

BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Alat-alat.

- Spektrofotometer Serapan Atom (AAS) model PERKIN ELMER
- sentrifuse (klinis) merk Fisher Scientific (sentri-
fic Model 228)
- pH meter model 420 A dibuat oleh Orion Taiwan
- corong pemisah
- pipet tetes
- pipet ukur
- labu takar
- injektor
- neraca model KERN 870
- gelas kimia
- gelas ukur
- jerigen

3.2. Bahan-bahan

- kristal magnesium nitrat
- kristal timbal nitrat
- larutan kromat
- asam nitrat p.a.
- akuades
- akuabides

- kristal Ammoniumpirolidinditiokarbamat (APDC)
4% p.a.
- Metilisobutilketon (MIBK) p.a.
- kertas pH
- sampel darah burung dara yang telah disuntik dengan larutan garam timbal nitrat (40 ppm sebanyak 5 mL

3.3. Cara Kerja

3.3.1. Pembuatan Larutan Stok

- a. Pembuatan larutan stok timbal nitrat 1000 ppm
Menimbang sebanyak 2,159 gram kristal $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan akuades di dalam labu ukur 1000 mL sampai tanda batas.
- b. Pembuatan larutan stok magnesium nitrat 1000 ppm
Menimbang sebanyak 10,1746 gram kristal $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan akuades di dalam labu ukur 1000 mL sampai tanda batas.
- c. Pembuatan larutan 0,1 M HNO_3
Mengambil sebanyak 4,50 mL asam nitrat pekat p.a. dilarutkan dengan akuades di dalam labu ukur 1000 mL sampai tanda batas.
- d. Pembuatan larutan Ammoniumpirolidinditiokarbamat (APDC) 4%
Menimbang sebanyak 4 gram APDC p.a. dilarutkan dengan akuades di dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas.

3.3.2. Pembuatan Kurva Larutan Standar

a. Pembuatan grafik larutan standar timbal nitrat

Dari larutan stok timbal nitrat 1000 ppm dibuat seri larutan standar berkonsentrasi 5, 12, 15 ppm dengan cara mengambil 10 mL larutan stok timbal nitrat 1000 ppm kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL lalu diencerkan sampai tanda batas, larutan ini adalah larutan timbal nitrat 100 ppm. Dari larutan timbal nitrat ini dibuat satu seri larutan standar sebagai berikut :

- membuat larutan standar timbal nitrat 5 ppm
mengambil 5 mL larutan timbal nitrat 100 ppm kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, diencerkan sampai tanda batas.
- membuat larutan standar timbal nitrat 12 ppm
mengambil 12 mL larutan timbal nitrat 100 ppm, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, diencerkan sampai tanda batas.
- membuat larutan standar timbal nitrat 15 ppm
mengambil 15 mL larutan timbal nitrat 100 ppm, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, diencerkan sampai tanda batas.

b. Pembuatan larutan standar 0,2 mg/mL magnesium nitrat

Dari larutan stok magnesium nitrat 1000 ppm diambil 20 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL lalu diencerkan sampai tanda batas, larutan ini adalah larutan 200 ppm magnesium nitrat atau 0,2 mg/mL magnesium nitrat.

3.3.3. Penentuan Timbal Dalam Sampel Darah Dengan Penambahan 0,1 M Asam Nitrat dan 0,2 mg/mL Magnesium Nitrat.

Mengambil sebanyak 2 mL sampel darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi (tabung sentrifuse), kemudian dilakukan penambahan 0,1 M asam nitrat dan 0,2 mg/mL magnesium nitrat (dengan variasi volume 1,2,3,4), masing-masing perbandingan volume sama. Campuran ini kemudian disentrifuse pada kecepatan 3400 rpm selama 10 menit. Filtrat (bagian yang bening) diambil dan diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer serapan atom (AAS) pada panjang gelombang 217,0 nm.

3.3.4. Ekstraksi APDC-MIBK Pada Sampel Darah Dengan Variasi pH.

Mengambil sebanyak 5 mL sampel darah, dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan diencerkan hingga tanda batas, dipindahkan ke dalam gelas kimia, ditambahkan asam nitrat 0,1 M diukur pHnya dengan variasi pH 2,4; 2,6; 2,8;3,0 dan dimasukkan ke dalam corong pemisah 250 mL, ditambahkan 2 mL larutan APDC 4% dilakukan pengocokan, penambahan 15 mL MIBK p.a. dikocok selama 15 menit dan larutan dibiarkan agar terjadi pemisahan fase air dan fase organik. Diambil fase organiknya dan dicuci dengan 10 mL akuabides dan dibuang fase airnya. Ke dalam fase organiknya ditambahkan 0,5 mL asam nitrat pekat p.a., larutan dikocok dan dibiarkan selama 20 menit. Ditambahkan 10 mL akuabides dan dikocok beberapa menit, diambil fase airnya dan

larutan siap diukur absorbansinya pada panjang gelombang 217,0 nm.

3.3.5. Penentuan Timbal Berdasarkan Waktu Injeksi Larutan Timbal Nitrat Terhadap Hewan Percobaan.

Melakukan injeksi terhadap hewan percobaan dengan variasi waktu 12, 24, 36 jam dengan larutan timbal nitrat. Kemudian diambil darahnya, 2 mL dimasukkan kedalam tabung sentrifuse ditambahkan 4 mL asam nitrat 0,1 M dan 4 mL larutan magnesium nitrat 0,2 mg/mL, disentrifuse pada kecepatan 3400 rpm selama 10 menit, filtrat (bagian yang bening) diambil dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 217,0 nm.

Disamping itu diambil 5 mL sampel darah dimasukkan kedalam labu takar 100 mL dan diencerkan sampai tanda batas, dipindahkan kedalam gelas kimia, ditambahkan asam nitrat 0,1 M sampai pH \pm 2,5, kemudian dimasukkan kedalam corong pemisah 250 mL dan ditambahkan 2 mL larutan APDC 4% dilakukan pengocokan, penambahan 15 mL MIBK p.a. dikocok selama 15 menit dan larutan dibiarkan agar terjadi pemisahan fasa air dan fasa organik. Diambil fasa organiknya dan dicuci dengan 10 mL akuades dan dibuang fasa airnya. Kedalam fasa organiknya ditambah 0,5 mL asam nitrat pekat, larutan dikocok dan dibiarkan selama 20 menit. Ditambahkan 10 mL akuabides dan dikocok beberapa menit, diambil fasa airnya, larutan siap diukur absorbansinya pada panjang gelombang 217,0 nm.

3.3.6. Penentuan Timbal Didasarkan Pada Berat Hewan Percobaan.

Setiap hewan percobaan ditimbang berat badannya menggunakan timbangan (dengan skala terkecil pada gram) sebelum dilakukan injeksi dengan larutan timbal nitrat. Setelah 24 jam injeksi, darah diambil dan dilakukan prosedur-prosedur :

- perlakuan pendahuluan dengan penambahan asam nitrat dan magnesium nitrat.

Mengambil 2 mL sampel darah dimasukkan kedalam tabung sentrifuse, kemudian ditambahkan 4 mL asam nitrat 0,1 M dan 4 mL magnesium nitrat 0,2 mg/mL, campuran disentrifuse dengan kecepatan 3400 rpm selama 10 menit. Filtrat (bagian yang bening) diambil dan siap diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer serapan atom (AAS) pada panjang gelombang 217,0 nm.

- ekstraksi menggunakan pengomplek APDC dan pelarut MIBK.

Mengambil 5 mL sampel darah dimasukkan kedalam labu takar 100 mL dan diencerkan sampai tanda batas, dipindahkan kedalam gelas kimia ditambahkan asam nitrat 0,1 M sampai pH \pm 2,5, kemudian dimasukkan kedalam corong pemisah 250 mL ditambahkan 2 mL larutan APDC 4% dilakukan pengocokan, penambahan 15 mL MIBK p.a. dikocok selama 15 menit dan larutan dibiarkan agar terjadi pemisahan fasa air dan fasa organiknya dan dicuci dengan 10 mL akubides dan dibuang fase airnya. Kedalam fase organiknya ditambahkan 0,5 mL asam nitrat pekat, larutan dikocok dan

dibiarkan selama 20 menit. Ditambahkan 10 mL akuabides dan dikocok beberapa menit, diambil fase airnya, larutan siap diukur absorbansinya pada panjang gelombang 217,0 nm.

