

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 9 unit percobaan akuarium dengan ukuran 50x30x30cm, *bioball*, *netpot*, selang aerator, *styrofoam*, *stopcontact*, aerator, spektrofotometer, *hot plate*, timbangan digital, autoklaf, lemari pendingin, botol film, bola hisap, pipet volume, sprayer, inkubator, korek api, spatula, erlenmayer, gelas ukur, *beaker glass*, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *laminar air flow*, *washing bottle*, timbangan analitik, *Vortex mixer*, *colony counter*, bunsen, *bluetip*, cawan petri, thermometer, DO meter, pH meter dan nampan.

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu air media budidaya, ikan nila ukuran 4-5 cm sebanyak 90 ekor, tanaman pakcoy umur 1 minggu, tanaman kailan umur 1 minggu, tissue, kapas, kain saring, *hydrobatt*, benang kasur, kertas label, kertas bekas, plastik wrap, aluminium foil, spiritus, alkohol 70%, NaCl, PCA (*plate count agar*), sulfanilamide, NED, nessler,  $\text{NH}_4\text{OH}$ , asam fenol disulfonik, pakan ikan PF1000 diberikan 5% dari berat ikan dan sabun cuci.

#### 3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 perlakuan dan 3 kali ulangan. Menurut Huda (2014), metode eksperimen adalah apabila seseorang melakukan percobaan, setiap hasil dan proses percobaan itu diamati oleh peneliti. Metode eksperimen merupakan salah satu dari sekian banyak metode

pembelajaran, karena di dalam eksperimen mengandung makna belajar dalam berbuat.

Menurut Nursalam dan Effendi (2008), metode eksperimen adalah suatu metode penyajian pembelajaran dimana peserta didik melakukan eksperimen dengan mengalami dan membuktikan sendiri sesuatu yang dipelajarinya. Tujuan metode pembelajaran eksperimen adalah meningkatkan kemampuan peserta didik untuk dapat belajar mandiri dan memecahkan masalah. Tindak lanjut dari metode eksperimen adalah mendiskusikan berbagai masalah yang ditemukan selama eksperimen dan menyiapkan kembali peralatan yang digunakan dalam keadaan rapi dan bersih.

### **3.3 Pengambilan Data**

Data yang diambil dalam penelitian ini meliputi data primer dan data sekunder, menurut Mulyanto (2008), data primer adalah data yang didapat dari sumber pertama, survei dilakukan bila data sudah ada di sasaran penelitian. Data primer dalam penelitian ini dari hasil observasi dan partisipasi aktif. Data primer yaitu jumlah bakteri yang didapatkan pada saat kultur. Sedangkan data skunder adalah data primer yang diperoleh dari pihak lain (telah diolah) dan disajikan baik oleh pengumpul maupun pihak lain. Data sekunder diperoleh dari jurnal, internet, serta kepustakaan penunjang lain

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Perisapan Penelitian**

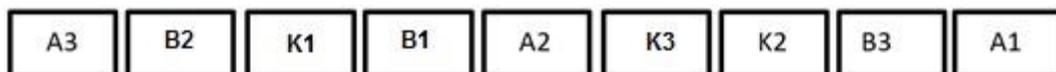
Sebelum melakukan penelitian dilakukan persiapan wadah, wadah yang digunakan yaitu dengan akuarium ukuran 50 cm x 30 cm x 30 cm dengan volume air yaitu 20 liter. Setelah itu, dilakukan desain tanam media untuk hidroponik yaitu dengan menggunakan nampan yang telah dilubangi dan diisi dengan *bioball* sebagai tempat hidup bakteri setelah itu diberikan selang yang terhubung pada

pompa yang berfungsi untuk mendistribusikan air ke dalam media tanam. Kemudian pompa dimasukkan ke dalam akuarium dan diisi dengan air, air yang masuk ke dalam pompa akan tersalur ke atas nampan yang berisi media tanam dan akan jatuh kembali ke dalam air sebagai penyalur oksigen dalam perairan. Sebelum dilakukannya pemeliharaan hal pertama yang harus dilakukan adalah membersihkan alat dan bahan dengan air dan sabun cuci dan dikeringkan dibawah sinar matahari selama 1 jam dengan tujuan mengurangi adanya jasad renik yang terdapat didalamnya. Setelah dikeringkan kemudian di lap dengan lap kering.

Benih ikan nila diperoleh dari PT. Matahari Sakti kota Pasuruan dengan ukuran benih rata-rata panjang 4-5 cm. Padat penebaran ikan nila yaitu 3 ekor/liter, karena ikan nila memerlukan ruang berenang yang luas dan oksigen terlarut yang tercukupi (Wulandari, 2015). Ikan nila yang akan diuji sebelumnya diadaptasikan terlebih dahulu dalam wadah tandon besar untuk beradaptasi pada suhu dan media budidaya selama 2 minggu. Hal ini bertujuan agar ikan tidak *stress* sehingga rawan terkena parasit pada saat penelitian berlangsung.

Tanaman pakcoy dan kailan diperoleh dari kawasan Agrokusuma kota Batu dengan umur 1 minggu setelah proses penyemaian. Jumlah tanaman yaitu 15 pot pada setiap perlakuan. Menurut Nugroho (2012), jumlah ikan nila dengan jumlah tanaman 11 ekor/pot masih layak untuk kebutuhan nutrisi tanaman air.

Pada perlakuan ini, masing-masing perlakuan diberikan ulangan sebanyak 3 kali. Denah Percobaan dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Denah Percobaan

Keterangan :

- Perlakuan A = Akuaponik dengan tanaman sawi pakcoy
- Perlakuan B = Akuaponik dengan tanaman kailan
- Perlakuan K = Perlakuan Kontrol (Tidak menggunakan tanaman)
- 1, 2, 3 = Ulangan

### 3.4.2 Pembuatan Larutan Na Fisiologis

Langkah yang harus dilakukan untuk membuat larutan Na fisiologis adalah dengan cara menimbang 0,9 g NaCl yang kemudian dilarutkan pada 100 ml akuades yang sudah dimasukkan kedalam *Erlenmeyer*. Selanjutnya dihomogenkan dengan spatula dan didapatkan Na fisiologis dengan konsentrasi 0,9%. Jumlah total NaCl yang ditimbang dan akuades sebagai pelarut disesuaikan dengan banyaknya pengenceran. Selanjutnya diambil 9 ml Na fisiologis dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu tabung reaksi dibungkus dengan kapas dan aluminium foil untuk disterilisasi. Menurut Yuswantina (2012), larutan fisiologis (NaCl 0,9%) dibuat dengan cara terlebih dahulu menimbang sejumlah 0,9 g NaCl kemudian dilarutkan dalam akuades sampai mencapai volume 100 ml.

Rumus perhitungan NaCl =  $(0,9/100) \times \Sigma$  tabung reaksi x 9 ml akuades. Perhitungan diatas adalah perhitungan berapa gram NaCl yang dibutuhkan agar didapatkan Na Fis 100 ml.

### 3.4.3 Pembuatan Media Tumbuh Bakteri

Media tumbuh bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah media PCA (*Plate Count Agar*). Langkah yang dilakukan untuk membuat media tumbuh bakteri adalah terlebih dahulu ditimbang 10 g PCA lalu dicampurkan dengan akuades sebanyak 250 ml. Selanjutnya dihomogenkan dengan spatula dan dibungkus dengan kapas dan aluminium foil untuk selanjutnya dilakukan sterilisasi dengan *autoclave* selama 15-20 menit pada suhu 121°C. Hal ini dimaksudkan untuk mencegah terjadinya kontaminan yang masuk kedalam media hidup bakteri. Setelah diperoleh media yang telah dipanaskan dan steril, media tersebut dibagi kedalam 12 cawan petri yang tersedia dimana untuk satu cawan petri diisi dengan 20 ml media agar (Kusuma, 2014).

#### 3.4.4 Sterilisasi

Sterilisasi ini bertujuan untuk mematikan jasad renik berupa bakteri atau jamur yang terdapat alat dan bahan yang akan digunakan pada pengujian. Menurut Kusuma *et al.* (2014), metode yang lazim digunakan untuk mensterilkan media adalah menggunakan *autoclave*, dengan menggunakan uap bertekanan untuk menaikkan suhu media yang disterilkan sampai suatu taraf yang mematikan semua bentuk kehidupan. Sterilisasi media pada *autoclave* menggunakan suhu 121<sup>0</sup>C pada tekanan uap 1 atm selama 15-20 menit. Pada penelitian ini sebelum dilakukan sterilisasi dengan *autoclave*, alat dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan sisa kotoran dan debu.

#### 3.4.5 Pengenceran

Pengenceran suspensi bakteri dari sampel atau sumber isolat dari lingkungan dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan kuantitas bakteri dalam jumlah terhitung. Telah diketahui bahwa jumlah bakteri yang terdapat di lingkungan sangat melimpah. Selain itu untuk mendapat kuantitas bakteri yang dapat dihitung, pengenceran suspensi bakteri dari sampel atau sumber isolat alam juga diperlukan dalam rangka memudahkan dalam pengamatan koloni bakteri, terutama dalam kegiatan pemurnian isolat bakteri.

Langkah awal yang dilakukan saat pengenceran adalah sampel bakteri beserta alat dan bahan dibawa pada ruangan LAF (*Laminar Air Flow*) kemudian setiap tabung reaksi terlebih dahulu diisi dengan 9 mL Na fisiologis. Selanjutnya sampel bakteri yang telah dicampur dengan akuades diambil 1 mL dan dimasukkan pada salah satu tabung reaksi. Tabung reaksi ini kemudian dihomogenkan dengan *vortex mixer* dan didapatkan pengenceran 10<sup>-1</sup>. Kemudian, dari pengenceran 10<sup>-1</sup> ini diambil 1 mL menggunakan *micropipet* dan *bluetip* steril kemudian dimasukkan pada tabung reaksi kedua yang berisi 9 mL

Na-fisiologis dan dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Demikian selanjutnya sampai didapatkan pengenceran  $10^{-13}$ ,  $10^{-14}$  dan  $10^{-15}$ .

#### **3.4.6 Penanaman Bakteri**

Bakteri yang terdapat pada sampel diinokulasi pada media dengan metode tuang. Metode tuang dilakukan dengan cara menghomogenkan sampel pengenceran pada tabung  $10^{-13}$ ,  $10^{-14}$  dan  $10^{-15}$  dengan *vortex mixer* kemudian masing-masing sampel diambil 1 ml dengan *mikropipet* dan *bluetip* steril. Sampel yang telah diambil dimasukkan kedalam cawan petri dan diberi label. Selanjutnya dituang media ke dalam cawan petri sebanyak  $\pm 20$  ml secara aseptik dan diinkubasi pada suhu  $32^{\circ}\text{C}$  didalam inkubator selama  $1 \times 24$  jam. Isolat bakteri menunjukkan bentuk yang berbeda-beda seperti warna dan bentuk kolonik bakteri. Semua dilakukan secara aseptik dan dilakukan didalam laminar agar tidak terjadi kontaminasi.

### **3.5 Parameter Uji**

#### **3.5.1 Perhitungan *Total Plate Count* (TPC)**

Perhitungan bakteri dilakukan dengan menerapkan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) dimana jumlah bakteri yang telah tumbuh didalam cawan dihitung dengan menggunakan *colony counter* yang kemudian dicatat dan dikalikan dengan besar pengenceran yang telah dilakukan. Jumlah bakteri yang dinyatakan dalam satuan CFU/ml (*colony-forming unit/ml*).

#### **3.5.2 *BBL Crystal Kit System***

Metode *BBL Crystal Kit System* digunakan untuk mengidentifikasi jenis bakteri. Prinsip dari metode ini adalah menanam bakteri pada *microplates* (cawan mikro). Kemampuan bakteri dalam menghidrolisis substrat akan menghasilkan penambahan warna dalam lubang mikro yang dapat terdeteksi

secara visual. Data warna-warna yang telah diperoleh akan dicocokkan pada tabel warna yang memiliki nilai tertentu. Nilai-nilai tersebut selanjutnya dimasukkan dalam bank data (*software*) *BBL crystal* dan diperoleh hasil identifikasi bakteri hingga tingkat spesies. Pengujian menggunakan metode ini berdasarkan pada kemampuan mikroba dalam memanfaatkan dan mendegradasi substrat spesifik yang dapat dideteksi menggunakan berbagai macam sistem indikator warna.

### **3.6 Parameter Penunjang**

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air media meliputi suhu, pH, DO, amonia, nitrit dan nitrat. Suhu, pH, DO di ukur setiap hari sebanyak 2 kali pada pagi pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 14.00 WIB, sedangkan parameter kualitas air meliputi amonia, nitrit dan nitrat di ukur setiap 1 minggu sekali. Berikut adalah prosedur pengukuran kualitas air amonia, nitrit dan nitrat pada penelitian :

#### **3.6.1 Amonia**

Pada penelitian ini, dilakukan pengukuran kadar amonia dengan prosedur kerja sebagai berikut :

- Menyaring air sampel agar bahan yang berbentuk partikel terambil dari air sampel tersebut, kemudian ambil 25 ml.
- Menambahkan Nessler sebanyak 0,5 ml pada air sampel kemudian dihomogenkan.
- Menunggu sekitar 10 – 30 menit agar terbentuk warna dengan sempurna.
- Mengukur kadar amonia menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 425 nm.

### 3.6.2 Nitrit

Pada penelitian ini, dilakukan pengukuran kadar nitrit dengan prosedur kerja sebagai berikut :

- Mengambil 10 ml sampel yang telah disaring menggunakan pipet, masukan ke dalam beaker glass.
- Menambahkan 0,2 ml ( $\pm$  4 tetes) sulfanilamide sambil diaduk. Biarkan 2 – 4 menit.
- Menambahkan 0,2 ml ( $\pm$  4 tetes) N-ethylene diamine dihydrochloride (NED) sambil diaduk. Biarkan 10 menit agar terbentuk warna pink dengan sempurna.
- Mengukur kadar nitrit menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 543 nm.

### 3.6.3 Nitrat

Pada penelitian ini, dilakukan pengukuran kadar nitrat dengan prosedur kerja sebagai berikut :

- Menyaring 12,5 ml sampel dan tuangkan ke dalam cawan porselen.
- Menguapkan diatas pemanas sampai kering dan didinginkan.
- Menambahkan 0,25 ml asam fenol disulfonik, aduk dengan spatula dan encerkan dengan 5 ml aquades.
- Menambahkan (dengan meneteskan)  $\text{NH}_4\text{OH}$  1:1 sampai terbentuk warna. Encerkan dengan aquades sampai 12,5 ml. Kemudian masukan dalam cuvet.
- Mengukur kadar nitrat menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 410 nm.

### **3.7 Analisis Data**

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, dianalisa secara statistik dengan menggunakan analisa keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).