

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Metode deskriptif merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mendeskripsikan atau menggambarkan peristiwa yang sedang berlangsung sebagaimana mestinya pada saat penelitian berlangsung. Tujuan dari penelitian deskriptif ini adalah untuk membuat deskripsi, gambaran, atau lukisan secara sistematis, faktual dan akurat mengenai fakta-fakta, sifat-sifat serta hubungan antar fenomena yang diselidiki (Sudjana, 2004).

1.2 Waktu Penelitian dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan bulan April 2020 di Laboratorium Riset Biologi Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia di Jalan Dr. Setiabudi No. 299 Bandung. Pengambilan sampel jerami padi dilakukan di Desa Cipulus, Kecamatan Ngamprah, Kabupaten Bandung Barat.

1.3 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat dan bahan yang terdapat di Laboratorium Riset Bioteknologi. Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pendidikan Indonesia yang terdapat pada Lampiran 1.

1.4 Prosedur Penelitian

Terdapat beberapa tahap yang dilakukan dalam penelitian untuk mencapai hasil yang diinginkan. Tahap pertama yang dilakukan adalah isolasi jamur dari jerami padi (*Oryza sativa* L.), setelah itu dibuat biakan campuran dan dipilih koloni jamur yang berbeda dari setiap pengulangan. Tahap kedua seleksi jamur selulolitik dilakukan menggunakan medium CMC agar dan dipilih dua jamur terbaik berdasarkan indeks selulolitik terbesar, dilakukan identifikasi secara morfologi makroskopis dan mikroskopis dan merujuk pada buku *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi* karangan Tsuneo Watanabe. Tahap ketiga dilakukan kajian teoritis mengenai optimasi produksi enzim selulase dan pre-treatment serbuk jerami padi.

1.4.1 Tahap Persiapan

Tahap ini meliputi persiapan alat dan bahan yang selanjutnya dilakukan proses sterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan autoclave selama 20 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 Psi sebelum digunakan dalam proses penelitian (Shahid *et al.*, 2016). Kegiatan ini bertujuan untuk menjaga supaya kegiatan penelitian dilakukan secara aseptik dan mencegah terjadinya kontaminasi dari mikroorganisme lain. Pembuatan reagen dan media yang digunakan dalam penelitian ini tercantum pada Lampiran 2. Kegiatan ini dilakukan di dalam Laboratorium Riset Biologi, Universitas Pendidikan Indonesia.

1.4.2 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel jerami padi dilakukan pada lokasi yang telah ditentukan, yaitu dengan mengambil 5 macam sampel jerami padi dari 5 titik yang berbeda diambil secara random dan dimasukkan ke dalam wadah steril yang ditutup dengan rapat. Setelah itu sampel dibawa ke laboratorium dan ditimbang hingga mencapai berat total yaitu 10 g dan dimasukkan ke dalam blender dengan blender yang sudah steril supaya homogen untuk selanjutnya dilakukan isolasi jamur pada sampel jerami padi tersebut (Sari, 2017).

1.4.3 Isolasi Jamur

Dalam melakukan isolasi jamur, dilakukan pengenceran bertingkat sebanyak lima kali. Jerami padi ditimbang sebanyak 10 g, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 250 ml yang kemudian ditambahkan 90 ml larutan garam fisiologis steril (0,85% NaCl). Suspensi tanah yang telah dihomogenkan diambil 1 ml dengan menggunakan pipet ukur steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah mengandung 9 ml NaCl 0,85% steril. Sehingga didapatkan suspensi dengan tingkat pengenceran 10^{-2} . Seterusnya dilakukan pengenceran dengan cara yang sama sehingga diperoleh suspensi 10^{-5} . Selanjutnya suspensi-suspensi tersebut disebar dalam medium *Carboxymethyl cellulose* (CMC) agar yang telah dicampur *Chloramphenicol*. *Chloramphenicol* merupakan salah satu zat anti bakteri yang mampu menekan bahkan mencegah pertumbuhan bakteri. Biakan selanjutnya diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu 35°C.

Jamur yang sudah tumbuh pada media CMC agar dipindahkan pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) miring untuk mendapatkan isolat jamur biakan murni (Berliani, 2019).

Tabel 3.1 Format Hasil pengamatan morfologi jamur

Isolat	Bentuk	Warna	Tekstur

1.4.4 Seleksi Jamur Selulolitik pada Media CMC agar

Isolat jamur murni yang sudah tumbuh pada media agar miring PDA, akan dilakukan seleksi jamur selulolitik menggunakan media CMC pada cawan petri. Media CMC agar (per 1 L akuades) dibuat dengan mencampurkan urea 0,3 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,4 g, KH_2PO_4 2,0 g, CaCl_2 0,3 g, MgSO_4 0,3 g, *yeast extract* 0,25 g, *peptone* 0,75 g, CMC 10 g, dan agar 17,7 g (Khokhar *et al.*, 2012). Setelah diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C, kemudian diwarnai dengan *Congo Red* 1% dan ditunggu selama 30 menit kemudian dibilas dengan larutan 1 M NaCl (Theater & Wood, 1982). Indikasi positif dilihat dari adanya daerah bening di sekitar koloni. Nilai Indeks Selulolitik (IS) dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{IS} = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter koloni jamur}}{\text{Diameter koloni jamur}}$$

(Sinaga, 2013).

Tabel 3.2 Format hasil uji aktivitas selulolitik menggunakan media CMC

Isolat	Diameter Koloni (cm)	Diameter Zona Bening (cm)	Indeks Selulolitik (cm)	Keterangan

1.4.5 Karakterisasi Isolat Jamur Selulolitik

Karakterisasi isolat jamur dilakukan dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Untuk pengamatan secara makroskopis yaitu pengamatan terhadap

bentuk, warna dan koloni jamur. Sedangkan untuk pengamatan secara mikroskopis meliputi pengamatan terhadap bentuk hifa, spora aseksual, dan sebagainya yang dilakukan dengan membuat sediaan mikroskopis jamur. Ciri-ciri setiap isolat dibandingkan berdasarkan kunci determinasi pada *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Second Edition* (Tsuneo Watanabe, 2002).

Tabel 3.3 Format hasil karakterisasi isolat jamur selulolitik

Isolat	Koloni		Hifa	Struktur konidia/spora	Klasifikasi	Dokumentasi
	Bentuk	Warna				

Masing-masing isolat yang dibuat dalam sediaan mikroskopik diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan 1000x dan dilakukan pengambilan gambar dari masing-masing isolat.

1.4.6 Studi Pustaka Optimasi Produksi Enzim Selulase

Studi literatur yaitu mencari dengan mengumpulkan bahan yang berhubungan dengan masalah yang diteliti untuk memperoleh data sekunder dengan cara membaca, mempelajari, dan mendalami literatur-literatur yang berhubungan dengan masalah pada penelitian ini yaitu mengenai optimasi produksi enzim selulase. Penelitian kepustakaan adalah penelitian yang dilakukan hanya berdasarkan atas karya tertulis, termasuk hasil penelitian baik yang telah maupun yang belum dipublikasikan (Embun, 2012). Meskipun merupakan sebuah penelitian, penelitian dengan studi literatur tidak harus turun ke lapangan dan bertemu dengan responden. Data-data yang dibutuhkan dalam penelitian dapat diperoleh dari sumber pustaka atau dokumen. Menurut (Zed, 2014), pada riset pustaka (library research), penelusuran pustaka tidak hanya untuk langkah awal menyiapkan kerangka penelitian (research design) akan tetapi sekaligus memanfaatkan sumber-sumber perpustakaan untuk memperoleh data penelitian.

Sumber data dikumpulkan oleh peneliti dengan instrumen pencari secara online menggunakan Google, Google scholar, NCBI, dan Library Genesis. Penelusuran lebih lanjut dilakukan secara manual pada daftar pustaka yang relevan. Pencarian menghasilkan 5 jurnal utama yang digunakan, yaitu:

- a. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* dengan Substrat Jerami Padi (Elivisofi, 2014).
- b. Studi Pembuatan Enzim Selulase dari Mikrofungi *Trichoderma reesei* dengan Substrat Jerami Padi Sebagai Katalis Hidrolisis Enzimatik Pada Produk Bioetanol (Argo *et al.*, 2013)
- c. *Production and Optimization of Cellulase from Penicillium sp. Using Corn-cob and Pawpaw fibre as Substrates* (Ire *et al.*, 2018)
- d. *Optimization of Cellulase Production by Penicillium sp.* (Reddy *et al.*, 2016)
- e. Enhance Production of fungal cellulase cocktail using cellulosic waste (Gupta, 2020).

Kelima sumber data yang digunakan sebagai artikel utama untuk dilakukan kajian pustaka memiliki kriteria sebagai berikut:

- a. Metode pada artikel menggunakan metode CMC-ase
- b. Hasil penelitian pada artikel berupa pengaruh variasi suhu dan pH jamur selulolitik terhadap nilai aktivitas enzim.

Tabel 3.4 Format hasil studi pustaka pH dan suhu optimum

Jenis	Suhu Optimum	pH Optimum	Nilai Aktivitas Enzim (IU/mL)	Referensi

1.5 Analisis Data

Data hasil penelitian kemudian dideskripsikan berdasarkan karakteristik yang teramati dan dilakukan analisis dengan hasil kajian teoritis yang kemudian dilakukan studi literatur mengenai optimasi produksi enzim selulase dengan isolat jamur selulolitik yang berpotensi sebagai penghasil enzim selulase tertinggi .

3.7 Alur Penelitian

Berdasarkan uraian prosedur penelitian diatas, berikut ini adalah bagan alur penelitian yang dilakukan:

