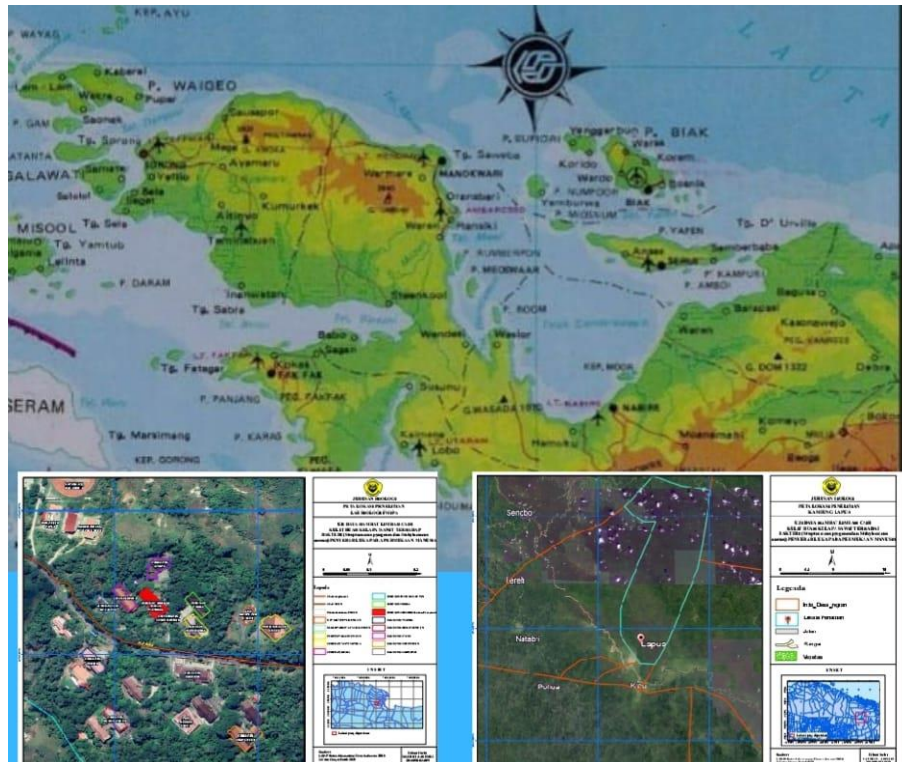


BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium mikrobiologi, Jurusan biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Cenderawasih dari bulan agustus hingga september 2023.



Gambar. 3.1. Peta lokasi kampung lapua kecamatan kaureh Kabupaten Jayapura

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah limbah cair kulit buah kelapa sawit hasil panen di perkebunan kelapa sawit di Kampung Lapua Kecamatan Kaureh Kabupaten Jayapura.

3.2.2 Sampel

Sampel adalah limbah cair kulit Buah kelapa sawit yang diambil dari hasil panen diperkebunan sebanyak 1 kg yang akan diekstrak bagian kulitnya.

3.3 Alat dan Bahan.

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

Kamera, alat tulis, Oven, autoklaf, inkubasi, hot plate, batang pengaduk, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung, pinset, penggaris, jarum ose, lampu spiritus, aluminium foil, kain kasa, dan masker mulut.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Limbah cair kulit Buah Kelapa Sawit(*Elaeis guineensis* Jacq.), media *Nutrient Agar* (NA), bakteri (*Staphylococcus aureus*), *disk blank*, alkohol 70%, NaCl, dan aquadest steril,

3.4 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap yaitu 5(lima) perlakuan dan 3(tiga) ulangan dalam 100 ml formulasi uji daya hambat cair kulit buah kelapa sawit yang transparan.

3.5 Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini terdapat beberapa tahapan kerja yaitu: proses pengumpulan limbah cair buah kelapa sawit, pembuatan larutan ekstrak limbah cair kulit buah kelapa sawit, pembuatan medium pertumbuhan bakteri, Peremajaan kultur *Staphylococcus aureus* dan pembuatan medium uji daya hambat, pengamatan dan perhitungan daya hambat.

3.5.1 Proses pengumpulan limbah cair kulit buah kelapa sawit

Ekstrak kulit buah kelapa sawit sebanyak 1 kg limbah dimasukan ke dalam bejana maserasi yang ditambahkan etanol 70% sebanyak 2000 mL, kemudian sampel diaduk. Penggantian cairan penyari dilakukan sebanyak 3 hari. Ekstraksi etanol 70% yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan cairan

penyarinya dengan menggunakan rotavator dan dimasukkan kedalam waterbath hingga diperoleh ekstrak kental (Dirjen POM, 2000).

3.5.2 Pembuatan medium pertumbuhan bakteri

Medium NA (Nutrient Agar) dibuat dengan menimbang sebanyak 5,2 gram dilarutkan dengan air sulung 1000 ml dan masukan ke dalam gelas beker 1500,000ml kemudian di panaskan sambil diaduk setelah dilarutkan masukan ke dalam 2 labu Erlenmeyer setril dan dimasukan masing-masing 1000 ml kemudian air panas di tutup dengan aluminium foil dan disetrilkan. Inokulasi bakteri 10ml dituangkan ke dalam petridis setril untuk di gunakan dalam uji daya hambat juga dibuat medium NB (Nutrien Bruoth atau kaldu nutrisi) dengan cara yang sama. (Fifendy, 2017).

3.5.3 Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*

Diambil satu ose kultur bakteri *Staphylococcus aureus* pada agar miring lalu digoreskan pada media Nutrient agar (NA) steril untuk di biakan. Selanjutnya diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Kultur kerja berupa suspensi *Staphylococcus aureus* diuji dan dibandingkan kekeruhannya dengan larutan standar 0,5 McFarland menggunakan turbidimeter hingga menunjukan nilai yang sama 73 ± 1 NTU. Hal tersebut menunjukan bahwa jumlah koloni sel bakteri *Staphylococcus aureus* sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. (Sarosa et al. 2018).

3.5.4 Uji daya hambat aktivitas antibakteri

Disiapkan 8 cawan petri yang berisikan media *Nutrient agar* (NA) yang telah disetrilkan, selanjutnya diambil suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan lidi kapas setril dan dioleskan secara merata pada permukaan medium agar. Kertas cakram dicelupkan selama 5 menit ke dalam limbah cair kulit buah kelapa sawit dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30% serta kontrol positif yang sebelumnya telah dilarutkan dengan aquadest. Kertas cakram yang dicelupkan kedalam sediaan kemudian diletakan diatas media agar. Perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali dimana media agar pertama berisi tiga buah kertas

cakram yang telah direndam pada limbah cair kulit buah kelapa sawit 10%, dilakukan pengulangan untuk media agar kedua dan ketiga dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 20% dan 30%. Kemudian media agar kedelapan berisi satu kontrol positif. Setelah itu media inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. zona yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong sebagai data kualitatif. Ukuran yang diperoleh kemudian dirata-rata diameter zona bening dalam satuan mm.

3.5.5 uji daya hambat

Uji daya hambat dilakukan menggunakan metode cakram disk menurut Darsono dan Artemisia (2003) sebagai berikut:

1. Bakteri aktif sebanyak 1ml diambil dengan menggunakan mikropipet, dimasukan dengan cawan petir.
2. Suspensi bakteri dihomogenkan dan diratakan dengan spreader pada media uji
3. Limbah cair kulit buah kelapa sawit dengan konsentrasi (10%, 20% dan 30%) yang di perlakukan dalam cakram disk yang di letakan pada permukaan media uji
4. Cawan petir dibungkus menggunakan plastik *Warp* lalu didiamkan pada suhu 37°C selama 24 jam.
5. Zona bening yang terbentuk disekitar cakram disk diamati dan diukur menggunakan jangka sorong sesuai dengan kategori zona hambat.

3.5.6 pengamatan dan perhitungan daya hambat

Percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan pengujian antibakteri menggunakan metode difusi cakram disk dengan RAL (Rancangan Acak Lengkap) yaitu 4 perlakuan dan 3 ulangan yaitu sebagai berikut: P1(Larutan limbah cair kulit buah kelapa sawit 10%),P2 (Larutan limbah cair kulit buah kelapa sawit 20%), dan P3(Larutan limbah cair kulit buah kelapa sawit 30%).

3.6 Analisis Penelitian

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan sidik ragam(ANOVA) sesuai Rancangan Acak Lengkap(RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan, apabila terdapat perbedaan yang sangat nyata pada tiap perlakuannya maka dapat dilanjutkan dengan menggunakan uji jarak berganda Duncan.