

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan November sampai dengan Desember 2011 bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah kertas indikator pH (Merck), termometer, refraktometer, timbangan analitik, alat sentrifugasi, mikroskop cahaya, kamar hitung Improved Neubauer, alat cacah (*counter*), lampu TL 40 watt, timer, autoklaf, tabung sentrifugasi, instalasi aerasi alat-alat gelas (botol aquabidest bervolume 500 ml sebanyak 18 buah, labu erlenmeyer 1 lt, gelas ukur, pipet tetes, pipet ukur, gelas obyek, gelas penutup, pengaduk gelas), *aluminium foil*, kapas, kertas sampul coklat, karton hitam, botol sampel, rak, dan alat tulis.

2. Bahan–Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain:

- a. Kultur mikroalga *Tetraselmis* sp.

Mikroalga *Tetraselmis* sp. yang digunakan berasal dari koleksi kultur Laboratorium Plankton Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung (BBPBL).

- b. Air kelapa

Air kelapa yang digunakan adalah air kelapa segar yang berasal dari kelapa yang baru dipecah dan berumur 12 bulan tanpa mengalami penyimpanan. Jenis kelapa yang digunakan adalah dari jenis *Cocos nucifera*, varietas Dalam.

- c. Air laut steril

Air laut steril yang digunakan berasal dari BBPBL. Air kelapa tersebut selanjutnya disterilisasi kembali menggunakan autoklaf.

C. Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 perlakuan penambahan air kelapa yang berbeda yaitu :

Perlakuan 0% : 0 ml air kelapa + 200 ml air laut

Perlakuan 1% : 2 ml air kelapa + 198 ml air laut

Perlakuan 2% : 4 ml air kelapa + 196 ml air laut

Perlakuan 3% : 6 ml air kelapa + 194 ml air laut

Perlakuan 4% : 8 ml air kelapa + 192 ml air laut

Perlakuan 5% : 10 ml air kelapa + 190 ml air laut.

Pada masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Penelitian ini dilakukan penempatan dan ulangan secara acak dengan menggunakan Model Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang digunakan adalah sebagai berikut : $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$

Keterangan : Y_{ij} = Data pengamatan kerapatan sel *Tetrasselmis* sp. dengan penambahan media air kelapa pada media air laut ke-i, ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum

τ_i = Pengaruh penambahan air kelapa ke-i

ϵ_{ij} = Galat percobaan penambahan media air kelapa pada media air laut ke-i, ulangan ke-j

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

D. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian disiapkan terlebih dahulu dan dibersihkan untuk mencegah terjadinya kontaminasi dari organisme lain. Seluruh peralatan gelas yang akan digunakan dalam penelitian dicuci, dikeringkan, dan dibungkus dengan kertas. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf

pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Selang aerasi dan botol film dicuci hingga bersih lalu dikeringkan, kemudian disemprot dengan alkohol 70% dan dikeringkan kembali.

2. Pembuatan Media Air Kelapa

Air kelapa yang digunakan sebagai media pertumbuhan mikroalga berasal dari air kelapa segar yang baru dipecah dari jenis *Cocos nucifera* L varietas Dalam yang berumur 2 bulan. Pembuatan medium air kelapa dengan beberapa variasi konsentrasi tersebut dilakukan dengan cara menambahkan 10 ml (5%), 8 ml (4%), 6 ml (3%) dan 4 ml (2%), 2 ml (1%) masing-masing ke dalam sejumlah air laut steril hingga mencapai volume 200 ml.

3. Inokulasi sel-sel *Tetraselmis* sp.

Kultur *Tetraselmis* sp. sebanyak 20 ml (kerapatan $\pm 1.000.000$ sel/ml) disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2200 rpm untuk memisahkan biomassa *Tetraselmis* dari media. Endapan sel *Tetraselmis* diinokulasikan ke dalam masing-masing 200 ml botol aquabidest yang telah berisi media perlakuan, jumlah sel yang digunakan sebagai inokulum ± 100.000 sel/ml.

Kemudian botol aquabidest atau botol kultur secara acak diletakkan ke dalam rak kultur dan diberi pencahayaan dari 2 buah lampu TL masing-masing berkekuatan 40 watt dengan intensitas 3600-4000 lux. Lampu diletakkan sejajar di samping kiri dan kanan rak kultur berjarak 10-20 cm dari botol kultur dengan fotoperiodesitas 14 jam terang dan 10 jam gelap.

4. Sampling

Penghitungan jumlah sel dilakukan secara berkala setiap 24 jam sekali dimulai hari ke-0 (t_0) hingga hari ke-10 (t_{10}). Penghitungan jumlah sel dilakukan dibawah mikroskop cahaya menggunakan kamar hitung Improved Neubauer. Data jumlah sel yang didapat selanjutnya digunakan untuk menghitung kerapatan sel. Kerapatan sel dalam 1 ml sampel dihitung dengan rumus :

$$K = n \times p \times 2500$$

Keterangan :

- K = kerapatan sel *Tetraselmis* sp. (sel/ml)
 n = jumlah total sel *Tetraselmis* sp. pada keempat kotak kamar hitung
 p = tingkat pengenceran yang digunakan.

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

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

Keterangan:

- k = Kecepatan pertumbuhan
 N_t = Kepadatan populasi pada waktu t
 N_0 = Kepadatan populasi sel pada waktu 0
 T_0 = Waktu awal
 T_t = Waktu pengamatan

Pengukuran faktor lingkungan ruang kultur meliputi suhu ruang ($^{\circ}\text{C}$) dengan menggunakan thermometer ruang, serta nilai pH diukur setiap 24 jam sekali dengan menggunakan kertas indikator pH, sedangkan intensitas cahaya (lux) diukur dengan menggunakan luxmeter dan salinitas setiap perlakuan diukur menggunakan refraktometer, keduanya diukur pada awal dan akhir penelitian pada saat sebelum dilakukan penghitungan jumlah sel *Tetraselmis* sp.

5. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian berupa kerapatan sel dan kecepatan pertumbuhan, data kerapatan 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).