

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni sampai dengan Agustus 2011 di Laboratorium Kimia Analitik, Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, Pengambilan sampel di sungai Way Kuala Bandar Lampung dan analisa sampel akan dilakukan di Laboratorium Biomassa Universitas Lampung dan Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

#### **B. Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium, Spektrofotometer Serapan Atom, botol sampel, hotplate, pisau, termometer, saringan mesh 100, pH-meter, jala, blender atau mortar, dan oven.

Bahan-bahan yang digunakan adalah ikan, air muara sungai Way Kuala,  $\text{HNO}_3$  pekat,  $\text{HNO}_3$  1 N, akuades, aluminium foil, *tissue*,  $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , HCl dan kertas saring.

## **C. Prosedur Penelitian**

### **1. Pembuatan Larutan**

#### **a. Larutan HNO<sub>3</sub> 1 N.**

Sebanyak 31,25 mL HNO<sub>3</sub> pekat dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL, kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

#### **b. Larutan induk Cr 1000 ppm.**

Sebanyak 0,5124 gram CrCl<sub>3</sub>.6 H<sub>2</sub>O dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

#### **c. Larutan induk Mn 1000 ppm**

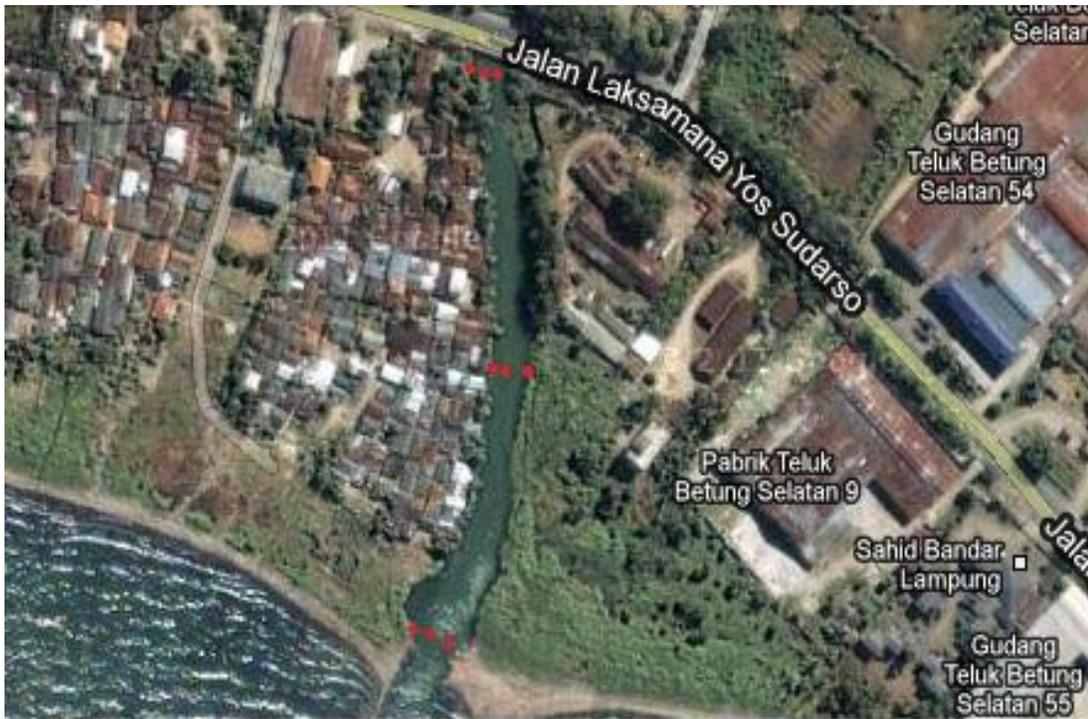
Sebanyak 0,3602 gram MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

### **2. Metode Pengambilan Sampel**

#### **a. Persiapan Pengambilan Sampel**

Sebelum melakukan pengambilan sampel, semua wadah dicuci dengan sabun dan dibilas merata dengan air sampai busanya habis, kemudian direndam dengan HNO<sub>3</sub> 1 N selama 24 jam untuk menghilangkan kontaminasi logam yang menempel dalam wadah sampel. Proses pengeringan dan penyimpanan dilakukan dalam keadaan tertutup sampai digunakan (Sulistiani, 2009).

## b. Pengambilan Sampel



**Gambar 5.** Lokasi Pengambilan Sampel

Proses pengambilan sampel ikan dan air di muara sungai Way Kuala dilakukan pada bulan Juli 2011. Pengambilan sampel dilakukan dalam beberapa tahap yaitu survei di lokasi muara sungai Way Kuala, kemudian tahap selanjutnya sampling pengambilan sampel ikan dengan menggunakan alat penangkap ikan yaitu jala ikan, tetapi tidak bisa digunakan karena terdapat limbah berupa sampah-sampah akibatnya apabila tetap digunakan jala ikan akan rusak sehingga menggunakan alat penangkap ikan yang bisa yaitu pancing ikan. Sampel ikan diambil secara acak (random) di muara sungai Way Kuala. Sampel ikan yang akan diteliti diupayakan ikan-ikan yang

bersifat menetap dan merupakan jenis predator yang berada pada posisi top karnivora dalam sistem rantai makanan sehingga indikasi keberadaan logam berat melalui proses bioakumulasi dan biomagnifikasi melalui aliran rantai makanan dapat terdeteksi. Ikan tersebut juga haruslah jenis ikan yang dikonsumsi oleh masyarakat setempat.

Pengambilan sampel air dilakukan secara *Stratified Sampling*, dimana proses pengambilan sampel ini berdasarkan pada titik-titik yang telah ditentukan secara terstruktur di muara sungai Way Kuala Bandar Lampung. Sampel air diambil pada 9 titik yaitu pada bagian hulu, tengah dan hilir, masing-masing di tiap bagian dilakukan pengambilan sampel air sebanyak 3 titik. Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel air yaitu botol air. Selain dilakukan pengujian sampel ikan dan air pada saat sampling, dilakukan pengujian terhadap kualitas air yaitu suhu, pH, DO, BOD dan COD, alat yang digunakan untuk pengukuran kualitas air yaitu termometer, pH meter, DO meter Martini 480, Varian Carry Win UV50 dan Varian Carry Win UV51. Metode pengujian pada kualitas air menggunakan metode SNI 06-2503-1991 dan APHA 5220-C.

### **3. Preparasi Sampel**

#### **a. Preparasi Sampel Untuk Penentuan Kadar Logam Cr**

Sampel ikan Kiper (*Scatophagus argus*) diambil insang, isi perut dan dagingnya, dibersihkan dan dicuci dengan akuades. Kemudian dikeringkan dalam oven

40-80 °C sampai berat konstan. Sampel ikan Kiper yang sudah di oven, dihaluskan dan disaring menggunakan saringan 100 mesh. Masing-masing sampel ikan Kiper ditimbang, untuk sampel daging ikan Kiper ditimbang sebanyak 5 gram, sedangkan sampel insang dan isi perut ikan Kiper ditimbang sebanyak 2 gram.

Mula-mula sampel daging ikan Kiper dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan HCl dan HNO<sub>3</sub> dengan perbandingan 3:1(aqua regia) sebanyak 15 ml. Kemudian didiamkan selama 3 jam, setelah didiamkan selama 3 jam ditambahkan 10 ml akuades kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Sisa sampel pada kertas saring dicuci dengan 10 ml akuades sebanyak tiga kali pengulangan sampai pH berkisar 2-3. Filtrat yang dihasilkan kemudian diukur dengan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) untuk menentukan kadar logam Cr. Prosedur diatas dilakukan sebanyak empat kali pengulangan dengan sampel yang sama.

Sampel insang dan isi perut ikan Kiper, masing-masing dimasukan dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 10 ml Aqua regia. Didiamkan selama 3 jam, setelah didiamkan selama 3 jam ditambahkan 10 ml akuades kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Sisa sampel pada kertas saring dicuci dengan 10 ml akuades sebanyak dua kali pengulangan sampai pH berkisar 2-3. Filtrat yang dihasilkan kemudian diukur dengan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) untuk menentukan kadar logam Cr. Prosedur diatas dilakukan sebanyak empat kali pengulangan dengan sampel yang sama.

## **b. Preparasi Sampel Untuk Penentuan Kadar Logam Mn**

Sampel ikan Kiper (*Scatophagus argus*) diambil insang, isi perut dan dagingnya, dibersihkan dan dicuci dengan akuades. Kemudian dikeringkan dalam oven 40-80 °C sampai berat konstan. Sampel ikan kiper yang sudah di oven, dihaluskan dan disaring menggunakan saringan 100 mesh. Masing-masing sampel ikan kiper ditimbang, untuk sampel daging ikan Kiper ditimbang sebanyak 5 gram, sedangkan sampel insang dan isi perut ikan Kiper ditimbang sebanyak 2 gram.

Sampel daging ikan yang sudah ditimbang, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 20 ml asam nitrat pekat. Selanjutnya didiamkan selama 3 jam. Setelah didiamkan selama 3 jam ditambahkan 10 ml akuades kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Sisa sampel pada kertas saring dicuci dengan 10 ml akuades sebanyak empat kali pengulangan sampai pH berkisar 2-3. Filtrat yang dihasilkan kemudian diukur dengan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) untuk menentukan kadar logam Mn. Prosedur diatas dilakukan sebanyak empat kali pengulangan dengan sampel yang sama.

Sampel insang dan isi perut ikan yang sudah ditimbang, masing-masing dimasukkan dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 15 ml asam nitrat pekat. Didiamkan selama 3 jam, setelah didiamkan selama 3 jam ditambahkan 10 ml akuades kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Sisa sampel pada kertas saring dicuci dengan 10 ml akuades sebanyak tiga kali pengulangan sampai pH berkisar 2-3 Filtrat yang dihasilkan kemudian diukur dengan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

untuk menentukan kadar logam Mn. Prosedur diatas dilakukan sebanyak empat kali pengulangan dengan sampel yang sama.

**c. Penentuan Konsentrasi Cr dan Mn pada Sampel ikan dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)**

Penentuan konsentrasi logam Cr dan Mn pada sampel ikan dilakukan dengan teknik kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi dibuat dari larutan standar, dengan konsentrasi standar Cr dan Mn yaitu 0; 0,5; 1; 2 dan 4 ppm. Masing-masing konsentrasi standar, serapannya diukur dengan Spektrofotometer Serapan Atom pada kondisi optimum yang didapat dari manual alat. Dari grafik kurva standar terdapat korelasi antara konsentrasi (x) dengan absorbansi (y). Dengan menggunakan persamaan regresi linier maka konsentrasi dari sampel dapat diketahui:

$$y = a+bx$$

Keterangan :

y : Absorbansi Sampel

b : *Slope*

x : Konsentrasi sampel

a : *Intersep*

Setelah konsentrasi pengukuran diketahui, maka konsentrasi sebenarnya dari Cr dan Mn dalam sampel kering dapat ditentukan dengan persamaan berikut (Siaka, 2008) :

$$M = \frac{C \text{ reg. } V.F}{B}$$

Keterangan :

M : Konsentrasi logam dalam sampel (mg/kg)

C reg : konsentrasi yang diperoleh dari kurva kalibrasi (mg/L)

V : Volume larutan sampel (mL)

B : Bobot sampel (g)

F : Faktor Pengenceran

#### **d. Preparasi Sampel Air**

Analisis air muara sungai Way Kuala, untuk analisis air diambil sampel air muara sungai Way Kuala pada 9 titik. Sampel air diambil sesuai dengan prosedur standar untuk pengambilan sampel air dan limbah yang dianjurkan oleh APHA-AWWA-WPCF (Greenberg, 1980). Pengambilan sampel air dilakukan/diambil pada hulu, tengah dan hilir aliran sungai, setelah itu disaring sehingga bersih dari partikel dan kotoran yang terlarut, kemudian diberikan  $\text{HNO}_3$  sehingga suasana menjadi asam sampai pH berkisar 2-3. Untuk pengambilan sampel air ini dilakukan 3 kali ulangan untuk masing-masing titik; hulu, tengah dan hilir.

Sedangkan untuk pengambilan sampel air untuk uji kualitas air yang lain seperti suhu, pH, *Disolved Oxygen* (DO), *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan *Chemical Oxygen Demand* (COD) dilakukan menurut metode pengambilan cuplikan contoh uji kualitas air SNI 06-2421-1991.

#### **e. Validasi Metode**

Penelitian mengenai “Kajian Kandungan Logam Berat Cr dan Mn pada ikan di Muara Sungai Way Kuala Bandar Lampung “ menggunakan 3 validasi metode yaitu limit deteksi, presisi dan akurasi.

### 1.1. Limit Deteksi

Pada penelitian ini batas deteksi ditentukan dengan mengukur respon blanko sebanyak 5 kali dan dihitung simpangan baku respon blanko.

### 1.2. Presisi (ketelitian)

Penentuan presisi dilakukan dengan mengukur konsentrasi sampel dengan 4 kali pengulangan. Dari nilai absorbansi tersebut kemudian ditentukan nilai konsentrasi (menggunakan kurva kalibrasi), lalu nilai simpangan baku (SD) dan relatif standar deviasi (RSD). Metode dengan presisi yang baik ditunjukkan dengan perolehan relatif standar deviasi (RSD) <5 %.

### 1.3. Akurasi (Kecermatan)

Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Pada penelitian ini, persen perolehan kembali ditentukan dengan cara menambahkan larutan standar pada larutan sampel untuk ditentukan absorbansinya kemudian dibandingkan dengan blanko (tanpa penambahan larutan standar).