20 °C. Setelah 5 hari, diulangi lagi pengukuran dengan poses yang sama dengan sampel yang telah disimpan di inkubator.

3.5.6 Analisis N-total

Metode yang digunakan dalam analisis N-total yaitu metode kjeldahl. Analisis N-total limbah cair tahu dilakukan dengan cara 10 ml sampel ditambah katalis 1 g, dan dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 100 ml. Kemudian ditambahkan 1 g campuran selenium dan 3 ml asam sulfat pekat. Selanjutnya dipanaskan dengan alat destruksi, mula-mula dengan nyala kecil selama 15 menit kemudian dengan nyala besar hingga larutan jernih. Kemudian pemanasan dilanjutkan selama 15

menit. Selanjutnya labu kejdahl didinginkan, setelah dingin ditambahkan air suling sampai volume sampel 250 ml dan seluruh ekstrak contoh dipindahkan ke dalam labu didih (gunakan aquades dan botol semprot), kemudian disiapkan penampung untuk NH_3 yang dibebaskan, yaitu erlenmeyer yang berisi 25 ml asam borat 1% yang ditambahkan 2 tetes indikator conway (berwarna merah). Dengan gelas ukur ditambahkan NaOH 40% sebanyak 20 ml, kemudian labu didih yang berisi contoh cepat ditutup. Didestilasi hingga volume penampung mencapai 50–75 ml (berwarna hijau). Kemudian dititrasi destilat dengan HCl 0,1 N (berubah warna menjadi merah muda). Dicatat volume titrasi contoh kemudian dihitung kadar N-totalnya.

3.5.7 Analisis Fosfor (P) Limbah Cair Tahu

Metode yang digunakan dalam analisis P-total limbah cair tahu yaitu metode spektrophotometri. Analisis P-total limbah cair tahu dilakukan dengan cara 5 ml limbah cair tahu yang telah disaring sebelumnya diambil dengan menggunakan *bubble bulb* dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah 10 ml pereaksi P (pereaksi 1 terdiri dari amonium molibdat, antimonil kalium tartad, asam sulfat pekat, aquades, dan pereaksi 2 yaitu asam askorbat). Kemudian dibiarkan selama 10 menit, lalu diukur dengan menggunakan spektrophotometer (Tipe Spectronic 20) pada panjang gelombang 693 nm. Adanya senyawa kompleks berwarna biru menunjukkan adanya fosfor.

3.6 Peubah Pengamatan

3.6.1 Peubah Utama

Peubah utama yang diamati adalah analisis P-larut dalam asam sitrat 2% (SNI).

3.6.2 Peubah Pendukung

Peubah pendukung yang diamati adalah:

- a. pH (Metode elektrometrik), meliputi pH batuan fosfat, pH limbah cair tahu dan pH pelarut asam.
- b. P-total (HCl 25%).