

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan sapu-sapu yang diambil dari perairan sungai Bengawan Solo di wilayah Kecamatan Jenar.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dari penelitian ini adalah daging ikan sapu-sapu yang diambil dari perairan sungai Bengawan Solo di wilayah Kecamatan Jenar, sampel diambil pada bulan Mei 2019.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama memuat tentang kadar timbal pada ikan sapu sapu secara spektrofotometri serapan atom.

2. Klasifikasi variabel utama

Klasifikasi diperlukan untuk menentukan alat pengambilan dara dan metode analisis dara yang sesuai berdasarkan pada hubungan sebab akibat menjadi variable tergantung disatu pihak dan variabel bebas, kendali rambang dipihak lain.

2.1 Variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ikan sapu-sapu yang berada di Sungai Bengawan Solo Kecamatan Jenar.

2.2 Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar logam berat timbal (Pb) pada sampel ikan sapu-sapu yang terdapat di Sungai Bengawan Solo, Kecamatan Jenar.

2.3 Variabel kendali. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah pelarut, penimbangan, destruksi, kondisi penelitian, spektrofotometri serapan atom.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, ikan sapu-sapu (*Hypostomus plecostomus*) merupakan salah satu jenis ikan yang mampu hidup di perairan tercemar, spesies ini mempunyai kelimpahan yang tinggi pada sungai-sungai dengan kadar pH 6,2 – 8,3 dan pada sungai-sungai yang tercemar.

Kedua, timbal termasuk dalam kelompok IV dan periode 6 dari tabel periodik unsur kimia dengan nomor atom 82, berat atom 207,2 gram/mol, berat jenis 11,4 gram/cm³, titik leleh 327,4oC, titik didih 1725oC. Timbal bersifat karsinogenik, dapat menyebabkan mutasi, terurai dalam waktu lama, dan toksisitasnya tidak berubah.

Ketiga, pengujian terhadap sampel meliputi uji kualitatif dengan melihat nilai absorbansi yang diperoleh dari pembacaan spektrofotometri serapan atom. Penetapan kadar pada sampel menggunakan spektrofotometri serapan atom berdasarkan pengukuran nilai absorbansi yang dihasilkan dari pembacaan lampu katoda berongga.

Keempat, validasi metode analisis timbal adalah menggunakan metode spektrofotometri serapan atom berdasarkan parameter presisi, linieritas, LOD dan LOQ, selektifitas, dan ketangguhan metode.

C. Alat Dan Bahan

1. Alat

Pada penelitian ini digunakan berbagai alat antara lain Spektrofotometri Serapan Atom, lemari asam, penggiling daging, tabung reaksi, neraca analitik, kaca arloji, labu ukur 100 mL, labu ukur 25 mL, pipet volume, pipet tetes, beaker glass, kertas saring whatman no. 42, batang pengaduk, vial, corong kaca, tissue dan lap.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel daging ikan sapu-sapu, larutan standar $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, Larutan HNO_3 65 %, Larutan H_2O_2 , aquabidest, larutan aquadest asam (aquades 95 mL dan HNO_3 pekat 0,5 mL), serbuk NH_4OH , kristal KCN, Larutan Ditizon 0,005 %, Serbuk KI, dan Serbuk Na_2CO_3 .

D. Jalannya Penelitian

1. Pembuatan larutan standar timbal (Pb)

1.1 Pembuatan larutan baku standart Pb 100 mg/L. Larutan standar 1000 mg/L dipipet 10 mL dimasukkan kedalam labu takar 100 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest asam sampai garis tanda lalu dihomogenkan.

1.2 Pembuatan kurva kalibrasi. Dari larutan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 100 mg/L dibuat seri konsentrasi 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/L, dimasukkan kedalam labu takar 100 mL, ditambahkan aquadest asam sampai tanda batas kemudian dihomogenkan dan diukur serapannya dengan spektrofotometer serapan atom.

2. Preparasi sampel

Sampel ikan sapu-sapu dibersihkan, lalu isi perut beserta insangnya dikeluarkan, kemudian dicuci dengan air sampai bersih. Daging ikan yang telah dibersihkan kemudian dipisahkan dari tulangnya dan dihaluskan dengan pengiling daging, kemudian ditimbang sebanyak 10 gram kedalam beaker glass, ditambah 10 mL HNO₃ 65 % dan 2 mL H₂O₂ pada beaker glass 50 mL dan dipanaskan dengan *hotplate* sampai mendidih, hentikan destruksi jika larutan sudah jernih, larutan didiamkan sampai dingin, kemudian disaring kedalam labu ukur 25 mL dengan kertas *whatman* no 42 dan ditambah dengan aquabidest sampai garis tanda dan dihomogenkan.

3. Validasi metode

3.1 Presisi. Larutan dengan seri konsentrasi dibuat dari larutan baku Pb(NO₃)₂ 100 mg/L diukur serapannya dengan spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 217 nm, replikasi dilakukan sebanyak 10 kali dengan konsentrasi 0,2 mg/L. Absorbansi yang diperoleh dari pembacaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai koefisien variasi.

3.2 Akurasi. Larutan dengan seri konsentrasi 0,1; 0,3; dan 0,5; dibuat dari larutan baku Pb(NO₃)₂ 100 mg/L. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 217 nm. Absorbansi yang didapatkan digunakan untuk menentukan prosentase recovery

3.3 Linieritas. Pengujian linearitas baku Pb(NO₃)₂, yaitu dengan membuat seri konsentrasi 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/L dari larutan baku

100 mg/L , sehingga dapat dimasukkan dalam persamaan $y=a+bx$. Dari hasil persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai korelasi.

3.4 Batas kuantifikasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD). Pengujian LOD dan LOQ dihitung melalui kurva kalibrasi.

3.5 Selektivitas. Pengujian selektivitas dilakukan uji kualitatif pad sampel dengan spektrofotometri serapan atom.

4. Penentuan kadar sampel

Larutan jernih hasil destruksi yang telah dingin dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL kemudian ditambah dengan aquabidest sampai garis tanda dan dihomogenkan lalu diukur serapannya dengan spektrofotometet serapan atom pada panjang gelombang 217 nm.

E. Analisis Hasil Pengujian

1. Preparasi sampel

Dari preparasi sampel yang dilakukan akan menghasilkan larutan jernih, kemudian larutan sampel dibaca dengan spektrofotometri serapan atom pada panjang gelombang 217 nm.

2. Pembuatan kurva baku timbal (Pb)

Membuat persamaan regresi linear antara nilai kurva baku yang didapat dengan nilai absorbansi yang diperoleh dari setiap seri konsentrasi yang dibuat dengan konsentrasi baku, sehingga didapat persamaan $y = a+bx$.

3. Validasi metode

3.1 Presisi. Presisi diukur dengan menentukan koefisien variansi (CV). Presisi yang baik adalah ketika metode memberikan nilai koefisien variansi atau simpangan baku relative tidak lebih dari 2%.

3.2. Akurasi. Akurasi dinyatakan dengan prosentasi perolehan kembali atau recovery yaitu dihitung kadar $Pb(NO_3)_2$ terukur dibagi dengan kadar $Pb(NO_3)_2$ terhitung dikali 100%. Prosentasi recovery atau perolehan kembali harus diantara 80% - 120%.

3.3. Linearitas. Linearitas dihitung menggunakan persamaan regresi linear $y = a+bx$. Dari persamaan dibuat grafik yang menunjukkan nilai persamaan. Metode analisis yang baik adalah ketika linearitas metode mendapatkan korelasi (R) 0,998.

3.4. LOD dan LOQ. LOD atau *Limit of Detection* adalah parameter untuk penentuan sampel dengan kadar yang terkecil akan tetapi masih memberikan tanggap detektor yang berbeda dengan pembanding, sedangkan LOQ atau *Limit of Quantitation* adalah kadar terkecil dari suatu sampel yang dapat dianalisis.

3.5. Selektivitas. Nilai selektivitas diukur pada uji kualitatif dengan spektrofotometri serapan atom yaitu dengan adanya nilai absorbansi yang didapatkan dari lampu katoda berarti sampel dapat dinyatakan positif mengandung timbal (Pb).

4. Penentuan kadar sampel

Hasil preparasi sampel dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 217 nm. Absorbansi yang diperoleh

disubstitusikan ke dalam persamaan $y = a + b x$, Dari hasil persamaan tersebut dihitung kadar sampel dengan persamaan.

$$\text{kadar Pb mg/kg} = \frac{c \text{ (mg/L)}}{\text{berat sampel (kg)}} \times V \text{ (L)}$$

Dimana :

C = konsentrasi timbal dalam sampel yang dihitung dari kurva standar.

B = bobot sampel dari larutan uji(kg)

V = volume sampel (L)