

3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari buah mangrove jenis *Avicennia marina* dengan karakteristik sebagai berikut untuk buah Api-api diambil dari pohon yaitu mempunyai tinggi \pm 10-15 m, diameter pohon \pm 30-45 cm, sedangkan untuk buah berbentuk kapsul yang membelah menjadi dua, dan mempunyai panjang 1-3 cm, kulit buah berwarna hijau kekuningan-kuningan, serta bagian luar berbulu halus di luarnya. yang diperoleh dari dua habitat yang berbeda yaitu hutan mangrove dan sekitar tambak desa Wonorejo kecamatan Rungkut Kota Surabaya hal ini bertujuan untuk membedakan kadar Pb dari masing- masing habitat dengan kerapatan pohon yang berbeda serta jarak dari sumber aliran sungai(aliran rambat limbah), serta plastik sebagai tempat sampel.

Sedangkan bahan- bahan pembantu yang digunakan untuk analisis kimia ialah aquadest, H_2SO_4 , asam perklorat pekat ($HClO_4$), indikator pp, asam nitrat pekat (HNO_3), HCl, asam sulfat, tabelt kjeldahl, NaOH 0,1 N, Na_2CO_3 , K_2CO_3 , formaldehid, kertas saring,tali rafia, meteran dan alkohol.

3.1.2 Alat

Alat-alat yang digunakan untuk analisis kimia adalah beaker glass, ayakan, oven, blender, pisau, timbangan analitik, baskom, plastik, sendok, AAS (*Atomic Absorption Spektrum*), desikator, mikroburet, sentrifuse, stirer, statif, *glass ware*, muffle, kurs porselen, seperangkat goldfish, rangkaian alat analisis protein.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini ialah metode eksperimen. Metode eksperimen ialah kegiatan percobaan untuk melihat hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki (Suryabrata, 1989). Tujuan dari penelitian eksperimen ialah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen (Nazir, 1988). Menurut Singarimbun dan Effendi (1983), penelitian eksperimen lebih mudah dilakukan dilaboratorium karena alat-alat yang khusus dan lengkap dapat tersedia, dimana pengaruh luar dapat dengan mudah dicegah selama eksperimen. Eksperimen dalam penelitian ini dibagi dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian inti.

3.2.2 Variabel

Variabel penelitian ialah sesuatu hal berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulan (Sugiyono, 1999). Sedangkan Menurut Koentjaraningrat (1983), variabel ialah faktor yang mengandung lebih dari satu nilai dalam metode statistik. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini dibedakan menjadi variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas ialah faktor yang menyebabkan suatu pengaruh karena perlakuan, sedangkan variabel terikat ialah faktor yang diakibatkan oleh pengaruh perlakuan tersebut.

Variabel bebas dalam penelitian ini ialah dua habitat sampling yang berbeda dan ukuran buah yang berbeda yaitu pada 1 cm, 2 cm, dan 3 cm. Variabel terikat meliputi kadar Pb dan tanin, sianida, kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan kadar karbohidrat.

3. 3 Rangkaian Penelitian

Rangkaian penelitian ini terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

3. 3.1 Penelitian Pendahuluan

Langkah pertama sebelum melakukan penelitian inti ialah dengan melakukan penelitian pendahuluan. Penelitian pendahuluan tersebut dibagi menjadi 2 tahap, antara lain ;

3.3.1.1 Penelitian Pendahuluan 1

Tujuan penelitian pendahuluan 1 adalah menentukan letak posisi sampling yaitu dengan menggunakan citra satelit Google Earth dan menggunakan GPS untuk menentukan lokasi sampling. lokasi sampling ada dua habitat yaitu yang pertama ada pada daerah hutan mangrove wonorejo dan di tambak milik penduduk yang berada pada sebelah timur jalan rungkut Medayu yang di tunjukkan pada Gambar 4, Tujuan dengan di lakukan pengambilan 2 titik sampling ini adalah untuk mengidentifikasi dan membedakan serapan logam berat Pb serta varibel lain antara mangrove yang tumbuh pada kerapatan yang rapat dan tidak rapat





Gambar 4. Tambak dan hutan mangrove rungkut wonorejo (Google Earth, 2011)

Pengambilan sampel mangrove dilakukan dengan menggunakan metode yang merupakan modifikasi dari cara yang digunakan oleh Mueller Dumbois dan Ellenberg (1974). Pada dua habitat yang berbeda ditetapkan titik pengambilan sampel yang diharapkan dapat mewakili tempat tersebut. Selanjutnya pada masing-masing titik di buat satu area seluas $100 \text{ m}^2 \times 100 \text{ m}^2$ atau satu hektar untuk pengambilan data pohon. Data yang diambil tersebut dianalisis untuk diketahui nilai Frekuensi kehadiran, Kerapatan (K) dan Basal Area (BA). Data pohon yang diambil dari masing-masing lokasi berupa jenis, jumlah dan diameter pohon. Data yang diambil tersebut dianalisis untuk diketahui jenis, sebaran, kelimpahannya, nilai penting serta indeks ekologinya (Indeks Keanekaragaman, Keseragaman dan Dominasi). Data flora dianalisis dengan metode sebagai berikut:

- Frekuensi Kehadiran

Persen kehadiran mangrove untuk kategori pohon, kategori sapling dan kategori seedling di dua lokasi pengambilan sampel dengan menggunakan rumus:

$$FK (\%) = \frac{n}{100} \times 100$$

Dimana n adalah jumlah titik keberadaan pohon untuk tiap pengambilan sampel.

- Kerapatan (K)

Kerapatan adalah jumlah individu per unit area (Individu/Ha) (Cintron dan Novelli, 1984).

- Basal Area (BA)

Basal area merupakan penutupan areal hutan oleh batang pohon. Basal area didapatkan dari pengukuran batang pohon yang diukur secara melintang (Cintron dan Novelli, 1984). Diameter batang tiap spesies tersebut kemudian diubah menjadi basal area dengan menggunakan rumus :

$$BA = \frac{\pi D^2}{4} \text{ cm}$$

Dimana : BA = Basal Area

$\pi = 3,14$

D = Diameter batang

3.3.1.2 Penelitian Pendahuluan 2

Tujuan dari penelitian pendahuluan 2 adalah untuk mengetahui kadar Pb pada mangrove serta lingkungan hidup dari jenis Api-api (*Avicennia marina*).

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap yaitu tahap pertama mengidentifikasi adanya daging buah pada buah berukuran 1 cm, 2 cm, dan 3 cm serta mengamati lama pertumbuhan buah dari bunga sampai buah matang. Tahap kedua adalah pengamatan kondisi lingkungan perairan (pH, suhu udara, suhu air dan salinitas). Dan tahap ke tiga adalah penyiapan sampel pada lingkungan perairan dan bagian-bagian pohon mangrove dan kemudian di analisis kadar Pb.

Tahap ketiga, dilakukan penyiapan sampel basah dari masing-masing bagian mangrove yang terdiri dari akar kawat, akar nafas, daun muda, daun tua, kulit pohon, dan bagian buah (kulit, buah bagian dalam, buah bagian luar, dan putik). Serta analisis kandungan Pb pada lingkungan mangrove itu tumbuh meliputi tanah, air, sedimen. Kemudian dari semua bahan ditimbang (A) dan dioven sampai kering pada suhu 80°C selama 12 jam sampai kering, kemudian ditimbang kembali (B) lalu diblender hingga halus, setelah menjadi bubuk ditimbang sebanyak 2 gram dan dianalisis kadar Pb-nya dengan metode AAS. Hasil analisis yang menunjukkan hasil analisis logam berat Pb pada masing-masing bagian mangrove dari jenis *Avicennia marina*. Untuk lebih jelasnya prosedur penelitian pendahuluan pada analisis kadar Pb pada daun muda, daun tua, akar, tanah, sedimen, dan bagian buah (kulit, buah bagian dalam, buah bagian luar, dan tannin) dapat dilihat pada Gambar 5, 6, dan 7.

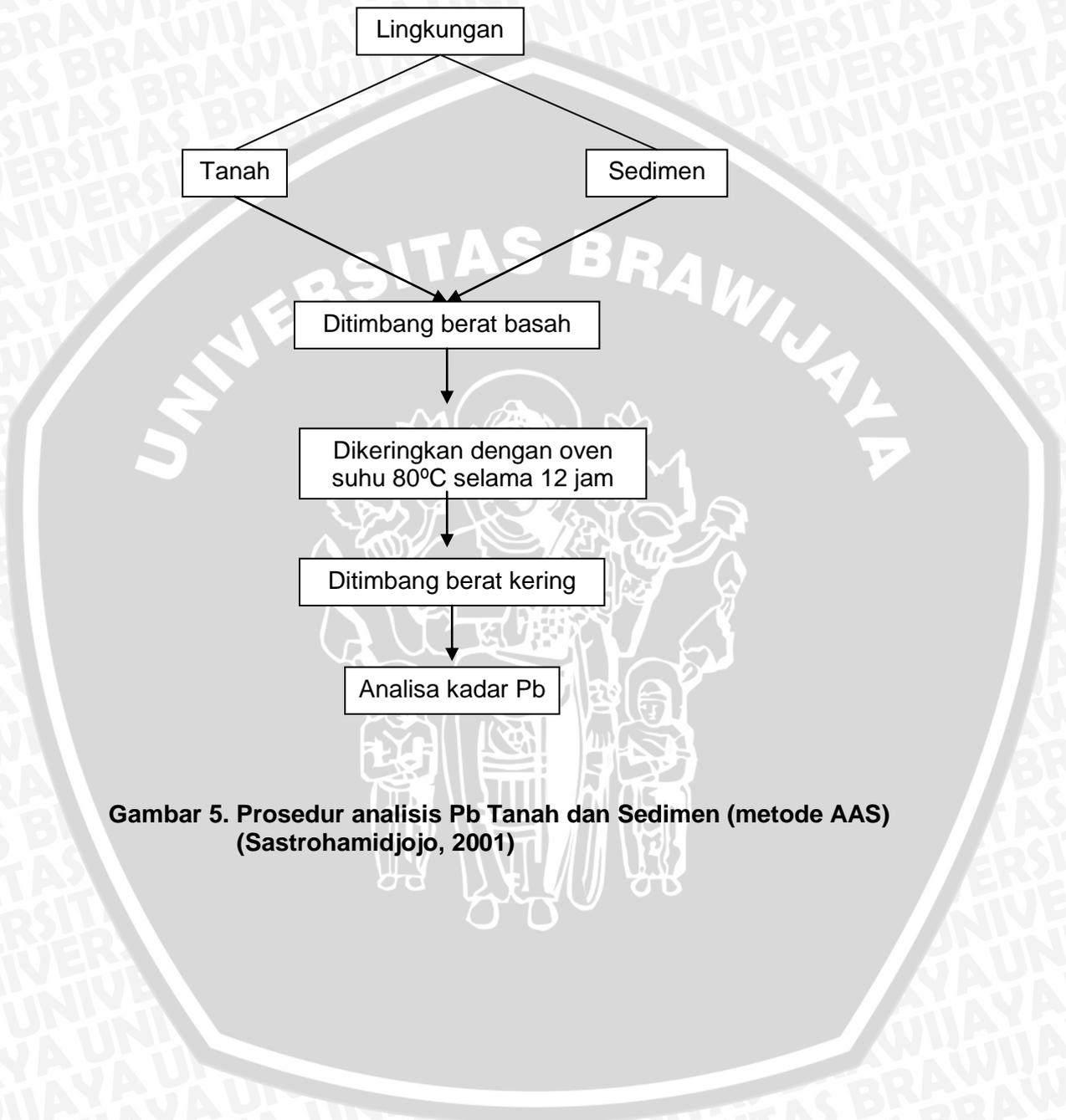
Selain itu, pada penelitian pendahuluan kedua juga dilakukan analisis proksimat pada buah mangrove (*Avicennia marina*) segar dengan tujuan untuk mengetahui kandungan gisi dari buah *Avicennia marina* segar. Analisis buah mangrove segar meliputi analisis kimia yaitu kadar karbohidrat, kadar protein, kadar lemak, kadar air, kadar abu, kadar tannin dan kadar HCN Adapun prosedur analisis dari penelitian pendahuluan ini dapat dilihat pada Gambar 7.

Pada Tahap ke dua juga dilakukan penghitungan Biokonsentrasi Faktor (BCF) pada seluruh organ tumbuhan. Menurut Panjaitan (2009), Setelah kandungan logam berat dalam air diketahui maka data tersebut digunakan untuk menghitung kemampuan *A. marina* mengakumulasi logam berat Pb melalui tingkat biokonsentrasi faktor (BCF) dengan rumus:

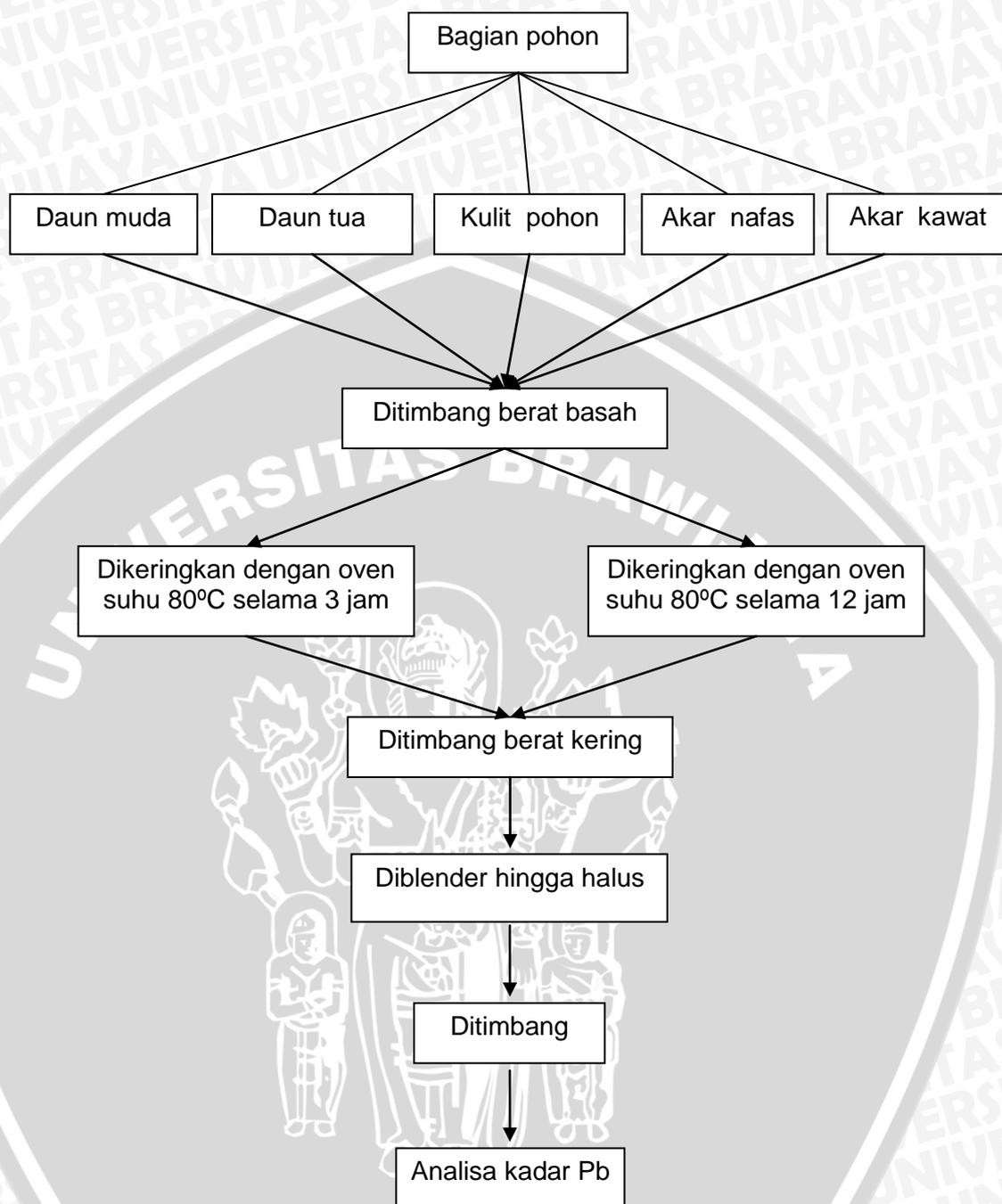
$$\text{BCF Cu / Pb} = \frac{[\text{Logam berat Cu / Pb}] \text{ Tumbuhan}}{[\text{Logam berat Cu / Pb}] \text{ Air}}$$

dimana, jika nilai:

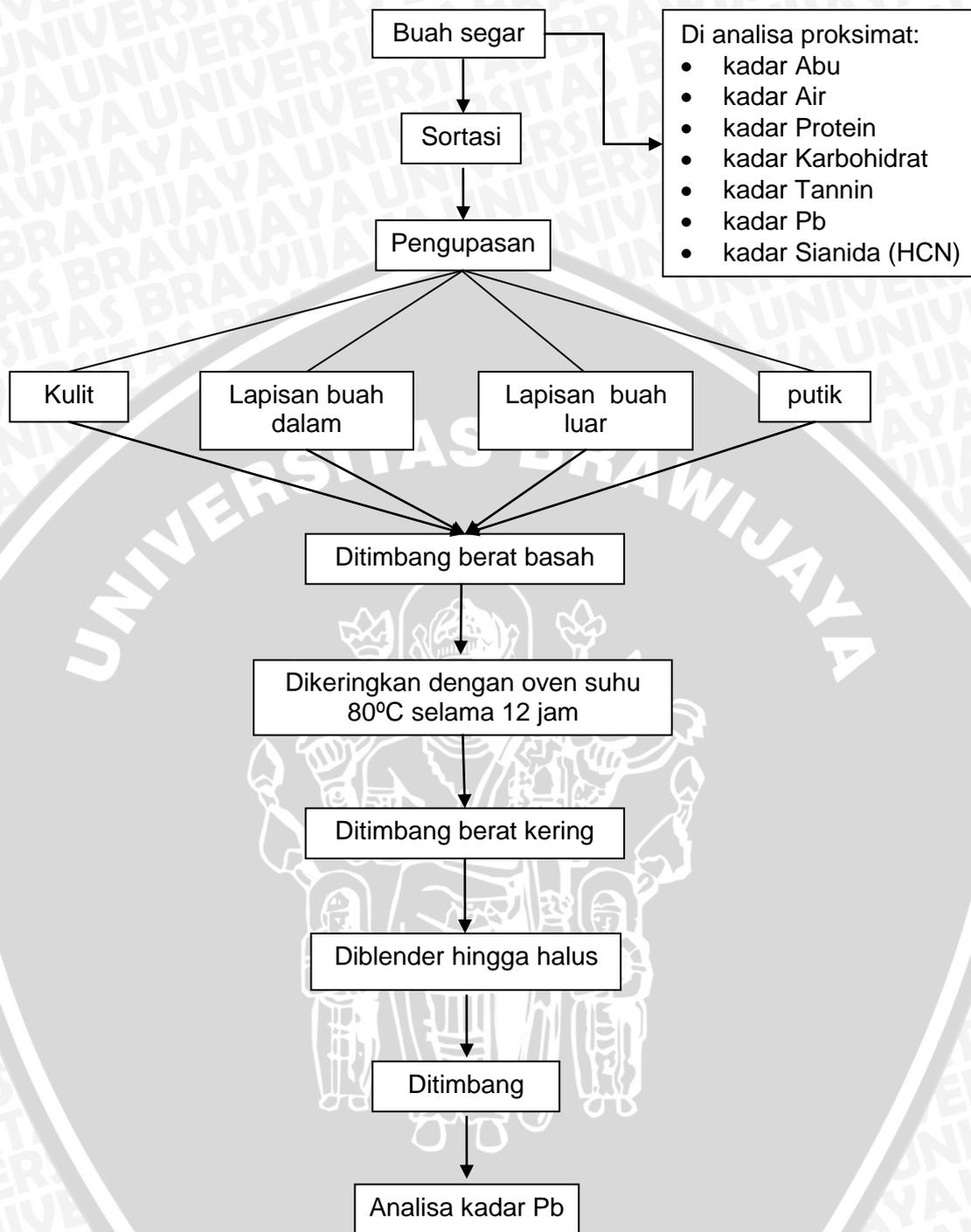
- BCF > 1000 = kemampuan tinggi
- 1000 > BCF > 250 = kemampuan sedang
- BCF < 250 = kemampuan rendah



Gambar 5. Prosedur analisis Pb Tanah dan Sedimen (metode AAS) (Sastrohamidjojo, 2001)



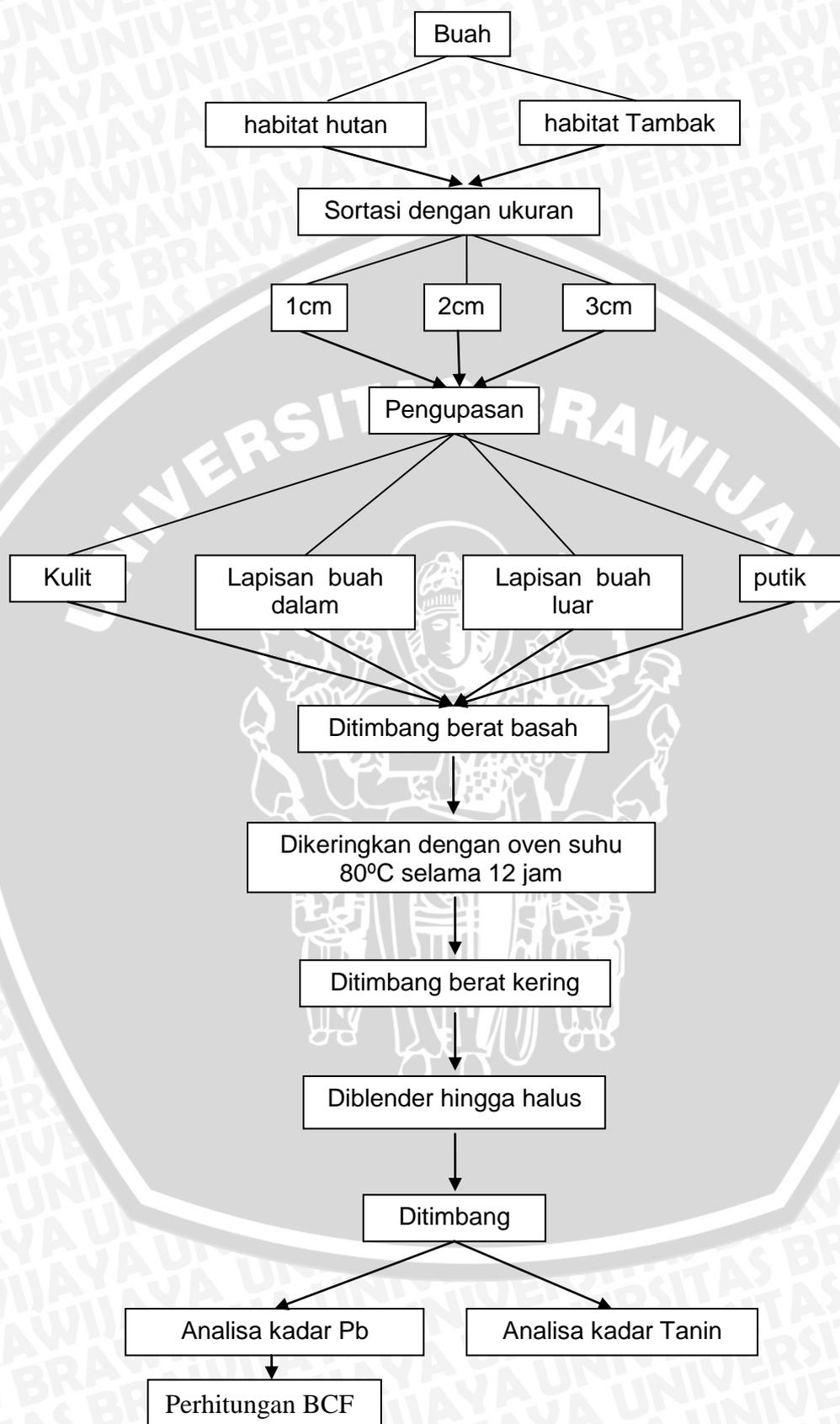
Gambar 6. Prosedur Analisis Pb Daun muda, Daun Tua, Kulit Pohon dan Akar *Avicennia marina* (Metode AAS) (Sastrohamidjojo, 2001)



Gambar 7. Prosedur Analisis Pb Bagian-bagian Buah *Avicennia marina* (Metode AAS) dan proksimat (Sastrohamidjojo, 2001)

3.3.2 Penelitian Utama

Dari penelitian-penelitian pendahuluan data yang ada di kumpulkan untuk mendukung penelitian utama, penelitian utama ini bertujuan untuk mengukur kadar timbal yang ada dalam buah mangrove dengan ukuran yang berbeda, pada penelitian utama ini buah mangrove di sortir dengan ukuran 1 cm, 2 cm, dan 3 cm kemudian dipisahkan antara kulit buah (seed coat), lapisan daging buah luar (cotyledon), lapisan buah dalam (cotyledon), dan putik (epicotyl dan hypocotyl). Kemudian di timbang berat basah dan dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven dengan suhu 80 °C selama 12 jam, setelah kering sampel di timbang untuk mengetahui berat kering, kemudian di lakukan penghancuran dengan blender dan dilakukan penimbangan terakhir untuk mengetahui berat akhir setelah proses penghacuran, Kemudian sampel di analisis kadar Tanin dan Pb nya dengan memakai metode AAS, kemudian di lakukan ulangan sebanyak 4 kali, penghitungan kadar Pb dan Tanin ini di lakukan pada sampel dari habitat yang berbeda yaitu pada Hutan mangrove dan tambak yang berada di Rungkut Wonorejo yang di tunjukkan pada Gambar 4, untuk lebih jelasnya prosedur penelitian utama dapat di lihat pada Gambar 8. Kemudian data yang diperoleh di catat pada Tabel 2 yang kemudian kadar tannin atau Pb akan di sajikan di lampiran 4 dan 5. Setelah data terkumpul kemudian di hitung kadar Pb dan Tanin pada buah utuh dengan cara di jumlahkan kadar Pb pada tiap bagian organ kemudian hasil perhitungan kadar Pb atau Tanin pada buah segar di catat pada Tabel 3. dari Tabel Pb dan Tanin pada buah



Gambar 8. Prosedur Penelitian Utama

3.4 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian utama ialah Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial dengan faktor pertama yaitu habitat yang berbeda yang memiliki 2 Taraf, sedangkan Faktor yang kedua yaitu ukuran buah yang memiliki 3 taraf, sedangkan ulangan yang diberikan empat kali. Model matematik Rancangan Acak Kelompok (RAK) ialah

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \kappa_k + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2 \text{ dan } j = 1, 2$$

$$k = 1, 2, \dots, 5$$

Y_{ijk} = hasil pengamatan utk faktor A taraf ke i, faktor B taraf ke j pada kelompok ke k

μ = nilai tengah umum

α_i = pengaruh faktor A pada taraf ke i

β_j = pengaruh faktor B pada taraf ke j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = pengaruh interaksi AB pada taraf ke i (dari faktor A), dan taraf ke j (dari faktor B).

κ_k = pengaruh kelompok ke k

ε_{ijk} = pengaruh acak (galat percobaan) pada taraf ke i (faktor A), taraf ke j (faktor B), interaksi AB yang ke i dan ke j

Analisis data dari penelitian eksperimen ini menggunakan analisis data Rancangan Acak Kelompok faktorial (RAK). Menurut Setiawan (2009), percobaan faktorial adalah suatu percobaan yang perlakuannya terdiri atas semua kemungkinan kombinasi taraf dari berbagai faktor, apabila kondisi lingkungan tidak homogen misalnya ada perbedaan kesuburan tanah yang disebabkan oleh arah kemiringan maka rancangan lingkungan yang tepat adalah Rancangan Acak Kelompok. Pada penelitian ini jumlah Faktorial ada dua yaitu habitat

sampling yang berbeda dan ukuran buah yang berbeda, data Pb dan Tanin yang di peroleh kemudian di tulis pada tabel 3.

Tabel 2. Analisis Kadar Pb Dan Tanin Pada Masing- Masing Bagian Buah Dengan Habitat dan Ukuran Yang Berbeda

Habitat	Ukuran Buah	Bagian buah	Ulangan				Rata-rata
			1	2	3	4	
Hutan mangrove	1cm	Kulit buah(seed coat)	A1	A2	A3	A4	
		Lapisan daging luar (cotyledon)	B1	B2	B3	B4	
		Lapisan daging dalam(cotyledon)	C1	C2	C3	C4	
		Putik(hypocotyl dan epicotyl)	D1	D2	D3	D4	
	2cm	Kulit buah(seed coat)	E1	E2	E3	E4	
		Lapisan daging luar (cotyledon)	F1	F2	F3	F4	
		Lapisan daging dalam(cotyledon)	G1	G2	G3	G4	
		Putik(hypocotyl dan epicotyl)	H1	H2	H3	H4	
	3cm	Kulit buah(seed coat)	I1	I2	I3	I4	
		Lapisan daging luar (cotyledon)	J1	J2	J3	J4	
		Lapisan daging dalam(cotyledon)	K1	K2	K3	K4	
		Putik(hypocotyl dan epicotyl)	L1	L2	L3	L4	
Tambak	1cm	Kulit buah(seed coat)	M1	M2	M3	M4	
		Lapisan daging luar (cotyledon)	N1	N2	N3	N4	
		Lapisan daging dalam(cotyledon)	O1	O2	O3	O4	
		Putik(hypocotyl dan epicotyl)	P1	P2	P3	P4	
	2cm	Kulit buah(seed coat)	Q1	Q2	Q3	Q4	
		Lapisan daging luar (cotyledon)	R1	R2	R3	R4	
		Lapisan daging dalam(cotyledon)	S1	S2	S3	S4	
		Putik(hypocotyl dan epicotyl)	T1	T2	T3	T4	
	3cm	Kulit buah(seed coat)	U1	U2	U2	U2	
		Lapisan daging luar (cotyledon)	V1	V2	V2	V2	
		Lapisan daging dalam(cotyledon)	W1	W2	W2	W2	
		Putik(hypocotyl dan epicotyl)	X1	X2	X2	X2	

Tabel 3. Analisis Kadar Pb atau Tanin Pada Buah Dengan Habitat dan Ukuran Berbeda (Model Rancangan Percobaan Penelitian Utama)

Habitat	Ukuran buah	Ulangan (ppm)				Rata-rata
		1	2	3	4	
Hutan mangrove	1 cm					
	2 cm					
	3 cm					
Tambak	1 cm					
	2 cm					
	3 cm					

Setelah didapat data Pb pada masing- masing habitat dan ukuran buah yang berbeda maka di lakukan penghitungan BCF pada masing- masing habitat dan ukuran yang berbeda dan kemudian di analisis kemampuan Bioakumulatif pada masing- masing buah pada habitat dan ukuran yang berbeda.

3.5 Penentuan Garis Regresi Dan Persamaan Regresi

Menurut Harlyan (2011), Persamaan regresi adalah “Meramalkan suatu peubah tak bebas (Y) lewat satu/lebih peubah bebas (X)”, X (peubah bebas) dan Y(peubah tak bebas) adalah anggota dari populasi

Notasi dlm populasi : $\{x_i, y_i\}; i = 1, 2, 3, \dots, n \rightarrow (x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_n, y_n)$

- Jika data tiap anggota populasi diplotkan / disebarakan (Diagram Pencar)
- Titik-titik akan “mengikuti “ garis lurus \rightarrow dua peubah (X & Y) berhubungan secara linear (Garis Regresi Linear)

Model dugaan

- $\hat{y} = a + bx$
- \hat{y} = nilai ramalan hasil dari analisis regresi
- a = intercept/perpotongan sumbu tegak
- b = slope/kemiringan
- Note: $\hat{y} \neq y$!!

y = nilai pengamatan sesungguhnya

Model observasi

- $\hat{y} = \alpha + \beta x$
- \hat{y} = nilai rata-rata observasi
- α = intercepts
- β = slope/kemiringan
- ϵ_i = galat/sisa

