

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian disusun menggunakan metoda statistika rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor, dimana faktor yang diujikan adalah pengaruh konsentrasi limbah cair tapioka (10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan 0% atau kontrol) terhadap pertumbuhan sel dan kadar lipid yang dihasilkan oleh *Scenedesmus sp.* Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali ulangan. Data dianalisa menggunakan software SPSS 16.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2012 bertempat di Laboratorium Ekologi dan Sumber Daya Alam Hayati dan Optik Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, dan analisis kadar lipid dilaksanakan dilaboratorium kimia Universitas Muhammadiyah Malang.

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer 1000 ml, beaker glass 250 ml, tabung reaksi 100 ml, gelas ukur 100 ml, pengaduk kaca, lemari es, hand counter, neraca elektrik, mikroskop, pH-meter, thermometer,

haemocytometer, lux meter, timer, lampu TL berkekuatan 36 watt, enkas, autoclave, pipet tetes.

Bahan yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah mikroalga *Scenedesmus* sp., Medium Limbah Cair Tapioka (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 96%.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan proses yang ditujukan untuk membersihkan alat serta bahan yang akan digunakan untuk isolasi maupun kultivasi mikroalga dari mikroorganisme serta bahan kimia yang dapat menjadi kontaminan. Proses ini meliputi sterilisasi wadah baru, wadah habis pakai dan sterilisasi pipet setelah digunakan.

Sterilisasi alat dilakukan dengan cara alat dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air tawar sampai bersih, kemudian dsterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan lama sterilisasi 15 menit. Dalam proses sterilisasi menggunakan autoklaf ini semua alat ditutup dengan kapas atau aluminium foil, kemudian dibungkus dengan plastik tahan panas.

Sterilisasi bahan (media kultur) dilakukan secara bertahap (tyndalisasi) yaitu dengan dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam, dilakukan tiga kali berturut-turut dengan selang waktu 24 jam.

3.4.2 Persiapan Limbah sebagai Media Kultivasi *Scenedesmus* sp.

Air limbah yang digunakan sebagai medium *Scenedesmus* sp., dalam penelitian ini adalah berasal dari pengendapan tepung tapioka PT. Tiga Mutiara Rukun Sentosa yang beralamat di Jalan. Madyorenggo 16 Kabupaten Malang, Jawa Timur 65175.

3.4.3 Kultur *Scenedesmus* sp.

Isolat murni *Scenedesmus* sp., yang akan dikulturkan diperoleh dari Laboratorium Produktivitas dan Lingkungan Perairan (ProLing) Institut Pertanian Bogor, wadah kultur yang digunakan adalah Erlenmeyer ukuran 1000 ml sebanyak 18 buah, yang ditempatkan pada ruang ber-AC dengan suhu 24 – 30⁰ C, dan ditempatkan pada rak yang telah dilengkapi dengan aerasi dan lampu TL berkekuatan 18 watt sebanyak 4 buah.

Prosedur kerja yang selanjutnya dilakukan pemurnian kultur *Scenedesmus* dengan metode pengenceran. Sebanyak 1 ml biakan *Scenedesmus* dari kultur koleksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml MET kemudian dicampur hingga homogen. Selanjutnya dari kultur tersebut diambil 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua. Proses tersebut dilakukan hingga tabung reaksi keempat. Kultur selanjutnya diletakkan di rak kultur dan diinkubasi selama 30 hari dengan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap. Kultur *Scenedesmus* yang tumbuh dengan baik dan murni (tanpa kontaminan) diperbanyak lagi secara bertahap hingga didapatkan 100 ml kultur murni *Scenedesmus*. Sebelum digunakan sebagai inokulum, biakan kultur persediaan diremajakan pada media perlakuan. Selanjutnya biakan kultur diletakkan di rak

kultur dan diinkubasi dengan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap (Prihantini, 2005), Sel yang telah berada dalam tahap pertumbuhan yang seragam digunakan sebagai inokulum.

3.4.4 Penginokulasian Sel *Scenedesmus* sp.

Penginokulasian sel *scenedesmus* dilakukan dengan cara sebagai berikut: Kerapatan sel yang diinokulasikan sebesar 50.000 sel/ml disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan biomassa mikroalga *Scenedesmus* dari media. Supernatan dibuang dan endapan sel diinokulasikan ke dalam 200 ml media perlakuan.

Erlenmeyer yang berisi *Scenedesmus* sp., untuk kultur perlakuan diletakkan di rak kultur dan diberi pencahayaan dari 4 buah lampu TL masing-masing berkekuatan 18 watt. Lampu diletakkan sejajar di samping kiri dan kanan rak kultur dengan jarak kurang lebih 10 cm dari erlenmeyer kultur dengan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap. Penghitungan jumlah sel untuk mendapatkan data kerapatan sel dilakukan setiap 24 jam sekali mulai t_0 (hari ke-0) hingga t_{10} (hari ke-10).

Sebanyak 1 ml kultur diambil secara aseptik dari tiap-tiap erlenmeyer kultur menggunakan pipet *Pasteur* dan diletakkan ke dalam botol sampel. Selanjutnya, kultur diletakkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer*. Sel dihitung dengan bantuan mikroskop. Sel *Scenedesmus* yang dihitung adalah seluruh sel yang hidup, berwarna hijau, baik dalam bentuk uniseluler atau koloni.

3.4.5 Perlakuan Penelitian

Penelitian ini menggunakan tiga perlakuan dan setiap kali perlakuan terdiri dari tiga kali ulangan, perlakuan berupa pemberian konsentrasi yang berbeda yaitu 10%, 20%, 30% 40%, 50%, dan 0%. Untuk mengetahui pertumbuhan populasi sel dari setiap perlakuan dilakukan pengamatan setiap hari, dari hasil yang diperoleh diharapkan dapat diketahui kepadatan sel *Scenedesmus* sp., tertinggi.

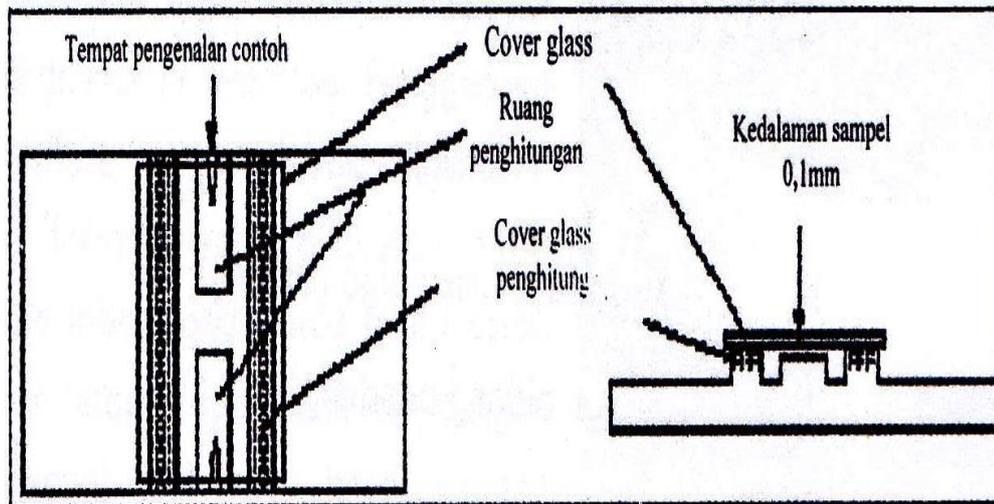
3.4.6 Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati selama penelitian meliputi:

1. Pertumbuhan sel *Scenedesmus* sp. (sel/ml) setiap hari selama 10 hari pada penelitian utama.
2. Variabel tambahan yang kedua kadar lipid yang dihasilkan oleh *Scenedesmus* sp yang dibudidayakan pada limbah cair tapioka.

3.4.6.1 Perhitungan Kelimpahan Sel *Scenedesmus* sp.

Penghitungan kelimpahan sel *Scenedesmus* sp. pada setiap tahap penelitian dilakukan dengan *Haemocytometer Neubauer Improved* (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).



Scenedesmus sp. menggunakan rumus kelimpahan sel :

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

Keterangan:

D = Jumlah sel/ml

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 Dilusi (volume total/volume inokulan)

3.4.7 Pemanenan Biomassa Mikroalga

Pemanenan mikroalga dilakukan pada akhir fase eksponensial. Mikroalga dipanen dengan cara disaring dengan menggunakan kertas saring yang telah diketahui beratnya dan dibilas dengan akuades. Kertas saring dan hasil panen kemudian dikeringkan dalam oven selama 24 jam kemudian ditimbang. Berat

kering panen mikroalga didapat dari mengurangi berat kering kertas saring dan mikroalga dengan berat kering kertas saring (Pangabea, 2010).

3.4.8 Analisis Kadar Lipid

Analisis kadar lipid dilaksanakan dilaboratorium kimia Universitas Muhammadiyah Malang.

3.4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik, metode yang digunakan untuk menganalisis data dari hasil perhitungan kelimpahan sel adalah secara deskriptif. Perhitungan jumlah populasi dilakukan setiap hari dari hari perhitungan awal sampai hari ke-10 (H_0-H_{10}). Hasil yang didapat digunakan untuk mengetahui jumlah populasi maksimum yang dapat dicapai. Hasil setiap perlakuan tersebut dibandingkan sehingga akan diketahui perlakuan yang terbaik yang dapat memberikan jumlah populasi yang maksimum.

Data yang diperoleh dari perhitungan sel dan kadar lipid dianalisa dengan metode analisa statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL) *One Way ANOVA* dengan 5 perlakuan pemberian konsentrasi media yang berbeda yaitu 10%, 20%, 30% 40%, 50%, dan 0% yang masing-masing perlakuan mendapatkan 3 kali ulangan. Rancangan ini digunakan karena satuan percobaannya yang homogen, dalam arti keragaman antar satuan percobaannya kecil.