III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Januari 2012 selama 5 hari pengamatan di Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (BBPBL) Hanura, Lampung. Sebelum dilakukan penelitian telah dilaksanakan uji pendahuluan pada bulan November 2011.

B. Materi Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan adalah selang dan aerasi, toples 3L (9 buah), saringan, haemocytometer, mikroskop, pH meter, ember, kertas saring, luxmeter, lampu TL 40 watt, pipet tetes, tissue, gelas ukur dan kain satin.

2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah air laut steril, alkohol, pupuk Conway dan biota uji. Biota uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nannochloropsis* sp. yang dikultur dengan skala laboratorium di BBPBL dengan kepadatan $35x10^5$ sel/ml dengan volume air 2 L.

3. Media Uji

Media yang digunakan dalam kultur *Nannochloropsis* sp. Berbentuk cair atau larutan yang tersusun dari senyawa kimia (pupuk) yang merupakan sumber nutrien untuk keperluan hidup. Pupuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah Conway. Menurut Langroudi (2010), media Conway memiliki unsur yang diperlukan *Nannochloropsis* sp. untuk tumbuh, sehingga media Conway dapat digunakan sebagai media kultur *Nannochloropsis* sp. Komposisi pupuk dan komposisi *trace metal* pupuk Conway dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Komposisi Pupuk Conway Satu Liter Fitoplankton Skala Semi Massal

No	Bahan Kimia	Komposisi
1	$FeCl_3$. $6H_2O$	1,3 gram
2	$NaNO_3/KNO_3$	100/116 gram
3	Na_2 EDTA	45 gram
4	Na_2HPO_4	20 gram
5	$MnCl_3$	0,36 gram
6	H_2BO_3	33,6 gram
7	Vitamin	1 ml
8	Aquades	1 liter
9	Trace metal*	1 ml

Sumber : Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut, Lampung

Tabel 2. Komposisi *Trace Metal Solution* pada Conway

No	Bahan Kimia	Pupuk Conway
1	$ZnCl_2$	2,1 gram
2	$CuSO_4$. $5H_2O$	2,0 gram
3	$CoCl_2$. $6H_2O$	2,0 gram
4	$(NH_4)6$. M_7O_{24}	0,9 gram
5	Aquabides	100 ml

Sumber : Laboratorium Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali.

C. Rancangan Penelitian.

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Perlakuan tersebut adalah sebagai berikut :

Ket : Perlakuan A ⟶ 12 jam terang :12 jam gelap

Perlakuan B ⟶ 18 jam terang : 6 jam gelap

Perlakuan C ⟶ 6 jam terang : 18 jam gelap

Setiap perlakuan dan ulangan diletakkan dalam satu ruangan dengan menggunakan rak. Pada rak tersebut diletakkan masing-masing 3 buah toples kultur dan diberikan masing-masing perlakuan yang berbeda yaitu 18T:6G, 12T:12G dan 6T:18G. Pada keadaan gelap toples ditutup dengan menggunakan kertas karton yang berwana hitam dan lampu TL 40 W dimatikan. Pada saat terang kertas karton yang menutupi toples tersebut dibuka kembali dan lampu TL di hidupkan (Lampiran 1).

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

$$\mathbf{Yij = \mu + \tau i + \varepsilon ij}$$

Ketergan :
- Yij = Data pengamatan perlakuan ke-i, ulangan ke-j
- μ = Nilai tengah umum
- τi = Pengaruh perbedaan fotoperiod ke-i
- εij = Galat percobaan perlakuan ke-i, ulangan ke-j
- i = 1, 2, 3
- j = 1, 2,

Untuk menguji perbedaan antar perlakuan digunakan analisis ragam (Anova) pada selang kepercayaan 95% dan akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada selang kepercayaan 95%.

D. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian dilakukan dengan cara menyiapkan seluruh alat dan bahan yang akan digunakan untuk penelitian, kemudian dilakukan sterilisasi alat dan bahan. Sterilisasi air laut yang dilakukan pada penelitian ini adalah melalui penyaringan dengan menggunakan plankton net ukuran 15 mikron dan dilanjutkan dengan proses perebusan sampai mendidih. Sterilisasi alat penelitian dilakukan dengan pencucian sampai bersih dan perebusan, kemudian di semprotkan dengan alkohol dan di diamkan sampai kering.

2. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui pola pertumbuhan *Nannochloropsis* sp dengan fotoperiod yang berbeda. media kultur diberi pupuk dan diaerasi selama setengah jam terlebih dahulu sebelum biota dibiakkan dengan kepadatan $35x10^5$ sel/ml.

Nannochloropsis sp. yang dikultur dimasukkan ke dalam toples kemudian diletakkan dalam rak kultur dan diberi pencahayaan dari 2 buah lampu TL masing-masing berkekuatan 40 watt dengan intensitas cahaya 4500-4520 lux. Lampu diletakkan sejajar dibelakang rak. Sebelum melakukan kultur maka air laut yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu dan diberi aerasi selam 1-2 hari. *Nannochloropsis* sp. yang dikultur dimasukkan ke dalam toples 3L dan diletakkan diatas meja kultur. Pengamatan pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* dilakukan setiap 6 jam sekali tujuannya adalah untuk menentukan kapan terjadinya fase lag hingga kematian. Data pertumbuhan yang diperoleh akan

digunakan untuk acuan pengambilan sampel karbohidrat pada fase lag, fase awal stasioner dan fase akhir stasioner.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan, diperoleh hasil waktu terjadinya fase pertumbuhan sebagai berikut (Tabel 3).

Tabel 3. Waktu terjadinya fase pertumuhan *Nannochloropsis* sp. yang dikultur dengan fotoperiod yang berbeda selama 5 hari kultur.

Perlakuan	Fase (jam)		
	Lag	Awal stasioner	Akhir stasioner
6T:18G	Pada jam ke-12	Pada jam ke-102	Pada jam ke-114
12T:12G	Pada jam ke-12	Pada jam ke-78	Pada jam ke-96
18T:6G	Pada jam ke-12	Pada jam ke-60	Pada jam ke-72

3. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan untuk pengambilan sampel karbohidrat *Nannochloropsis* sp. *Nannochloropsis* sp. dikultur dan diberi pupuk Conway dengan fotoperiod yang berbeda. Pengambilan sampel dilakukan pada fase lag, fase awal stasioner, dan fase akhir stasioner. Pengambilan sampel fase lag perlakuan 6T:18G diambil pada jam ke-12, fase awal stasioner diambil pada saat jam ke- 102 dan fase akhir stasioner diambil pada saat jam ke-114. Pengambilan sampel perlakuan 12T:12G pada fase lag diambil pada jam ke-12, fase awal stasioner jam ke-78, dan fase akhir stasioner diambil pada saat jam ke-96. Pengambilan sampel perlakuan 18T:6G pada fase lag diambil pada saat jam ke-12, fase awal stasioner jam ke-60 dan fase akhir stasioner diambil pada saat jam ke-72. Sampel *Nannochloropsis* sp. diambil dengan menggunakan pipet tetes sebanyak 60 ml dan disimpan dalam botol kecil, kemudian dilakukan uji proxsimat untuk mengetahui kadar karbohidrat *Nannochloropsis* sp.

E. Parameter

1. Penghitungan Kepadatan *Nannochloropsis* sp.

Perhitungan jumlah *Nannochloropsis* sp. dilakukan dengan menggunakan haemocytometer dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10 dengan menggunakan rumus yang dikembangkan oleh BBPBL:

$$\frac{K1 + K2 + K3 + K4 + K5}{5} X\ 25.10^4\ sel/ml$$

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

Kecepatan pertumbuhan (k) mikroalga *Nannochloropsis* sp. pada penelitian dihitung dengan menggunakan rumus berikut menurut Gotelli (1995) *dalam* Andersen 2005:

$$k = \frac{\ln Nt - \ln N_0}{T_t - T_0}$$

Keterangan :

k = Kecepatan pertumbuhan

N_t = Kepadatan popilasi pada waktu t

N_0 = Kepadatan populasi sel pada waktu 0

T_0 = Waktu awal

T_t = Waktu pengamata.

2. Pengujian Kandungan Karbohidrat

Pengujian kandungan karbohidrat *Nannochloropsis* sp. dilakukan dengan metode *by Difference* (Sodarmaji,dkk,1981). Pengertian by difference yaitu selisih berat bahan total dengan jumlah kadar protein, kadar lemak, air, dan abu.

Dalam analisis proksimat (perhitungan kasar) kadar karbohidrat dihitung dengan persentase yang tersisa setelah semua komponen lain telah diukur (*total carbohydrate by difference*), yaitu dengan perhitungan sebagai berikut:

% Karbohidrat = 100% - % (protein+ lemak + air + abu)

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian berupa kepadatan sel dan kecepatan pertumbuhan, data kepadatan sel tersebut selanjutnya dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) program SPSS 13 (Triton, 2005). Apabila hasil uji antar perlakuan berbeda nyata maka akan dilakukan uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) dengan selang kepercayaan 95% (Pramesti, 2011).