

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan menggunakan jenis penelitian eksperimen dengan desain penelitian *One Group Pretest-Posttest*. Terdapat dua variabel yang digunakan yakni variabel bebas berupa belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) sedangkan untuk variabel terikat berupa kadar timbal (Pb) pada kerang hijau (*Perna viridis*).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Poltekkes Tanjungkarang dan UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung pada kurun waktu bulan Juni sampai Juli 2023.

C. Subjek Penelitian

Subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah kerang hijau (*Perna viridis*) yang diperoleh dari pasar Gudang Lelang di Kecamatan Telukbetung Selatan, Kota Bandar Lampung. Sampel kerang hijau (*Perna viridis*) yang diperoleh kemudian dibagi menjadi menjadi 5 bagian, 1 bagian digunakan sebagai kontrol, 4 bagian lainnya diberi perlakuan menggunakan filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan variasi konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% sebanyak 4 kali pengulangan (Galih *et al.*, 2016). Selanjutnya, kerang hijau (*Perna viridis*) yang digunakan sebagai kontrol dan diberi perlakuan diperiksa kadar timbal (Pb) menggunakan alat *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES) (Salman, 2020; Sastra Setiawan, 2012) merk Varian 720-ES.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1. Bebas						
	Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>)	Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>) dihaluskan menggunakan blender kemudian disaring dan diambil filtratnya. Lalu dibuat konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%	Dipipet	Pipet ukur	$\frac{v}{v} \%$	Ordinal
2. Terikat						
	Kadar Timbal (Pb)	Kadar Timbal (Pb) pada Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i>) sebelum dan sesudah perendaman dengan filtrat Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>)	Spektroskopi	<i>Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry</i> (ICP-OES) merk Varian 720-ES	mg/kg	Rasio

E. Pengumpulan Data

1. Prosedur Penelitian

- a. Pengajuan permohonan izin dari jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang untuk dilakukan penelitian di Laboratorium Klinik Poltekkes Tanjungkarang dan pemeriksaan kadar timbal (Pb) pada kerang hijau (*Perna viridis*) di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung.
- b. Pengumpulan bahan-bahan pemeriksaan seperti kerang hijau (*Perna viridis*) dan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).
- c. Pembuatan filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan cara dihaluskan menggunakan blender, lalu disaring menggunakan kain lap.
- d. Pengenceran variasi konsentrasi filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan rumus $\frac{v}{v} \%$

- e. Pembagian kerang hijau (*Perna viridis*) yang digunakan sebagai kontrol dan yang diberi perlakuan.
- f. Perlakuan sampel kerang hijau (*Perna viridis*) menggunakan variasi konsentrasi filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).
- g. Pengiriman sampel ke UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung.
- h. Pemeriksaan kadar timbal (Pb) pada kerang hijau (*Perna viridis*).
- i. Analisis data hasil pengujian

2. Metode Pemeriksaan

Pemeriksaan kadar logam berat timbal (Pb) menggunakan alat *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES) merk Varian 720-ES.

3. Prosedur Kerja

a. Alat-alat

Blender, pisau, kain lap, kertas label, pipet ukur 25 ml, bulp pipet, beaker glass 250 ml, corong gelas 90mm, gelas ukur 100 ml, neraca analitik elektrik, cawan petri 100 mm x 15 cm, freezer, saringan 8 cm, plastic ziplock, talenan, hot plate dan alat *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES) merk Varian 720-ES

b. Bahan-bahan

Sampel kerang hijau (*Perna viridis*), belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*), Asam nitrat (HNO₃), Asam klorida (HCL.) dan akuades.

c. Pembuatan Filtrat Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) disiapkan kira-kira cukup dalam pembuatan filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) sebanyak 1000 ml. Kriteria dalam pemilihan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yaitu mempunyai ukuran berkisar antara 4-6 cm serta berwarna hijau muda (Agustin *et al.*, 2016). Cara kerja pembuatan filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) menurut Yusbarina & Marlianis, (2013) dimodifikasi variasi konsentrasi menjadi 25%, 50%, 75% dan 100%, dihaluskan menggunakan blender dan disaring menggunakan kain lap sebanyak 1 kali.

- 1) Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang telah diperoleh dibawa ke Laboratorium Klinik Poltekkes Tanjungkarang.
 - 2) Pemilihan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan.
 - 3) Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang sudah sesuai dengan kriteria dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir.
 - 4) Pemotongan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) menjadi bagian kecil-kecil.
 - 5) Haluskan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang telah dipotong kecil-kecil menggunakan blender, tanpa penambahan air.
 - 6) Larutan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang telah halus, dipindahkan kedalam beaker glass 250 ml.
 - 7) Saring larutan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) menggunakan kain lap untuk mendapatkan filtratnya.
 - 8) Filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang telah diperoleh ditempatkan pada beaker glass 250 ml
- c. Pengenceran filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) menurut Galih *et al.*, (2016)
- 1) Konsentrasi 100%
Memipet 100 ml filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) tanpa penambahan akuades, masukkan kedalam labu ukur. Homogenkan, lalu beri label.
 - 2) Konsentrasi 75%
Memipet 75 ml filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan 25 ml akuades, masukkan kedalam labu ukur. Homogenkan, lalu beri label.
 - 3) Konsentrasi 50%
Memipet 50 ml filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan 50 ml akuades, masukkan kedalam labu ukur. Homogenkan, lalu beri label.

- 4) Konsentrasi 25%
Memipet 25 ml filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan 75 ml akuades, masukkan kedalam labu ukur. Homogenkan, lalu beri label.
- d. Perlakuan sampel terhadap filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) menurut Ondu *et al.*, (2019) dengan modifikasi waktu menjadi 1 jam menurut Yusbarina & Marlianis, (2013).
- 1) Kerang hijau (*Perna viridis*) yang diperoleh dari Pasar Gudang Lelang dibawa menuju Laboratorium Klinik Poltekkes Tanjungkarang menggunakan wadah tertutup berisi air.
 - 2) Pemilihan sampel kerang hijau (*Perna viridis*) sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan.
 - 3) Kerang hijau (*Perna viridis*) yang telah dipilih sesuai kriteria dicuci bersih menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran disekitar cangkang
 - 4) Kerang hijau (*Perna viridis*) yang telah dicuci bersih diambil daging dalam cangkangnya.
 - 5) Daging kerang hijau (*Perna viridis*) yang telah dipisahkan dari cangkang dipotong menjadi 5 bagian.
 - 6) 1 bagian daging kerang hijau (*Perna viridis*) yang telah dipotong digunakan sebagai kontrol dimasukkan kedalam plastik zip lock dan diberi label kode sampel.
 - 7) 4 bagian daging kerang hijau (*Perna viridis*) yang telah dipotong diletakkan kedalam masing-masing beaker glass 250 ml yang telah disiapkan.
 - 8) Masukkan masing-masing filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% kedalam beaker glass 250 ml yang telah berisi 1 bagian daging kerang hijau (*Perna viridis*).
 - 9) Perendaman daging kerang hijau (*Perna viridis*) didalam filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dilakukan selama 1 jam.

- 10) Setelah 1 jam berlalu tiriskan daging kerang hijau (*Perna viridis*) menggunakan saringan hingga tidak ada lagi tetesan dari filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).
 - 11) Setelah kering dan tidak ada lagi tetesan dari filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) daging kerang hijau (*Perna viridis*) dimasukkan kedalam plastic zip lock dan diberi label kode sampel.
 - 12) Daging kerang hijau (*Perna viridis*) yang digunakan sebagai kontrol dan daging kerang hijau (*Perna viridis*) yang direndam filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dibawa ke UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung untuk diperiksa kadar timbal (Pb).
 - 13) Pemeriksaan kadar timbal (Pb) menggunakan alat *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES) merk Varian 720-ES
 - 14) Sampel daging kerang hijau (*Perna viridis*) dari area yang sama dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali, dari perlakuan sampel hingga pemeriksaan kadar timbal (Pb)
- e. Pemeriksaan kadar timbal (Pb) menurut metode EPA 200.7
- 1) Sampel daging kerang hijau (*Perna viridis*) dikeringkan pada suhu 60°C. Sampel yang telah dikeringkan kemudian ditimbang dan diperoleh berat kering.
 - 2) Haluskan daging kerang hijau (*Perna viridis*) hingga menjadi serbuk menggunakan mortar dan alu.
 - 3) Serbuk daging kerang hijau (*Perna viridis*) yang telah dihaluskan pindahkan kedalam beaker glass lalu diberi larutan HNO₃ sebanyak 4 ml dan 10 ml HCl, tutup menggunakan kaca arloji.
 - 4) Panaskan menggunakan hotplate hingga serbuk daging kerang hijau (*Perna viridis*) larut.
 - 5) Setelah larut, dinginkan ekstrak daging kerang hijau (*Perna viridis*) kemudian pindahkan kedalam labu ukur 100 mL.

- 6) Biarkan larutan ekstrak daging kerang hijau (*Perna viridis*) semalaman untuk memisahkan bahan tidak larut atau centrifuge sebagian dari larutan ekstrak daging kerang hijau (*Perna viridis*) sampai larut.
- 7) Ekstrak daging kerang hijau (*Perna viridis*) sudah siap dianalisis menggunakan alat *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES) merk Varian 720-ES.

F. Pengolahan dan Analisa Data

1. Pengolahan Data

Data diperoleh dengan cara melakukan pemeriksaan kadar timbal (Pb) dalam kerang hijau (*Perna viridis*) sebelum dan sesudah diberi perlakuan menggunakan filtrat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan variasi konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%

2. Analisis Data

Data dari masing-masing kadar timbal (Pb) dalam kerang hijau (*Perna viridis*) yang diperoleh baik sebelum dan sesudah perlakuan menggunakan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dianalisis dengan uji *Wilcoxon* dengan taraf signifikansi $p = 0,000 (<0.05)$