

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Jenis metode penelitian yang dilakukan pada skripsi ini adalah penelitian deskriptif dengan mengisolasi, mengidentifikasi, mengamati resistensi jamur rhizosfer serta menghitung akumulasi penyerapan logam krom oleh jamur yang resisten terhadap logam krom. Metode deskriptif adalah metode yang umumnya digunakan untuk mencari unsur, ciri-ciri, dan sifat-sifat suatu fenomena dengan cara mendeskripsikan temuan tersebut. Metode deskriptif ini dimulai dengan mengumpulkan data, mengolah data tersebut dan kemudian mendeskripsikannya. Metode deskriptif dalam pelaksanaan penelitian biasanya dilakukan dengan teknik survey, studi kasus, studi komparatif, studi tentang waktu dan gerak, analisis tingkah laku, dan analisis dokumenter (Suryana, 2010).

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah jamur hasil isolasi dari area rhizosfer di Sukaregang, Kabupaten Garut dengan titik koordinat $-7.225841, 107.916940$ (Gambar 3.1) yang diketahui memiliki potensi dalam meremediasi logam krom. Penentuan tanaman yang akan dipilih sebagai area rhizosfer dilakukan dengan cara menghitung jumlah jenis-jenis tanaman yang ditemukan plot atau petak yang telah ditentukan dan dipilih jenis tanaman yang memiliki jumlah paling banyak. Teknik yang digunakan dalam pengambilan sampel tanah untuk pengukuran kandungan atau kadar logam krom adalah purposive sampling. Purposive sampling yaitu teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu seperti sifat-sifat populasi ataupun ciri-ciri yang sudah diketahui sebelumnya (Sugiyono, 2016). Tanah diambil dari area rhizosfer tanaman yang frekuensinya banyak ditemukan di sekitar daerah yang tercemar logam krom. Sampel dalam penelitian ini adalah jamur yang teridentifikasi dan resisten hasil uji resistensi pada medium kultur *in vitro* yang ditambah logam krom.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Februari - Juli tahun 2022 di Laboratorium Riset jurusan Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Uji *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS) dilakukan di Laboratorium Pengujian Kualitas Lingkungan BINALAB, Bandung dan di Laboratorium Kesehatan Provinsi Jawa Barat.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan Bahan yang digunakan pada penelitian ini merupakan alat dan bahan yang terdapat di Laboratorium Riset Lingkungan Departemen Pendidikan Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia yang terlampir pada Tabel.1 dan Tabel.2 (Lampiran 1).

3.5 Prosedur Penelitian

Penelitian ini diadaptasi dari penelitian-penelitian pendahulu mengenai bioremediasi logam krom. Penelitian ini merupakan penelitian yang dimodifikasi dari artikel "*Bioremediation of tannery wastewater by chromium resistant novel fungal consortium*".

3.5.1 Tahap Persiapan

Alat dan bahan yang akan digunakan disterilkan dengan cara alat tersebut dibungkus dengan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Bahan yang akan digunakan dimasukkan ke wadah kaca lalu selanjutnya dibungkus dengan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik. Sterilisasi dilakukan dengan memasukkan alat dan bahan yang sudah dibungkus ke dalam autoklaf selama 15-20 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm (Adji *et al.*, 2007).

Survey lokasi dilakukan untuk meninjau keadaan lokasi pengambilan sampel dalam keadaan baik dan mendapat izin dilakukannya pengambilan sampel pada area rhizosfer tanaman di samping bak penampungan air limbah di Jl. Sudirman Sukaregang, Kabupaten garut (Lampiran 2).

Irna Riski Kardila, 2022

ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN SELEKSI JAMUR YANG BERPOTENSI SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI LOGAM KROM PADA KULTUR JAMUR SECARA IN VITRO

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.5.2 Tahap Penelitian

Pada tahap penelitian ini dilakukan pengambilan sampel, pembuatan media, analisis kandungan logam krom pada tanah rhizosfer, isolasi jamur rhizosfer, pembuatan biakan murni jamur rhizosfer, uji resistensi jamur rhizosfer serta pengujian penyerapan kandungan dan kadar logam krom.

3.5.2.1 Pengambilan Sampel

Lokasi pengambilan sampel penelitian terletak di Jl. Jendral Sudirman, Kabupaten Garut (Gambar 3.1) dan titik pengambilan sampel ditentukan dengan menggunakan sistem plot yaitu terdapat 3 plot yang digunakan dengan kuadran minimum ukuran 1x1 m untuk tanaman herba (Gambar 3.2). Semua jenis dan jumlah tumbuhan yang ditemukan pada area tersebut didokumentasikan dan dicatat (Lampiran 2). Untuk mengetahui penyebaran tumbuhan herba pada lokasi pengambilan sampel maka dilakukan data analisis vegetasi (Pertiwi et al., 2019). Kemudian menghitung tiap jenis tanaman yang berada di ketiga titik tersebut dengan di hitung Index Nilai Penting (INP) untuk melihat tanaman mana yang dominan tumbuh di lingkungan tersebut. Cara menghitung INP yaitu :

INP = KR + FR (Soerianegara & Indrawan, 2002):

Keterangan :

INP : indeks nilai penting

KR : kerapatan relatif

FR : frekuensi relatif

$$KR = \frac{KP}{\text{Jumlah Kerapatan Seluruh Jenis}} \times 100\%$$

$$KP = \frac{\text{Jumlah Individu Satu Jenis}}{\text{Jumlah Plot}}$$

$$FR = \frac{FK \text{ Suatu Jenis}}{FK \text{ Seluruh Jenis}} \times 100\%$$

$$FK = \frac{\text{Jumlah Plot yang Ditempati Suatu Jenis}}{\text{Jumlah Total Plot}}$$

Setelah didapatkan nilai frekuensi dan densitas (Lampiran 3), tanaman yang paling banyak ditemukan di sekitar bak penampungan limbah pabrik

Irna Riski Kardila, 2022

ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN SELEKSI JAMUR YANG BERPOTENSI SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI LOGAM KROM PADA KULTUR JAMUR SECARA IN VITRO

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

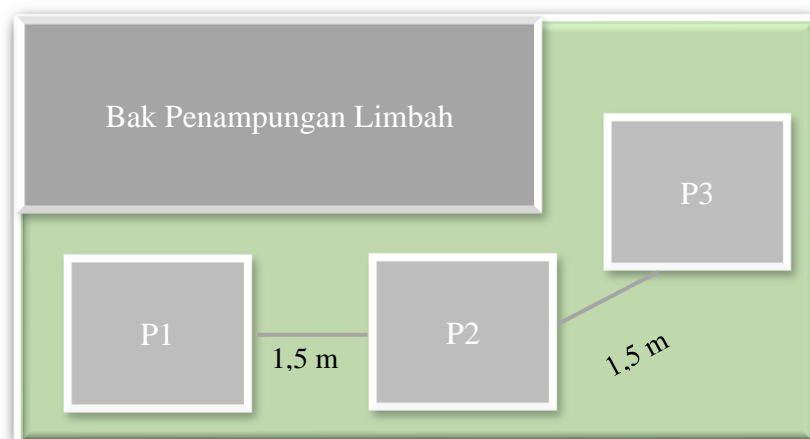
didokumentasikan dan selanjutnya akan diidentifikasi. Sampel tanah disekitar perakaran tanaman pada ketiga plot sedalam 10-15 cm sebanyak 100 gram (Sari et al., 2020). Diukur faktor abiotik tanah seperti pH dan suhu, tanah dimasukkan dalam plastik steril dengan menggunakan sekop dan diberi label lalu dibawa ke Laboratorium Riset Lingkungan Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.



Jl. Jendral Sudirman, Kota Wetan, Kecamatan Garut Kota, Kabupaten Garut

Titik Koordinat -7.225841, 107.916940

Gambar 3.1 Lokasi Pengambilan Sampel Tanah Rhizosfer
(Google Earth, 2022)



Gambar 3.2 Titik Pengambilan Sampel

Irna Riski Kardila, 2022

ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN SELEKSI JAMUR YANG BERPOTENSI SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI LOGAM KROM PADA KULTUR JAMUR SECARA IN VITRO

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.5.2.2 Pembuatan Media

Terdapat satu media yang digunakan pada proses inokulasi fungi yaitu :

1. Medium PDA

24 gram *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan 2% *Agar powder* dilarutkan dalam 1000 ml akuades dipanaskan dengan *hot plate and magnetic stirer* hingga homogen. Medium yang sudah dipanaskan dan dihomogenkan dituang ke dalam tabung reaksi atau cawan petri sesuai kebutuhan. Setelah itu medium disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15-20 menit.

2. Medium PDB

24 gram *Potato Dextrose Broth* (PDB) dilarutkan dalam 1000 ml akuades dipanaskan dengan *hot plate and magnetic stirer* hingga homogen. Medium yang sudah dipanaskan dan dihomogenkan dituang ke dalam tabung reaksi atau cawan petri sesuai kebutuhan. Setelah itu medium disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15-20 menit.

3.5.2.3 Analisis Kandungan Logam Krom dalam Tanah

Tanah yang telah diambil dari area rhizosfer tanaman pada setiap masing-masing plot dilakukan analisis kandungan logam krom total dalam tanah rhizosfer dilakukan dengan menggunakan alat *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS) dilakukan di Laboratorium Pengujian Kualitas Lingkungan BINALAB, Bandung (Lampiran 4).

3.5.2.4 Isolasi Jamur

Tanah yang telah dianalisis kandungan logam krom, sebanyak 1 gr tanah ditimbang dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades yang telah disterilkan sebagai pengenceran 10^{-1} . Lalu diambil 1 ml larutan tanah dari pengenceran 10^{-1} dan dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* untuk pengenceran 10^{-2} . Dilakukan perlakuan yang sama untuk pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} . Sampel pada pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6} diambil sebanyak 1 ml dan

dimasukkan pada medium PDA yang telah steril, diratakan lalu diinkubasi selama 48-168 jam pada suhu kamar atau 26°C-29°C (Ristiari *et al.*, 2018).

3.5.2.5 Pembuatan Biakan Murni Jamur

Jamur yang telah berhasil terisolasi kemudian diambil satu koloni tunggal yang tidak berdekatan dengan koloni jamur lain untuk menghindari adanya kontaminasi, lalu diinokulasikan ke dalam media PDA steril pada agar miring dan diinkubasi pada suhu kamar atau 26°C-29°C selama 48 jam (Purwantisari & Hastuti, 2009).

3.5.2.6 Identifikasi Jamur Rhizosfer

Identifikasi genus jamur yang berhasil diisolasi mengacu pada kunci determinasi buku identifikasi jamur yaitu *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species* (Watanabe, 2002), *Larone's Medically Important Fungi: A Guide to Identification* (Walsh *et al.*, 2018), dan jurnal-jurnal yang mendukung. Identifikasi isolat fungi dilakukan secara deskriptif dengan cara (Cappuccino & Welsh, 2020), yaitu mengamati penampakan secara makroskopis, ciri yang diamati adalah morfologi dan karakteristik koloni dan mengamati penampakan secara mikroskopis ciri yang diamati adalah tipe bentuk spora dan jenis sporangianya.

3.5.2.7 Seleksi Jamur Resisten Logam Krom

Isolat jamur yang berhasil dimurnikan dan tidak kontaminasi kemudian isolat tersebut dikultur dalam medium PDA steril dalam cawan petri yang telah diperkaya $K_2Cr_2O_7$ dengan konsentrasi sebesar 2000-3000 mg/kg. Isolat selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar atau 26°C-29°C selama 48-72 jam (Lampiran 5) (Amami & Imaningsih, 2019; Retno, *et al.*, 2012)

3.5.2.8 Uji Penyerapan Logam Krom oleh Isolat Jamur

Setelah dilakukan seleksi jamur yang resisten terhadap logam krom, uji penyerapan logam krom dilakukan di Laboratorium Kesehatan Provinsi Jawa Barat dengan metode SNI 06-6989 17-2004 menggunakan alat *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) (Lampiran 6). Metode tersebut digunakan untuk mengetahui kadar logam krom total atau Cr-T yang terdapat pada air serta air limbah dengan kisaran kadar Cr 0,2 mg/L hingga 5,0 mg/L dan panjang gelombang sebesar 357,9 nm (Badan Standarisasi Nasional, 2004).

3.5.2.9 Pengukuran Kandungan Logam Krom

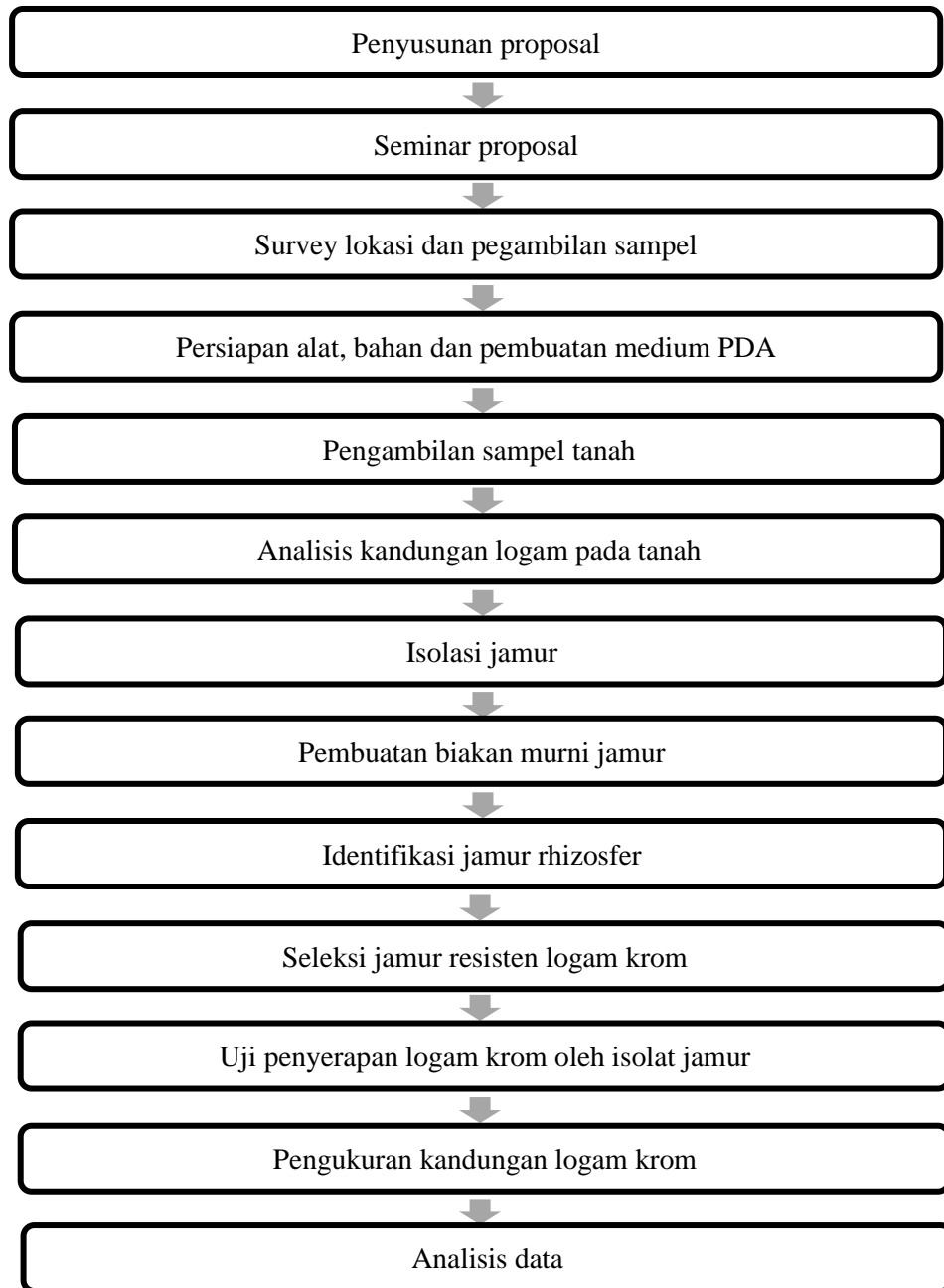
Setelah dilakukan uji penyerapan kandungan logam krom pada isolat jamur, pengukuran kandungan logam krom dilakukan dengan cara mengamati dan menghitung kandungan logam krom awal dan akhir pada isolat tunggal dan konsorsium jamur. Konsentrasi logam krom dalam media konsorsium jamur diukur dengan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (Joshi *et al.*, 2011). Persentasi bioakumulasi dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Bioakumulasi} = \frac{(\text{konsentrasi logam krom awal} - \text{konsentrasi logam krom akhir})}{\text{konsentrasi logam krom awal}} \times 100$$

3.5.2.10 Analisa Data

Dilakukan analisis data secara deskriptif dari hasil pengamatan morfologi secara makroskopis dan pengamatan secara mikroskopis untuk mengidentifikasi jenis fungi yang berpotensi sebagai agen bioremediasi tanah yang tercemar logam krom.

3.6 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Bagan Alur Penelitian