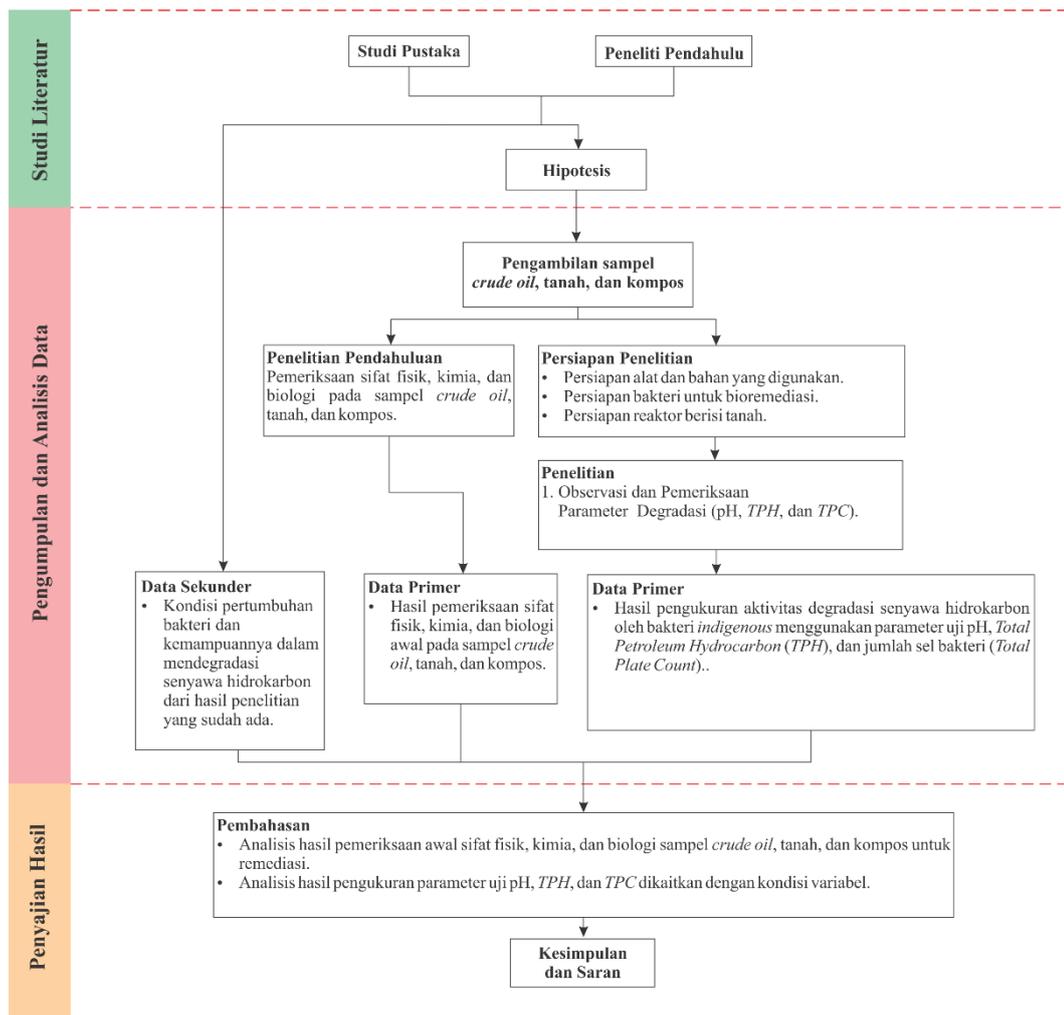


BAB III

METODE PENELITIAN

III.1. Tahapan Penelitian



Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian

III.1.1. Studi Literatur

Tahapan ini merupakan tahapan awal yang dilakukan sebelum memulai penelitian. Pada tahap studi literatur, penulis melakukan studi pendahuluan agar

penulis mengerti dan paham mengenai penelitian yang akan dikerjakan. Studi literatur juga digunakan penulis untuk membuat batasan masalah serta hipotesis.

A. Studi pustaka

Studi pustaka merupakan tahapan dimana penulis mempelajari dasar-dasar teori mengenai penelitian yang akan dikerjakan. Pustaka ini didapat dari literatur dan buku-buku mengenai penelitian yang akan dikerjakan.

B. Peneliti pendahulu

Informasi mengenai peneliti yang telah melakukan penelitian serupa menjadi penting sebagai acuan yang dapat digunakan dalam penelitian. Tinjauan peneliti pendahulu juga berfungsi untuk menghindari adanya kesamaan tema penelitian.

C. Hipotesis

Berdasarkan studi terhadap hasil studi pustaka dan peneliti pendahulu, dapat dibuat hipotesis sebagai berikut:

1. Penambahan kompos dapat mempercepat kinerja bakteri dalam remediasi tanah terkontaminasi *crude oil* karena kompos menyediakan nutrisi yang dibutuhkan bakteri untuk melakukan aktivitasnya. Selain itu penambahan kompos juga dapat membantu meningkatkan porositas campuran tanah dan *crude oil* sehingga pertukaran oksigen berlangsung dengan baik.

III.I.2. Pengolahan dan Analisis Data

Tahap pengolahan data merupakan tahapan untuk melakukan analisis terhadap data-data yang tersedia untuk mencapai tujuan penelitian. Data yang telah dikumpulkan digunakan untuk mengetahui kinerja bakteri pendegradasi dalam meremediasi tanah yang terkontaminasi *crude oil* setelah penambahan nutrient kompos.

A. Pengambilan sampel *crude oil* dan tanah

Sampel *crude oil* diambil dari lapangan pemboran minyak bumi milik warga lokal Desa Talang Sungaiangit, Kecamatan Babat Toman, Kabupaten Musi Banyuasin, Propinsi Sumatera Selatan, sedangkan sampel tanah diambil dari tanah perkebunan di Desa Kayen, Kecamatan Depok, Kabupaten Sleman, Propinsi D.I Yogyakarta. Sampel diambil pada 5 titik sampling pada masing-masing lokasi menggunakan botol dan plastik sampel yang telah disterilkan terlebih dahulu. Pengambilan sampel dilakukan secara aseptis. Sampel yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam refrigerator 4°C sebelum digunakan untuk penelitian. Kompos yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari limbah organik rumah tangga yang didapatkan dari TPS 3R Berhati, Sleman, D.I Yogyakarta.

B. Penelitian Pendahuluan

1. Analisis sifat fisik, kimia, dan biologi sampel *crude oil*, tanah, dan kompos

Sebelum digunakan untuk media dalam reaktor, sampel *crude oil* dan tanah serta kompos terlebih dahulu dianalisis sifat fisika, kimia dan biologinya.

a. Analisis sifat fisik

Analisis sifat fisik dilakukan terhadap sampel tanah sebelum digunakan untuk remediasi. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mekanika Tanah Jurusan Teknik Sipil Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia.

Variabel Analisis	Satuan	Metode
Kadar air (<i>w</i>)	%	SNI 1965:2008
<i>Spesific gravity</i> (<i>Sg</i>)		SNI 1964:2008
Porositas (<i>n</i>)	%	SNI 1964:2008
Derajat saturasi		SNI 03-1964-1990
<i>Void ratio</i> (<i>e</i>)		SNI 1964:2008
Densitas (γ)	gr/cm ³	SNI 03 3637:1994

b. Analisis sifat kimia

Analisis sifat kimia dilakukan terhadap sampel tanah, *crude oil*, dan kompos sebelum digunakan untuk remediasi. Penelitian terhadap sampel tanah dan kompos dilakukan di Laboratorium Kimia dan Kesuburan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, sedangkan penelitian sifat kimia *crude oil* dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada.

Variabel Analisis	Satuan	Metode
C – organik tanah dan kompos	%	Walkey and Black
C – organik <i>crude oil</i>	%	Gravimetri
N – total	%	Kjeldahl
P – total	%	Olsen
K – total	%	Gravimetri
Kapasitas Tukar Kation (KTK)	Me/100 gr	SNI 13-3494-1994
pH	gr/cm ³	Potensiometri, SNI 06-6989.11-2004

c. Analisis biologi

Analisis biologi dilakukan terhadap sampel yang terdiri dari tanah yang telah dikondisikan melalui pencampuran dengan *crude oil* yang bertujuan untuk mengisolasi bakteri yang akan digunakan dalam penelitian. Analisis dilakukan menggunakan metode *pour plate*. Analisis dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel yang dilarutkan dalam 9 ml akuades steril, kemudian dilakukan pengenceran hingga 10^{-5} . Sebanyak 1 ml sampel yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Penanaman bakteri dilakukan dengan metode *pour-plate* menggunakan media NA (sebagai media umum bakteri) untuk mengetahui keberadaan bakteri heterotrof dalam sampel (Gaudy & Gaudy, 1980). Inokulum yang telah didapatkan kemudian dipindahkan ke agar miring

menggunakan metode gores zig-zag sebelum digunakan untuk penelitian.

C. Persiapan Penelitian

1. Persiapan bakteri untuk bioremediasi

Persiapan dilakukan agar bakteri yang terlibat dalam bioremediasi di setiap reaktor pengamatan memiliki kondisi yang sama untuk melakukan degradasi sehingga perbedaan yang terukur terjadi karena perbedaan perlakuan (variasi). Bakteri yang telah diisolat pada langkah sebelumnya dipindahkan pada media cair *Nutrient Broth (NB)*. Isolat yang diinokulasikan merupakan konsorsium bakteri yang ada dalam tanah yang telah terkondisikan. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan *OD (Optical Density)* menggunakan metode turbidimetri untuk dicari awal fase stasionernya. Fase ini adalah fase dimana jumlah sel paling banyak dan siap untuk dipindahkan ke reaktor tanah.

2. Persiapan reaktor tanah

Reaktor penelitian digunakan untuk mensimulasikan tanah terkontaminasi *crude oil* seperti kondisi aslinya di lingkungan. Reaktor tanah yang dipakai dalam penelitian ini adalah berupa kontainer plastik berdimensi 15 cm x 7 cm x 5 cm. Kontainer tersebut diisi dengan campuran sampel tanah dengan *crude oil* dengan berat total campuran ± 300 gram. Sebelum dimasukkan ke dalam reaktor, campuran tanah dan *crude oil* telah diayak dengan ayakan berukuran $2 \times 2 \text{ mm}^2$ dan telah dikeringkan dalam oven 105°C sampai beratnya konstan. Proporsi campuran tanah dan *crude oil* ada 2 variasi yaitu 10% dan 25% *crude oil*. Selanjutnya 50 ml inokulum bakteri yang telah disiapkan di tahap sebelumnya ditambahkan pada masing-masing. Masing-masing reaktor penelitian dibuat duplo.

Reaktor kontrol terdiri dari:

1. Reaktor kontrol (K1), yaitu tanah + *crude oil* dengan proporsi (9:1)
2. Reaktor kontrol (K2), yaitu tanah + *crude oil* dengan proporsi (3:1)

Reaktor uji pengaruh penambahan pupuk kompos direncanakan dengan variasi sebagai berikut:

- a. Reaktor 1a
Tanah + *crude oil* (9:1) + kompos organik 5% (berat kering)
- b. Reaktor 1b
Tanah + *crude oil* (9:1) + kompos organik 10% (berat kering)
- c. Reaktor 2a
Tanah + *crude oil* (3:1) + kompos organik 5% (berat kering)
- d. Reaktor 2b
Tanah + *crude oil* (3:1) + kompos organik 10% (berat kering)

Adapun masing-masing reaktor secara lebih jelas terdapat dalam tabel berikut.

Tabel 3.1. Variasi Reaktor Penelitian

No	Kode Reaktor	Variasi Reaktor		
		Tanah (berat kering)	<i>Crude Oil</i> (berat basah)	Kompos (berat kering)
1	K1	270 gram	30 gram	-
2	K2	225 gram	75 gram	-
3	1a	270 gram	30 gram	15 gram
4	1b	270 gram	30 gram	30 gram
5	2a	225 gram	75 gram	15 gram
6	2b	225 gram	75 gram	30 gram

D. Penelitian

1. Pemeriksaan parameter degradasi

Parameter degradasi yang diperiksa adalah pH, *Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)*, dan jumlah sel bakteri. Pemeriksaan parameter degradasi dilakukan terhadap semua reaktor yang telah ditempatkan pada temperatur ruangan dan telah diaerasi dengan cara diaduk setiap hari.

a. Pengukuran pH

Metode yang digunakan dalam pengukuran pH adalah metode potensiometri dengan menggunakan indikator pH. Pengujian dilakukan dengan mengacu pada SNI 06-6989.11-2004. Langkah awal yang dilakukan adalah mengambil 10 gram sampel tanah lalu dilarutkan dalam akuades dengan rasio tanah : akuades = 1 : 1 (b/v) (Rump & Weinheim, 1992). Sampel ditempatkan dalam botol vial bertutup, lalu dikocok agar homogen. Sampel didiamkan selama 1 jam, lalu diukur dengan kertas indikator pH.

b. Pengukuran *Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)*

Pengukuran *TPH* dilakukan dengan prinsip gravimetri, yang mengacu pada Jurnal Sains dan Teknologi Vol. 3 Nomor 1 Tahun 2011. Langkah awal dilakukan dengan menimbang berat botol vial yang sebelumnya telah dioven dengan suhu 105°C dan dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit (A). Langkah selanjutnya adalah memasukkan 5 gram sampel tanah ke dalam tabung reaksi bertutup, kemudian diekstraksi menggunakan 10 ml *n-hexane* sebagai zat pengekstraksi dengan cara *dishaker* hingga padatan dan supernatant terpisah. Ekstraksi dilakukan 2 kali untuk mendapatkan kandungan hidrokarbon lebih baik. Supernatannya kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring untuk menghindari terbawanya partikel-partikel tanah.

Supernatant yang telah disaring selanjutnya dimasukkan ke dalam vial yang sebelumnya telah ditimbang beratnya. Vial yang berisi supernatant tersebut kemudian dipanaskan pada oven ($T = 70^{\circ}\text{C}$) sampai seluruh *n-hexane* menguap (tinggal ekstraknya yang berupa minyak). Ekstraksi kedua dilakukan seperti ekstraksi pertama. Total berat minyak (*TPH*) yang diekstrak dapat diperoleh dengan menghitung selisih berat vial awal dan akhir.

$$TPH (\% \text{ b/b}) = ((B - A) \text{ gr} / 5 \text{ gram}) \times 100\%$$

Dimana:

A = berat vial awal (sebelum ekstraksi)

B = berat vial akhir (dengan minyak hasil ekstraksi)

Pengukuran terhadap seluruh parameter dilakukan setiap 7 hari. Dikarenakan bila dilakukan setiap hari atau 2 hari sekali akan memerlukan dana yang cukup besar.

c. Perhitungan jumlah sel bakteri (*Total Plate Count*)

Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *pour plate*. Langkah pertama yang dilakukan dalam perhitungan jumlah sel bakteri adalah menumbuhkan mikroba pada media *Nutrient Agar (NA)* dengan melakukan pengenceran sampel terlebih dahulu.

Sampel dalam masing-masing reaktor yang diambil untuk analisis *TPC* adalah sebanyak 1 gram. Sampel tersebut dilarutkan dalam 9 ml aquades steril, kemudian dilakukan pengenceran sampel sampai tingkat 10^{-5} . Sebanyak 1 ml sampel hasil pengenceran, dipindahkan atau diinokulasikan ke media *NA* dalam cawan petri steril dengan metode *pour plate*. Inokulasi dilakukan sebanyak 2 kali (duplo) sehingga terdapat 24 inokulum dalam 24 cawan petri.

Isolat yang telah dipindahkan ke media *Nutrient Agar* selanjutnya diinkubasi, yaitu memeram mikroba pada suhu yang terkontrol agar

koloni mikroba dapat tumbuh pada suhu 37°C selama 48 jam yang merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri mesofilik. Dari hasil inkubasi, mikroorganisme yang tumbuh pada setiap cawan diamati dan dihitung jumlahnya sesuai dengan kesamaan ciri morfologis.

III.2. Variabel Penelitian

Menurut Marzuki (1999), Variabel adalah hal-hal yang menjadi objek penelitian yang nilainya belum spesifik (bervariasi). Penelitian dilakukan terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati atau diukur dampaknya (data yang akan datang). Variabel yang dapat ditentukan dalam penelitian ini adalah:

A. Variabel bebas, yaitu:

1. Perlakuan dengan proporsi tanah : *crude oil* = 9 : 1 (A₁) dan proporsi tanah : *crude oil* = 3 : 1 (A₂).
2. Tidak dilakukan penambahan kompos (B₀), penambahan kompos 5% (B₁) dan penambahan kompos 10% (B₂).

B. Variabel terikat, yaitu:

1. pH, *TPH*, dan *TPC* (K₁)

C. Variabel kontrol, yaitu:

1. Menggunakan suhu ruangan 25°C
2. Tidak terkena sinar matahari langsung.
3. Dilakukan selama 28 hari.

Maka kombinasi perlakuan adalah sebagai berikut:

A₁B₀K₁ = proporsi tanah : *crude oil* = 9 : 1, dengan tidak dilakukan penambahan kompos, dan parameter yang diteliti adalah pH, *TPH*, dan *TPC*.

A₂B₀K₁ = proporsi tanah : *crude oil* = 3 : 1, dengan tidak dilakukan penambahan kompos, dan parameter yang diteliti adalah pH, *TPH*, dan *TPC*.

- A₁B₁K₁ = proporsi tanah : *crude oil* = 9 : 1, dengan penambahan kompos 5%, dan parameter yang diteliti adalah pH, *TPH*, dan *TPC*.
- A₁B₂K₁ = proporsi tanah : *crude oil* = 9 : 1, dengan penambahan kompos 10%, dan parameter yang diteliti adalah pH, *TPH*, dan *TPC*.
- A₂B₁K₁ = proporsi tanah : *crude oil* = 3 : 1, dengan penambahan kompos 5%, dan parameter yang diteliti adalah pH, *TPH*, dan *TPC*.
- A₂B₂K₁ = proporsi tanah : *crude oil* = 3 : 1, dengan penambahan kompos 10%, dan parameter yang diteliti adalah pH, *TPH*, dan *TPC*.

III.3. Parameter Penelitian

Parameter yang akan diperiksa dalam penelitian ini adalah:

1. pH.
2. *Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)*.
3. Jumlah sel bakteri (*Total Plate Count*).

Pengukuran terhadap seluruh parameter dilakukan setiap 7 hari selama 28 hari.

III.4. Alat dan Bahan

A. Pengukuran Parameter pH

Bahan:

1. Sampel 5 gram
2. Akuades, dengan rasio sampel : akuades = 1 : 1 (b/v)

Alat:

1. Botol vial 12 buah
2. Pipet dan karet hisap
3. Kertas indikator pH

B. Pengukuran *Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)*

Bahan:

1. Sampel campuran tanah dengan *crude oil* sebanyak 10 gram

2. *n-hexane* 240 ml

Alat:

- | | |
|---------------------------------------|--------------------|
| 1. Botol vial 12 buah | 5. Oven 105°C |
| 2. Vortex | 6. Desikator |
| 3. Tabung reaksi tertutup,
12 buah | 7. Pipet |
| 4. Rak tabung | 8. Neraca analitik |
| | 9. Kertas saring |

C. Perhitungan Jumlah Sel Bakteri (*Total Plate Count*)

Bahan:

1. Sampel campuran tanah dan *crude oil* pada masing-masing reaktor sebanyak 1 gram
2. Akuades steril 100 ml
3. *Nutrient Agar*

Alat:

- | | |
|---------------------------------|------------------------------|
| 1. Tabung reaksi 10 ml, 60 buah | 4. Pipet volume 5 ml, 1 buah |
| 2. Cawan petri, 24 buah | 5. Neraca analitik |
| 3. Inkubator 37°C | 6. Autoklaf |

III.5. Metode Analisis Data

Metode yang digunakan untuk mengukur *Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)* adalah perhitungan selisih berat botol vial berisi supernatant dengan berat botol vial awal. Persamaan yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$TPH (\% \text{ b/b}) = ((B - A) \text{ gr} / 5 \text{ gram}) \times 100\%$$

Dimana:

A = berat vial awal (sebelum ekstraksi)

B = berat vial akhir (dengan minyak hasil ekstraksi)