

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimen.

B. Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama yaitu pengujian kualitatif aktivitas degradasi selulolitik dari isolat jamur dan optimasi umur isolat jamur pada medium aktivasi berdasarkan kurva pertumbuhan. Tahap kedua yaitu percobaan untuk mengetahui pengaruh penambahan isolat jamur terhadap laju pengomposan sampah organik secara aerobik.

Desain penelitian yang digunakan pada tahap kedua yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menempatkan perlakuan secara acak terhadap unit percobaan (Nazir, 1988). Pengulangan pada Rancangan Acak Lengkap menurut Sugandi & Sugiarto (1994) didasarkan atas nilai derajat bebas galat (>20) dengan rumus: $t(r-1) \geq 20$.

Dimana : $t = \text{Treatment/perlakuan}$

$r = \text{Replications/pengulangan}$

$$5(r-1) \geq 20$$

$$5r-5 \geq 20$$

$$r \geq 25/5$$

$$r \geq 5$$

Berdasarkan perhitungan di atas diketahui jumlah minimal pengulangan yaitu lima, sehingga banyaknya sampel pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

$$T \times r \times X = 5 \times 5 \times 1 = 25 \text{ sampel.}$$

Dimana: t = Jumlah perlakuan, r = Jumlah pengulangan, X = Jumlah variabel

Volume masing-masing inokulum yang digunakan yaitu 50 ml untuk 0,5 kg sampah organik, dengan jenis perlakuan sebagai berikut.

D0: Akuades (Kontrol),

D1: Isolat *Trichoderma*₂,

D2: Isolat *Trichoderma*₅,

D3: Isolat *Penicillium*₃,

D4: EM₄ (Pembanding).

Volume total campuran sampah organik yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 12,5 kg dan volume total masing-masing inokulum yaitu 250 ml. Penempatan sampel dilakukan dengan cara pengundian kertas yang telah diberi nama sampel dan nomor pengulangannya. Hasil pengacakan penempatan sampel berdasarkan pengundian tampak pada Gambar 3.1.

D4.5	D0.4	D2.3	D3.5	D1.4
D1.5	D4.4	D0.3	D3.4	D2.2
D4.1	D3.2	D2.1	D0.5	D1.2
D2.4	D0.1	D1.3	D3.1	D2.5
D3.3	D4.2	D0.2	D4.3	D1.1

Keterangan: D0, D1, ..., D4 = Perlakuan
1, 2, ..., 5 = Pengulangan

Gambar 3.1 Posisi Peletakan Sampel Berdasarkan Pengundian

Pengujian parameter suhu, pH, dan penurunan tinggi tumpukan sampah dilakukan setiap interval waktu tiga hari selama proses pengomposan. Sedangkan reduksi berat sampah, bentuk akhir sampah, bau, warna, dan nisbah C/N kompos dilakukan setelah kompos dihasilkan.

C. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah semua sampah organik sisa sayuran dan buah-buahan yang berasal dari TPA Pasar Induk Caringin dan Pasar Inpres Geger Kalong Tengah, sedangkan yang dijadikan sampel adalah sampah organik sisa sayuran dan buah-buahan yang digunakan dalam proses pengomposan.

D. Lokasi Penelitian

Isolasi, identifikasi, dan seleksi isolat jamur dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI Jalan Dr. Setiabudhi No.229 Bandung. Sedangkan proses pengomposan sampah organik dilakukan di Kebun halaman rumah Gang Geger Suni 3 No.78 Geger Kalong Girang-Bandung.

E. Alat dan Bahan

Tabel 3.1 Alat dan Bahan Penelitian

No	Alat-alat	Bahan	Spesifikasi	Jumlah
1.	<i>Autoclave</i>	-	Merek EYELA model HL36AE	1 unit
2.	<i>Rotary Shaker</i>	-	Merek EYELA model multi shaker MMS	1 unit
3.	<i>Oven</i>	-	Merek National	1 unit
4.	<i>Resiprocating water bath</i>	-	Merek EYELA	1 unit
5.	Neraca timbangan analitik	-	Merek AND	1 unit
6.	<i>Vortek</i>	-	Merek EYELA	1 unit
7.	Makrosentrifugasi	-		1 unit
8.	Mikropipet 200 μ m dan 1000 μ m	-	Merek Eppendorf	1 buah
9.	Gelas Beaker; labu Erlenmeyer 100 ml, 250ml, 500 mL; labu ukur 100 mL; gelas ukur 25 mL, 100 mL, 500 ml; cawan Petri; tabung reaksi; dan lampu Spirtus, kawat ose.	-	Merek Pyrex	10 buah
10	Kantung plastik steril	-	-	3 buah
11	Bak plastik	-	Volume \pm 1 dm ³	25 buah
12	Pipa plastik	-	Diameter \pm 2 cm	2 meter
13	Sekop	-	Kecil	1 buah
14	Saringan	-	-	3 buah
15	pH meter / Soil tester	-	-	1 buah
16	Termometer	-	Alkohol	5 buah
17	Penggaris	-	-	1 buah
18	<i>Kitchen Scale</i>	-	-	1 Unit
19	-	Medium Potato Dekstrosa Agar (PDA)	Merek Merc (pa)	52 g
20	-	Medium Mandels	Merek Merc (pa)	3 Liter
21	-	Medium Tauge cair	-	3 Liter
22	-	Sampah organik	-	12,5 kg
23	-	Serbuk gergaji	-	1 kg
24	-	Starter EM ₄	-	250 mL
25	-	Aquades.	-	8 L

F. Cara Kerja

1. Penelitian Pendahuluan

a. Pengujian Aktivitas Degradasi Selulolitik Dari Isolat Jamur

Isolat jamur yang digunakan diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi pada tahap pra penelitian. Stok kultur jamur ini diperbanyak dan dikultur pada medium PDA miring yang diinkubasi pada suhu kamar selama lima hari. Selanjutnya kultur siap untuk digunakan pada medium aktivasi. Tahap ini terdiri dari beberapa bagian, yaitu pembuatan kurva standar glukosa, tahap fermentasi substrat, pengujian kadar glukosa sampel, dan pengujian aktivitas enzim selulase.

b. Pembuatan Kurva Tumbuh Isolat Jamur Hasil Isolasi dan Identifikasi.

Pembuatan kurva tumbuh bertujuan untuk menentukan umur inokulum isolat jamur terbaik dalam medium aktivasi. Penentuan umur optimum inokulum dibuat berdasarkan kurva pertumbuhan berupa hubungan antara waktu (sumbu x) dengan berat kering biomassa (sumbu y).

Pembuatan kurva pertumbuhan ini diawali dengan pembuatan medium aktivasi tauge cair (10 %, $\frac{b}{v}$) dalam aquades. Selanjutnya ditambahkan glukosa sebanyak 2 % ($\frac{b}{v}$) dan disterilisasi dengan menggunakan *autoclave*. Isolat jamur dinokulasikan sebanyak dua sampai tiga ose pada labu erlenmeyer yang berisi 250 ml medium tauge cair steril. Kemudian dilakukan inkubasi selama 2x24 jam pada *Resiprocating water bath* dengan suhu 30 °C dan kecepatan 100 rpm. Selanjutnya 10 ml suspensi jamur dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi 250 ml medium tauge cair dan diinkubasikan kembali selama 2x24 jam pada

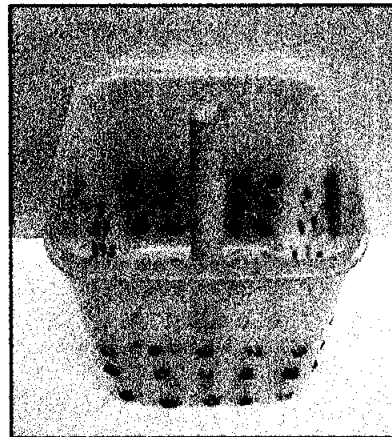
Resiprocating water bath. Kemudian 10 ml suspensi jamur dari labu erlenmeyer dimasukkan ke dalam masing-masing botol sampel yang berisi 90 ml medium tauge cair untuk dilakukan pengambilan sampel. Selanjutnya suspensi diinkubasikan pada *Resiprocating water bath* sampai delapan hari tergantung pada hari pengambilan sampel. Setiap hari suspensi disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman No.1 dan dioven dengan suhu 80 °C untuk ditimbang berat biomassa keringnya selama tiga hari sampai beratnya konstan. Berat biomassa kering didapat dari selisih antara berat biomassa kering ditambah berat kertas saring dengan berat kertas saring. Selanjutnya kurva pertumbuhan isolat jamur dapat dibuat berdasarkan masing-masing berat biomassa kering tersebut.

c. Pembuatan Inokulum Jamur Sebagai Aktivator

Kultur spora isolat jamur yang telah dipanen sesuai waktu pemanenan terbaik berdasarkan kurva tumbuh selanjutnya disentrifugasi. Supernatan dibuang, pelet dibilas dengan akuades steril tiga kali. Pelet yang telah dicuci ditambahkan akuades steril sejumlah volume pelet. Pelet hasil sentrifugasi ini dianggap mempunyai konsentrasi 100 %. Kemudian pelet dilarutkan kembali ke dalam akuades sampai volumenya 500 ml, untuk mendapatkan suspensi spora isolat jamur murni sebesar 500 ml.

d. Pembuatan Alat Komposter

Alat komposter dibuat dari baki plastik yang berbentuk persegi panjang dengan ukuran panjang ± 12 cm, lebar ± 8 cm, dan tinggi ± 15 cm, sehingga alat komposter tersebut dapat menampung 0,5 kg sampah organik. Pada keempat sisi dari bak pengomposan tersebut dibuat lubang-lubang kecil untuk menjaga lancarnya aerasi selama proses pengomposan. Alat komposter ini dilengkapi dengan cerobong hawa yang terbuat dari pipa kecil dengan diameter $\pm 1-2$ cm, bagian sisi sepanjang pipa tersebut dibuat juga lubang-lubang kecil untuk menjaga aerasi seperti tampak pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Alat Komposter

e. Penyediaan Substrat Kompos

Langkah-langkah yang dilakukan pada tahap ini antara lain:

- 1). Pengumpulan sampah organik yang akan dijadikan substrat.
- 2). Pemotongan bahan dengan ukuran 1 cm setelah semua sampah organik terkumpul.

- 3). Sterilisasi bahan untuk mematikan mikroorganisme agar terbebas dari mikroba lain yang telah ada sejak awal sebelum dilakukan pengomposan. Dengan demikian dapat dipastikan bahwa mikroba yang bekerja pada saat awal pengomposan merupakan inokulum jamur yang dimaksud. Proses sterilisasi yang dilakukan tidak merubah bentuk morfologi dan kandungan dari bahan, sehingga kondisi bahan dapat terjaga kealamiahannya. Adapun langkahnya sebagai berikut.
 - a) Bahan yang telah dihomogenkan dimasukkan ke dalam plastik bening dan masing-masing ditimbang seberat 0,5 kg.
 - b) Masing-masing bahan dimasukkan kedalam panci untuk dipanaskan dengan suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$ selama ± 15 menit sehingga dapat diasumsikan bahwa mikroba termofilik yang terkandung dalam bahan telah mati.
- 4). Pencampuran serbuk gergaji dengan bahan yang akan dijadikan kompos. Pencampuran ini dilakukan untuk mendapatkan kadar rasio C/N yang terbaik. Rasio C/N yang terbaik adalah 30:1, karena dalam kondisi tersebut, proses pengomposan akan berjalan cepat. Serbuk gergaji memiliki rasio C/N 500:1, sedangkan sampah dapur (campuran sisa sayuran dan buah-buahan) memiliki rasio C/N 15:1. Untuk menentukan banyaknya serbuk gergaji yang akan dicampurkan pada 0,5kg sampah organik, perlu dilakukan langkah sebagai berikut.

Diketahui: Rasio C/N serbuk gergaji 500:1
 Rasio C/N sampah dapur 15:1
 $x =$ Volume sampah dapur (0,5 kg)
 $y =$ Volume serbuk gergaji.
 $(x \cdot 15) + (y \cdot 500) = 30, x = 0,5$

$$\frac{x + y}{0,5 \cdot 15 + 500y} = 30$$

$$\frac{0,5 + y}{7,5 + 500y} = 15 + 15y$$

$$500y - 15y = 15 - 7,5$$

$$485y = 7,5$$

$$y = 7,5 / 485$$

$$y = 0,015$$

Dari perhitungan di atas dapat diketahui bahwa volume serbuk gergaji yang digunakan untuk 0,5 kg sampah organik yaitu 0,015 kg \approx 15 g.

2. Penelitian Utama

a. Penambahan Inokulum Jamur pada Substrat

Pemberian inokulum ke dalam sampah organik dilakukan dengan langkah sebagai berikut.

- 1). Menyediakan lembaran plastik ukuran (1x1) m di atas lantai.
- 2). Menuangkan adonan sampah dapur di atasnya.
- 3). Menyemprotkan starter isolat jamur sedikit demi sedikit dengan menggunakan sprayer sambil diaduk-aduk. Volume isolat jamur yang diberikan yaitu 50 ml untuk setiap 0,5 kg sampah organik.

b. Penyimpanan Sampah Organik Ke Dalam Bak Pengomposan

Penyimpanan sampah organik ke dalam bak pengomposan dilakukan setelah sampah organik benar-benar bercampur dengan larutan starter. Tumpukan

bahan disiram dengan air bila terlalu kering, dan dibolak-balikan jika terlalu basah. Tumpukan sampah tidak dipadatkan untuk menjaga sirkulasi udara tetap lancar. Selanjutnya proses pengomposan sampah organik dapat berlangsung.

c. Analisis Fisik dan Kimia Kompos

1). Reduksi Berat Subtrat Sampah

Reduksi berat substrat diketahui dari persamaan (Rochaeni *et al.*, 2003):

$$\text{Reduksi berat substrat} = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

2). Rata-Rata Tinggi Tumpukan Sampah

Rata-rata tinggi tumpukan diketahui dengan cara mengukur tinggi tumpukan menggunakan penggaris pada setiap waktu pengamatan kompos (Rochaeni *et al.*, 2003).

3). Temperatur Subtrat Sampah

Temperatur substrat diukur dengan menggunakan termometer alkohol.

4). pH Subtrat Sampah

pH substrat diukur dengan menggunakan kertas pH indikator atau pH meter (Taiwo & Oso, 2003). Adapun langkahnya sebagai berikut.

- a). Sebanyak 1 gram sampel dilarutkan ke dalam aquades dengan rasio (w/v, 1:10).
- b). Suspensi digoyang-goyangkan dengan menggunakan *Rotary Shaker* selama 30 menit.
- c). Bagian supernatan diukur pH-nya dengan menggunakan kertas pH indikator atau pH meter.

5). Bau , Warna, serta Bentuk Akhir dari Sampah.

Pengamatan bau, warna, serta bentuk akhir sampah dilakukan secara deskriptif dengan menggunakan panca indera (Wirastomo, 2006), dan mengacu pada standar kualitas kompos menurut SNI (2004).

6). Kadar Air

Pengukuran kadar air substrat kompos pada awal pengomposan dilakukan secara kualitatif, dengan cara mengambil bahan dan meremasnya dalam genggaman tangan. Apabila bahan kompos dapat dikepal oleh tangan tetapi tidak mengeluarkan air, berarti kadar air bahan berada pada kisaran 40-50 % (Yuwono, 2005). Sedangkan bila pada saat dikepal bahan langsung hancur, berarti kadar air bahan lebih rendah dari kisaran 40-50 %. Sebaliknya, bila bahan terlalu banyak mengeluarkan air saat dikepal, berarti kadar air lebih tinggi dari kisaran 40-50 %.

Adapun pengukuran kadar air kompos pada akhir pengomposan dilakukan secara kuantitatif, melalui cara pengeringan (Hadiwiyoto, 1994). Kadar air sampel dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air sampel} = \frac{a-b}{A} \times 100\%$$

a: berat sampel awal

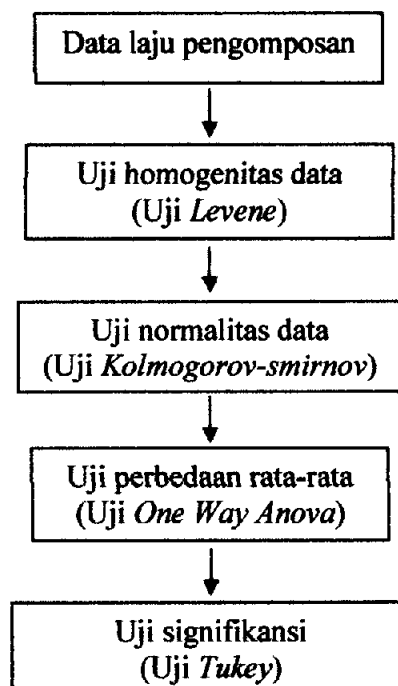
b: berat sampel setelah pengeringan.

7). Penentuan kadar karbon (C) dan nitrogen (N) dalam nisbah C/N dilakukan melalui cara okidasi dan metode Nitrogen Total Kjeldahl.

G. Analisis Data

Data yang dianalisis secara statistik yaitu data berupa laju pengomposan sampah organik sebagai variabel terikat. Data laju pengomposan tersebut diperoleh dari data penurunan berat basah substrat kompos sebagai parameter utama.

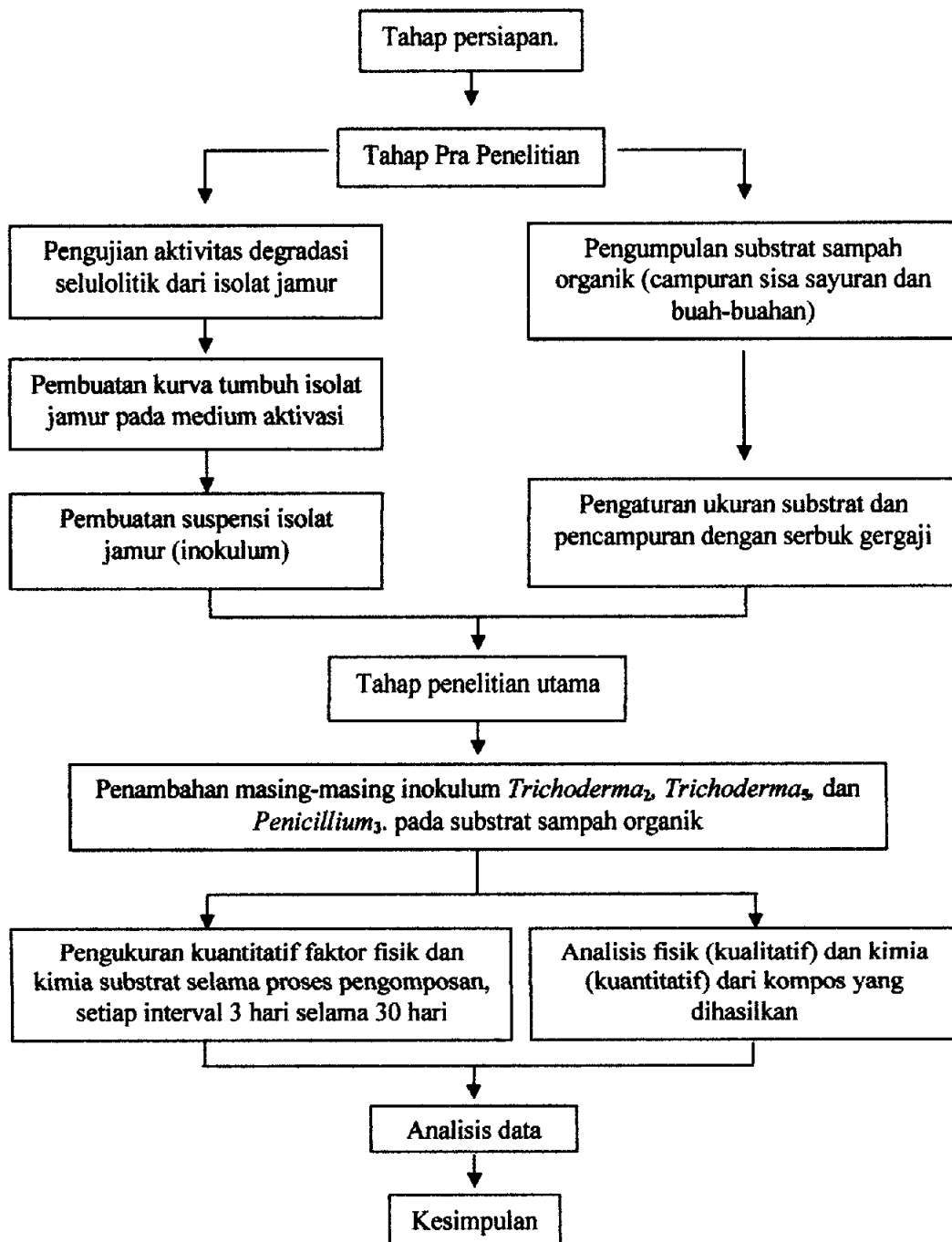
Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan *software SPSS versi 11.0* untuk mengetahui homogenitas dan normalitas data. Uji homogenitas data menggunakan uji *Levene*, sedangkan untuk menguji normalitas data digunakan uji *Kolmogorov-smirnov*. Data yang diperoleh homogen dan berdistribusi normal, sehingga pengujian dilanjutkan dengan analisis variansi *Anova* satu arah untuk mengetahui perbedaan rata-rata dari tiap perlakuan. Selanjutnya untuk mengetahui signifikansi perbedaan rata-rata dari tiap perlakuan digunakan uji *Tukey*. Adapun langkah-langkah analisis statistik dari data yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Tahapan Analisis Data

H. Alur Penelitian

Tahapan-tahapan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.4 di bawah ini.



Gambar 3.4 Alur Penelitian

