

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Mei 2012 bertempat di Laboratorium Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Biota Uji

Biota uji yang digunakan dalam penelitian adalah *Nannochloropsis* sp. yang dibudidayakan pada skala laboratorium di Balai Basar Pengembangan Budidaya Laut Lampung (BBPBL) dengan kepadatan awal berkisar 3×10^6 sel/ml.

3.2.2. Media Uji

Media yang digunakan dalam budidaya *Nannochloropsis* sp. adalah air laut steril serta penambahan pupuk sebagai sumber nutrisi. Pupuk yang digunakan dalam penelitian adalah TNF.

3.2.3. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian meliputi: perlengkapan aerasi, toples ukuran 3 L, pipet tetes, haemocytometer, mikroskop, lampu TL 40 watt, indikator pH, DO meter, dan termometer. Sedangkan bahan yang digunakan meliputi: air laut steril, pupuk *Conwy* dan pupuk cair TNF.

3.3. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) model tetap yang terdiri atas perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Rincian perlakuan tersebut adalah sebagai berikut :

Perlakuan A : Penambahan pupuk *Conwy* 1 ml/L kedalam Air laut untuk budidaya *Nannochloropsis* sp.

Perlakuan B : Penambahan pupuk TNF 1 ml/L kedalam Air laut untuk budidaya *Nannochloropsis* sp.

Perlakuan C : Penambahan pupuk TNF 5 ml/L kedalam Air laut untuk budidaya *Nannochloropsis* sp.

Perlakuan D : Penambahan pupuk TNF 10 ml/L kedalam Air laut untuk budidaya *Nannochloropsis* sp.

Model Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan : Y_{ij} = Data pengamatan Perlakuan ke-i, ulangan ke-j
 μ = Nilai tengah umum
 τ_i = Pengaruh pemberian pupuk TNF ke-i
 ϵ_{ij} = Galat percobaan Perlakuan ke-i, ulangan ke-j
 i = perlakuan A, B, C dan D
 j = 1, 2, 3

3.4. Prosedur Penelitian

Langkah yang dilakukan terbagi atas tahap-tahap sebagai berikut:

3.4.1. Sterilisasi

Sterilisasi terbagi atas 2 proses, yaitu:

1. Sterilisasi alat

Tahap awal dilakukan dengan menyiapkan dan melakukan sterilisasi pada perangkat alat dan bahan yang akan digunakan selama penelitian. Sterilisasi peralatan dan bahan yang akan digunakan dapat dilakukan dengan cara:

1. Perendaman dalam larutan kaporit/chlorine 150 ppm.
2. Autoklaf pada temperatur 121⁰ C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit.

2. Sterilisasi media (Air)

Sterilisasi air laut dilakukan melalui 3 tahapan, fisik, mekanik kemudian kimiawi. Sterilisasi pertama secara fisik dengan menyaring air laut dengan filter air (pasir silica, arang dan zeolit), dilanjutkan secara mekanik dengan menampung air pada bak yang dilengkapi dengan perangkat ultraviolet (UV), kemudian dilanjutkan dengan filter kimiawi dengan penebaran larutan Chlorine 60 ppm kemudian dinetralkan dengan Natrium Thiosulfat 20 ppm.

3.4.2. Persiapan wadah dan media penelitian

Penelitian dilakukan di dalam laboratorium Budidaya Perairan Universitas Lampung. Wadah yang digunakan adalah toples dengan volume 3 L. Persiapan diawali dengan sterilisasi kemudian pengisian wadah dengan air laut dengan salinitas 34 ppt,

kemudian dilanjutkan dengan penebaran pupuk. Setelah persiapan media selesai, media kemudian diaerasi selama 24 jam. Fungsi aerasi untuk menghomogenkan pupuk dengan air sehingga tercampur sempurna. Setelah aerasi 24 jam, dilakukan penebaran *Nannochloropsis* sp.. Kondisi media penelitian dijaga tetap optimum bagi pertumbuhan *Nannochloropsis* sp hingga fase kematian.

3.5. Parameter yang diamati

Penelitian dilakukan selama 7 hari dengan fotoperiodisme terang : gelap = 12:12 jam dibawah penerangan lampu TL 40 watt dan Kepadatan Awal Inokulum (KAI) 3×10^6 sel/ml. Berikut adalah parameter pertumbuhan yang akan diamati:

3.5.1. Perhitungan kepadatan plankton

Pengamatan dan perhitungan kepadatan *Nannochloropsis* sp diulang sebanyak 3 kali tiap Aplikasi dan dilakukan setiap 6 jam sekali. Metode penghitungan kepadatan *Nannochloropsis* sp. adalah sebagai berikut:

1. Diambil sampel media sebanyak 1 ml dengan pipet tetes
2. Sampel media diteteskan pada Haemocytometer, kemudian diamati menggunakan mikroskop
3. Dihitung populasi dengan cara mengambil 5 titik sampel, dirata-ratakan kemudian dikalikan dengan 25 kotak dikalikan 10^4 .

Perhitungan jumlah *Nannochloropsis* sp. menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10x10 dengan menggunakan rumus:

$$\frac{K1+K2+K3+K4+K5}{5} \times 25 \cdot 10^4$$

K1-K5 = jumlah *Nannochloropsis* sp. dalam kotak hitungan ke 1^s/d 5

Selain kepadatan sel, dihitung pula kecepatan laju pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

dengan persamaan:

$$K = \frac{\ln K_t - \ln K_0}{T_t - T_0}$$

Keterangan:

- K = Kecepatan Laju Pertumbuhan
- K_t = Kepadatan sel waktu ke t
- K₀ = Kepadatan sel waktu ke 0
- T_t = Waktu pengamatan ke t
- T₀ = Waktu pengamatan ke 0

3.5.2. Diameter Sel *Nannochloropsis* sp.

Diameter tubuh *Nannochloropsis* sp. diamati setiap 6 jam bersamaan dengan pengamatan kepadatan, pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pupuk TNF terhadap pertumbuhan diameter tubuh *Nannochloropsis* sp.. Diameter tubuh *Nannochloropsis* sp. diukur menggunakan mikrometer. Metode perhitungan diameter sel adalah sebagai berikut:

1. Diambil 1 ml dengan pipet tetes
2. Sampel ditetaskan pada preparat dan diukur dengan bantuan mikrometer yang diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 400 x.
3. Dihitung diameter sel *Nannochloropsis* sp menggunakan mikrometer sebanyak 5 sampel setiap aplikasi, kemudian dirata-ratakan.

3.5.3. Kualitas air (Salinitas, pH, Suhu dan DO)

Data kualitas air yang akan diamati meliputi; salinitas, pH, suhu dan DO media budidaya. Adapun alat yang digunakan yaitu: refraktometer sebagai pengukur salinitas, Indikator pH sebagai pengukur pH, thermometer sebagai pengukur suhu dan DO meter sebagai pengukur DO. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap 24 jam sekali setelah biota uji ditebar kedalam media budidaya sampai fase kematian.

3.6. Analisis Data

Perbedaan laju pertumbuhan antar aplikasi dianalisis dengan sidik ragam dan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) pada selang kepercayaan 95%.