

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan metode deskriptif kualitatif. Perlakuan dalam penelitian ini diulang sebanyak 3 kali ulangan, dengan pemberian jumlah isolat yaitu 100 ml dan kontrol. Data diperoleh dari sebelum dan sesudah pemberian isolat *Chlorella* sp pada limbah cair tahu, dengan menggunakan metode analisis spektrofotometri dan metode titrasi. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk mengetahui parameter yang diamati dan pertumbuhan sel *Chlorella* pada limbah cair tahu.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni - Juli 2012 bertempat di Laboratorium Ekologi dan Sumber Daya Alam Hayati, Laboratorium Optik, dan Laboratorium Genetik Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang (UMM).

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer 1000 ml, beaker glass 250 ml, gelas ukur 100 ml, pengaduk kaca, hand counter , neraca elektrik, mikroskop, pH-meter, akuarium, COD meter, BOD meter,

spektrofotometer, thermometer, haemocytometer, lux meter, timer, lampu TL berkekuatan 18 watt, pipet tetes, mikropipet, aerator, selang plastik dan inkubator.

Bahan yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah mikroalga *Chlorella* sp., Medium Limbah Cair Tahu (MLCT) sebagai medium alternatif, Medium Ekstrak Tauge (MET) medium alternatif yang umum digunakan untuk kultur mikroalga, kertas tissue, kapas steril, aluminium foil, kertas label, akuades dan alkohol 70%.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dilakukan dengan cara alat dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air tawar sampai bersih, kemudian disemprot dengan alkohol 70%, dan dibiarkan kering di udara. Wadah kultur (Erlenmeyer) setelah kering ditutup dan disumbat dengan kapas steril atau ditutup rapat dengan aluminium foil.

Sterilisasi bahan (media kultur) dilakukan secara bertahap dengan dipanaskan pada suhu 60⁰C selama 30 menit.

3.4.2 Persiapan Limbah Cair Tahu

Air limbah yang digunakan sebagai medium *Chlorella* sp., dan sebagai bahan yang diuji parameter kandungannya adalah berasal dari pengendapan tahu yang berasal dari Dusun Tegal Pasangan Desa Pakis Jajar Kecamatan Pakis Kabupaten Malang.

3.4.3 Sub Kultur *Chlorella* sp. pada Media MET

Tujuan dilakukannya sub kultur adalah untuk memperbanyak isolat *Chlorella* sp. yang akan diinokulasikan pada limbah cair tahu. Penggunaan Media Ekstrak Touge pada sub kultur ini, karena dalam MET terdapat nutrisi yang dibutuhkan oleh *Chlorella* dalam pertumbuhannya (Prihantini *et al*, 2007).

Isolat murni *Chlorella* sp., yang dikulturkan diperoleh dari Laboratorium Produktivitas dan Lingkungan Perairan (ProLing) Institut Pertanian Bogor, wadah kultur yang digunakan adalah Erlenmeyer ukuran 1000 ml yang ditempatkan pada ruang dengan suhu 25 – 27⁰ C, dan ditempatkan pada rak yang telah dilengkapi dengan aerasi dan lampu TL berkekuatan 18 watt, yang diatur sedemikian rupa agar setiap perlakuan mendapatkan intensitas cahaya sesuai dengan tingkat perlakuan.

Kultur *Chlorella* tersebut diletakkan di rak kultur dan diinkubasi selama kurang lebih 15 hari dengan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap (Prihantini dan Yuniati, 2005). Kultur *Chlorella* yang tumbuh dengan baik dan murni (tanpa kontaminan) diperbanyak lagi secara bertahap.

3.4.4 Penginokulasian Sel *Chlorella* sp. pada Limbah Cair Tahu

Penginokulasian sel *Chlorella* pada limbah cair tahu diambil dari sub kultur yang sudah dilakukan. Isolat *Chlorella* sebanyak 100 ml dimasukkan ke dalam limbah cair tahu, dimana setiap rata-rata ml nya mengandung 2.041.666 sel.

Perhitungan sel *Chlorella* menggunakan *Haemocytometer*. Sebanyak 1 ml kultur diambil secara aseptik dari tiap-tiap akuarium (fotobioreaktor)

menggunakan pipet Pasteur. Selanjutnya, kultur diletakkan ke dalam kamar hitung *Haemocytometer Neubauer Improved* Sel dihitung dengan bantuan mikroskop. Sel *Chlorella* sp. yang dihitung adalah seluruh sel yang hidup, berwarna hijau.

3.4.5 Perhitungan Kelimpahan Sel *Chlorella* sp.

Penghitungan kelimpahan sel *Chlorella* sp. pada setiap tahap penelitian dilakukan dengan menggunakan *Haemocytometer Neubauer Improved* (Irianto, 2011). Estimasi kelimpahan sel *Chlorella* sp. menggunakan rumus kelimpahan sel menurut PUNCHARD (2006) dan TAW (1990) dalam Irianto 2011:

$$D = \left\{ \frac{N_1 + N_2}{2} \times \frac{(25 \times 10^4)}{n} \right\} \times DF$$

Keterangan:

D : Jumlah Sel

N1 : Jumlah mikroalga pada bidang atas *Haemocytometer*

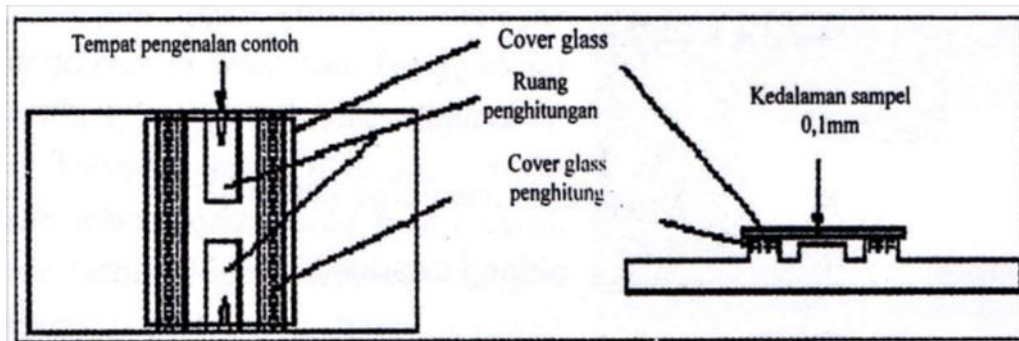
N2 : Jumlah mikroalga pada bidang bawah *Haemocytometer*

n : Jumlah kotak yang diamati

25×10^4 = Konstanta *Haemocytometer* Neubauer

DF : Faktor pengenceran

Penampang *haemocytometer* disajikan pada Gambar 3. Hasil penghitungan kelimpahan sel *Chlorella* sp. per hari kemudian diplotkan untuk membuat kurva pertumbuhan sel dengan sumbu X menunjukkan hari kultivasi dan sumbu Y sebagai kelimpahan sel *Chlorella* sp.



Gambar 3. Haemacytometer (Kawaroe, 2010)

3.4.6 Perlakuan Penelitian

Penelitian ini menggunakan perlakuan dengan tiga kali ulangan yaitu dengan pemberian isolat *Chlorella* pada limbah cair tahu. Sebelum dilakukan penelitian, diuji terlebih dahulu kondisi awal dari limbah cair tahu. Parameter yang diuji berupa pH, COD, BOD, Amonia (NH_3), Nitrat (NO_3), dan Nitrit (NO_2). Sesudah pemberian isolat *Chlorella* sp. pada akuarium yang berisi limbah cair tahu tersebut dilakukan pengujian kembali beberapa parameter di atas.

3.5 Metode Analisis Sampel Limbah Cair Tahu

Analisis sampel limbah cair tahu dilakukan di laboratorium Genetik dan Laboratorium Ekologi dan Sumber Daya Alam Hayati Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Analisis sampel meliputi BOD, COD, pH, Amonia, Nitrat, dan Nitrit. Untuk uji parameter BOD, COD, Ammonia, Nitrat dan Nitrit dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang. Analisis sampel dilakukan guna mengetahui kadar parameter yang diamati dalam limbah cair tahu

setelah dilakukan kultivasi dengan menggunakan metode spektrofotometri dan titrasi.

3.9 Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Metode yang digunakan untuk menganalisa data adalah deskriptif kualitatif. Pengamatan atau pengukuran parameter limbah cair tahu dan perhitungan kelimpahan sel *Chlorella* sp. dilakukan dari hari ke-0 sampai hari ke-10 ($H_0 - H_{10}$). Hasil data yang didapat dibandingkan dengan baku mutu limbah cair tahu yang sudah ditetapkan.