

## BAB 3

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### 3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada Desember 2016 sampai April 2017, pengambilan sampel isolat fungi di lokasi perairan rawa lebak Ogan Ilir tepatnya di desa Sejaro Sakti, Lebung Karang, Ogan Ilir dan Kolam Budidaya (air yang digunakan dari rawa sekitar kolam) Desa Tanjung Senai, Ogan Ilir sedangkan sampel air rawa tercemar bahan organik di Way Hitam, Bukit Lama, Ilir Barat I, Palembang, dan untuk isolasi di Laboraturium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas MIPA dan Laboratorium Dasar Perikanan dan laboratorium Budidaya Perairan, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.

#### 3.2. Bahan dan Metoda

Bahan dan metoda yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian ini:

##### 3.2.1. Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan dalam melaksanakan penelitian ini disajikan dalam Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Bahan dan alat yang akan digunakan dalam penelitian

No.	Nama Bahan	Spesifikasi
1.	Alkohol	70 %
2.	Aquades	-
3.	CMC (Carboxymethyl cellulose)	1 %
4.	Kapas	-
5.	Olive oil	2,5 %
6.	PDA ( <i>Potato Dextrose Agar</i> )	2 %
7.	PDB ( <i>Potato Dextrose Broth</i> )	24 g.L <sup>-1</sup> (Lampiran 9)
8.	Reagen ammonia	MnSO <sub>4</sub> Chlorox Phenate
9.	Rhodamin B	0,002 %
10.	Susu skim	3 %
11.	Tetracycline	40 mg.L <sup>-1</sup>

Lanjutan Tabel 3.1

No.	Nama Alat	Spesifikasi
1.	Autoklaf	(121 <sup>0</sup> C, 15 lbs) maksimal 15 menit
2.	Batang penyebar	Terbuat dari kaca
3.	Bunsen	Berbahan bakar spirtus
4.	Cawan petri	Berdiameter 15 cm
5.	DO meter	Ketelitian 0,001 mg.L <sup>-1</sup>
6.	Erlenmeyer	Volume 500 mL
7.	Gelas ukur	Volume 50 mL, Volume 250 mL, Volume 100 mL, Volume 250 mL, Volume 500 mL
8.	Hotplate	Suhu maksimal 100 °C
9.	Jarum ose	Tersusun dari gagang porselain/ kaca dan jarum kawat
10.	Laminar air flow	Memiliki pre-filter berpori 5 mm dan HEPA filter berpori 0,3 mm
11.	Lemari es	-
12.	Magnetic stirrer	-
13.	Mikropipet	1000 µl
14.	Mikroskop	-
15.	pH meter	Ketelitian 0,1 unit pH
16.	Spatula	-
17.	<i>Shaker</i>	-
18.	Timbangan ohaus	Ketelitian 0,0001 g
19.	Termometer	Ketelitian 0,01 <sup>0</sup> C
20.	TDS meter	Ketelitian 0,01 mg.L <sup>-1</sup>
21.	Tabung duran	Volume 500 mL
22.	Tabung reaksi	Volume 10 mL

### 3.2.2. Metoda Penelitian

#### 3.2.2.1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan sebagai sumber isolat dan sampel air rawa tercemar bahan organik diambil dengan cara metode *Cluster Random Sampling* (Sugiyono, 2010). Pengambilan sampel dilakukan di desa Lebung Karang, Kabupaten Ogan Ilir, Indralaya. Sampel yang diambil ialah sampel air, dan sampel sedimen. Setelah sampel diambil, disimpan di *coolbox* dengan ditambahkan *gel ice*. Sementara sampel air rawa yang tercemar bahan organik diambil di perairan organik di Way Hitam, Bukit Lama, Ilir Barat I, Palembang. Sampel air digunakan untuk analisa kualitas air dan isolasi fungi. Sampel air dianalisis untuk parameter suhu, pH, DO, TDS, dan amonia.

### 3.2.2.2. Pembuatan Media Agar

PDA (*Potato Dextrose Agar*) ditimbang sebanyak 2 gram untuk akuades sebanyak 400 mL. PDA dan akuades dihomogenkan dengan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* yang dipanaskan di atas *hot plate*. Larutan PDA dituang ke dalam cawan petri dengan permukaan tipis.

### 3.2.2.3 Isolasi dan Seleksi Fungi

Isolasi dilakukan dengan mengambil sampel air dan sedimen rawa dari Sumatera Selatan secara aseptik. Sampel sedimen sebanyak 1 mL dicampurkan dengan NaCl fisiologis sebanyak 9 mL, kemudian dilakukan pengenceran hingga  $10^{-5}$ . Pada masing-masing pengenceran diambil menggunakan mikropipet sebanyak 100  $\mu$ l dan disebar ke permukaan cawan petri yang berisi media PDA + Olive Oil sebanyak 2,5 % + tetracycline 40 mg.L<sup>-1</sup>, PDA + susu skim sebanyak 3 %, dan PDA + CMC sebanyak 1 % dan diinkubasi pada suhu 27 – 30 °C selama 3-5 hari. Koloni fungi yang tumbuh diamati dan dihitung jumlah koloninya setiap hari mulai dari hari ke-1 hingga hari ke-5 (Pangestu, 2009).

### 3.2.2.4. Perbanyak Isolat Fungi

Isolat fungi diperbanyak dengan memindahkan koloni tunggal hasil pemurnian ke dalam medium PDA miring. Isolat fungi selanjutnya dibagi menjadi 2 yaitu disimpan sebagai stok dan digunakan untuk uji ke air rawa tercemar bahan organik. Isolat yang digunakan sebagai stok disimpan pada suhu 10 °C sedangkan isolat untuk uji disimpan pada suhu 27-30 °C (Pangestu, 2009). Isolat untuk uji diperbanyak dalam media cair yaitu dengan menggunakan media PDB (*Potato Dextrose Broth*) (Modifikasi Haryo dan Saskiawan, 2013). Isolat fungi sebanyak 100 mL dalam media cair diperbanyak untuk menjadi starter remediator air rawa tercemar bahan organik. Pengamatan dilakukan setelah 14 hari pemeliharaan.

### 3.2.2.5. Uji Kemampuan Isolat Fungi

Tahapan ini dilakukan dengan mengujikan isolat fungi sebanyak 1 gram ke dalam tabung reaksi berisi air rawa tercemar bahan organik yang sudah di *autoklaf* dan didinginkan sebanyak 9 mL yang dilakukan tiga kali ulangan. Kontrol yang digunakan adalah air rawa tercemar bahan organik tanpa penambahan isolat.

Parameter yang diamati adalah kepadatan maksimal fungi ( $\text{g.L}^{-1}$ ) dan laju pertumbuhan spesifik fungi ( $\%.\text{hari}^{-1}$ ). Parameter kualitas air suhu dan pH diukur pada awal sampling air tercemar bahan organik dan akhir pengujian isolat. TDS (*total dissolved solids*) dan ammonia diukur pada awal sampling air tercemar bahan organik, awal dan akhir pengujian isolat.

### 3.4. Analisa Data

#### 3.4.1. Kepadatan Maksimal Fungi

Kepadatan maksimal fungi diukur berdasarkan berat kering dari biomassa yang dioven sebanyak 1 mL setiap hari selama 5 hari. Berat kering biomassa sel ( $\text{g.L}^{-1}$ ) yang tertinggi menjadi nilai kepadatan maksimal sel.

#### 3.4.2 Laju Pertumbuhan Spesifik Fungi

Laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan menggunakan persamaan yang dikembangkan oleh Becker (1994) sebagai berikut :

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{\Delta t} \times 100\%$$

Keterangan :

- $\mu$  = Laju pertumbuhan spesifik ( $\%.\text{hari}^{-1}$ )
- $N_t$  = Kepadatan tertinggi selama kultur ( $\text{g.L}^{-1}$ )
- $N_0$  = Kepadatan awal kultur ( $\text{g.L}^{-1}$ )
- $t$  = Waktu yang diperlukan untuk mencapai kepadatan tertinggi (hari)

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data kualitas air yang meliputi suhu, pH, TDS, amonia yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

#### 3.4.3. Kualitas Air

Pengambilan sampel kualitas air meliputi pH, oksigen terlarut, amonia, dan suhu dilakukan pada 3 titik di setiap lokasi pengambilan sampel air dan sedimen. Parameter pH diukur menggunakan pH meter, oksigen terlarut ( $\text{mg.L}^{-1}$ )

menggunakan DO meter, amonia menggunakan spektrofotometer, dan suhu ( $^{\circ}\text{C}$ ) diukur menggunakan termometer. Pengukuran dilakukan pada saat sampling (lapangan) dan saat tahap aplikasi pada air rawa tercemar bahan organik. Pengamatan parameter kimia saat uji Fungi pada air rawa yang telah diberi isolat fungi dilakukan pada awal dan akhir.