

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November sampai dengan Desember 2022, bertempat di Laboratorium basah Program Studi Budidaya Perikanan Universitas Muhammadiyah Gresik.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Alat penelitian

No	Alat	Fungsi
1.	Filter air	Menyaring air laut
2.	<i>Flow</i> meter	Untuk mengukur volume kecepatan air
3.	Rak kontainer (90cm x 45 cm x 8 cm)	Untuk meletakkan kerang hijau
4.	Bak fiber (100 cm x 100 cm x 60 cm)	Untuk tempat depurasi
5.	Pipa kran	Untuk saluran air
6.	<i>Refraktometer</i>	Untuk mengukur salinitas
7.	<i>pH paper</i>	Untuk mengukur pH
8.	Termometer	Untuk mengukur suhu
9.	AAS (<i>Atomic Absorption Spectrophotometer</i>)	Untuk mengukur kandungan logam berat
10.	Neraca analitik	Menimbang sampel
11.	Lampu katoda Pb	Sumber sinar pada AAS
12.	Oven	Memanaskan sampel
13.	<i>Hot plate</i>	Meletakkan sampel yang panas
14.	Labu ukur	Tempat pengenceran sampel
15.	Botol sampel	Tempat meletakkan sampel
16.	Krus porselen	Menghaluskan sampel
17.	Plastik sampel	Meletakkan sampel
18.	Botol <i>Polyethylen</i>	Tempat sampel air
19.	Kertas saring	Menyaring sampel
20.	<i>Beaker teflon</i>	Melarutkan sampel
21.	Timbangan digital	Menimbang sampel
22.	<i>Sentrifius polietilen</i>	Memisahkan air dengan endapan pada sampel
23.	Pipet	Memindahkan larutan
24.	<i>Erlenmayer</i>	Menghomogenkan larutan
25.	<i>Autoclave</i>	Sterilisasi alat dan bahan
26.	Tabung reaksi	Menghomogenkan larutan
27.	<i>Petridish</i>	Tempat penanaman bakteri

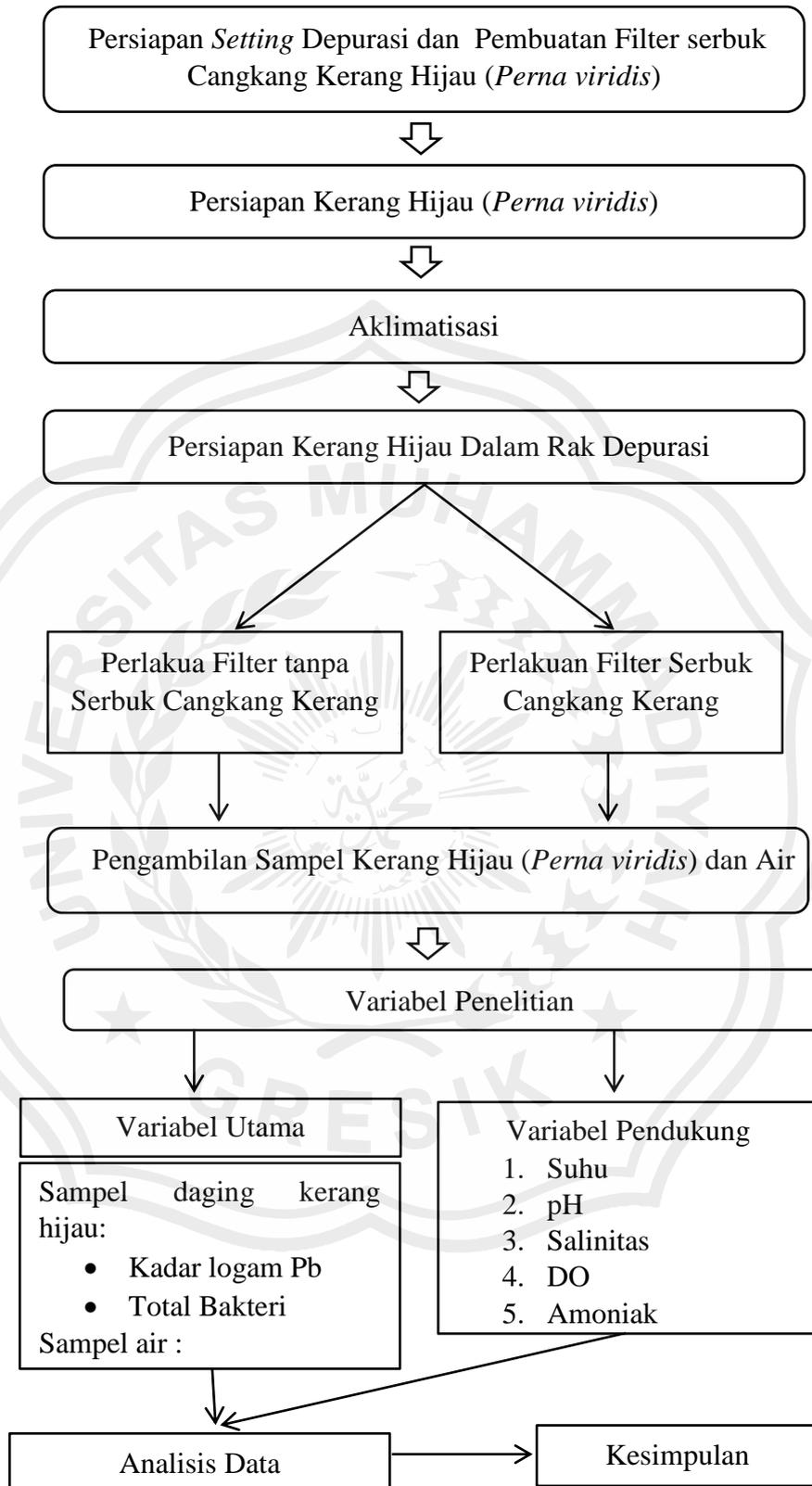
28.	Bunsen	Api untuk mencegah kontaminan
29.	<i>Spreader</i>	Meratakan sampel ketika di tuang ke <i>petridish</i>
30.	Bak ember	Mencuci cangkang kerang
31.	Blender	Menghaluskan cangkang kerang hijau
32.	Aerator	Pembantu penguapan pada proses sterilisasi
33.	Pisau	Untuk membuka kerang hijau
34.	Lampu neon	Menerangi pada proses depurasi waktu malam
35.	Filter (<i>Emaux water technology</i>) kapasitas 20 kg	Sebagai wadah filter
36.	<i>Styrofoam box</i>	Wadah kerang
37.	Ember	Wadah kerang
38.	Gunting	Memisahkan kerang dari <i>bysus</i>
39.	Sarung tangan	Untuk membersihkan kerang hijau
40.	<i>MC Pumps</i>	Pompa untuk air depurasi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Bahan penelitian

No	Bahan	Fungsi
1.	Kerang Hijau	Sebagai organisme yang dibudidayakan
2.	Cangkang kerang	Sebagai filter untuk depurasi
3.	Zeolit	Sebagai filter untuk depurasi
4.	Pasir <i>silica</i>	Sebagai filter untuk depurasi
5.	Kaporit	Sterilisasi air
6.	Natrium tiosulfat	Menetralkan kaporit
7.	Air Laut	Air untuk budidaya kerang hijau
8.	Standar logam Pb	Untuk standar logam Pb
9.	HNO ₃	Memutuskan ikatan senyawa kompleks organologam
10.	HCl	Menghilangkan kandungan mineral dalam sampel cangkang kerang
11.	<i>Aquabides</i>	Menetralkan sampel setelah ditambahkan larutan
12.	Batu didih	Mempercepat proses pendidihan
13.	KMnO ₄ , 0 01 N	Uji TOM
14.	H ₂ SO ₄	Uji TOM
15.	Asam oksalat 0,01 N	Uji TOM
16.	Media agar NA	Media penanaman bakteri

3.3 Kerangka Operasional Kerja



Gambar 3. Kerangka operasional kerja

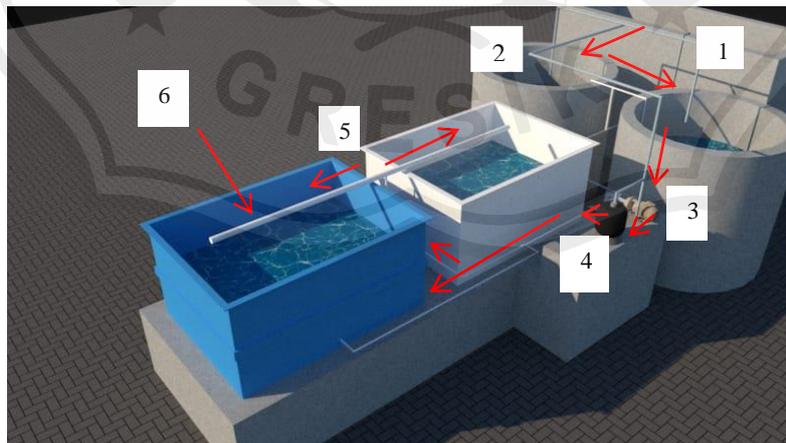
3.4 Prosedur Kerja

Prosedur kerja yang dilaksanakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.4.1 Persiapan Alat dan Bahan

Persiapan alat depurasi dimulai dengan merakit semua peralatan yang akan digunakan untuk proses depurasi. Proses perakitan wadah depurasi dimulai dari persiapan semua komponen untuk depurasi yang meliputi bak fiber sebanyak 2, rak kontainer, pipa kran, filter air, dan *flow* meter. Bak fiber yang digunakan memiliki ukuran 100 cm x 100 cm x 60 cm dengan kapasitas 600 L dan rak ukuran 90 cm x 43 cm x 8 cm dengan kapasitas 3 kg. Wadah kerang hijau disterilisasi terlebih dahulu dengan tujuan menghilangkan bakteri kontaminan. Tandon air serta wadah air limbah juga disterilisasi dengan menggunakan air deterjen.

Air laut yang akan digunakan untuk depurasi kerang hijau disterilisasi dengan kaporit dengan dosis 50 mL/1000 L air laut. Setelah disterilisasi dengan kaporit, air laut di aerator kuat selama 1 x 24 jam dan berikutnya dinetralkan dengan natrium tiosulfat dengan dosis 25 mL/1000 L air laut. Pipa untuk pengaliran air disambung sesuai dengan kebutuhan dan diposisikan sesuai dengan yang telah dirancang sebelumnya. Setelah semua komponen dipastikan tertata sesuai dengan desain depurasi yang dimulai dari pipa terhubung dari tandon menuju filter, selanjutnya dari filter air akan melewati pancuran pipa yang mengarah ke dalam bak fiber.



Gambar 4. Unit depurasi sistem resirkulasi tampak samping

Keterangan nomor pada unit depurasi sistem resirkulasi :

1. Tandon air laut steril.
2. Bak tandon untuk limbah.
3. Pompa air.
4. Filter.
5. Bak depurasi.
6. Paralon untuk masuknya air dari filter.

Peralatan depurasi yang telah disterilisasi dan disusun sesuai prosedur depurasi akan dilakukan uji coba alat depurasi untuk memastikan bahwa semua komponen telah aman dan siap digunakan. Tujuan lain dari uji coba adalah agar kotoran dalam pipa ikut terbawa keluar dalam air uji coba agar nantinya ketika proses depurasi berlangsung pipa dalam keadaan steril. Persiapan bahan meliputi pembuatan filter serbuk dari cangkang kerang hijau yang mana cangkang kerang dicuci dan dihaluskan dengan blender agar menjadi serbuk. Berikutnya serbuk direndam dengan asam sulfat pekat agar bakteri kontaminan yang terdapat dalam serbuk dapat di netralisir. Persiapan peralatan uji bakteri dilakukan dengan sterilisasi alat yang akan digunakan untuk uji bakteri agar nantinya ketika akan digunakan alat tersebut dalam keadaan steril. Pada uji TOM larutan juga dipersiapkan terlebih dahulu yakni pengenceran larutan agar sesuai dengan kebutuhan yang terdapat pada buku panduan.



Gambar 5. Susunan filter kontrol

Mekanisme filterisasi disusun sesuai dengan 2 perlakuan yakni pada perlakuan filter pasir *silica* dan zeolit tanpa serbuk cangkang kerang hijau dengan

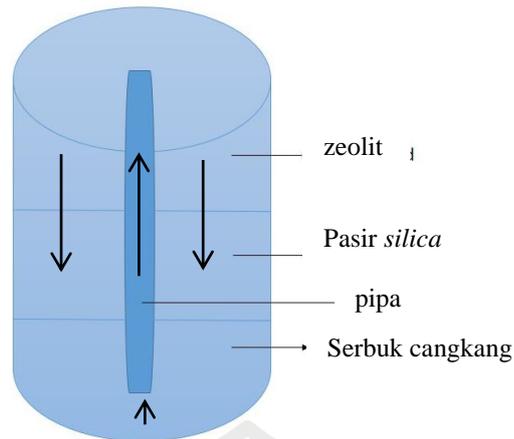
komposisi 10 kg pasir *silica* dan 10 kg zeolit. Pada perlakuan filter dengan tambahan serbuk cangkang didalam alat filter diisi filter fisika (pasir *silica* dan zeolit) dan serbuk cangkang kerang hijau. Konsentrasi penambahan serbuk cangkang kerang hijau yang paling efektif sebagai filter adalah sebanyak 9 g/L, Sehingga serbuk cangkang kerang yang digunakan pada penelitian ini adalah sebanyak 5,4 kg. Untuk pasir *silica* sebanyak 7,3 kg dan zeolit 7,3 kg pula sehingga total keseluruhan filter adalah 20 kg sesuai dengan kapasitas wadah filter.



Gambar 6. Susunan filter serbuk cangkang kerang hijau

Susunan filter dimulai dari yang paling halus di letakan di bawah dan yang paling kasar di atas. Tujuan susunan filter yang paling halus di bawah adalah agar filter yang paling halus tidak menyumbat aliran air dan tidak ikut terbawa arus yang kuat. Air yang telah digunakan untuk depurasi akan di alirkan kembali ke filter dengan cara menutup kran *input* air dan membuka kran *output* air. Air limbah yang telah melewati filter akan dialirkan menuju bak beton penyimpanan air limbah, dalam bak beton untuk diendapkan.

Proses depurasi berlangsung selama 16 jam dan di tiap 4 jam akan dilakukan pergantian air dengan tujuan agar air depurasi tidak jenuh/keruh dengan demikian diharapkan proses depurasi dapat memperoleh hasil yang maksimal. Kebutuhan air yang digunakan selama proses depurasi adalah 400 L per 4 jam yang mana air yang telah digunakan nantinya akan dialirkan ke bak beton untuk dilakukan pan dan akan di *treatment* agar nantinya dapat digunakan kembali.



Gambar 7. Arah arus air masuk dan keluar menuju bak depurasi

3.4.2 Persiapan Kerang Hijau (*Perna viridis*)

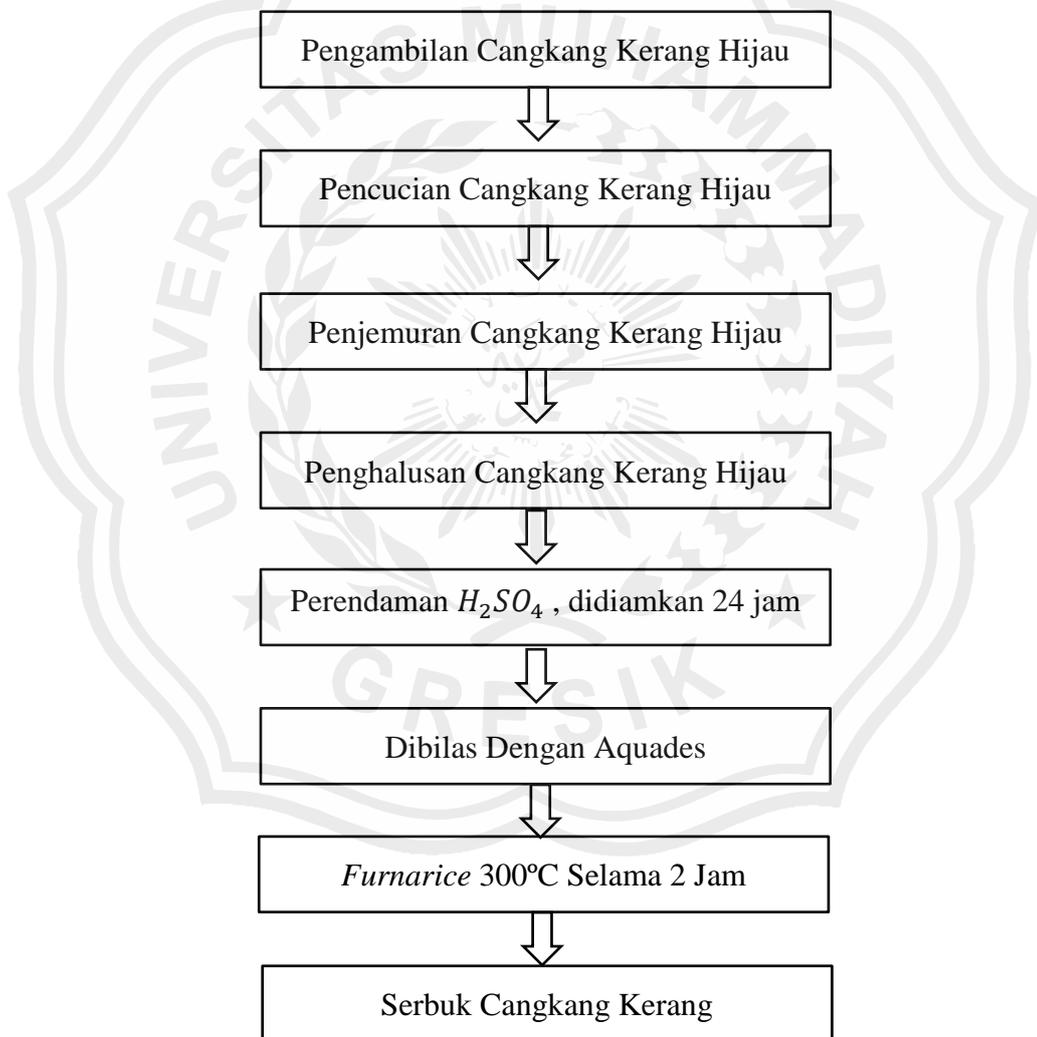
Kerang hijau yang akan di depurasi berasal dari budidaya Banyuurip Kecamatan Ujungpangkah Gresik. Kerang hijau yang didepurasi merupakan kerang segar yang baru dipanen dari keramba. Kerang hijau yang akan didepurasi dipilih sesuai ukuran konsumsi dan terbebas dari penyakit, cangkang berwarna hijau segar, dan tidak ada parasit yang menempel. Prosedur pemanenan kerang hijau adalah dengan pengambilan kerang dari keramba tancap dan kemudian dicuci dengan air laut, selain dicuci kerang hijau juga dipisahkan dari *bysus* agar nantinya tidak saling menempel. Pencucian menggunakan air laut bertujuan agar kerang hijau tidak terkontaminasi air tawar dan mampu bertahan hidup hingga di bawa ke Lab. Basah Akuakultur. Pengangkutan kerang hijau menggunakan *box* agar kerang aman dan tidak ada yang pecah.



Gambar 8. Pemisahan kerang dari *bysus*

Kerang hijau yang telah dipanen dan dicuci dipilih ukuran konsumsi yakni 4-7 cm hal ini agar ukuran kerang dalam penelitian homogen sehingga diharapkan mendapatkan hasil yang maksimal dalam penelitian. Selanjutnya kerang yang telah dipilih dengan ukuran konsumsi akan di aklimatisasi terlebih dahulu agar dapat menyesuaikan dengan kondisi perairan yang akan digunakan depurasi. Proses depurasi nantinya menggunakan 1 bak depurasi yang mana pada bak ini mampu menampung 4 rak depurasi dan tiap rak berisi 3 kg kerang hijau. Untuk tiap rak akan diambil 30 g daging untuk diuji logam timbal (Pb). 10 g per rak untuk uji total bakteri dan 50 mL air depurasi untuk uji kandungan bahan organik.

3.4.3 Pembuatan Filter Dari Bahan Baku Cangkang Kerang Hijau



Gambar 9. Proses pembuatan filter cangkang kerang

Proses pembuatan filter cangkang kerang hijau dimulai dari pengambilan limbah cangkang kerang hijau yang diperoleh dari Kecamatan Ujungpangkah Kabupaten Gresik. Cangkang kerang yang telah diperoleh kemudian di cuci dengan air dengan tujuan menghilangkan kotoran dan sisa daging kerang yang masih menempel pada cangkang. Berikutnya cangkang kerang dikeringkan agar mudah untuk dihaluskan, selain itu tujuan dari pengeringan adalah agar bubuk yang dihasilkan lebih halus dan tidak menyatu dengan air.

Proses berikutnya cangkang kerang yang sudah kering dimasukkan ke dalam karung dan dihancurkan dengan kayu, tujuannya adalah agar ukuran cangkang lebih kecil sehingga mudah untuk dimasukan dalam *blender*. Setelah dirasa ukuranya lebih kecil cangkang kerang dimasukkan ke dalam blender untuk dijadikan serbuk. Serbuk cangkang kerang direndam dalam larutan asam sulfat pekat selama 24 jam berikutnya dibilas dengan akuades. Serbuk yang telah netral di *furnirice* selama 2 jam dengan suhu 300°C dan berikutnya siap untuk dijadikan filter pada proses depurasi sesuai dengan ketentuan dosis yang telah ditetapkan.

3.4.4 Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan untuk mewakili keseluruhan kerang hijau yang ada pada tiap perlakuan yang di ukur sesuai dengan parameter penelitian yakni pengukuran kandungan logam berat, total bakteri dalam daging kerang hijau dan kandungan bahan organik dalam air depurasi yang disampling pada 4 rak tiap perlakuannya. Ukuran kerang hijau yang di sampling adalah 7 cm atau kerang hijau ukuran konsumsi.

Penelitian ini menggunakan 2 perlakuan yaitu K (Depurasi kerang hijau (*Perna viridis*) menggunakan filter pasir *silica* dan zeolit) dan C (Depurasi kerang hijau (*Perna viridis*) menggunakan filter pasir *silica*, zeolit dan serbuk kerang hijau). Pengambilan data untuk uji logam timbal (Pb) pada perlakuan kontrol dan penambahan serbuk cangkang dilaksanakan pada awal sebelum depurasi (K0, C0) dan akhir setelah depurasi (K16 dan C16). Pada pengambilan data kandungan bahan organik dan kualitas air dilakukan setiap 4 jam sekali untuk mengetahui kandungan bahan organik yang dikeluarkan oleh kerang hijau. Pengambilan data untuk penghitungan total bakteri didapatkan dari 2 perlakuan dan 8 ulangan pada 2 waktu yang berbeda yakni di awal dan di akhir proses depurasi.

Tabel 3. Layout pengambilan data untuk perhitungan total bakteri

Perlakuan	Ulangan	Waktu (Jam)	
		0	16
K (Kontrol)	1	K0	K16
	2	K0	K16
	3	K0	K16
	4	K0	K16
	5	K0	K16
	6	K0	K16
	7	K0	K16
	8	K0	K16
C (Cangkang)	1	C0	C16
	2	C0	C16
	3	C0	C16
	4	C0	C16
	5	C0	C16
	6	C0	C16
	7	C0	C16
	8	C0	C16

3.5 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif merupakan suatu metode yang menjawab pertanyaan yang menyangkut sesuatu pada waktu sedang berlangsungnya suatu riset. Metode riset ini dapat digunakan dengan lebih luas dari metode yang lain. Metode ini banyak memberikan informasi yang mutakhir sehingga bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan serta lebih banyak dapat diterapkan pada berbagai macam masalah.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Kandungan Logam Timbal (Pb) Dalam Daging Kerang Hijau

Proses pengukuran kadar logam timbal (Pb) menggunakan metode AAS. Adapun prosedur pengukuran kadar logam timbal (Pb) yang pertama ialah menyalakan alat AAS. Berikutnya, membuka kran gas *asetilene* untuk mengalirkan gas pada proses pembakaran. Ekstrak dari daging kerang hijau dialirkan ke mesin AAS yang melalui selang penghubungnya. Sampel daging kerang hijau tersebut kemudian di bakar dengan menggunakan gas *asetilene*.

Atom yang terserap oleh AAS kemudian dibaca dan akan menunjukkan nilai kadar logam timbal. Nilai logam timbal (Pb) dapat dilihat melalui pensejajaran nilai absorbansi sampel dengan deret ukur 0-1 mg/g.

3.6.2 Total Bakteri Dalam Daging Kerang Hijau

Proses pengukuran bakteri total sesuai dengan uji APHA (*American Pharmaceutical Association*) menurut (Indriyastuti et al., 2014) adalah sebagai berikut:

1. Sampel yang telah diambil dan disimpan dalam *coolbox* untuk dibawa ke laboratorium.
2. Pembuatan media agar NA dengan cara menimbang dengan cara menimbang 22,5 g bubuk NA dan kemudian ditambah 1 liter aquades dalam erlenmeyer.
3. Mensterilisasikan media NA ke dalam *autoclave* selama 15 menit suhu 121°C kemudian disimpan pada suhu 45°C - 50°C .
4. Memasukan media NA ke *petridish* sebanyak 10-20 mL. Tuangkan pada suhu 45°C - 50°C .
5. Setelah dituangkan ditunggu 2-3 menit agar media NA mengeras.
6. Menyiapkan tabung reaksi sebanyak 4 dan diisi larutan pengencer *ringer solutin* 9 mL. Pengenceran pertama yaitu dimasukkan 1 mL sampel ke dalam tabung 10^1 kemudian dicampurkan menggunakan alat *vortex* agar tercampur rata. Dari hasil pengenceran 10^1 diambil sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan pada tabung 10^2 lalu dicampurkan dengan *vortex*. Hal tersebut diulang hingga tabung 10^8 . Disiapkan 2 *petridish* masing-masing diisi 0,1 mL hasil pengenceran 10^8 , satu *petridish* sebagai kontrol yang hanya diisi agar NA.
7. Menginkuasi bakteri pada suhu 35°C pada oven selama 24 jam
8. Melakukan perhitungan koloni bakteri

Rumus perhitungan koloni bakteri menurut (Hartati, 2016) bahwa perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan pada cawan yang mengandung 25 hingga 250 koloni bakteri sesuai dengan SNI 01- 2332.3-2006 tentang pengujian angka lempeng total.

$$A = \frac{1}{\text{Volume inokulasi}} \times \Sigma \text{ koloni} \times \Sigma \text{ pengenceran}$$

Keterangan A : kelimpahan bakteri (CFU/g)

3.6.3 Kandungan Bahan Organik Dalam Air Media Depurasi

Analisis TOM digunakan untuk mengetahui kandungan bahan organik total yang berada pada suatu perairan. Analisis uji Tom di sesuaikan dengan SNI 06-6989,22.2004. Langkah uji TOM menurut (Indriyastuti *et al.*, 2014) adalah sebagai berikut

1. Air sampel diambil dengan pipet sebanyak 100 mL.
2. Memasukan air sampel ke dalam tabung erlenmeyer 300 mL dan tambahkan batu didih.
3. Menambahkan KMnO_4 0,01 N beberapa tetes ke sampel hingga warnanya menjadi merah muda.
4. Menambahkan 5,1 asam sulfat 8 N
5. Memanaskan dengan suhu 105°C apabila terdapat bau H_2S pendidihan diteruskan beberapa menit.
6. Menambahkan 10 mL KMnO_4 0,01 N dan panaskan hingga mendidih 10 menit.
7. Menambahkan larutan asam osalat 0,01 N dan titrasi dengan kalium permanganat 0,01 N hingga berwarna merah muda.
8. Mencatat volume pemakaian KMnO_4 apabila pemakaian larutan baku kalium permanganat 0,01 N lebih dari 7 mL, ulangi pengujian dengan cara mengencerkan contoh uji.
9. Memasukan hasil titrasi kedalam rumus untuk mendapatkan hasil kandungan bahan organik. Berikutnya melakukan pengurangan hasil perhitungan di jam ke-0 dengan jam ke-16 untuk mendapatkan hasil penurunan bahan organik pada air depurasi.

$$\text{Rumus: } \text{KMnO}_4 \text{ mg/l} = \frac{100}{1000} \{ (10 + a) f - 10 \} \times 31,6 \times 0,01 \times p$$

Keterangan : a : Volume KMnO_4 0,01 N yang dibutuhkan pada titrasi
f : Normalitas KMnO_4 yang sebenarnya
0,01 : Normalitas asam oksalat
p : Faktor pengenceran contoh uji

Rumus menghitung penurunan bahan organik pada air depurasi :

Penurunan bahan organik = Perhitungan jam ke 0 – perhitungan jam ke 16

3.6.4 Variabel Pendukung

Parameter penunjang yang digunakan untuk penelitian ini adalah pengecekan kualitas air yang diukur pada 4 jam sekali selama 16 jam waktu depurasi. Parameter penunjang yang diukur meliputi suhu, pH, salinitas, DO dan amoniak. Suhu diukur dengan termometer, pH diukur dengan pH meter, salinitas dengan *refraktometer*, DO diukur dengan DO kit, dan amonia diukur dengan amonia kit.

3.7 Analisis Data

Jumlah sampel tiap perlakuan sebanyak 30 g daging kerang hijau untuk uji uji logam timbal (Pb) yang diambil di awal dan akhir proses depurasi pada kedua perlakuan dan 10 g daging kerang hijau untuk uji total bakteri yang diambil secara acak di tiap rak pada bak fiber di kedua perlakuan dan 50 mL air depurasi untuk uji kandungan bahan organik yang diambil 4 jam sekali. Parameter total bakteri dievaluasi dengan menggunakan uji t yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh masing-masing variabel independen terhadap variabel dependen. Taraf signifikansi sebesar 5% ($\alpha = 0,05$). Variabel yang akan diuji t merupakan kriteria uji statistik t yang (Ghozali, 2016).

- Nilai $t > 0,05$ maka H_0 diterima, berarti non signifikan
- Nilai $t < 0,05$ maka H_1 diterima, berarti signifikan.