

Bab 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan penelitian yang digunakan

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian tahap pertama sampai dengan tahap ketiga adalah Rancangan Acak Kelompok yang disusun secara faktorial, sedangkan untuk penelitian tahap keempat dan kelima adalah Rancangan Acak Lengkap. Setiap level dalam faktor yang digunakan untuk perlakuan dilakukan tiga ulangan.

4.2 Populasi, sampel dan besarnya sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian tahap pertama sampai dengan tahap kelima adalah semua medium cair yang mengandung ABS dengan berbagai kadar awal yaitu : 0,0 ppm; 5,0 ppm; 10,0 ppm; 15,0 ppm; 20,0 ppm; 25,0 ppm; 30,0 ppm; 75,0 ppm; 100,0 ppm. Medium cair tersebut terdapat di dalam wadah (erlenmeyer dan fermentor) yang tercampur homogen.

4.2.2 Sampel

Sampel dalam penelitian tahap pertama sampai dengan tahap kelima adalah medium cair mengandung ABS yang diambil dari medium degradasi pada setiap kadar ABS awal yaitu : 0,0 ppm; 5,0 ppm; 10,0 ppm; 15,0 ppm; 20,0 ppm; 25,0 ppm; 30,0

ppm; 75,0 ppm; 100,0 ppm yang tercampur homogen.

Pengambilan sampel dilakukan setiap tujuh hari sekali sampai dengan dua puluh delapan hari pengamatan, kecuali jika *ABS* telah habis sebelum 28 hari, pengambilan sampel dihentikan sejak habisnya *ABS* pada medium degradasi yang diberikan. Habisnya *ABS* dapat diprakirakan dari pengamatan dan/atau perhitungan pada penelitian pendahuluan.

Sampel diambil dengan teknik aseptik agar medium degradasi tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme lain selama pengambilan sampel.

4.2.3 Pengambilan sampel

4.2.3.1 Besar sampel pada penelitian tahap pertama

Pada penelitian tahap pertama medium degradasi yang terdiri dari sepuluh kadar *ABS* dan sembilan perlakuan jenis bakteri sehingga diperoleh sembilan puluh kombinasi perlakuan.

Setiap kombinasi perlakuan diambil sampelnya tiga kali sebagai ulangan sehingga jumlah seluruh sampel dua ratus tujuh puluh.

4.2.3.2 Besar sampel pada penelitian tahap kedua

Pada penelitian tahap kedua hasil degradasi dari kombinasi perlakuan penelitian tahap pertama yang berjumlah dua ratus tujuh puluh digunakan untuk mempengaruhi pertumbuhan

Escherichia coli 10^1 cfu/ml; 10^2 cfu/ml; 10^3 cfu/ml 10^4 cfu/ml; 10^5 cfu/ml; 10^6 cfu/ml masing-masing dengan tiga ulangan maka jumlah sampelnya menjadi lima ribu enam ratus tujuh puluh.

4.2.3.3 Besar sampel pada penelitian tahap ketiga

Pada penelitian tahap ketiga isolat yang telah terbukti paling efektif, efisien dan tidak toksik dan tidak patogen digunakan sebagai inokulum tunggal diperlakukan pada medium degradasi yang waktu retensinya (μ) paling tinggi dengan kombinasi perlakuan pH 7,0; 7,2; 7,4 dan suhu 26 °C, 28 °C, 30 °C.

Kombinasi perlakuan yang dilakukan masing-masing tiga ulangan, diperoleh jumlah sampel dua puluh tujuh.

4.2.3.4 Besar sampel pada penelitian tahap keempat

Pada penelitian tahap keempat kombinasi perlakuan terbaik dari penelitian ketiga bakteri yang paling efektif dan efisien dari penelitian tahap ketiga, kemampuan biodegradasinya ditingkatkan dengan memberikan aerasi 0,5 vvm, 1,0 vvm, 1,5 vvm, 2,0 vvm, 2,5 vvm masing-masing dengan tiga ulangan jadi ada lima belas sampel.

4.2.3.5 Besar sampel pada penelitian tahap kelima

Pada penelitian tahap kelima kombinasi perlakuan ter-

baik ditingkatkan kemampuan biodegradasinya dengan menstabilkan aktivitas kemampuan kerja biodegradasinya dengan cara mengamobilkan bakteri dengan Na-alginate dan karagenen.

Perlakuan masing-masing dengan tiga ulangan terdapat dua belas sampel.

Kombinasi perlakuan yang dilakukan masing-masing tiga ulangan, diperoleh jumlah sampel dua puluh tujuh.

4.3 Variabel penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

Variabel-variabel yang digunakan dalam penelitian pertama sampai dengan kelima:

Variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini ialah

- (1) Jenis bakteri untuk degradasi *ABS* dan interaksi antar jenis bakteri,
- (2) pH,
- (3) suhu, dinyatakan dalam °C,
- (4) waktu retensi (μ),
- (5) bahan pengamobil sel bakteri.

Variabel tergantung. Variabel tergantung dalam penelitian ini mmeliputi

- (1) **Hasil biodegradasi** yang diukur berdasarkan selisih kadar *ABS* dalam medium antara awal dan akhir fermentasi, dalam satuan ppm akhirnya dikonversikan ke dalam %.

- (2) **Interaksi**, ialah kerjasama antara dua atau lebih variabel bebas,
- (3) **Viabilitas *Escherichia coli***, ialah *Escherichia coli* yang mampu hidup didalam medium Agar Nutrien dalam perhitungan jumlah bakteri dengan cara Pengenceran Penugangan (*Total Plate Count*),
- (3) **Waktu retensi**, ialah hasil kecepatan pertumbuhan bakteri pada waktu konsentrasi medium telah mencapai V_{maks} .

Variabel random. Variabel random dalam penelitian ini ialah

- (1) **Teknik isolasi**, ialah cara memisahkan mikroorganisme dari habitatnya di alam untuk memperoleh mikroorganisme yang memiliki kemampuan biodegradasi terhadap ABS, kemudian menumbuhkannya menjadi piaraan murni di dalam medium buatan.

Isolasi dilakukan dengan menumbuhkan mikroorganisme pada cairan air sawah yang tercemar deterjen yang telah diencerkan ke dalam medium Agar Nutrien yang diperkaya dengan ABS 100 ppm. Pemurnian dilakukan secara berulang-ulang sampai diperoleh piaraan murni.

- (2) **Teknik identifikasi**, ialah cara mengklasifikasikan mikroorganisme yang belum diketahui namanya sampai diketahui nama spesiesnya.

Identifikasi bakteri dilakukan dengan mengamati mor-

fologi koloni, morfologi sel individual, hasil uji fermentasi gula-gula sederhana, pati, asam-asam amino, protein, lemak dan beberapa medium khusus, selanjutnya dilacak menggunakan buku *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* Edisi IX.

- (3) **Teknik inokulasi**, ialah cara memasukkan inokulum ke dalam medium degradasi. Inokulum dimasukkan ke dalam wadah (erlenmeyer, fermentor) secara aseptik yaitu suatu cara yang diusahakan agar inokulum yang dimasukkan dan medium degradasi yang diinokulasi tidak terkontaminasi segala jenis kehidupan beserta spora maupun bentuk dorman dari kehidupan.

Variabel moderator. Variabel moderator dalam penelitian ini ialah

- (1) **Umur bakteri**, ialah umur dalam jam dihitung sejak bakteri dipindahkan dari Medium mineral yang diperkaya dengan ABS 100 ppm berumur 24 jam agar ke dalam medium starter medium degradasi.
- (2) **Waktu isolasi**, ialah saat bakteri ditumbuhkan di laboratorium setelah waktu yang tidak diketahui lamanya berada di alam,
- (3) **Waktu identifikasi**, ialah waktu sejak pelaksanaan pekerjaan pengamatan sifat-sifat morfologi, fisiologi dan uji biokimia piaraan murni isolat mikroorganisme perombak ABS sampai diketahui nama jenisnya,

(4) Waktu inoculasi, ialah saat inoculum diinokulasikan ke dalam medium degradasi. Inoculasi dilakukan saat jumlah bakteri dalam starter telah mencapai 10^7 cfu/ml.

Variabel kendali. Variabel kendali dalam penelitian ini ialah

- (1) Medium isolasi, ialah Agar Nutrien yang diperkaya dengan ABS berkadar 100 ppm,
- (2) Medium untuk degradasi, ialah medium mineral diperkaya dengan ABS 100 ppm,
- (3) Metode pengukuran ABS, merupakan cara pengukuran kadar menurut Cliserry (1987).

4.3.2. Definisi operasional variabel bebas

Inokulum, ialah isolat tunggal *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Enterobacter gergoviae*; isolat ganda *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dengan *Enterobacter gergoviae*, dan *Enterobacter gergoviae* dengan *Staphylococcus epidermidis*, serta campuran tiga isolat *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Enterobacter gergoviae* serta isolat-isolat lain yang diisolasi dari sawah yang tercemar deterjen di Kelurahan Ketawanggede Kotamadya Dati II Malang, sselain yang telah ditemukan oleh Ekowati et al., (1992) di atas.

Isolat-isolat tersebut disimpan pada medium Agar Nutri-

en miring dengan ABS sebagai sumber karbon pada suhu 12°C. Setiap satu bulan dua kali dilakukan peremajaan (untuk Penelitian pertama), sedangkan untuk Penelitian ketiga inokulum merupakan isolat paling efektif, efisien, tidak toksik, dan tidak patogen yang berasal dari Penelitian pertama.

Bakteri jenis *Escherichia coli* ialah strain PH-aKK127707 HVL tidak patogen, koleksi Laboratorium Mikrobiologi Industri, Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (untuk Penelitian tahap kedua). Bakteri tersebut digunakan sebagai kuman uji untuk pemeriksaan toksisitas hasil degradasi.

Colony Forming Unit, ialah satuan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada medium Agar Nutrien, digunakan untuk perhitungan jumlah bakteri dengan metode Pengenceran Penuangan (*Total Plate Count*).

4.4 Bahan penelitian

4.4.1 Bahan kimia untuk identifikasi bakteri

Bahan kimia yang digunakan untuk identifikasi bakteri disajikan pada Tabel 4.1 di bawah ini,

Tabel 4.1 Bahan kimia yang digunakan untuk identifikasi bakteri

Nama	Kemurnian	Merek
Glucose	p.a	Oxoid
Fructose	p.a	Oxoid
Lactose	p.a.	Oxoid
Xylose	p.a.	Oxoid
Manose	p.a.	Oxoid
Adonitol	p.a.	Oxoid
Dulcitol	p.a.	Oxoid
Inositol	p.a.	Oxoid
Manitol	p.a.	Oxoid
Salisin	p.a.	Oxoid
β -galaktosidase	p.a.	Oxoid
Arginine	p.a.	Oxoid
Lysine	p.a.	Oxoid
Ornithine	p.a.	Merck
Tyrosine	p.a.	Merck
Gelatine	p.a.	Merck
Gliconate	p.a.	Merck
Triple Sugar Iron Agar	p.a.	Oxoid
Potassium Cyanide	p.a.	Oxoid
Malonate	p.a	Oxoid
Casein hidrolisate	p.a.	Oxoid
Phenol red	p.a.	Merck
Bromo thymol blue	p.a.	Merck
Kovaks reagen's	p.a.	Oxoid
Simmon's Citrate Agar	p.a.	Oxoid
Propionic acid	p.a.	Oxoid
Nutrient gelatin	p.a.	Difco
H_2O_2	p.a.	Merck
Nutrient Agar	p.a.	Oxoid
Milk agar	p.a.	Oxoid
Palleroni medium	p.a.	Oxoid
Doudoroff medium	p.a.	Oxoid
Luisetti medium	p.a.	Oxoid
King medium	p.a.	Oxoid
Cray medium	p.a.	Oxoid
Thornley medium	p.a.	Oxoid
Leifson medium	p.a.	Oxoid
Sierra medium	p.a.	Oxoid
Sodium Chloride	p.a.	Merck
akuabides		Lab.Bio-mol FMIPA Unibraw
Alkohol 70%.	70 %	

4.4.2 Bahan kimia untuk penelitian eksperimental

4.4.2.1 ABS dan LAS

ABS dan *LAS* merupakan surfaktan teknis berkadar 95 % diperoleh dari PT Aktif Indonesia Indah Surabaya.

4.4.2.1 Larutan *methylene blue*

Larutan *methylene blue* dibuat dengan melarutkan 100 mg *methylene blue* ke dalam 100 ml akuabides. Dari larutan tersebut dipindahkan 30 ml ke dalam labu ukur 1000 ml. Ditambah 41 ml H_2SO_4 6N dan 50 g $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ selanjutnya ditambah akuabides sampai 1000 ml dan dikocok sampai semua bahan larut.

4.4.2.2 Indikator phenol phtalein 5%

Pembuatan dilakukan dengan cara menimbang 1 g Phenol Phtalein, selanjutnya diencerkan dengan alkohol sampai 100 ml.

4.4.2.3 Pembuatan H_2SO_4 6N

Larutan H_2SO_4 6N dibuat dengan memipet 16,68 ml H_2SO_4 pekat p.a. kemudian diencerkan menjadi 100 ml dan dikocok sampai homogen.

Pekerjaan tersebut dilakukan berdasarkan perhitungan :

$$Vol = v.m.f.$$

Keterangan :

vol = volume H_2SO_4 pekat p.a.

v = volume yang akan dibuat

m = molaritas yang akan dibuat

H_2SO_4 6N = H_2SO_4 3M, karena N = 2M

f = 0,556

Vol = 100 ml. 3M. 0,0556

= 16,68 ml

4.4.2.4 Larutan Pencuci (*Wash Solution*)

Larutan pencuci dibuat dengan cara memipet H_2SO_4 6N sebanyak 41 ml kemudian diencerkan dengan akuabides sampai dengan 500 ml. Larutan tersebut ditambah 50 g $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ kemudian diencerkan dengan akuabides sampai 1000 ml.

3. Larutan Standar ABS

Dibuat dengan memipet larutan stock 1000 ppm sesuai dengan kebutuhan kemudian diencerkan menggunakan akuabides. Perhitungan dilakukan berdasarkan rumus $V_1N_1 = V_2N_2$.

Adapun larutan stock 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang 1,0417 g ABS bahan dilarutkan dalam akuabides sampai 1000 ml.

4.5 Alat penelitian

4.5.1 Alat yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi

Alat dan bahan yang digunakan disajikan pada Tabel 4.2 di bawah,

Tabel 4.2 Daftar alat yang digunakan dalam penelitian

Nama	Merek dan Type	Spesifikasi
Mikroskop	Nikon type 102	double beam
Transformer	Nikon model XN	pengatur cahaya
Gelas benda	-	-
Gelas benda	Pyrex	-
<i>Hanging drop</i>	-	-
Gelas penutup	-	-
Kawat inokulasi	-	bermata bundar
Tabung reaksi	Pyrex	berisi 20 ml
Cawan Petri	Steriplan	diameter 15 cm, tinggi 6,3 cm dan tebal 3 mm
pinset	-	-
pipet	-	-
neraca analitis	Sartorius	digital
lampa spiritus	-	-

4.5.2 Alat untuk mengukur kadar ABS

Alat yang digunakan untuk mengukur kadar ABS disajikan pada Tabel 4.3. di bawah,

Tabel 4.3 Daftar alat yang digunakan untuk mengukur kadar ABS

Nama	Merek dan Type Buatan Pabrik	Spesifikasi
Autoklaf	SMIC WS-284-64	Kapasitas vol. 5 l
Inkubator	Memmert GTR 0214	digital
Pengocok	Memmert UM 400	digital
pH meter	Vortex	-
	Leybold Didactic	digital

Lanjutan halaman 57

Shaker water-bath	GMBH D 3006 Burg-wedel 1 1083 GMBH West Germany	300 watt, 220 volt
Thermostat	Thermo-rite TR-90 Hirayama Manifac turing Coorpora tion Tokyo Japan	60 watt, 220 volt digital
Termometer	Leybold Didactic GMBH 666187 West Germany	75 watt, 220 volt digital
Pompa vakum	Gast DOA-184-BN S/N 0394	100 watt, 220 volt mampu menghisap, me niup
Seitz filter	Schott Duran 24 316 32	100 watt, 220 volt
Membran filter	Schleicher	diameter 0,45 µm
Sentrifugator	MLW T-5	100 watt, 220 volt
Magnetic stir	SBS A-06 seria A	jumlah tangkai ta-bung empat
Spektrofoto meter	Milton Roy West Germany	Jenis Spektronic 501 u.v. - vis, digital double beam
Mikroskop	Nikon 102 Japan	-
Hand counter	Hope No. 8-004 Japan	-
Tabung reaksi	Pyrex	-
Neraca analitis	Sartorius	100 watt, 220 volt
Erlenmeyer	Pyrex	Volume 300 ml, 500 ml dan 1000 ml
300 ml, 500ml		-
1000 ml		-
Gelas pengaduk	-	Kapasitas volume 2 liter. Kondisi faktor lingkungan dalam tabung dapat diatur konstan
Fermentor	-	

4.6 Lokasi dan waktu penelitian

4.6.1 Lokasi penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Sumbersari Malang. Sebagai tempat untuk melakukan verifikasi kebenaran hasil identifikasi

digunakan Laboratorium Bakteriologi Jurusan Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor Jl. Taman Kencana 3 Bogor.

4.6.2 Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juli 1995 sampai dengan bulan Januari 1997.

4.7 Prosedur pengumpulan data

4.7.1 Prosedur pengumpulan data penelitian awal isolasi dan identifikasi mikroorganisme pengurai ABS

4.7.1.1 Prosedur pengumpulan data isolasi mikroorganisme pengurai ABS

Isolasi mikroorganisme pengurai *ABS* dilakukan dengan menanamkan suspensi mikroorganisme yang berasal dari air sawah yang tercemar deterjen yang diperoleh dari Kelurahan Ketawanggede Kotamadya dati II Malang ke dalam medium Agar Nutrien diperkaya *ABS* berkadar 100 ppm.

Pemurnian dilakukan dengan menggoreskan koloni-koloni yang tumbuh dalam cawan Petri secara berulang-ulang sampai koloni tampak seragam dan tidak ada koloni lain yang menghimpit koloni yang dimurnikan. Selanjutnya dilakukan pengamatan mikroskopis sampai sel-sel mikroorganisme tampak seragam.

Piaraan tersebut diujikan mada medium mineral cair yang diperkaya dengan *ABS* berkadar 100 %, jika tampak ada pertumbuhan maka diketahui bahwa mikroorganisme tersebut dapat memecahkan *ABS*.

buhan maka isolat tersebut dikembangkan sebagai bahan penelitian.

4.7.1.2 Prosedur pengumpulan data identifikasi mikroorganisme pengurai ABS

Identifikasi mikroorganisme yang diperoleh dari hasil isolasi dilakukan sebagai berikut :

- (1) Identifikasi secara mikroskopis meliputi : bentuk dasar, ukuran, adanya spora, adanya flagela, reaksi terhadap pewarnaan-pewarnaan Gram dan ketahanan terhadap asam;
- (2) Morfologi Koloni meliputi : bentuk, ukuran, tekstur, warna dan konsistensi,
- (3) Sifat-sifat biokimia meliputi : Pemanfaatan beberapa sumber karbon, terjadinya perubahan pH dengan perubahan warna indikator Phenol Red atau Bromo Thymol Blue pada berbagai jenis gula sederhana, pati, asam-asam amino, protein, asam-asam lemak, lemak, yang digunakan untuk identifikasi bakteri, reduksi nitrat, berbagai medium khusus dan lain-lain.

Selanjutnya data yang diperoleh digunakan untuk melakukan identifikasi menggunakan buku *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* edisi IX. Penggunaan buku ini didasarkan pada kenyataan bahwa buku inilah yang paling lengkap dan dipergunakan secara luas di seluruh dunia.

4.7.2 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap pertama : pengaruh jenis bakteri dan kadar surfaktan ABS terhadap kemampuan biodegradasinya

Pada penelitian pertama ada tiga variabel yang dikumpulkan datanya yaitu persentase degradasi, waktu degradasi dan laju pertumbuhan spesifik.

4.7.2.1 Prosedur pengumpulan data persentase degradasi

Persentase degradasi diukur dengan mengurangi kadar ABS kontrol dengan sisa kadar ABS dikalikan 100 %.

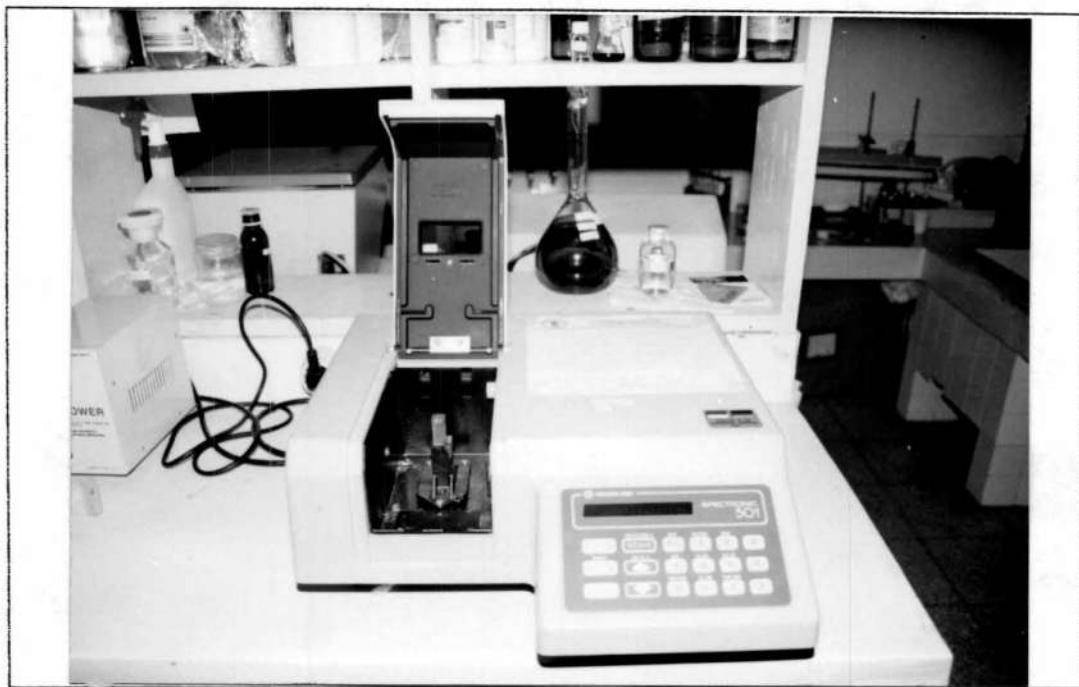
Kadar alkylbenzene sulfonate dalam medium diukur dengan metode *Methylene Blue Active Substance (MBAS)* menurut Cliserry (1987) dengan urut-urutan prosedur kerja sebagai berikut :

Contoh (sudah disaring dengan Seitz Filter beralaskan membran filter) sebanyak 0,25 ml, dihomogenkan dengan Vortex selama 30 detik, selanjutnya diencerkan menjadi 25 ml dengan akuabides menggunakan mikropipet.

Larutan tersebut kemudian ditetes dengan 1 tetes NaOH 1 N, 1 tetes indikator phenol phtalein dan 1 tetes H_2SO_4 1 N (sampai warna merah muda hilang).

Selanjutnya ditambah 5 ml kloroform dan 10 ml *methylene blue*, dikocok menggunakan *shaker water-bath* pada 30 rpm selama 30 detik. Dipindahkan ke labu pisah, dibiarkan sampai fase terpisah.

Lapisan kloroform dialirkan pada suatu botol. Ekstraksi diulangi 2 kali dengan masing-masing menambahkan 5 ml klo-



Gambar 4.1 Spektronic-501

roform, sehingga hasilnya tercampur dalam botol tersebut.

Hasil ekstraksi ditambah 25 ml larutan pencuci (*wash solution*), kemudian dikocok menggunakan *shaker water-bath* selama 30 detik.

Lapisan kloroform disaring menggunakan *glass-wool*, dikumpulkan pada labu ukur 25 ml. *Glass-wool* dibilas dengan kloroform hingga volume kloroform dalam labu ukur mencapai tanda batas.

Larutan yang sudah dihomogenkan diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer pada panjang gelombang 652 nm.

$$\text{Persentase degradasi} = (A_k - A_p) \times A_k^{-1} \times 100 \%$$

Keterangan :

A_k = Absorbansi kontrol

A_p = Absorbansi perlakuan

Absorbansi sudah dikonversikan ke kadar ABS.

4.7.2.2 Prosedur pengumpulan data waktu degradasi

Waktu degradasi diukur dalam hari berdasarkan pengamatan langsung habisnya kadar ABS selama 28 hari pengamatan.

Kadar ABS yang belum habis selama 28 hari waktu degradasi dihitung menggunakan konversi perhitungan yang diperoleh dengan 100 (dari 100 %) dibagi persentase kadar ABS dikalikan 28.

4.7.2.2 Prosedur pengumpulan data laju pertumbuhan spesifik mikroorganisme

Laju pertumbuhan spesifik mikroorganisme yang digunakan untuk penelitian dihitung dengan rumus :

$$\mu = \mu_{\text{maks}} \frac{S}{K_S + S}$$

μ = laju pertumbuhan spesifik

S = Konsentrasi substrat

K_S = Konstanta yang sebanding pada konsentrasi substrat

bila $\mu = \mu_{\text{maks}}$

4.7.3 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap kedua : uji hasil biodegradasi terhadap viabilitas *Escherichia coli*.

Viabilitas *Escherichia coli* yang digunakan untuk uji toksisitas hasil degradasi diukur dengan cara pengenceran penuangan (*total plate count*).

4.7.4 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap ketiga : pengaruh suhu dan pH terhadap kemampuan biodegradasi bakteri terpilih dari penelitian tahap pertama dan tahap kedua

Data yang dikumpulkan pada penelitian ketiga adalah sisa kadar *ABS* dalam medium atau waktu (dalam hari) habisnya kadar *ABS* seperti pada penelitian pertama.

4.7.5 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap keempat : pengaruh bakteri dan pemberian aerasi terhadap kemampuan biodegradasi bakteri terpilih

Data yang dikumpulkan pada penelitian keempat adalah sisa kadar *ABS* dalam medium atau waktu (dalam hari) habisnya kadar *ABS* seperti pada penelitian pertama.

4.7.6 Prosedur pengumpulan data penelitian tahap kelima : pengaruh penggunaan Na-alginat dan karagenen terhadap kemampuan biodegradasi bakteri terpilih dalam sistem kultur kontinyu

Data yang dikumpulkan pada penelitian kelima adalah sisa kadar *ABS* dalam medium atau waktu (dalam hari) habisnya kadar *ABS* seperti pada penelitian pertama.

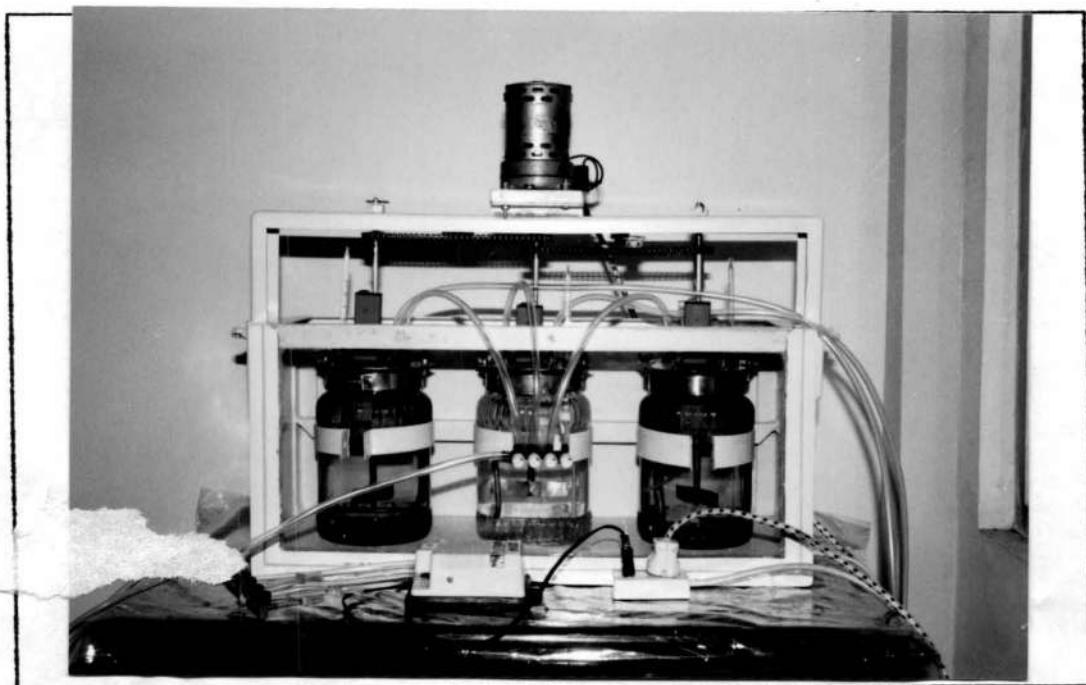
4.8 Cara analisis data

Untuk menguji hipotesis dilakukan analisis varian

percobaan faktorial untuk masing-masing parameter. Jika ada perbedaan perlakuan pengujian dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) 1 % menggunakan *Minitab 9.2 for Window*. Digunakan perangkat tersebut karena pada saat perhitungan statistik hanya *Minitab 9.2 for Window* yang mampu mengeluarkan hasil perhitungan dibandingkan *SPSS* dan *SAS for Window*.

Hasil pengujian statistik tersebut digunakan untuk menentukan ada tidaknya interaksi antara perlakuan-perlakuan pada penelitian pertama, kedua, ketiga, keempat dan kelima terhadap sisa kadar *ABS* dalam medium.

Adapun gambar fermentor yang digunakan untuk penelitian 3,4 dan 5 disajikan pada Gambar 4.2 di bawah ini,



Gambar 4.2 Fermentor