

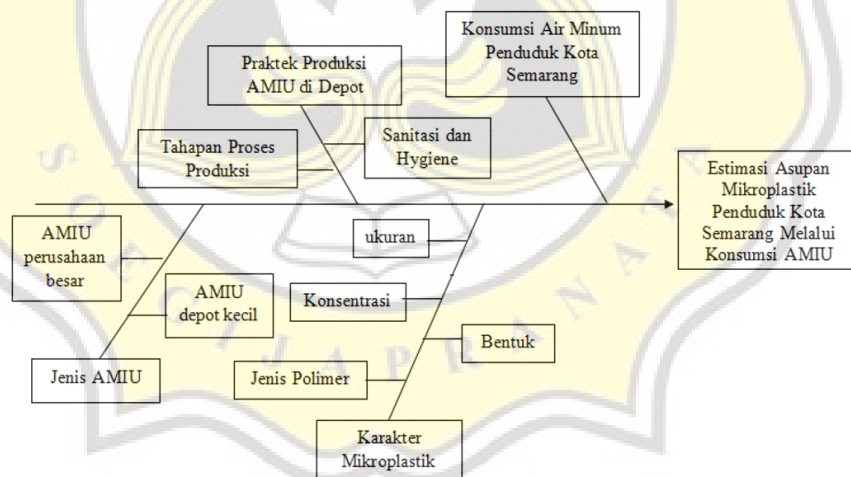
### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Kota Semarang sebagai bagian dari proyek penelitian deteksi mikroplastik pada beberapa depot isi ulang air minum di Kota Semarang. Penelitian ini dilaksanakan khususnya di Kecamatan Semarang Selatan sebagai salah satu dari 4 kecamatan yang terpilih secara acak dari 16 Kecamatan di Semarang. Penelitian ini dilakukan sejak Januari hingga Desember 2022 atau selama 12 bulan.

#### 3.2. Desain Penelitian

Pada penelitian ini, dilakukan deteksi mikroplastik pada sampel AMDK isi ulang yang beredar di Kota Semarang dari berbagai depot isi ulang air minum. Garis besar rancangan penelitian dapat dilihat pada diagram tulang ikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Desain Penelitian

#### 3.3. Materi

##### 3.3.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas beker, cawan petri, pompa vakum, pinset, *Erlenmeyer*, oven, gelas corong, *aluminium foil*, mikroskop (Olympus BX-41), dan *micro-FTIR* (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*).

### 3.3.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Air Minum Dalam Kemasan Isi Ulang (AMDK isi ulang) yang berasal dari 3 depot isi ulang air minum dari Kecamatan Semarang Selatan, larutan etanol 70%, kertas saring PTFE *Omnipore* 47 mm (*pore size* 1  $\mu\text{m}$ ), *aquabides*, dan sarung tangan nitril.

### 3.4. Metode

Penelitian dilakukan melalui beberapa tahap dari penentuan lokasi dan pengambilan sampel, pemetaan proses produksi depot isi ulang air minum, deteksi dan identifikasi mikroplastik dalam AMDK isi ulang, serta analisis data. Tahapan penelitian disajikan pada diagram alir dibawah (Gambar 2.).



Gambar 2. Tahap Penelitian

#### 3.4.1. Pengambilan Sampel

Penelitian dilakukan dengan cara mengumpulkan sampel AMDK isi ulang dari depot isi ulang air minum yang tersebar di Kecamatan Semarang Selatan. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *multistage random sampling*. Dari 16 kecamatan di kota Semarang, dipilih empat kecamatan secara acak, salah satunya adalah Kecamatan Semarang Selatan, sebagai lokasi pengambilan sampel. Di kecamatan terpilih, data jumlah, lokasi, dan kontak depot isi ulang air minum yang ada dicari menggunakan *Google Maps* dengan kata kunci ‘Depot Air Minum Isi Ulang Semarang Selatan’ dan frasa sejenisnya. Setelah pendataan dilakukan,

masing-masing pemilik depot isi ulang air minum dihubungi dan ditanyakan ketersediaannya untuk diwawancara, dilakukan observasi, dan dokumentasi pada area depot. Dari seluruh depot isi ulang air minum yang dihubungi, dipilih tiga (3) depot yang bersedia untuk diobservasi, yaitu depot SEL I, SEL II, dan SEL III. Depot isi ulang air minum bersedia untuk diobservasi ditandai dengan *pin* merah (Gambar 3.). Dari setiap depot isi ulang air minum yang terpilih, tiga galon AMDK isi ulang diambil untuk dianalisis kandungan mikroplastiknya di laboratorium.



Gambar 3. Peta Lokasi AMDK isi ulang di Kecamatan Semarang Selatan  
(sumber: *openstreetmap.com*)

### 3.4.2. Pemetaan Proses Produksi Depot Isi Ulang Air Minum

Sebagai data pendukung, dilakukan pemetaan proses produksi pada depot isi ulang air minum yang terdapat di Kecamatan Semarang Selatan. Pemetaan proses produksi depot isi ulang air minum dilakukan melalui observasi lapangan serta wawancara dengan pemilik depot isi ulang. Wawancara merupakan teknik pengambilan data/informasi oleh pewawancara dengan responden. Wawancara dilakukan dalam bentuk tanya jawab terstruktur dengan menggunakan pedoman/kuesioner wawancara. Observasi merupakan teknik pengumpulan data langsung dari lapangan yang terdiri dari pengamatan dan pencacatan sistematis dari berbagai fenomena dalam suatu situasi yang diamati (Yusuf, 2014). Observasi

lapangan dilakukan untuk mendapatkan kondisi lokasi depot isi ulang dan kegiatan kondisi proses produksi AMDK isi ulang di masing-masing depot. Wawancara dengan pemilik depot isi ulang dilakukan untuk mengetahui tahapan proses produksi, tahapan pencucian galon, serta penerapan sanitasi dan higienitas (*good practices*) di setiap depot isi ulang air minum. Daftar pertanyaan wawancara yang dilakukan dapat dilihat pada Lampiran 1. Selain itu, dilakukan juga dokumentasi berupa pengambilan gambar/video pada area depot.

### **3.4.3. Deteksi dan Identifikasi Mikroplastik pada AMDK isi ulang**

#### **3.4.3.1. Penjaminan Mutu Prosedur Deteksi, Identifikasi, dan Analisis**

Untuk menghindari kontaminasi mikroplastik dari lingkungan, alat, bahan maupun dari peneliti maka diterapkan sejumlah protokol yang ketat. Protokol-protokol yang dilakukan dimodifikasi berdasarkan rekomendasi GESAMP (2019) dan Schymanski *et al.* (2021). Area di laboratorium yang digunakan untuk bekerja harus dibersihkan dengan etanol 70% dan semua proses analisis dilakukan dalam *laminar fumehood*. Semua peralatan yang digunakan dicuci dengan bersih, dibilas dengan akuabides steril sebanyak 2 kali, dan dibilas lagi dengan etanol 70%, lalu dikeringkan dengan menggunakan oven. Semua peralatan yang belum dipakai ditutup atau dibungkus rapat dengan *aluminium foil*. Selama melakukan proses analisis di laboratorium, peneliti diwajibkan menggunakan jas laboratorium dari bahan 100% katun, mengenakan sarung tangan nitril, dan masker.

Sebagai faktor koreksi jumlah mikroplastik, blanko proses dan kontrol diterapkan setiap melakukan analisis sampel. Sebagai blanko digunakan akuabides steril sebanyak 500 ml yang disaring dengan metode yang sama dengan sampel dan selanjutnya diamati. Dalam 1 hari, digunakan 2 kertas saring blanko setiap penyaringan dilakukan (setidaknya dibutuhkan 1 blanko setiap 5 atau 10 sampel). Untuk kontrol, membran PTFE bersih diletakkan di cawan petri dalam kondisi terbuka di ruang pengamatan selama proses analisis dilakukan. Digunakan 1 kertas saring kontrol setiap harinya untuk setiap sampel yang dianalisis. Mikroplastik

yang terdeteksi dari blanko dan kontrol akan menjadi faktor koreksi untuk hasil analisis sampel.

#### **3.4.3.2. Preparasi Sampel AMDK isi ulang**

Mula-mula, sampel AMDK isi ulang yang diambil dari masing-masing depot isi ulang air minum dibawa ke laboratorium di Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Soegijapranata Semarang. Semua galon dibersihkan dengan *tissue* beralkohol dan diberi kode. Metode deteksi mikroplastik pada AMDK isi ulang diadopsi dari rekomendasi Koelmans *et al.* (2019) dan Oßmann (2021) dengan beberapa penyesuaian di volume sampel, persiapan bahan dan proses penyaringan, serta identifikasi. Berdasarkan rekomendasi volume sampel minimal sebanyak 1 liter untuk setiap sampel, dari setiap galon diambil sampel air sebanyak 2 liter. Sampel ditampung di gelas beaker yang sudah dibersihkan sebelumnya sesuai tercantum pada Bagian 3.4.3.1.. Selanjutnya sampel disaring melalui membran PTFE *Omnipore* yang memiliki ukuran pori 1 µm menggunakan pompa vakum. Membran yang menampung partikel yang diduga plastik disimpan pada cawan petri dan dibiarkan kering selama beberapa hari. Sampel yang telah kering kemudian ditutup menggunakan parafilm dan/atau *aluminium foil* selama proses analisis berlangsung.

#### **3.4.3.3. Identifikasi Mikroplastik AMDK isi ulang**

Dalam melakukan identifikasi, preparat diletakkan di depan lensa obyektif dan diamati pada perbesaran 40x dan 100x dengan mikroskop (Olympus BX-41). Jumlah, bentuk, warna dan ukuran partikel yang terkumpul di membran PTFE diamati di bawah mikroskop dan didokumentasikan. Identifikasi bentuk mikroplastik dilakukan berdasarkan klasifikasi dan deskripsi bentuk dalam Lusher *et al.* (2017) dan GESAMP (2019). Selanjutnya, identifikasi jenis polimer partikel dikonfirmasi secara terbatas menggunakan *micro-FTIR imaging spectrometer* (IRTracer 100 & AIM 9000, Shimadzu, Jepang) dengan membandingkan spektra yang diperoleh dari sampel dengan polimer plastik yang diketahui pada beberapa



*reference spectral library* yang digunakan. Dilakukan identifikasi polimer pada 1 ulangan setiap sampel.

Berdasarkan Renner *et al.* (2019), hasil identifikasi dengan skor similaritas *hit quality index* (HQI)  $>700\%$  (70%) akan dipakai sebagai dasar hasil konfirmasi identifikasi jenis polimer mikroplastik. Namun, untuk partikel dengan nilai HQI  $\geq 600 \leq 700$  diinterpretasi secara manual untuk setiap partikelnya (Veerasingam *et al.*, 2021). Untuk menentukan jenis polimer plastik setiap partikelnya, dilakukan perbandingan antara skor similaritas HQI pada *reference spectral library* yang digunakan, yaitu *IR-Polymer*, *T-Polymer*, *Thermal-Damaged Plastics*, dan *UV-Damaged Plastics*. Polimer yang muncul pada beberapa *library* dengan nilai HQI  $\geq 600$  dan tertinggi yang akan dinyatakan sebagai jenis polimer mikroplastik yang ditemukan.

#### **3.4.4. Analisa Data**

Data karakteristik mikroplastik dalam AMDK isi ulang (konsentrasi, bentuk, ukuran, dan jenis polimer) berdasarkan rekomendasi Schymanski *et al.* (2021) diolah secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel maupun grafik. Perhitungan konsentrasi mikroplastik dalam AMDK isi ulang dilakukan dengan menggunakan blanko penyaringan dan kontrol ruangan sebagai faktor koreksi. Konsentrasi mikroplastik akhir pada sampel diperoleh dari jumlah partikel yang ditemukan dalam sampel dikurangi dengan jumlah rata-rata partikel yang ditemukan pada seluruh blanko proses dan jumlah partikel yang ditemukan pada kontrol laboratorium. Data konsentrasi AMDK isi ulang yang didapatkan (partikel/L) ditampilkan dalam bentuk rerata konsentrasi.

Hasil pengamatan partikel mikroplastik dikelompokkan ke dalam beberapa kategori/*bin* untuk setiap karakteristiknya. Karakterisasi bentuk partikel mikroplastik dilakukan dalam 4 kategori, *fiber*, *spherical/pellets*, *fragment*, dan *film*. Sedangkan karakterisasi ukuran mikroplastik dibagi menjadi 6 kategori yaitu  $<5 \mu\text{m}$ ,  $5-20 \mu\text{m}$ ,  $21-50 \mu\text{m}$ ,  $51-100 \mu\text{m}$ ,  $101-300 \mu\text{m}$ , dan  $>300 \mu\text{m}$ . Bentuk dan

ukuran masing-masing partikel pada blanko dan kontrol juga diidentifikasi dan digunakan sebagai faktor koreksi dalam perhitungan persentase masing-masing bentuk partikel yang diidentifikasi. Data observasi penerapan *good practices* di lapangan ditampilkan secara deskriptif untuk mendukung hasil deteksi mikroplastik di AMDK isi ulang.

Perhitungan estimasi paparan mikroplastik melalui AMDK isi ulang (partikel/hari) dimodifikasi dari perhitungan paparan melalui ingesti dari U.S. *Environmental Protection Agency* (EPA) (2019) dengan rumus sebagai berikut:

$$P_m = (K) (V) \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan:

$P_m$  = Estimasi Paparan Mikroplastik (Partikel/orang/hari)

K = konsentrasi mikroplastik dalam AMDK isi ulang (partikel/L)

V = Estimasi konsumsi AMDK isi ulang penduduk kota Semarang dalam waktu sehari (L/orang/hari).

Data jumlah konsumsi AMDK isi ulang diperoleh berdasarkan anjuran konsumsi air minum oleh Kemenkes RI (2018). Estimasi paparan dihitung menggunakan konsentrasi maksimum, minimum, serta rata-rata mikroplastik yang diperoleh dari seluruh depot dengan asumsi bahwa anjuran konsumsi air minum dipenuhi sebanyak 50%, 75%, dan 100% dari AMDK isi ulang.