

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu Dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli - Nopember 2011, dilakukan di Laboratorium Fitoplankton, divisi pakan hidup, Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut, Desa Hanura, Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran.

3.2. Bahan Dan Alat

3.2.1. Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah ; fitoplankton *Nannochloropsis* sp., molase, urea, TSP, alkohol 70 %, pupuk conwy, aquabidest, aquadest, air laut steril, dan air tawar steril.

3.2.2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada tabel 6 dan tabel 7 ;

Tabel 6. Alat-alat yang digunakan untuk kultur *Nannochloropsis* sp. selama penelitian

Nama Alat	Ukuran/ Ketelitian	Kegunaan
Tabung kaca	3 L	Sebagai wadah uji kultur <i>Nannochloropsis</i> sp.
Beaker glass	100 mL	Untuk mengambil bahan uji <i>Nannochloropsis</i> sp.
Tabung Reaksi	10 ml	Sebagai wadah sampel untuk menghitung kepadatan <i>Nannochloropsis</i> sp.

Kertas Saring	10 μ m	Untuk menyaring <i>Nannochloropsis</i> sp.
Timbangan	-	Untuk menimbang bahan – bahan pupuk
Botol gelap	500 ml	Untuk wadah larutan pupuk
Stirer	-	Sebagai pengaduk dalam pembuatan larutan pupuk
Biuret	25 mL	Mengambi llarutan pupuk
Pipet tetes	1 ml	Untuk mengambil bahan uji
Haemocytometer	10 ⁴ sel/ml	Untuk menghitung Kepadatan <i>Nannochloropsis</i> sp.
Mikroskop	-	Untuk mengamati Kualitas <i>Nannochloropsis</i> sp.
Hand counter	-	Sebagai alat bantu Menghitung kepadatan <i>Nannochloropsis</i> sp.
Lampu TL	20 watt	Sebagai sumber cahaya dalam pemeliharaan <i>Nannochloropsis</i> sp.
Batu aerasi, selang, dan aerator (Hi-Blower)	-	Untuk aerasi media pemeliharaan <i>Nannochloropsis</i> sp.
Cartridge filter	-	Untuk menyaring air media
UV	-	Untuk mensterilkan air media

Tabel 7. Alat yang digunakan untuk pengukuran kualitas air

Nama Alat	Ukuran/Ketelitian	Kegunaan
Termometer	1 °C	Mengukur suhu air
DO meter	0,01 mg/L	Mengukur O ₂ terlarut
Spektrophotometer	Mg/L	Mengukur ammonia
pH meter	-	Mengukur pH
Refraktometer	1 ‰	Mengukur salinitas air
Luxmeter	Lux	Mengukur Intensitas Cahaya

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan acak lengkap dengan 7 perlakuan dan masing – masing dalam 4 ulangan. Rancangan ini digunakan karena satuan yang homogen, dalam arti keragaman antar satuan percobaannya kecil (Steel dan Torrie, 1995). Perlakuan dalam penelitian ini adalah pemberian molase dengan dosis yang berbeda dalam media urea 30 ppm dan TSP 10 ppm. Dosis urea dan TSP yang digunakan berdasarkan uji coba yang sudah dilakukan BBPBL Lampung dan dosis tersebut yang biasa digunakan untuk kultur *Nannochloropsis* sp. di Divisi Pakan Alami, Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung. Perlakuan dosis molase perlakuan berdasarkan hasil penelitian pendahuluan yaitu sebagai berikut :

Perlakuan A : Molase 0 ppm

B : Molase 3 ppm

C : Molase 5 ppm

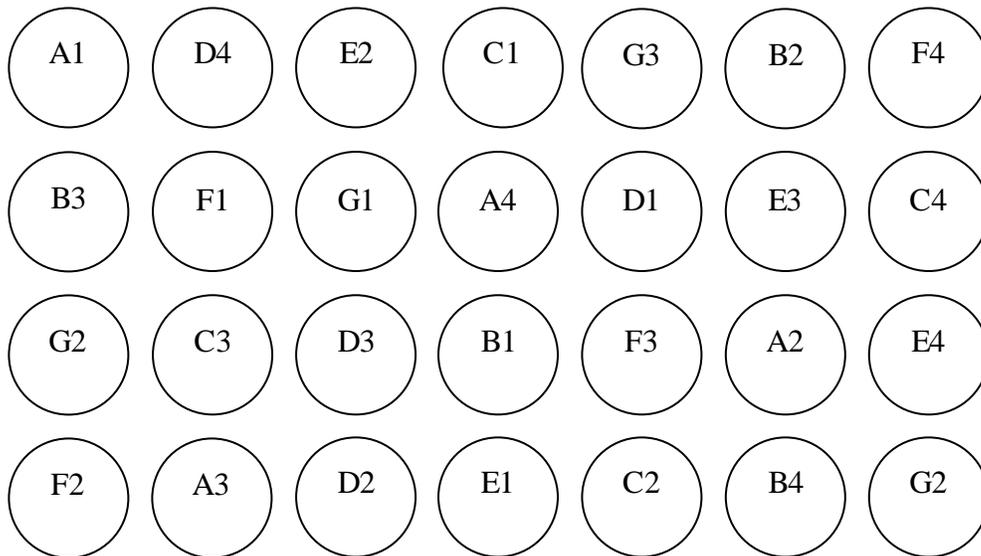
D : Molase 7 ppm

E : Molase 10 ppm

F : Molase 12 ppm

G : Conwy

Tata letak wadah penelitian hasil pengacakan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Tata letak wadah uji selama penelitian

3.4. Pelaksanaan penelitian

3.4.1. Persiapan

Persiapan yang dilakukan sebelum penelitian dimulai meliputi bahan, persiapan alat, pembuatan media kultur, dan pelaksanaan penelitian.

a. Persiapan media dan peralatan uji

Persiapan media dan peralatan meliputi sterilisasi media kultur seperti air laut dan alat, dengan cara :

1. Air laut disaring dengan 3 tahap penyaringan, yaitu dengan saringan 10 μm , 5 μm , dan 1 μm yang berfungsi untuk menyaring partikel atau bahan organik.
2. Air laut yang telah disaring dengan *cartridge filter* disterilisasi kembali dengan sinar ultra violet
3. Setelah itu air laut hasil penyaringan direbus sampai mendidih.
4. Air/media kultur yang telah steril dimasukkan ke dalam wadah uji

Selanjutnya dilakukan sterilisasi peralatan uji yang meliputi ;

1. Peralatan uji di cuci dengan sabun dan dibilas air tawar sampai bersih
2. Setelah itu disemprot dengan alkohol 70 %
3. Peralatan aerasi seperti selang dan batu aerasi direbus sampai mendidih.
4. Peralatan gelas seperti pipet, tabung reaksi, gelas ukur, petridish, dan erlemeyer disterilisasi dengan alat autoclave atau oven

b. Penyediaan bahan uji

Penyediaan Bahan uji meliputi pembuatan larutan pupuk dan kultur *Nannochloropsis* sp. Pupuk yang digunakan pada skala laboratorium ini terbuat dari bahan kimia PA (pro analis) dengan dosis pemakaian 1 ml pupuk untuk 1 liter volume kultur. Jenis dan formula pupuk adalah yang sudah umum digunakan yaitu Conwy atau Walne's medium (tabel 9). Untuk memudahkan pemakaiannya, terlebih dahulu dibuat stok pupuk cair. Pupuk Conwy umum digunakan untuk fitoplankton Chlorophyceae atau fitoplankton yang berwarna hijau.

Air yang digunakan dalam pembuatan pupuk adalah aquades atau air tawar steril yang ditempatkan dalam gelas ukur 1000 ml. Bahan-bahan kimia yang

digunakan ditimbang dan dilarutkan satu-persatu secara berurutan ke dalam gelas ukur. Trace metal dan vitamin dibuat tersendiri untuk mempermudah pemakaiannya (Tabel 10). Setelah seluruh bahan larut sempurna, pupuk cair disimpan dalam botol gelap dan siap digunakan. Komposisi dan bahan-bahan pembuatan larutan pupuk dapat dilihat pada Tabel 8, Tabel 9, dan Tabel 10.

Tabel 8. Komposisi larutan Pupuk perlakuan

No.	Bahan	Dosis (ppm)
1.	Urea	30
2.	TSP	10
3.	Molase	3-12

Tabel 9. Komposisi Pupuk Untuk Kultur *Nannochloropsis* sp. Skala Laboratorium (Borowitzka, 1988)

No.	Bahan Kimia	Nama Pupuk Conwy/Walne
1.	EDTA	45 gram
2.	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	20 gram
3.	FeCl ₃ .6H ₂ O	1,5 gram
4.	H ₃ BO ₃	33,6 gram
5.	MnCl ₂	0,36 gram
6.	NaNO ₃	100 gram
7.	Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	-
8.	Trace Metal Solution *	1 ml
9.	Vitamin	1 ml
10.	Aquades sampai	1000 ml

Keterangan : Stock Larutan pupuk Conwy 1000 ml digunakan untuk kultur *Nannochloropsis* sp. Sebanyak 1000 liter

* Komposisi *trace metal solution* dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Komposisi *Trace Metal Solution*

No.	Bahan Kimia	Nama Pupuk
		Conwy/Walne
1.	ZnCl ₂	2,10 gram
2.	CuSO ₄ .5H ₂ O	2,00 gram
3.	ZnSO ₄ .7H ₂ O	-
4.	CoCl ₂ .6H ₂ O	2,00 gram
5.	(NH ₄) ₆ MO ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,9 gram
6.	Aquabides sampai	100 ml

Cara pembuatan Larutan Pupuk adalah sebagai berikut:

1. Bahan – bahan Kimia untuk pembuatan larutan pupuk ditimbang.
2. Bahan – bahan kimia yang telah ditimbang sesuai dengan takaran dimasukkan satu – persatu sesuai dengan urutan ke dalam gelas ukur yang telah berisi aquabides, lalu diaduk dengan alat stirer.
3. Setelah teraduk rata dan bahan – bahan kimia benar – benar larut, ditambahkan Aquabidest sampai menjadi 1 liter
4. Larutan pupuk ditempatkan dalam botol gelap.

3.4.2. Persiapan Bibit *Nannochloropsis* sp.

Prosedur Penyiapan bahan uji *Nannochloropsis* sp. adalah sebagai berikut:

a. Kultur media agar

Bibit *Nannochloropsis* sp. yang digunakan dalam penelitian berasal dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung. Bibit *Nannochloropsis* sp.

dimurnikan dengan menginokulasikan ke dalam media agar. Mula-mula bacto-agar ditimbang sebanyak 1,5 gram dan dilarutkan dalam 100 ml air laut, kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larutan agar menjadi jernih. Selama pemanasan berlangsung, larutan agar selalu diaduk agar tidak terjadi penggumpalan. Setelah mendidih larutan bacto-agar tersebut diangkat dan setelah agak dingin ditambahkan pupuk sesuai dengan jenis *Nannochloropsis* sp. yang akan diinokulasi. Selanjutnya larutan dituangkan ke dalam cawan petri yang sudah steril dengan ketebalan 3 – 5 mm. Penumbuhan inokulum *Nannochloropsis* sp. dalam media agar dengan metode gores menggunakan jarum ose yang sebelumnya telah dibakar dengan lampu bunsen agar steril.

Untuk mencegah kontaminasi dengan mikroorganisme lain, cawan petri yang telah ditanami bibit *Nannochloropsis* sp. disegel atau ditutup dengan selotip, kemudian diletakkan di rak kultur yang disinari dengan lampu TL. Cawan petri diletakkan dalam keadaan terbalik untuk mencegah terjadinya penetesannya embun dari bagian tutup ke media agar yang bisa mengganggu pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

b. Kultur Di Media Cair

Tahap selanjutnya adalah pemindahan bibit *Nannochloropsis* sp. dari media agar ke media cair. Koloni yang tumbuh dan berkembang di media agar dipindahkan dengan menggunakan jarum ose ke dalam tabung reaksi yang berisi air laut steril dan telah diberi pupuk. Sebelum dipindahkan, *Nannochloropsis* sp. diamati di bawah mikroskop untuk mengetahui kemurniannya. Tabung reaksi yang telah berisi bibit *Nannochloropsis* sp. ditempatkan dalam rak tabung reaksi dan diletakkan pada rak

kultur yang dilengkapi dengan lampu TL. Selama masa kultur tabung reaksi dikocok sesering mungkin, minimal 3 kali sehari dengan tujuan untuk menghindari terjadinya pengendapan dan untuk difusi udara. Bibit *Nannochloropsis* sp. dalam tabung reaksi yang telah tumbuh dan meningkat kepadatannya (mencapai 20×10^4 sel/ml), dipindahkan ke erlemeyer volume 100 – 250 ml. *Nannochloropsis* sp. di panen setelah 7 hari kultur.

3.4.3. Pelaksanaan penelitian

3.4.3.1. Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan dosis molase yang tepat dalam media uji *Nannochloropsis* sp., tahapan tersebut yaitu :

1. 9 buah tabung kaca volume 3 liter diisi air laut dengan salinitas 28 ppt.
2. Bibit *Nannochloropsis* sp. dimasukkan dalam wadah kultur. Kepadatan awal tebar dihitung dengan rumus (Villegas 1995) :

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Keterangan :

V1 = volume Bibit *Nannochloropsis* sp. dalam biakan murni (mL)

N1 = kepadatan bibit *Nannochloropsis* sp dalam biakan murni (sel/mL)

V2 = volume media kultur *Nannochloropsis* sp. yang dikehendaki (mL)

N2 = kepadatan awal *Nannochloropsis* sp. yang dikehendaki (sel/mL)

3. Bibit *Nannochloropsis* sp. yang sudah disaring dimasukkan ke dalam wadah kultur dengan kepadatan 5×10^6 sel/mL.

4. Pupuk UREA dengan dosis 30 ppm dan TSP 10 ppm dimasukkan kedalam masing – masing wadah uji
5. Molase perlakuan dimasukkan berturut-turut dengan dosis 1, 10 dan 15 ppm ke dalam wadah kultur dengan ulangan 3 kali.
6. Perlakuan diberi aerasi dan diletakkan pada rak kultur, yang diberi pencahayaan dari 2 buah lampu TL 40 watt dengan intensitas cahaya berkisar 2750 – 3500 lux dan ditempatkan pada ruang AC
7. Dilakukan penghitungan kepadatan populasi *Nannochloropsis* sp. perlakuan setiap hari sampai terjadi penurunan populasi
8. Dari hasil data kepadatan *Nannochloropsis* sp. uji pendahuluan yang terbaik, ditentukan dosis molase perlakuan yang tepat.

Hasil dari penelitian pendahuluan selama 8 hari kultur diperoleh hasil pada dosis molase 1 ppm kepadatan *Nannochloropsis* sp. mencapai 55 juta sel/ml pada hari ke 7, pada dosis 10 ppm didapatkan hasil 82 juta sel/ml pada hari ke 6, dan dosis 15 ppm didapatkan hasil 67 juta sel/ml pada hari ke 7. Penentuan dosis terbaik yaitu 10 ppm dengan kepadatan *Nannochloropsis* sp. paling tinggi yaitu 82 juta sel/ml. Dari hasil penelitian pendahuluan dapat diketahui pemberian dosis molase yang ditambahkan dalam kultur *Nannochloropsis* sp. adalah $> 1 \text{ ppm} < 15 \text{ ppm}$.

3.4.3.2. Penelitian utama

Tahapan awal adalah persiapan bibit *Nannochloropsis* sp. yang akan digunakan dalam penelitian utama meliputi :

1. Bibit *Nannochloropsis* sp. dikultur pada wadah kultur volume 2 liter dengan kepadatan sebanyak 5×10^6 sel/ml.
2. Bibit *Nannochloropsis* sp. dibiakkan dengan media Urea (30 ppm) dan TSP (10 ppm) sehingga *Nannochloropsis* sp. dapat beradaptasi dengan media tersebut.
3. Hasil kultur, dikembangkan lagi dengan melakukan kultur pada media yang sesuai dengan perlakuan yaitu penambahan molase dengan dosis 3, 5, 7, 10, dan 12 ppm.
4. Hasil kultur digunakan sebagai bibit *Nannochloropsis* sp. untuk penelitian.
Adapun tahapan penelitian utama adalah sebagai berikut :
 1. Tabung kaca (toples) volume 3 liter sebanyak 27 buah diisi dengan air laut salinitas 28 ppt .
 2. Bibit *Nannochloropsis* sp. yang sudah disaring dengan kertas saring dimasukkan dalam wadah kultur supaya sel- sel yang mati tidak terbawa dalam kultur. Kepadatan awal inokulum (KAI) adalah 5×10^6 sel/mL.
 3. Pupuk UREA dengan dosis 30 ppm dan TSP 10 ppm dimasukkan kedalam masing – masing wadah uji
 4. Sebagai perlakuan, molase dimasukkan berturut-turut dengan dosis 1, 10 dan 15 ppm ke dalam wadah kultur dengan ulangan 4 kali.
 5. Perlakuan diberi aerasi dan diletakkan pada rak kultur, yang diberi pencahayaan dari 2 buah lampu TL 40 watt dengan intensitas cahaya berkisar 2750 – 3500 lux dan ditempatkan pada ruang AC

6. Dilakukan penghitungan kepadatan populasi *Nannochloropsis* sp. perlakuan setiap hari sampai terjadi penurunan populasi (selama 11 hari kultur)
7. Selama pengujian dilakukan pengamatan pertumbuhan, yang meliputi penghitungan kepadatan *Nannochloropsis* sp.
8. pada awal dan akhir penelitian (11 hari) dilakukan pengukuran kualitas air.
9. Dilakukan analisis proksimat pada akhir penelitian untuk mengetahui kandungan gizi *Nannochloropsis* sp. pengujian.

3.5. Pengamatan Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

Pengamatan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dilakukan setiap hari selama awal penelitian hingga populasi mencapai titik tertinggi (maksimal) dan sampai terjadi penurunan kepadatan *Nannochloropsis* sp. pada akhir penelitian.

Karakteristik pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. yang diamati adalah *doubling time* (waktu generasi), laju pertumbuhan relatif, kandungan klorofil, dan waktu maksimum saat mencapai puncak populasi. Waktu maksimum menentukan lamanya waktu pemanenan. Karakteristik pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. terbaik adalah yang menghasilkan laju pertumbuhan yang tertinggi, *doubling time* yang singkat serta memiliki kandungan gizi (protein, karbohidrat, dan lemak) yang tinggi.

Pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan menghitung populasi *Nannochloropsis* sp. untuk mengetahui kepadatan puncak populasi, yaitu pada saat jumlah populasi *Nannochloropsis* sp. berada pada titik tertinggi selama penelitian (Suminto dan Hirayama, 1997). Juga diketahui kepadatan akhir populasi, yang dilakukan pada saat akhir penelitian (Laven and Sorgeloos, 1996). Penghitungan

kepadatan sel *Nannochloropsis* sp. menggunakan alat Haemocytometer model Neubauer dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100 - 400 kali. Penghitungan dilakukan setiap hari, dimulai dari hari pertama sampai kepadatan sel menurun. Sampel yang diamati sebanyak 3 kali ulangan, dengan jumlah sampel 100 mL. Estimasi penghitungan jumlah sel menurut Fatuchri (1985) adalah sebagai berikut :

(a) Dalam 400 kotak (bila kepadatan rendah)

$$\text{Jumlah sel} \times 10^4/\text{ml} = \dots\dots\dots\text{sel/mL}$$

(b) Dalam beberapa kotak yang dipilih secara acak (bila kepadatan tinggi)

$$\text{Rata - rata jumlah sel perkotak} \times 400 \times 10^4 /\text{mL} = \dots\dots\dots\text{sel/ml}$$

Hasil dari data kepadatan populasi dihitung laju pertumbuhan spesifik. Laju pertumbuhan spesifik diukur berdasarkan jumlah populasi pada awal penelitian hingga hari dimana jumlah populasi mencapai titik tertinggi (maksimal) (Suminto dan Hirayama, 1997).

Pengukuran kandungan klorofil dilakukan dengan metoda Carl J. Lorenzen (Danakusuma, 1985) dengan cara ;

- Ditakar sampel *Nannochloropsis* sp. ke dalam gelas ukur sebanyak 200 ml
- Disaring dengan kertas saring, whatman GF/C diameter 4.7 cm, diameter pori – pori 1,2 mikron dengan tebal 0,26 mm dengan pompa vakum
- Di potong – potong dengan gunting kertas saring yang telah berisi endapan *Nannochloropsis* sp. dan dilarutkan dengan acetone 90 % kedalam centrifuge tube sebanyak 10 – 20 cc dan diamankan selama 30 menit
- Diputar dengan alat centrifuge selama 5 – 10 menit dengan putaran ± 3000 rpm

sehingga timbul endapan dan cairan jernih berfluoresensi kuning
- Dimasukkan cairan tersebut ke cuvette spektrofotometer, diperiksa dengan 750 nm dan 665 nm. Sebagai blanko digunakan acetone 90 %.

Penghitungan :

$$\text{Chl-a (mg)} = \frac{A \times K \times (665o - 665a) \times V}{V_f \times I}$$

Keterangan :

A = Koefisien absorpsi chlorofil, yaitu 11,0

K = Faktor reduksi pada absorbance karena konsentrasi klorofil, yaitu $1.7 : 0.7 = 2,43$

665o = Absorban sebelum acidifikasi

665a = Absorban sesudah acidifikasi

V = Volume acetone 90 % (ml) yang dipakai untuk ekstraksi

V_f = Banyaknya sampel air (liter yang difilter)

I = Panjang (path length) dari cuvette spektrofotometer (cm)

3.6. Pengamatan kandungan gizi

Pengamatan kandungan gizi dilakukan dengan melakukan analisa proksimat. Analisa ini dilakukan untuk mengetahui jumlah kandungan protein, karbohidrat, dan lemak. Penentuan kadar lemak dengan Metode Soxhlet (SII 2453-90), penentuan kadar Karbohidrat dengan penetapan kadar glukosa standar untuk, dan penentuan kadar protein dengan Metode Semi mikro Kjeldahl. Analisa dilakukan di Laboratorium Nutrisi, Fakultas Perikanan IPB, Bogor, Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Unila dan laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung (THP Polinela).

3.7. Parameter Kualitas Air Media Pemeliharaan

Sebagai data pendukung maka dilakukan pengukuran beberapa parameter fisika – kimia, seperti suhu, pH, salinitas, DO, pH, dan NH₃.

1. Suhu

Suhu media pemeliharaan di ukur dengan menggunakan thermometer. Thermometer di masukkan ke dalam air selama kurang lebih dua menit kemudian pembacaan nilai suhu dilakukan pada saat thermometer masih berada di dalam air agar nilai suhu yang terukur tidak dipengaruhi oleh suhu udara. Pembacaan nilai suhu sampai menunjukkan nilai yang konstan (Hutagalung dkk, 1997).

2. Salinitas

Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan alat *Hand Refractometer*. Refraktometer dikalibrasi dengan akuades sampai skala 0 ppt. Pengukuran salinitas dilakukan dengan cara meneteskan sampel air media pemeliharaan pada prisma refraktometer dengan menggunakan pipet tetes. Nilai yang tertera pada skala refraktometer menyatakan salinitas air laut (Hutagalung dkk, 1997).

Oksigen Terlarut

Pengukuran oksigen terlarut dilakukan dengan menggunakan DO meter, yaitu dengan cara memasukkan salah satu elemen DO meter ke dalam air sampel, kemudian ditunggu beberapa saat untuk memperoleh kisaran kandungan oksigen terlarut dalam air sampel (Hutagalung dkk, 1997).

3. pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Mula – mula ujung elektroda dibilas dengan akuades, kemudian dimasukkan dalam larutan penyangga untuk kalibrasi. Kontrol pada pH meter diatur sampai terbaca pH larutan penyangga. Ujung elektroda dibilas kembali dengan akuades, lalu dimasukkan ke dalam air sample sampai beberapa saat sampai skala menunjukkan angka yang konstan. Nilai yang terbaca menunjukkan nilai pH (Hutagalung dkk, 1997).

4. Amoniak

Pengukuran kadar amoniak dalam air laut dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan metode spektrofotometrik yang didasarkan pada pembentukan senyawa indifenol berwarna biru.

1. Pembuatan Reagen

- Larutan pereaksi A

1,5 g fenol (C_6H_5OH) dan 0,02 g ($Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$) dinatrium nitroprusid dihidrat dilarutkan dalam 50 ml air suling bebas amoniak, lalu disimpan dalam botol gelap dan dimasukkan dalam refrigerator.

- Larutan pereaksi B

20 g kristal natrium sitrat ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) dan 1,1 g NaOH dilarutkan dalam 40 ml air suling bebas amoniak. Setelah larut, tambahkan 1,5 ml natrium hipoklorit ($NaClO$). Kemudian di encerkan menjadi 50 ml dengan air suling bebas amoniak dan disimpan dalam botol gelap.

2. Prosedur Analisis

- Contoh air sebanyak 10 ml disaring dengan kertas saring yang berukuran pori 0,45 μm dan di masukkan dalam tabung gelas, lalu ditambahkan 0,5 ml larutan pereaksi A, lalu dikocok dengan hati-hati selanjutnya ditambahkan 0,5 ml larutan pereaksi B, lalu dikocok dengan hati-hati.
- Tabung gelas ditutup dengan parafilm dan di simpan di tempat gelap selama 24 jam.
- Absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 630 nm (Hutagalung dkk, 1997).

3.8. Pengumpulan dan Analisa Data

3.8.1. Pengumpulan data

Data yang diambil dalam penelitian ini adalah pengamatan pertumbuhan dan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp. selama 11 hari. Pengamatan tersebut meliputi kepadatan puncak populasi, dan kepadatan akhir populasi, dan laju pertumbuhan spesifik serta dilakukan analisa proksimat yang meliputi kadar protein, lemak dan karbohidrat.

Karakter pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dianalisis dengan Kurva pertumbuhan mikroalga yang dibuat berdasarkan data yang didapatkan persatuan waktu. Dari data tersebut dapat dihitung waktu generasi (generated/doubling time) dan pertumbuhan relatif berbagai jenis mikroalga hasil kultur. Rumus pendugaan waktu generasi (Stevenson, 1986 dalam Kurniastuty dan Julinasari, 1995) adalah :

$$G = \frac{t}{3,3(\text{Log}Wt - \text{Log}Wo)}$$

Keterangan : G : generated time

t : waktu dari W_0 ke W_t (jam)

W_t : jumlah sel setelah waktu t (sel/mL)

W_0 : jumlah sel awal (sel/mL)

3,3 : konstanta

Menurut Fogg *et al.* (1975), laju pertumbuhan spesifik (k) dihitung dengan rumus :

$$k = \frac{\ln W_t - \ln W_0}{T}$$

Keterangan :

k = Laju Pertumbuhan spesifik

W_t = Jumlah sel setelah waktu t (sel/mL)

W_0 = Jumlah sel awal (sel/mL)

T = Waktu dari W_0 ke W_t (hari)

3.8.2. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Untuk mengetahui pengaruh pemberian molase dengan dosis yang berbeda pada media urea dan TSP terhadap pertumbuhan maksimum, laju pertumbuhan, waktu penggandaan, dan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp. maka data dianalisis menggunakan *One Way Analysis of Varian* (ANOVA) dan uji lanjut Beda Nyata terkecil pada selang kepercayaan 99 % (Steel dan Torrie, 1995). Parameter kualitas air dianalisa secara deskriptif.