

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

Materi pada penelitian ini adalah *Crassostrea glomerata* dan *Crassostrea cucullata*, struktur gambaran hemosit yang meliputi *Total Haemocyte Count* (THC) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) yang didapat dari lokasi yang berbeda yaitu di Pantai Sendang Biru, Pantai Popoh dan Pantai Prigi. Parameter kualitas air yang digunakan sebagai data pendukung antara lain suhu, pH, oksigen terlarut (DO) dan ammonia serta pengukuran logam berat Pb, Cd, Hg serta Fenol.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Pengukuran Kualitas air dilakukan secara langsung pada saat pengambilan *Crassostrea glomerata* dan *Crassostrea cucullata* serta air laut dilakukan di Pantai Sendang biru, Pantai Popoh dan Pantai Prigi. Alat dan bahan yang digunakan saat penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### 3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu dengan metode deskriptif dengan menggambarkan keadaan lokasi penelitian dan membuktikan dengan analisa data yang didapat. Menurut Hamdi dan Bahrudin (2014), Penelitian deskriptif adalah suatu metode penelitian yang ditunjukkan untuk menggambarkan fenomena-fenomena yang ada, yang terjadi pada saat ini dan pada saat lampau. Penelitian deskriptif bisa mendeskripsikan sesuatu keadaan saja, tetapi juga bisa mendeskripsikan keadaan dalam tahap-tahap perkembangannya.

Menurut Sasmaya (2011), metode deskriptif merupakan metode yang digunakan untuk memperoleh data yang dibutuhkan pada saat penelitian untuk menjelaskan permasalahan dari penelitian guna mencari pemecahan masalah

yang terjadi. Data adalah informasi atau keterangan yang didapat dari suatu penelitian. Pengambilan data pada penelitian ini dilakukan dengan dua macam data yaitu data primer dan data sekunder, antara lain:

#### **a. Data Primer**

Data primer adalah data yang diperoleh atau dikumpulkan oleh peneliti secara langsung dari sumber data utama. Data primer disebut juga sebagai data asli atau data baru yang memiliki sifat *up to date*. Untuk mendapatkan data primer, peneliti harus mengumpulkannya secara langsung. Data primer dapat diperoleh dengan beberapa cara yaitu observasi, wawancara dan partisipasi aktif (Aedi 2010). Data primer yang pada penelitian meliputi parameter kualitas air suhu, pH, DO, amonia, kandungan logam berat Hg, Pb, Cd dan fenol serta hasil THC (*Total Heamocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*).

#### **b. Data Sekunder**

Data sekunder adalah data yang pengumpulannya berasal dari biro statistik, majalah, keterangan-keterangan ataupun publikasi lainnya, bukan diusahakan sendiri secara langsung (Marzuki, 1983). Menurut Aedi (2010), data Sekunder adalah data yang diperoleh atau dikumpulkan oleh peneliti dari berbagai sumber yang telah ada (peneliti sebagai tangan kedua). Data sekunder dalam penelitian ini diperoleh dari instansi terkait, jurnal, buku-buku, laporan, internet. Data sekunder ini diperlukan untuk mendukung data primer.

### **3.4 Penentuan Stasiun**

Penentuan ini dilaksanakan dengan melakukan survey lokasi terlebih dahulu di Pantai Sendang Biru, Pantai Popoh dan Pantai Prigi. Pengambilan sampel dilakukan pada 3 sub stasiun yang berbeda pada setiap lokasi nya. Penentuan ini berdasarkan studi pendahuluan dimana ketiga sub stasiun tersebut

memiliki aktifitas manusia yang berbeda-beda sehingga dapat memberikan informasi mengenai ragam cemaran logam berat dan hemosit tiram. Penentuan sub stasiun ini didasarkan pada air yang berbeda sumbernya pada setiap lokasi pengambilan sampel.

### **3.5 Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian pendahuluan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu dengan melakukan survei terkait ada tidaknya komoditas *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata* di 3 stasiun yaitu Pantai Sendang Biru, Pantai Popoh dan Pantai Prigi dengan masing-masing tiga sub stasiun. Hal ini bertujuan untuk memudahkan pengambilan data pada saat pengambilan data (bahan uji) dalam penelitian. Pada penelitian pendahuluan dilakukan Identifikasi untuk memastikan bahwa tiram yang didapat benar tiram jenis *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata*, identifikasi tiram *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata* dilakukan dengan melihat ciri-ciri morfologinya seperti, bentuk cangkang, lebar cangkang, panjang cangkang, warna cangkang dan lainnya. Sampel tiram yang ditemukan di lokasi penelitian kemudian dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi. Sampel yang diperoleh akan diidentifikasi dengan cara mendeskripsikan ciri-ciri morfologinya berdasarkan sumber acuan yang digunakan yaitu buku dari John Wiley tahun 2015 dengan judul "*Marine Bilvalve Molluscs*". Karakteristik tiram *Crassostrea glomerata* yang didapat saat pengambilan sampel yaitu tiram menempel pada substrat keras berbatu dan kawasan mangrove, memiliki corak hitam pada bagian posterior, ditemukan pada zona intertidal, permukaan luar cangkang tebal dan halus, cangkang berwarna abu-abu keunguan gelap, tidak berbentuk simetris, bentuk tubuhnya posterior-anterior, memiliki ukuran panjang berkisar 2,40 cm – 8,10 cm dan lebar berkisar 0,71 cm – 0,92 cm, hal ini sesuai dengan pernyataan (Wiley, 2015), bahwa tiram *Crassostrea*

*glomerata* merupakan organisme yang hidupnya menempel pada batu-batuan dan berkelompok. Memiliki cangkang yang halus dan tebal serta berbentuk tidak simetris, bentuk tubuhnya anterior-posterior, hidup pada zona intertidal dengan kedalaman  $\pm 3\text{m}$ , warna yang mencolok adalah violet gelap yang merayap ke cangkang, maka dapat disimpulkan bahwa tiram tersebut merupakan tiram *Crassostrea glomerata*. Sementara untuk tiram *Crassostrea cucullata* yang ditemukan pada penelitian terdapat pada substrat berbatu dan kawasan mangrove namun pada kawasan mangrove tiram jenis *Crassostrea cucullata* memiliki ukuran yang lebih besar dibanding substrat berbatu, memiliki cangkang yang keras, berwarna coklat keunguan pada bagian cangkang, memiliki corak garis radial kecil pada cangkangnya, bentuk tubuhnya dorso-ventral, hal ini sesuai dengan pernyataan (Wiley, 2015), menyatakan bahwa tiram *Crassostrea cucullata* merupakan tiram yang memiliki habitat pada Kawasan mangrove dan menempel ada batang mangrove yang dipengaruhi oleh pasang surut, bentuk tubuhnya dorso-ventral, memiliki cangkang yang keras dan bercorak radial, berbentuk cembung, Permukaan luar dari kedua katup kiri dan kanan berwarna coklat ke ungu-unguan dengan warna ungu gelap di batas cangkang, maka dapat disimpulkan bahwa tiram tersebut merupakan tiram *Crassostrea cucullata*.

### **3.5.1 Penelitian Utama**

Penelitian utama yang akan dilakukan terdiri dari beberapa tahap yaitu :

#### **a. Pengambilan *Crassostrea cucullata*, *Crassostrea glomerata* dan Air Sampel**

Pengambilan tiram *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata* dilakukan 1 kali sampling dengan metode random dengan jarak tiap lokasi 300 m dari titik sebelumnya secara horizontal di sepanjang pinggiran pantai serta dikondisikan dengan luasan stasiun yang berbeda dan pengambilan air sampel dilakukan pada 3 Stasiun dengan 9 sub stasiun yaitu 3 sub stasiun di Pantai

Sendang biru, 3 sub stasiun di Pantai Popoh dan 3 sub stasiun di Pantai Prigi. Tiram *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata* hidup menempel pada batu atau benda yang keras tidak berlumut, pengambilan tiram dengan cara pencongkelan menggunakan betel dan palu. Berikut merupakan kriteria *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata* yang dipilih antara lain:

- *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata*

Profil hemosit yang akan di analisis pada penelitian ini adalah profil hemosit dari tiram *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata*. Ukuran Tiram *Crassostrea cucullata* yang diperoleh pada pantai Sendang Biru memiliki Panjang berkisar 4,10 – 4,90 cm dan lebar 0,72 – 1,30 cm, pada pantai Popoh Tulungagung diperoleh Panjang berkisar 2,63 – 4,40 cm dan lebar 0,50 – 0,73 cm, pada pantai Prigi diperoleh Panjang berkisar 2,90 – 5,64 cm dan lebar 0,80 – 1,00 cm. Ukuran tiram *Crassostrea glomerata* yang diperoleh pada pantai Sendang Biru memiliki Panjang berkisar 3,54 – 4,64 cm dan lebar 1,15 – 1,92 cm, pada pantai Popoh memiliki Panjang berkisar 2,40 – 4,50 cm dan lebar 0,71 – 1,26 cm, pada pantai Prigi 3,10 – 8,10 cm dan lebar 0,72 – 1,14 cm. *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata* yang telah diambil dari setiap stasiun kemudian diletakkan pada wadah dan ditandai wadahnya setelah itu dimasukkan pada cool box. *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata* yang akan diamati dibersihkan dari lumpur terlebih dahulu dengan menggunakan air bersih. Menurut Wulandari (2010), hemolim diambil menggunakan spuit berukuran 1 ml dan jarum berukuran 25-G pada bagian pallial sinus kerang. Sebelumnya syringe plastik yang berukuran 3 ml diisi dengan Na-sitrat 10% sebanyak 0,1 ml sebagai anti koagulan untuk menghindari penggumpalan hemosit. Kemudian diambil hemositnya sebanyak 0,1 ml, dicampurkan kemudian dipindahkan ke Appendorf lalu disimpan dalam lemari pendingin. Menurut Lambert *et al* (2007), hemolim dapat diambil pada bagian otot adduktor dengan menggunakan jarum berukuran 25-G.

## b. THC (Total Haemocyte Count) dan DHC (Differential Haemocyte Count)

Pengambilan hemosit *Crassostrea cucullata* dan *Crassostrea glomerata* pada penelitian mengacu pada metode yang tertera pada Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, hemosit diambil pada bagian aduktor tiram karena pada bagian tersebut banyak terdapat hemolim. Perbandingan yang digunakan pada sampel THC dan DHC adalah 1:1:1 (0,1 ml Na sitrat: 0,1 ml hemosit: 0,1 ml Triphan blue). Sebelum digunakan untuk mengambil hemosit tiram, syringe 3 ml diisi Na-sitrat 10% terlebih dahulu sebanyak 0,1 ml sebagai anti koagulan agar hemosit tidak menggumpal. Hemosit yang sudah diambil kemudian dipindahkan ke appendorf yang sudah diisi 0,1 ml triphan blue sebagai larutan pewarna lalu dikocok searah secara perlahan, dan didiamkan selama 5 menit. Sampel hemosit yang sudah tercampur diberi label sesuai dengan masing-masing stasiun agar tidak tertukar. Setelah itu diambil sampel yang telah dibuat sebanyak 0,2 ml kemudian ditetaskan pada haemocytometer dan diamati dibawah mikroskop, lalu hitung THC dan DHC. Rumus yang digunakan menghitung THC dan DHC sebagai berikut :

THC = Jumlah sel total x 5 x 10<sup>4</sup> x Faktor Pengencer / 10 (sel/mL)

DHC = C %

$$1. \text{Hyalin} = \frac{\text{Jumlah sel hyalinosit}}{\text{Jumlah total hemosit}} \times 100\%$$

$$2. \text{Semi Granulosit} = \frac{\text{Jumlah sel semi granulosit}}{\text{Jumlah total hemosit}} \times 100\%$$

$$3. \text{Granulosit} = \frac{\text{Jumlah sel granulosit}}{\text{Jumlah total hemosit}} \times 100\%$$

## C. Analisa Kualitas Air

Parameter yang diukur meliputi suhu, pH, dan oksigen terlarut (DO), Amonia, salinitas serta pengukuran kadar logam berat Pb, Cd, Hg dan fenol.

Tujuan mengukur kualitas air adalah untuk mengetahui kondisi lingkungan perairan tempat hidup tiram tersebut.

## **1. Parameter Fisika**

### **a. Suhu**

Pengukuran suhu pada penelitian ini menggunakan alat DO meter. Pengukuran suhu menggunakan alat DO meter dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- Pastikan DO meter sudah terisi daya dengan menggunakan baterai yang telah dimasukkan ke DO meter
- Aktifkan DO meter dengan cara tekan power pada DO meter.
- Kalibrasi terlebih dahulu DO meter dengan menggunakan aquades untuk menghindari bias
- Masukkan sensor DO meter kedalam perairan, kemudian dilihat pada bagian layar DO meter ada angka-angka yang bergerak, tunggu hingga angka tersebut stabil
- Setelah stabil tekan hold kemudian didapatkan hasil DO dan suhu pada perairan tersebut, untuk nilai suhu berada di bawah dari nilai DO dengan satuan yang didapat yaitu ( $^{\circ}\text{C}$ )
- Dicatat sebagai hasil dari suhu pada perairan tersebut.

## **2. Parameter Kimia**

### **a. Derajat Keasaman (pH)**

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Pengukuran pH dengan menggunakan pH meter dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- Pastikan pH meter sudah terisi daya dengan menggunakan baterai
- Tekan tombol power pada pH meter untuk mengaktifkan pH meter

- Sebelum digunakan kalibrasi terlebih dahulu bagian sensor pada pH meter dengan menggunakan Aquades dengan merk hydrobat agar tidak terjadi bias
- Setelah dikalibrasi, masukan bagian sensor pH meter ke perairan yang ingin diteliti, setelah itu dilihat hasil pada layar pH meter
- Tunggu hingga angka-angka yang terdapat pada layar pH meter stabil kemudian tekan hold
- Catat hasil angka, maka didapatkan hasil dari nilai pH pada perairan tersebut.

#### **b. Oksigen terlarut**

Prosedur pengukuran oksigen terlarut di suatu perairan pada penelitian ini menggunakan DO Meter, prosedur penggunaan DO meter dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- Pastikan DO meter dalam keadaan sudah terisi dayanya dengan menggunakan baterai
- Kemudian tekan tombol power, setelah itu sensor DO meter dimasukkan ke dalam perairan.
- Sebelum digunakan sensor dari DO meter di kalibrasi terlebih dahulu untuk menghindari bias
- Setelah itu muncul angka pada bagian layar DO meter, tunggu hingga angkanya stabil, ketika telah stabil tekan hold
- Catat hasil dari oksigen terlarut tersebut, maka di dapatkan hasil dari oksigen terlarut.

#### **c. Ammonia (SNI, 2005)**

Pengukuran amonia pada penelitian ini menggunakan metode uji SNI dengan cara sebagai berikut :

- Memasukkan 25 ml air sampel ke dalam erlenmeyer.
- Menambahkan 1 ml larutan fenol dan menghomogenkannya.



- Menambahkan 2,5 ml larutan pengoksidasi dan menghomogenkannya.
- Selanjutnya erlenmeyer ditutup dengan plastik atau paraffin film.
- Membiarkan larutan pada erlenmeyer selama 1 jam agar terbentuk warna dengan sempurna.
- Membiarkan larutan sekitar 10 menit agar terbentuk warna dengan sempurna. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam cuvet.
- Memasukkan larutan ke dalam cuvet pada alat spektrofotometer, dibaca dan dicatat serapannya pada panjang gelombang 640 nm.