

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

Keseluruhan rangkaian eksperimen dilakukan di Laboratorium Air dan Tanah Jurusan Teknik Pengairan dan Laboratorium Mekanika Tanah Jurusan Teknik Sipil Universitas Brawijaya Malang, kecuali uji *scanning electron microscope*. Sedangkan untuk uji *scanning electron microscope*, dilakukan di Laboratorium Sentral Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Adapun peralatan yang diperlukan untuk menunjang penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. *Constant Head Parameter*
- b. Alat Uji SEM Merk FEI, Type: Inspect-S50
- c. *Micropipet P2000*
- d. *Centrifuge*
- e. Ember penyimpanan
- f. Gelas Ukur
- g. Cincin *direct shear*
- h. Mesin *dial reading direct shear*
- i. Cawan
- j. Neraca
- k. Ayakan
- l. Oven
- m. *Polybag*
- n. *Stopwatch*
- o. Penggaris
- p. Bak kecil
- q. Sarung tangan karet

3.2.2 Bahan

a. Mikrobakteri

Koloni mikrobakteri dipilih yang bersifat fakultatif anaerobic dengan konsentrasi 10^9 x CFU, sehingga diharapkan lebih fleksibel dalam menghadapi perubahan kondisi. Koloni mikrobakteri didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

b. Media pertumbuhan dan perkembangan bakteri

Media pertumbuhan dan perkembangan dipilih yang paling sesuai dengan jenis bakteri. Jenis media yang digunakan adalah media dasar. Di sini dipilih media yang mengandung protein, karbohidrat dan garam yang cukup sehingga pertumbuhan mikrobakteri dapat optimal. Dalam penelitian ini, untuk setiap satu macam bakteri, media pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah tanah pasir pantai sebanyak 2500 gram; CaCl_2 0,25 gram; MgSO_4 0,25 gram; K_2HPO_4 2,5 gram; Sukrosa 25 gram.

c. Material tanah pasir

Untuk media tanah pasir, digunakan media tanah pasir pantai dengan butiran lolos saringan ukuran 2 mm (Saringan No. 200) dan tidak mengandung unsur organik. Sehingga kinerja mikrobakteri yang diinokulasikan tidak terganggu dengan kinerja mikrobakteri lain yang berasal dari tanah tersebut.

3.3 Tahapan Penelitian

Dalam penelitian ini, dibagi menjadi beberapa tahapan, tahapan – tahapan tersebut dijelaskan sebagai berikut:

1. Persiapan

Pada tahapan persiapan ini sampel tanah yang ada dianalisa :

- a. Gradasi butiran tanah
- b. Berat jenis tanah
- c. Kadar air tanah
- d. Permeabilitas tanah
- e. Kekuatan geser tanah

Hasil dari uji nantinya akan menjadi kontrol yang bersifat sebagai pembanding pada sampel tanah yang nantinya akan diinokulasikan dengan mikrobakteri.

2. Proses pembuatan media pertumbuhan dan perkembangan bakteri

Media perkembangan bakteri dibuat dengan tahapan-tahapan berikut:

- a. Siapkan alat dan bahan, seperti: pemanas, labu ukur 5 buah, label nama, Aluminium foil, biang bakteri (setiap jenis @25ml), air mineral murni 1 liter; CaCl_2 0,25 gram; MgSO_4 0,25 gram; K_2HPO_4 2,5 gram; Sukrosa 25 gram.
- b. Campur air mineral murni dengan CaCl_2 , MgSO_4 , K_2HPO_4 , Sukrosa. Aduk hingga rata.
- c. Hasil campuran dibagi dan dimasukkan ke dalam 5 buah labu ukur. Masing-masing labu ukur berisi 200ml.
- d. Tutup labu dengan aluminium foil. Panaskan dalam pemanas.
- e. Setelah dipanaskan selama ± 1 jam, keluarkan labu dari pemanas. Tunggu hingga labu dingin dengan sendirinya.
- f. Setelah labu benar-benar dingin, masukkan biang bakteri. Beri label nama setiap labu untuk setiap jenis bakteri.
- g. Taruh labu pada tempat yang tidak terlalu banyak terkena sinar cahaya matahari. Tempatkan pada suhu ruangan, dan tunggu hingga beberapa hari.



Gambar 3.1 Biang Bakteri
Sumber: Dokumentasi Penelitian



Gambar 3.2 Biang Bakteri diambil 25ml
Sumber: Dokumentasi Penelitian



Gambar 3.3 Pembuatan media bakteri sebelum labu dipanaskan
Sumber: Dokumentasi Penelitian



Gambar 3.4 Pembuatan media bakteri penyimpanan selama beberapa hari
Sumber: Dokumentasi Penelitian



Gambar 3.5 Pembuatan media bakteri setelah didiamkan selama beberapa hari

Sumber: Dokumentasi Penelitian

3. Inokulasi bakteri

Inokulasi bakteri dilakukan dengan tahapan-tahapan tertentu yang dijelaskan sebagai berikut :

- a. Sampel tanah yang diperoleh diayak terlebih dahulu dengan ayakan 2 mm (saringan no.10).



Gambar 3.6 Mengayak sampel tanah

Sumber: Dokumentasi Penelitian

- b. Tanah yang lolos ayakan 2 mm tadi kemudian dioven kurang lebih 1 jam.



Gambar 3.7 Mengoven sampel
Sumber: Dokumentasi Penelitian

- c. Selanjutnya sampel tanah yang telah dioven didiamkan terlebih dahulu dalam suhu ruangan selama beberapa waktu hingga suhunya turun. Sampel tanah kemudian dibagi menjadi 6 bagian masing – masing seberat 2500 gram dalam plastik *polybag*. 5 bagian tanah akan diinokulasikan dengan 5 macam mikrobakteri yang berbeda sedang 1 bagian sebagai kontrol.



Gambar 3.8 Pembagian sampel ke *polybag* masing-masing 2500 gram
Sumber: Dokumentasi Penelitian

- d. Masing – masing bagian dicampur dengan media pertumbuhan mikrobakteri, dicampur hingga rata dan didiamkan kurang lebih 1 jam.
- e. Sampel tanah yang sudah tercampur dengan media pertumbuhan kemudian diinokulasikan dengan koloni mikrobakteri sejumlah 25 ml

dengan konsentrasi $10^9 \times \text{CFU}$, kemudian ditutup rapat dan dibiarkan dalam suhu ruangan selama kurang lebih 30 hari.



Gambar 3.9 Plastik polybag ditutup rapat dan didiamkan selama 30 hari
Sumber: Dokumentasi Penelitian

f. Sampel tanah dijaga kelembapannya dengan membasahinya dengan air mineral murni pada waktu tertentu.

4. Analisa permeabilitas dengan uji *constant head*

Sampel tanah yang telah diinokulasi dengan mikrobakteri dan sampel tanah kontrol diuji nilai permeabilitasnya dengan menggunakan *constant head permeameter*. Langkah-langkah pengujian permeabilitas :

- a. Menyiapkan tanah dan peralatan yang digunakan yakni *constant head permeameter*.
- b. Tanah dimasukkan ke dalam *constant head permeameter*, pada setiap ketinggian 2 cm dilakukan pemadatan ringan, dengan beberapa kali tekanan yang tidak begitu kuat hingga dirasa cukup padat.



Gambar 3.10 Pemadatan ringan setiap ketinggian 2cm sampel tanah
Sumber: Dokumentasi Penelitian

c. Pengukuran ketinggian tanah, tinggi tekan, diameter tanah.



Gambar 3.11 Pengukuran ketinggian sampel dan diameter sampel
Sumber: Dokumentasi Penelitian



Gambar 3.12 Pengukuran tinggi tekan
Sumber: Dokumentasi Penelitian

- d. Selanjutnya penjenruhan tanah dilakukan dengan cara memberi air melalui bagian bawah tanah tersebut hingga air naik sampai tanah bagian atas, selanjutnya didiamkan beberapa saat kemudian air dibuang kembali melalui kran bagian bawah. Dalam proses penjenruhan susunan alat diatur sedemikian rupa, yakni pipa 1 terhubung pada kran air, pipa 2 pada saluran pembuangan dan pipa 3 dihubungkan pada kran bawah *constan head permeameter*.
- e. Setelah tanah jenuh kemudian dilanjutkan dengan pengujian permeabilitas tanah. Pada tahap ini tanah yang telah jenuh akan diliri air melalui kran bagian atas *permeameter*. Untuk itu pipa diatur kembali susunannya, yakni pipa 1 menjadi saluran pembuangan, pipa 2 pada kran air dan pipa 3 dihubungkan pada kran atas *constan head permeameter*.
- f. Setelah pengaturan selesai maka kran dihidupkan, selanjutnya apabila air yang mengalir melalui saluran pembuangan telah stabil maka kran bagian atas dibuka sehingga air mengalir ke *constant head permeameter*.
- g. Saat air mulai mengalir stopwatch harus mulai bekerja dan kran bagian bawah *constant head permeameter* juga dibuka, untuk mengukur volume debit yang keluar maka digunakan gelas ukur.
- h. Setelah 60 detik matikan kran atas dan kran bawah.
- i. Catat hasil volume debit yang ada dalam gelas ukur.

5. Analisa kuat geser dengan uji *direct shear*

Disamping pengujian terhadap permeabilitas, tanah hasil inokulasi mikrobakteri juga diuji kuat gesernya dengan pengujian *direct shear*.

Berikut langkah-langkah pengujian *direct shear* :

- a. Siapkan peralatan pengujian *direct shear* serta tanah yang akan diuji.
- b. Cetak tanah dengan ring, masukkan ke dalam cincin pemeriksaan.
- c. Cincin pemeriksaan tadi dipasang pada mesin .
- d. Pasang beban 0,4 kg.

- e. Fokuskan nivo pada mesin, kemudian setelah fokus putar alat hingga jarum pada keduanya bergerak.
- f. Setelah jarum bergerak maka hentikan pemutaran dan arahkan kedua jarumnya hingga menunjukkan angka 0.
- g. Setelah itu hidupkan mesin, pembacaan dial reading dilakukan setiap 25 detik.
- h. Lakukan hingga angka dial reading menunjukkan 5 angka yang sama berturut-turut.
- i. Ulangi langkah-langkah tersebut untuk beban 0,8 dan 1,2 kg.

6. Uji SEM (*Scanning Electron Microscope*)

Untuk mengetahui potensi mikrobakteri dalam mengisi pori tanah, sampel tanah dianalisa dengan menggunakan uji *scanning electron microscope*. Langkah pengujian *scanning electron microscope* adalah sebagai berikut :

- a. Siapkan sampel tanah yang akan diuji.
- b. Ambil sampel kemudian ditempatkan pada preparat.
- c. Sampel tanah yang diuji dilapisi dengan lapisan logam tertentu.
- d. Setelah letakkan preparat dan sampel tanah tersebut pada mikroskop.
- e. Pengaturan mikroskop dikendalikan oleh komputer. Pada komputer akan muncul gambar sampel yang ada pada mikroskop tadi.

Setelah muncul gambar sampel dilakukan perbesaran hingga beberapa ribu kali objek, maka kemudian dicari gambar yang diinginkan, setelah didapat gambar yang diinginkan maka gambar dapat didokumentasikan.

Rancangan penelitian dapat lebih dimengerti dalam bentuk visual seperti yang tergambar pada Gambar 3.13 dan lebih lanjut akan dijelaskan alur penelitian dalam bentuk diagram alir pada Gambar 3.14, Gambar 3.15, dan Gambar 3.16.