

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif dengan metode *ex post facto*. Penelitian ini dirancang untuk menggambarkan keadaan objek penelitian serta mendapatkan makna dari implikasi penelitian berdasarkan obyek penelitian. Metode *ex post facto* dalam penelitian ini adalah penelitian yang dilakukan dalam kondisi alami tanpa adanya pengontrolan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Lokasi yang dilaksanakan untuk pengambilan sampel adalah Sungai Tambak Oso Kecamatan Waru Kabupaten Sidoarjo. Sedangkan tempat pengumpulan data ikan mujair dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Kota Surabaya. Berikut adalah peta alur aliran sungai Tambak Oso dari industri Rungkut, dapat dilihat di bawah ini:



Gambar 3.1 Aliran air sungai Tambak Oso dari industri Rungkut

Sedangkan pengambilan sampel ikan mujair diambil pada dua lokasi yaitu lokasi 1 adalah area pintu air dan lokasi 2 adalah area pemukiman warga. Lebih jelasnya dapat di lihat pada peta dibawah ini :



Gambar 3.2 Lokasi pengambilan subyek teliti di Sungai Tambak Oso Kecamatan Waru Kabupaten Sidoarjo

3.2.2 Waktu Penelitian

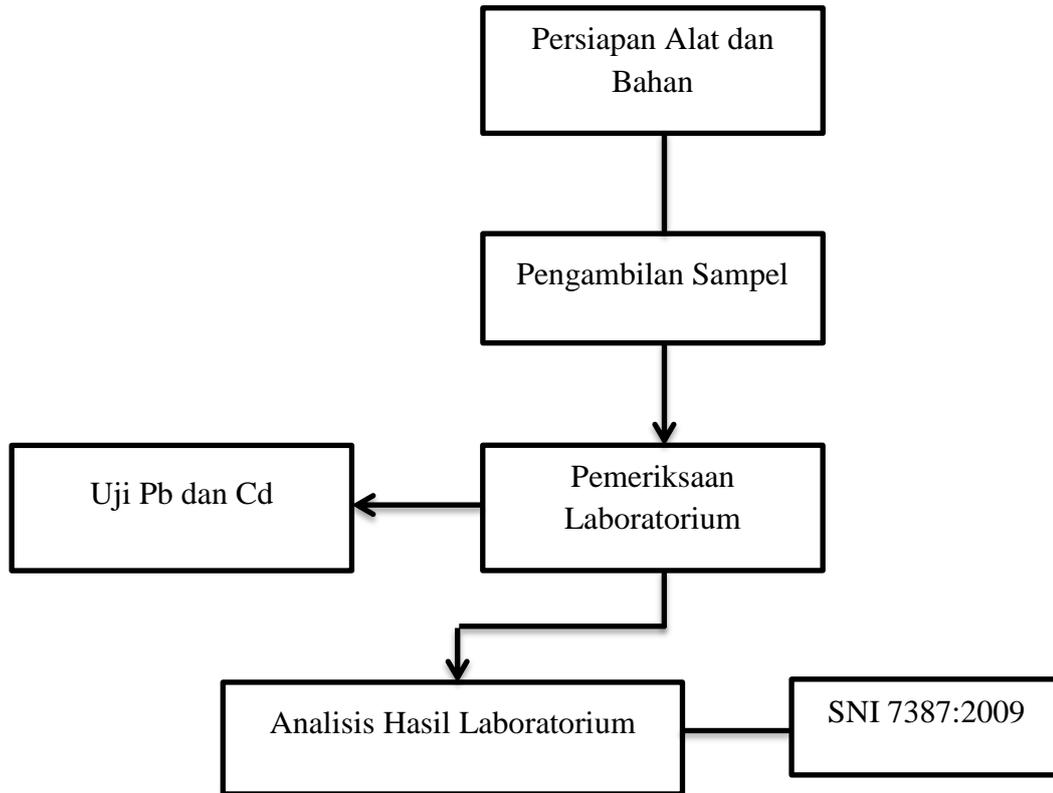
Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Januari 2017 sampai dengan bulan Mei 2017.

3.3 Subyek dan Obyek Penelitian

Subjek penelitian adalah ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*), sedangkan objek penelitian adalah logam berat Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd). Subjek teliti berasal dari Sungai Tambak Oso Kecamatan Waru Kabupaten Sidoarjo, khususnya di lokasi pintu air sungai dan lokasi aliran yang dekat dengan pemukiman warga.

Jumlah Subjek teliti Ikan Mujair diambil secara *purposive sampling* yaitu pengambilan subjek teliti dilakukan atas dasar pertimbangan peneliti yang menganggap unsur-unsur yang dikehendaki telah ada dalam anggota subjek teliti yang diambil (Suharsimi, 2013) seperti peneliti menganggap apabila ikan mujair tersebut memiliki kandungan logam berat dan jumlah sampel yang dianggap sudah cukup apabila jumlah tersebut sudah memenuhi kebutuhan peneliti serta ukuran ikan karena hal itu tidak dapat dikondisikan.

3.4 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur penelitian

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data bertujuan untuk mendapatkan data-data yang diperlukan untuk keperluan penelitian. Data-data yang diambil dengan cara menggambarkan keadaan lingkungan sungai Tambak Oso Desa Tambak Oso Kecamatan Waru Kabupaten Sidoarjo dengan mengukur kadar logam berat Pb dan Cd pada ikan mujair serta mengukur suhu dan pH air sungai sebagai parameter fisika-kimia untuk data pendukung. Untuk mendapatkan data tersebut peneliti melakukan, sebagai berikut :

1. Persiapan

- A. Mengobservasi sungai Tambak Oso Desa Tambak Oso Kecamatan Waru Kabupaten Sidoarjo untuk melakukan penelitian.
- B. Menyiapkan alat dan bahan, pengambilan subyek teliti, sterilisasi alat, menghomogenkan/ melumatkan subyek teliti.

a) Peralatan

1. Aluminium foil
2. Gelas beaker 25 ml, 100 ml dan 250 ml
3. Blender/homogenizer
4. Botol polypropylene
5. Cawan porselen bertutup
6. Corong plastik
7. Desikator
8. Gelas ukur 25 ml dan 50 ml
9. Hot plate
10. Labu takar 50 ml (*polypropylene*) dan 1000 ml
11. Labu takar 100 ml
12. Microwave, khusus untuk destruksi contoh pengujian logam berat
13. Mikropipet
14. Oven
15. Pipet tetes
16. Pipet volumetric 10 ml, 5 ml dan 1 ml
17. Pisau
18. *Refrigerator* atau *freezer*
19. Sendok plastik
20. Seperangkat alat Spectrofotometer Serapan Atom (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) dengan Graphite furnace.
21. Timbangan analitik dengan ketelitian $\pm 0,0001$ g
22. Tungku pengabuan
23. Wadah *polystyrene*.
24. Termometer
25. pH indikator

b) Bahan Pereaksi

1. HCl 37%

2. HCl 6 M

Mengencerkan 500 ml HCl 37 % dengan air deionisasi dan tepatkan hingga 1000 ml

3. HNO₃ 65 %

4. HNO₃ 0,1 M

Mengencerkan 7 ml HNO₃ 65 dengan air deionisasi dan tepatkan hingga 1000 ml

5. NH₄H₂PO₄

Melarutkan NH₄H₂PO₄ 40 mg/ml (sebagai matrik modifier)

Menimbang 2,42 g NH₄H₂PO₄ larutkan dengan air deionisasi di dalam gelas beaker, setelah larut dengan sempurna pindahkan ke dalam labu takar 50 ml dan tepatkan sampai garis batas.

6. Larutan standar Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd), sebagai berikut:

a. Larutan standar primer 1000 mg/l

b. Larutan standar sekunder pertama : 10 mg/l

Gunakan pipet untuk mengambil larutan standar primer 1000 mg/l sebanyak 1 ml, masukkan ke dalam labu takar 100 ml dan encerkan dengan larutan HNO₃ 0,1 M. Larutan standar ini dapat disimpan selama 1 bulan di dalam botol *polypropylene*.

c. Larutan standar kedua : 1 mg/l

Gunakan pipet untuk mengambil 5 ml dari larutan sekunder pertama, masukkan kedalam labu takar 50 ml dan encerkan dengan larutan HNO₃ 0,1 M. Larutan standar ini dapat disimpan selama 1 bulan di dalam botol *polypropylene*.

d. Larutan standar ketiga 100 : µg/l

Gunakan pipet untuk mengambil 5 ml dari larutan sekunder kedua, masukkan kedalam labu takar 50 ml dan encerkan

dengan larutan HNO_3 0,1 M. Larutan standar ini dapat disimpan selama 1 bulan di dalam botol *polypropylene*.

- e. Larutan standar kerja dibuat dari larutan standar sekunder ketiga yang konsentrasinya disesuaikan dengan daerah kerja alat AAS/SSA yang digunakan untuk logam Pb umumnya pada kisaran konsentrasi 1 $\mu\text{g/l}$ – 20 $\mu\text{g/l}$ dan untuk logam Cd umumnya pada kisaran 1 $\mu\text{g/l}$ – 10 $\mu\text{g/l}$, larutan standar kerja ini harus dibuat ketika akan melakukan analisa.

c) Pengambilan Subyek Teliti

Mengambil Subyek teliti dengan cara memancing ikan mujair yang berada di sungai Tambak Oso Desa Tambak Oso Kecamatan Waru Kabupaten Sidoarjo yaitu dari 2 titik, yaitu dari titik pertama; Daerah pintu air sungai, titik kedua; daerah sungai dekat dengan pemukiman warga. Subjek teliti yang diambil akan dimasukkan ke dalam plastik. Mengambil air sungai untuk mengukur pH.

d) Sterilisasi Alat

Mensterilasi alat yang digunakan yaitu blender dan wadah *polystyrene* dengan menyemprotkan alkohol 70%.

e) Melumatkan/Menghomogenkan Subyek Teliti

Menghaluskan daging ikan mujair yang diambil dari masing-masing titik hingga homogen dan tempatkan daging yang sudah homogen ke dalam wadah *polystyrene* yang bersih dan bertutup dan disimpan dalam lemari es (*freezer*). Hasil lumatan daging ikan tersebut ditempatkan didalam tiga wadah *polystyrene* lalu diberi kode A1, A2, A3 (lokasi 1 pengambilan subyek teliti area pintu air sungai) dan B1, B2, B3 (lokasi 2 pengambilan subyek teliti area aliran dekat pemukiman warga). Hal ini dilakukan untuk menghindari kesalahan teknis saat pengukuran kadar logam berat. Subyek teliti dibawa ke Balai Besar Laboratorium Kesehatan Kota Surabaya (BBLK Provinsi Jawa Timur) dalam waktu kurang dari 24 jam untuk diuji kandungan logam berat Timbal dan cadmium (Pb dan Cd) dengan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA).

2. Pengukuran Subyek Teliti

a. Kadar logam berat Pb dan Cd

Pengukuran kadar logam berat Pb dan Cd pada subjek teliti Ikan Mujair (*Oreochromis Mossambicus*) di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya (BBLK) dengan menggunakan SSA. Prosedur pengujian kimia yang dilakukan oleh peneliti sesuai dengan petunjuk Standar Nasional Indonesia SNI 2354.5:2011 tentang cara uji kimia Bagian 5: Penentuan kadar logam berat kadmium (Cd) dan timbal (Pb) pada produk perikanan adalah sebagai berikut :

1. Pengabuan kering (*dry ashing*)
 - a. Menimbang produk (daging ikan mujair yang sudah dihomogenkan) sebanyak 0,5 gram dalam cawan porselen dan catat beratnya (W)
 - b. Membuat control positif Pb dan Cd
Contoh : pembuatan *spiked* 0,05 mg/kg Pb dan atau Cd (Menambahkan sebanyak 0,25 ml larutan standar Pb atau Cd 1 mg/l ke dalam daging yang sudah dihomogenkan sebelum dimasukkan ke tungku pengabuan).
Menguapkan *spiked* diatas *hot plate* pada suhu 100°C sampai kering
 - c. Memasukkan hasil *spiked* ke dalam tungku pengabuan dan tutup separuh permukaannya. Menaikkan suhu tungku pengabuan secara bertahap 100 °C setiap 30 menit sampai mencapai 450 °C dan pertahankan selama 18 jam.
 - d. Mengeluarkan hasil *spiked* dari tungku pengabuan dan dinginkan pada suhu kamar. Setelah dingin menambahkan 1 ml HNO₃ 65 %, lalu mengoyak secara hati-hati sehingga semua abu terlarut dalam asam dan selanjutnya menguapkan diatas *hot plate* pada suhu 100 °C sampai kering.
 - e. Memasukkan kembali hasil *spiked* ke dalam tungku pengabuan, menaikkan suhu secara bertahap 100 °C setiap 30 menit sampai mencapai 450 °C dan pertahankan selama 3 jam.

- f. Mendinginkan pada suhu ruang setelah abu terbentuk sempurna berwarna putih,. Menambahkan 5 ml HCl 6 M ke dalam masing-masing hasil spiked, goyangkan secara hati-hati sehingga semua abu larut dalam asam. Menguapkan diatas *hot plate* pada suhu 100 °C sampai kering.
 - g. Menambahkan 10 ml HNO₃ 0,1 M dan mendinginkan pada suhu ruang selama 1 jam, memindahkan larutan ke dalam labu takar *polypropylene* 50 ml dan menambahkan larutan matrik modifier, menepatkan sampai tanda batas dengan menggunakan HNO₃ 0,1 M.
2. Destruksi basah menggunakan microwave
- a. Menimbang daging ikan yang sudah dihomogenkan sebanyak 2 g ke dalam tabung sampel (*vessel*) kemudian dicatat beratnya (W)
 - b. Menambahkan masing-masing 0,2 ml larutan standar Pb dan Cd 1 mg/l atau larutan Pb dan Cd 200 µg/l sebanyak 1 ml ke dalam daging yang homogen tadi kemudian di vortex untuk control positif (*spiked* 0,1 mg/kg)
 - c. Menambahkan secara berurutan 5 ml - 10 ml HNO₃ 65% dan 2 ml H₂O₂
 - d. Melakukan destruksi dengan mengatur program microwave (sesuaikan dengan microwave yang digunakan).
 - e. Memindahkan hasil destruksi ke labu takar 50 ml dan menambahkan larutan matrik modifier, menepatkan sampai anda batas dengan air deionisasi.
3. Pembacaan kurva kalibrasi pada AAS/SSA
- a. Menyiapkan larutan standar kerja Pb dan Cd masing-masing minimal lima titik konsentrasi.
 - b. Membaca larutan standar kerja pada alat spektrofotometer serpan atom graphite furnace pada panjang gelombang 283,3 nm untuk timbal (Pb) dan 228,8 nm untuk cadmium (Cd).

4. Perhitungan

Kadar logam Pb atau Cd dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$\text{Konsentrasi Pb atau Cd } \mu\text{g/g} = \frac{(D-E) \times Fp \times V}{W}$$

Keterangan :

D : konsentasi $\mu\text{g/l}$ dari hasil pembacaan AAS/SSA

E : konsentasi blanko $\mu\text{g/l}$ dari hasil pembacaan AAS/SSA

Fp : faktor pengenceran

V : volume akhir larutan yang disiapkan (ml), harus diubah ke dalam satuan liter

W : berat daging homogen (g)

b. Suhu dan pH air sungai

Pengukuran suhu air langsung dilakukan di sungai Tambak Oso dengan cara mencelupkan termometer pada sampel. Sebelum itu, harus memastikan bahwa air raksa tepat pada suhu kamar, lalu termometer tersebut dicelupkan ± 15 menit sampai skala air raksa terhenti. Pengukuran ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan untuk menghindari kesalahan-kesalahan dalam pelaksanaan.

Pengukuran pH juga langsung di sungai Tambak Oso dengan cara mengambil sampel air sungai lalu mencelupkan kertas pH indikator kemudian disesuaikan dengan parameter pH untuk mengetahui hasilnya. Data pH dan suhu air diperoleh sebagai data pendukung guna menunjang data utama.

3. Tabulasi data hasil pengukuran kadar logam berat

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran kadar logam berat timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) pada ikan mujair, ditabulasikan dengan format nomor, sampel, kode sampel, kadar logam berat Pb, kadar logam berat Cd. Sedangkan data pendukung dari hasil pengukuran suhu dan pH ditabulasikan dengan format nomor, lokasi sampel, hasil pengukuran suhu, hasil pengukuran pH.

3.6 Teknik Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan antara hasil uji dengan baku mutu SNI 7387:2009 tentang Batas Maksimum Cemar Logam Berat dalam Pangan. Baku mutu logam berat pada ikan berdasarkan SNI 7387: 2009 adalah sebagai berikut :

Tabel 3.1 Analisis baku mutu cemaran logam berat pada ikan menurut SNI 7387:2009

No. Kategori Pangan	Kategori pangan	Logam Berat	Batas Maksimum (mg/kg)	Kriteria Kelayakan Konsumsi
09.0	Ikan dan Produk Perikanan	Timbal (Pb)	0,3	a. Layak apabila kadar Pb < 0,3 mg/kg b. Tak layak apabila Pb > 0,3 mg/kg
09.0	Ikan dan Produk Perikanan	Kadmium (Cd)	0,1	a. Layak apabila kadar Cd < 0,1 mg/kg b. Tak layak apabila kadar Cd > 0,1 mg/kg

Sedangkan data hasil pengukuran suhu dan pH air sungai dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan hasil uji dan parameter fisika-kimia yang ditetapkan Peraturan Pemerintah No.82 Tahun 2001 kelas II sesuai dengan peruntukannya yaitu air sungai sebagai habitat ikan yang dikonsumsi. Parameter suhu dan pH berdasarkan PP No. 82 tahun 2001 adalah sebagai berikut :

Tabel 3.2 Parameter suhu dan pH air sungai sesuai dengan peruntukannya berdasarkan PP No.82 Tahun 2001 Kelas II

Parameter	Baku Mutu	Kriteria Aman
Suhu	Deviasi 3	Berada di deviasi 3 dari kondisi alami
pH	6-9	Berada dikisaran 6-9