

## **BAB III**

### **METODOLOGI**

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

##### **3.1.1 Tempat penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sumatera Utara di Jln. Bioteknologi No.1 Padang Bulan Kec. Medan Baru, Kota Medan Sumatera Utara 20115. Untuk perlakuan bioremediasi dan inkubasi khamir dan di laboratorium kimia BTKLPP di Jl. K.H. Wahid Hasyim No.15, Merdeka, Kec. Medan Baru, Kota Medan, Sumatera Utara 20153 untuk pengujian kadar Amonia pada air..

#### **3.2 Bahan dan Alat yang digunakan dalam penelitian**

##### **3.2.1 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Saccharomyces cerevisiae*, Ekoenzim, air kolam ikan lele (air sampel), aquadest, Nacl, nutrien broth, nessel, media PDA, media PBD, Lactophenol blue.

##### **3.2.2 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : auoklaf, bunsen, alumunium foil, cuvet, stirer , pipet tetes, tisu, termometer,ph meter,timbangan digital, elemeyer, gelas ukur, botol aquadest, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spektrofotometer uv-vis, alat tulis, camera, hot plate, plastik wrap, oven, cawan petri, objek glass, jarum ose, cover glass, mikroskop

#### **3.3 Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental. Dimana penelitian ini merupakan suatu set tindakan dan pengamatan, yang dilakukan untuk mengecek atau mengenali hubungan sebab akibat antara gejala yang terjadi, seperti penuruna amonia dengan menggunakan ekoenzim dan *Saccharomyces cerevisia*

### 3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan sebanyak 4 (Empat) kali, dan ulangan sebanyak 3 (Tiga) kali.

Perlakuan P0 (K) : tanpa pemberian perlakuan (kontrol)

Perlakuan P2 (S) : penambahan *Saccharomyces cerevisiae*

Perlakuan P3 (E) : penambahan Ekoenzim

Perlakuan P4 (KM) : penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan Ekoenzim

### 3.5 Cara Kerja

Penelitian yang dilakukan ini terdiri dari beberapa tahapan antara lain sterilisasi alat, pembuatan ekoenzim, cara pengambilan sampel, pembuatan media PDA (*Potato Dextrose Agar*), pembuatan media PDB (*Potato Dextrose Broth*), pewarnaan jamur, subkultur jamur, membuat larutan uji, uji kemampuan bioremediasi.

#### 3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat seperti pipet tetes, gelas ukur, dan elemeyer. Yang selanjutnya dimasukkan ke dalam autoklaf untuk dilakukan sterilisasi dengan waktu 30 menit pada suhu 121°C dalam tekanan 1 atm.

#### 3.5.2 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dengan cara mengambil air kolam ikan lele yang ada di kolam yang mengandung ammonia yang tinggi, lalu dipindahkan ke elemeyer yang sudah disiapkan sebelumnya.

#### 3.5.3 Pembuatan Ekoenzim

Melakukan persiapan alat dan bahan yang akan digunakan untuk pembuatan ekoenzim seperti : sampah kulit jeruk, molase, air, pisau yang digunakan untuk memotong kulit jeruk agar lebih mudah dimasukkan ke dalam botol yang akan

digunakan sebagai tempat tempat ekoenzim, timbangan yang digunakan untuk mengukur berat masing masing bahan yang akan digunakan agar sesuai takaran. Gunakan perbandingan 10 : 3 : 1 yaitu 10 untuk air, 3 untuk limbah kulit jeruk dan 1 untuk gula lalu aduk seluruh bahan, kemudian tutup rapat, biarkan selama 3 ( tiga) bulan dan letakkan pada tempat dengan sirkulasi udara yang baik dan tidak terkena sinar matahari langsung (Septiani *et al.*, 2021).

#### **3.5.4 Membuat Media PDA (*Potato Dextrose Agar*)**

Media PDA ditimbang sebanyak 7,8 gram lalu dimasukkan kedalam erlenmeyer. Kemudian, ditambahkan akuades sebanyak 200 ml. Setelah itu, erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil lalu dibalut dengan plastik wrap. Kemudian, di homogenkan menggunakan stirrer lalu di panaskan diatas hot plate. Sesudah larutan rata, dimasukkan larutan tersebut kedalam autoklaf dengan suhu 121°C selama  $\pm 15$  menit. Setelah proses di autoklaf selesai, ditunggu larutan tersebut menjadi suhu 50°C. Kemudian, dituang larutan PDA tersebut ke dalam cawan petri sebanyak 25 ml. Lalu di sterilisasi cawan petri tersebut kedalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Jika PDA sudah memadat, Media PDA siap digunakan untuk pertumbuhan Jamur (Hera *et al.*, 2018).

#### **3.5.5 Membuat Media PDB (*Potato Dextrose Broth*)**

Media PDB ditimbang sebanyak 15,6 gram lalu dimasukkan kedalam erlenmeyer. Kemudian, ditambahkan akuades sebanyak 400 ml. Setelah itu, erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil lalu dibalut dengan plastik wrap. Kemudian, di homogenkan menggunakan stirrer lalu di panaskan diatas hot plate. Sesudah larutan rata, dimasukkan larutan tersebut kedalam autoklaf dengan suhu 121°C selama  $\pm 15$  menit (Irawati, 2021).

#### **3.5.6 Pewarnaan Jamur**

Dimasukkan objek glass kedalam cawan petri, lalu ditutup. Lalu spatula disterilkan menggunakan alkohol 70%, kemudian diambil media PDA yang sudah dipotong dadu kecil lalu diletakkan diatas objek glass. Kemudian disterilkan jarum ose terlebih dahulu, lalu diambil isolat *Saccharomyces Cerevisiae* menggunakan

jarum ose. Lalu ditaburkan diatas potongan dadu media PDA yang berada diatas objek glass. Setelah itu, sampel ditutup dengan cover glass, lalu di inkubasi selama 2 hari. Setelah 2 hari, diteteskan Lactophenol blue sebanyak 1 tetes diatas objek glass yang lain. Dipisahkan cover glass dari media PDA yang sudah ditumbuhi *Saccharomyces Cerevisiae*. lalu diletakkan diatas objek glass yang sudah ditetesi Lactophenol blue. Lalu diamati morfologi *Saccharomyces Cerevisiae* dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x (Wachid & Mutia, 2019).

### **3.5.7 Subkultur Jamur *Saccharomyces Cerevisiae***

Disterilkan tangan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. Jarum ose disterilkan menggunakan alkohol 70% lalu dibakar menggunakan bunsen. Lalu, diambil isolat *Saccharomyces Cerevisiae*. menggunakan jarum ose yang sudah steril. Lalu dimasukkan kedalam media PDA yang sudah padat tepat dibagian tengah-tengah cawan petri. Lalu dibalut menggunakan plastik wrap dan di inkubasi selama 7 hari dengan suhu 25°-30° C.

### **3.5.8 Membuat Larutan Uji**

Dipanaskan spatula menggunakan api bunsen. Kemudian, diambil potongan isolat. sebanyak 1 kotak menggunakan spatula secara aseptik dari media PDA. Kemudian diinokulasikan 200 ml media cair PDB, setelah itu dihomogenkan.

## **3.6 Uji Kemampuan Bioremediasi Air Kolam Ikan Lele**

### **3.6.1 Tabel perlakuan**

Penelitian ini dilakukan dengan penambahan *Saccharomyces Cerevisiae* dan ekoenzim yang bertujuan untuk menurunkan kadar amonia pada air kolam ikan lele. Ada empat perlakuan yang akan dilakuakn pada bioremediasi air ini yaitu tanpa pemberian apapun sebagai kontrol, dengan penambahan *Saccharomyces Cerevisiae*, dengan penambahan ekoenzim dan terakhir dengan ditambahkan keduanya.

Tabel 3.1 Tabel perlakuan

Air limbah	Suspensi	Ekoenzim
P0 (500ml)	0	0
P1 (500ml)	0,75	0
P3 (500ml)	0	0,75
P4 (500ml)	0,5	0,25

### 3.6.2 Pengujian Bioremediasi Air Kolam Ikan Lele

Uji kemampuan bioremediasi dilakukan dengan pengukuran awal amonia yang terkandung dalam air sampel yang akan digunakan, pada elemeyer pertama dimasukan 500ml air kolam ikan lele sebagai media kontrol, lalu pada elemeyer kedua di berikan 500 ml air kolam ikan lele dan akan dimasukakan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 0,75 ml/ kedalamnya, lalu pada elemeyer ketiga air kolam yang sudah ada di didalamnya diberikan ekoenzim (0,75 ml), dan pada elemeyer keempat yang sudah terisi air kolam ikan lele di berikan *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 0,5 ml dan ekoenzim sebanyak (0,25 ml) didalamnya. Pada hari ke 0,2,4,6,8 dan dengan 3 kali ulangan. Penggunaan konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* dan ekoenzim dengan perbandingan 2:1 supaya jamur dapat berkembang dengan baik, dimana ekoenzim dapat menghambat pertumbuhan jamur, maka konsentrasi ekoenzim lebih sedikit dibandingkan suspensi. Hal itu dilakukan agar keduanya dapat bekerja secara maksimal dalam mereduksi amonia. Hal itu sesuai dengan penelitian Welfalini *et all* (2023), bahwa ekoenzim dibawah 50% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri/jamur karena pengurangan zat aktif yang terlarut pada konsentrasi tersebut sehingga aktivitas antimikroba semakin berkurang dengan semakin kecilnya konsentrasi bahan yang diuji (Welfalini *et all.*, 2023).

### 3.6.3 Pengukuran Ammonia

Diambil 10ml sampel lalu ditambahkan regen  $\text{NH}_4/1$  sebanyak 1,2 ml + 2ms  $\text{NH}_4/2$  kemudian homogenkan dan diamkan selama 5 menit, kemudian

ditambahkan 8 tetes reagen  $\text{NH}_4/\text{H}_3$  lalu homogenkan dan diamkan selama 5 menit kemudian di masukan ke cuvet dan baca dengan menggunakan Spektrofotometer. Jika warna terlalu pekat sehingga tidak terbaca aka di lakukan pengenceran dengan cara diambil air sampel 1ml lalu di tambah aquades 9 ml kemudian tambahkan reagen seperti prosedur sebelumnya (PMK No.68 tahun 2016).

#### 3.6.4 Pengukuran Suhu

Suhu pada air kolam ikan lele berkisar antara  $23^\circ\text{C}$  -  $30^\circ\text{C}$ . dengan cara pengukuran yaitu menggunakan thermometer yang di letakkan didalam air (Imaduddin & Saprizal, 2017).

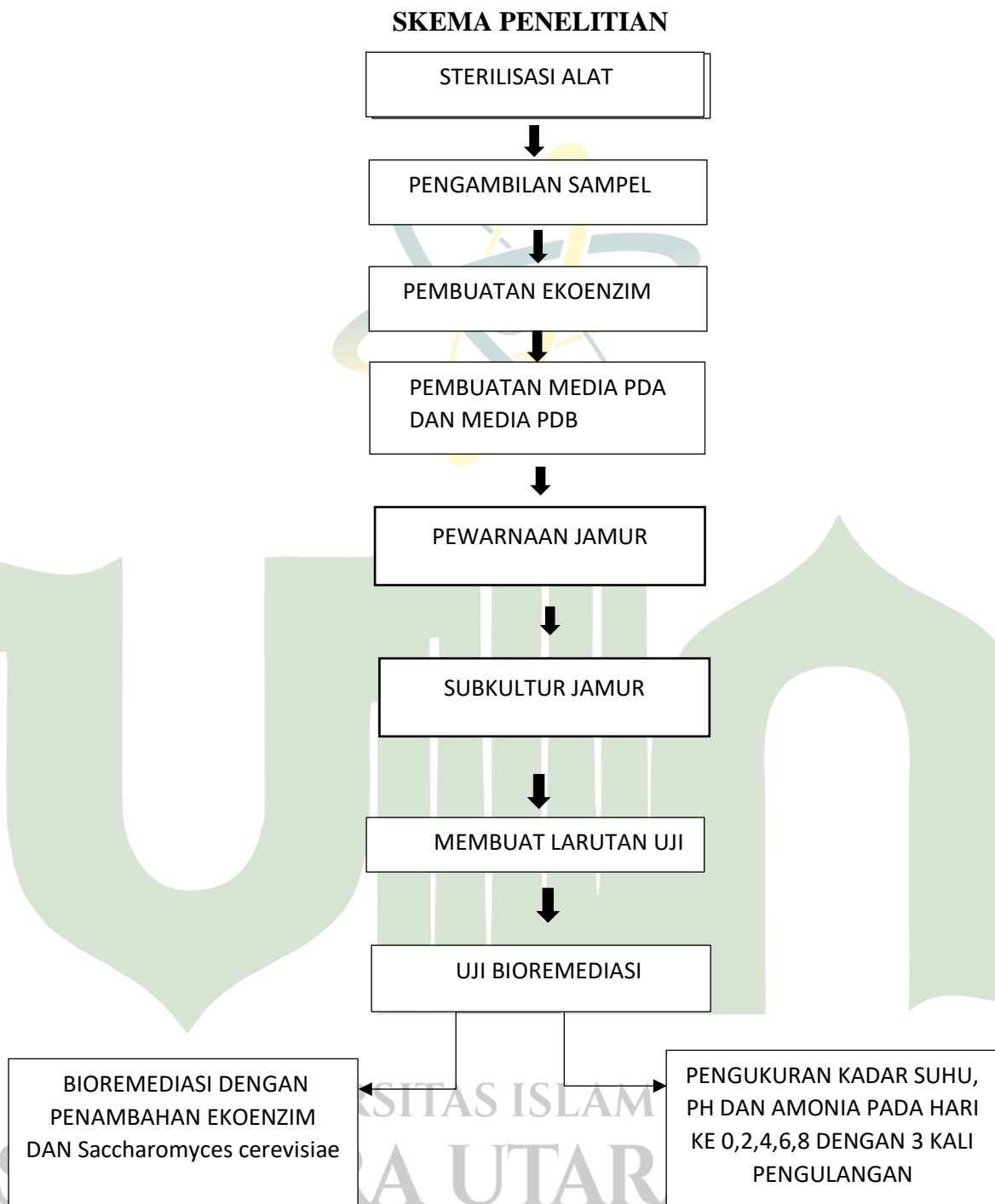
#### 3.6.5 Pengukuran PH

Cara pengukuran kadar ph air menggunakan alat yaitu ph meter yang dicelupkan kedalam air beberapa detik (Tamam, 2022).

#### 3.6.6 Data Kehilangan Jumlah Ammonia

Sampel air kolam yang sudah dilakukan pengujian selanjutnya diukur pengurangan zat amonia. Penentuan pengurangan amonia yaitu berdasarkan kepada pengukuran sebelumnya yang dilakukan atau berdasarkan air kolam yang belum diberikan apapun atau jumlah (data) sebelum dikurang jumlah (data) setelah diberikan Ekoenzim dan *Saccharomyces cerevisiae*

### 3.7 Skema Penelitian



### 3.4 Analisis data

Penelitian menggunakan metode analisis data secara deskriptif, kualitatif. Analisis data bersifat induktif yaitu salah satu analisis berdasarkan data yang akan di peroleh, selanjutnya dikembangkan menjadi hipotesis. Pada penelitian ini dijelaskan secara deskriptif. Kemudian diuji kemampuan bioremediasinya meliputi persentasi kehilangan ammonia dengan pengamatan pada 0,2,4,6,8 hari dan 3 kali pengulangan.



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
SUMATERA UTARA MEDAN