

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat.**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai bulan Oktober 2010 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.2 Variabel Penelitian**

##### **3.2.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah lamanya hari (pertumbuhan bakteri) mulai dari hari ke 0 – 7, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, 5 minggu, 7 minggu, dan yang terakhir 2 bulan

##### **3.2.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jumlah koloni konsorsium bakteri biodekomposer yang terdiri dari 6 genus (*Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Escherichia*, dan *Aerococcus*)

##### **3.2.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah suhu inkubasi 37°C, dan lamanya inkubasi selama 4 jam.

### **3.3 Obyek Penelitian**

Obyek dari penelitian ini adalah menguji viabilitas dari bakteri yang ada pada produk biodekomposer selama 2 bulan

### **3.4 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.4.1 Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan antara lain labu *erlenmeyer*, timbangan digital, mikropipet, tip, *aluminium foil*, gelas ukur, *spreader*, rak tabung reaksi, bunsen, LAF, *autoclave*, *hotplate*, *stirrer*, *beaker glass*, tabung reaksi, incubator, cawan petri, spatula, oven, *centrifuge*, kulkas, *colony counter*, koran, plastik wrapping, botol mansion.

#### **3.4.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan antara lain media Nutrien Agar (NA), larutan pepton, biodekomposer (diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang) mulai dari awal pembuatan (hari ke 0), alkohol 70% dan 95%, spirtus, aquades.

### **3.5 Prosedur Kerja**

#### **3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara membungkus semua peralatan dengan menggunakan kertas kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf untuk di sterilisasi dengan suhu 121°C dan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit. Untuk alat yang tidak tahan terhadap panas tinggi cukup disterilisasi dengan alkohol 70%.

### **3.5.2 Pembuatan Media NA (Nutrient Agar)**

1. Menyiapkan bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan media ini yaitu beef ekstrak 3 gr, pepton 5 gr, agar-agar 17 gr dan aquades 1000 ml.
2. Semua bahan tersebut dimasukkan kedalam tabung Erlenmeyer dan dipanaskan hingga homogen.
3. Dimasukkan dalam botol dan ditutup dengan kapas
4. Sterilisasi selama 15 menit menggunakan autoklaf

### **3.5.3 Pembuatan Larutan Pepton**

Menimbang pepton seberat 0,5 gr dan dilarutkan dengan 1liter aquades dalam beaker glass, dipanaskan sampai homogen, kemudian dituang ke dalam tabung reaksi, tiap tabung reaksi berisi sebanyak 9ml larutan pepton selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf dengan tekanan 15atm, 121°C, selama 15 menit.

### **3.5.4 Uji Viabilitas Biodekomposer**

1. Menyiapkan produk biodekomposer, media NA dan larutan pepton.
2. Memasukkan larutan pepton yang ada pada tabung reaksi kedalam inkubator selama 1 jam.
3. Sebelum sampel diambil, botol (biodekomposer) dikocok bolak-balik sampai merata.
4. Melakukan pengenceran (sampel diambil 1ml dan dituang kedalam tabung reaksi yang berisi 9ml larutan pepton 0,05%), dan di dapatkan konsentrasi pengenceran  $10^{-1}$ , dari pengenceran  $10^{-1}$  diambil 1ml dan dilarutkan kedalam 9ml larutan pepton 0,05%, diperoleh pengenceran  $10^{-2}$  hal

serupa dilakukan sampai mendapatkan konsentrasi pengenceran  $10^{-10}$ ,  
(setiap kali pengenceran, pepton dikocok sampai benar-benar merata).

5. Hasil dari pengenceran diinkubasi selama 2 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
6. Biodekomposer yang telah diencerkan diambil sebanyak  $100 \mu\text{l}$  menggunakan mikro pipet diletakkan diatas lempeng agar media NA.
7. Cairan diratakan menggunakan spreader dan diinkubasi pada inkubator selama 4 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
8. Cawan di inkubasi pada suhu ruang selama satu malam kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada cawan tersebut.

#### **3.5.5 Penghitungan Pertumbuhan Mikroba**

Jumlah sel hidup dihitung dengan metode total plate count, jumlah koloni dianggap setara dengan jumlah sel.

$$\text{Jumlah sel yang hidup (cfu)} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{pengenceran}} \text{ cfu}$$