

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Waktu dan Tempat**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober - November 2012 di Laboratorium Fitoplankton Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung.

#### **3.2. Materi penelitian**

##### **3.2.1. Biota Uji**

Biota uji yang digunakan dalam penelitian adalah *Nannochloropsis* sp. yang dikultur pada skala laboratorium di BBPBL dengan kepadatan awal  $1,1 \times 10^6$  sel/ml dan volume air 2 l.

##### **3.2.2. Media Uji**

Media yang dipergunakan dalam kultur *Nannochloropsis* sp. berbentuk cair atau larutan yang tersusun dari senyawa kimia (pupuk) yang merupakan sumber nutrisi untuk keperluan hidup. Pupuk yang akan digunakan dalam penelitian adalah conwy dengan komposisi bahan kimia pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi pupuk Conwy untuk fitoplankton skala laboratorium (1 liter)

No	Bahan kimia	Komposisi
1	NaEDTA	45 gram
2	FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	1,3 gram
3	H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	33,6 gram
4	NaHPO <sub>4</sub>	20 gram
5	NaNO <sub>3</sub>	100 gram (sumber nitrogen 100%) 50 gram (sumber nitrogen 50 %)
6	Vitamin	1 ml
7	Trace metal*	1 cc
8	Aquadest	Hingga 1 liter

Tabel 2. Larutan Trace metal solution

No.	Bahan Kimia	Komposisi
1	(NH <sub>4</sub> ) M <sub>7</sub> O <sub>24</sub>	0,9 gram
2	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	2 gram
3	ZnCl <sub>2</sub>	2,1 gram
4	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	2 gram
5	Aquabides	100 ml

### 3.2.3. Alat dan Bahan

Tabel 3. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian

No.	Alat dan bahan	Kegunaan
1	Toples 10 buah	Wadah media kultur <i>Nannochloropsis</i> sp.
2	Selang dan batu aerasi	Perangkat sirkulasi aerasi media
3	Haemocytometer	Penghitungan kepadatan <i>Nannochloropsis</i> sp.
4	Mikroskop	Pengamatan <i>Nannochloropsis</i> sp.
5	pH meter	Pengamatan pH
6	DO meter	Pengamatan DO
7	Pipet tetes	Pengambilan sampel
8	Lampu TL	Sumber cahaya
9	Panci	
10	Kompor	Alat untuk sterilisasi air laut sebagai media
11	Palnktonet	kultur <i>Nannochloropsis</i> sp.
12	Sinar UV	
13	Ozonizer	
14	Alumunium foil	Penutup media kultur setelah disterilkan, sebelum dipergunakan
15	<i>Nannochloropsis</i> sp.	Biota Uji
16	Air Laut Steril	Air media kultur
17	Alkohol 70%	Sterilisasi untuk alat berbahan kaca
18	Pupuk Conwy	Pupuk bagi <i>Nannochloropsis</i> sp. pada media kultur

### 3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian terdiri dari 3 perlakuan dan 1 kontrol yang masing-masing diulang 3 kali. Perlakuan tersebut sebagai berikut:

Perlakuan A : kultur *Nannochloropsis* sp. pada salinitas 30-34 ppt dan  $\text{NaNO}_3$  100 gr/l.

Perlakuan B : kultur *Nannochloropsis* sp. pada salinitas 30-34 ppt dan  $\text{NaNO}_3$  50 gr/l.

Perlakuan C : kultur *Nannochloropsis* sp. pada salinitas 35-38 ppt dan  $\text{NaNO}_3$  100 gr/l.

Perlakuan D : kultur *Nannochloropsis* sp. pada salinitas 35-38 ppt dan  $\text{NaNO}_3$  50 gr/l.

Tabel 4. Kontingensi perlakuan salinitas dan nitrogen

Perlakuan	NaNO <sub>3</sub> (gr/l)		Total
	100	50	
Salinitas (ppt) 30 - 34	Perlakuan A	Perlakuan B	A+B
35 - 38	Perlakuan C	Perlakuan D	C+D
Total	A+C	B+D	N

### 3.4. Prosedur Penelitian

#### 3.4.1. Persiapan Penelitian

##### a. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat seperti toples direndam kaporit 100 ppm selama 24 jam, dicuci dengan air bersih dan dibilas hingga bersih dengan air tawar. Setelah bersih disemprotkan alkohol 70%. Alat-alat seperti selang, batu aerasi, serta yang

berbahan plastik dilakukan dengan perendaman kaporit 100 ppm selama 24 jam. Dibersihkan dengan air tawar, lalu dilakukan perebusan selama 20 menit.

#### **b. Sterilisasi Media (Air)**

Air laut dialirkan ke UV *sterilizer* dan diberi ozon menggunakan *Ozon sterilizer*. Selanjutnya direbus hingga mendidih. Air laut diukur salinitasnya menggunakan refraktometer, kemudian dilakukan perebusan berulang kali hingga mendapatkan stok air laut salinitas yang diinginkan yaitu air laut salinitas 30-34 ppt dan air laut salinitas 35 - 38 ppt. Kemudian disaring dengan menggunakan plankton net mesh size 15 mikron.

#### **c. Pembuatan Pupuk Conwy**

Pupuk yang digunakan pada kultur *Nannochloropsis* sp. yaitu pupuk Conwy. Komposisi pupuk Conwy adalah NaEDTA 45 gram,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  1,3 gram,  $\text{H}_2\text{BO}_3$  33,6 gram,  $\text{NaHPO}_4$  20 gram,  $\text{NaNO}_3$  100 gram dan 1 Liter aquades (Tabel. 1). Pembuatan pupuk Conwy dilakukan dengan cara mencampurkan bahan-bahan, kemudian ditambahkan trace metal 1cc yang terdiri dari  $\text{ZnCl}_2$  2.1 gr,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  2 gr,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  2 gr, dan  $(\text{NH}_4)_2\text{MgO}_2$  0.9 gr (Tabel 2) yang masing-masing telah dicairkan dengan aquabides 100 ml. Pupuk kultur *Nannochloropsis* sp. perlakuan pengurangan kadar nitrogen hingga 50% tidak dilakukan dengan mengencerkan larutan pupuk kultur Conwy stok. Pembuatan pupuk kultur perlakuan pengurangan kadar nitrogen hingga 50% dibuat dengan cara mengurangi penggunaan  $\text{NaNO}_3$  hingga 50% dari kebutuhan standar  $\text{NaNO}_3$  pada pupuk Conwy yaitu sebesar  $\text{NaNO}_3$  50 gr/l.

### 3.4.2. Pelaksanaan Penelitian

Mikroalga *Nannochloropsis* sp. dikultur pada toples 2 liter dengan kepadatan  $11 \times 10^6$  sel/ml masing-masing pada 12 (4 perlakuan x 3 ulangan) toples. Pupuk Conwy diberikan sebanyak 1 ml/liter kultur, dilakukan pengukuran kualitas air setelah biota dibiakkan. Media kultur disusun di rak kultur dan diberi aerasi kuat pada pencahayaan lampu TL 38 W. Kepadatan *Nannochloropsis* sp. diamati pada mikroskop setiap 6 jam sekali pada tiap media kultur. Setelah mencapai fase akhir eksponensial atau pada fase awal stasioner (waktu panen), dilakukan pengukuran kualitas air kembali. Kemudian *Nannochloropsis* sp. dipanen secara total dengan cara dibuat natan menggunakan larutan NaOH. Larutan tersebut dimasukkan kedalam kultur sedikit demi sedikit sambil diaduk searah jarum jam. Setelah cukup homogen, putar arah adukan secara berlawanan hingga larutan terasa mengental. Larutan didiamkan hingga biakan mengendap. Kemudian masing-masing biakan dimasukkan ke dalam botol sampel yang telah dibersihkan dan disemprot alkohol, dan disimpan dalam lemari pendingin. Langkah terakhir yang dilakukan yaitu sampel yang telah disimpan dalam botol sampel dibawa untuk dilakukan uji proksimat.

### 3.5. Parameter

#### 3.5.1. Penghitungan Kepadatan *Nannochloropsis* sp.

Penghitungan kepadatan *Nannochloropsis* sp. dengan cara *Nannochloropsis* sp. pada media kultur diambil sebanyak 1 ml dengan pipet, kemudian diamati dengan *Haemocytometer* dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10 dengan menggunakan rumus yang dikembangkan oleh BBPBL:

$$N = \frac{\sum_{i=1}^n K_i}{n} \times 25 \times 10^4 \text{ sel/ml}$$

Keterangan : N = Kepadatan

n = Jumlah kotak hitungan

K<sub>i</sub> = Kepadatan plankton ke-i

K<sub>1</sub>-K<sub>5</sub> = jumlah *Nannochloropsis* sp. dalam lapang pandang (kotak) hitungan ke 1 hingga 5

#### 3.5.2. Uji Proksimat Protein

Uji proksimat protein pada *Nannochloropsis* sp. dengan menggunakan metoda Gunning di laboratorium Politeknik Lampung (Lampiran 3).

#### 3.5.3. Kualitas air (oksigen terlarut, pH, dan suhu media kultur)

Pengukuran oksigen terlarut, pH, dan suhu media kultur menggunakan DO meter, pH meter, dan termometer. Pengukuran parameter kualitas air dilakukan 2 kali, yaitu 24 jam sejak *Nannochloropsis* sp. di tempatkan di media kultur dan beberapa saat sebelum panen dilakukan.

### 3.6. Analisis Data

#### 3.6.1. Uji Chi Square ( $\chi^2$ )

Analisis data yang digunakan untuk menguji hasil perlakuan adalah uji Chi square ( $\chi^2$ ). Uji Chi square ( $\chi^2$ ) merupakan teknik nonparametrik yang berguna untuk menganalisis data yang terpisah bila kedua sampel bebas. Uji tersebut dipakai apabila nilai-nilai yang didapat dari dua sampel acak bebas semuanya masuk dalam salah satu dari dua kelas yang berbeda satu sama lain. Setiap subyek dalam kedua kelompok tersebut mendapatkan satu dari dua nilai yang mungkin. Nilai-nilai tersebut dipresentasikan dalam frekuensi-frekuensi suatu tabel kontingensi (Siegel, 1985) (Tabel 4).

Siegel (1985) menyatakan bahwa perhitungan data dengan uji chi square ( $\chi^2$ ) menggunakan dua pendekatan berdasarkan jumlah data (N) pada penelitian:

- Jika kepadatan *Nannochloropsis* sp. berjumlah  $N > 40$  maka rumus yang digunakan:

$$\chi^2 = \frac{N \left( |AD - BC| - \frac{N}{2} \right)^2}{(A + B)(C + D)(A + D)(B + D)} ; db = 1$$

A	B	A+B (i.1)
C	D	C+D(i.2)
A+C(i.1)	B+D(i.2)	N

Keterangan:

N = jumlah total nilai data

A = Kepadatan *Nannochloropsis* sp. perlakuan A

B = Kepadatan *Nannochloropsis* sp. perlakuan B

C = Kepadatan *Nannochloropsis* sp. perlakuan C

D = Kepadatan *Nannochloropsis* sp. perlakuan D

- b. Jika kandungan protein total *Nannochloropsis* sp. berjumlah  $N < 20$  maka rumus yang digunakan:

$$\chi^2 = \sum_{i,j} \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Keterangan :

$O_{ij}$  = frekuensi pengamatan ke-ij       $i$  = jumlah baris

$E_{ij}$  = frekuensi harapan ke-ij       $j$  = jumlah kolom

$$E_{ij} = \frac{(i_n)(j_n)}{N} \quad i_n = \text{jumlah data pada baris ke-}n$$

$$j_n = \text{jumlah data pada kolom ke-}n$$

Jika nilai dari  $\chi^2$  lebih besar dari pada  $\chi^2$  tabel pada taraf nyata 0,05, maka diputuskan untuk menolak  $H_0$ . Jika nilai dari  $\chi^2$  lebih kecil dari pada  $\chi^2$  tabel pada taraf nyata 0,05, maka diputuskan untuk menerima  $H_0$  (Gaspersz, 1991).

### 3.6.2. Regresi dan Korelasi

Analisis regresi dan korelasi digunakan untuk mempelajari hubungan antara dua variabel atau lebih. Hubungan antar variabel tersebut dapat dipergunakan untuk memperkirakan besarnya dampak kuantitatif yang terjadi dari perubahan satu kejadian terhadap kejadian lainnya. Regresi linier merupakan model hubungan antara dua variable berdasarkan persamaan garis linier (Supangat, 2007).

Model regresi yang dipergunakan adalah:

$$Y = bX + a$$

Keterangan: Y = kandungan protein *Nannochloropsis* sp.



$X$  = kepadatan *Nannochloropsis* sp.

$a$  = titik potong  $Y$ , nilai perkiraan bagi  $Y$  ketika  $X = 0$

$b$  = kemiringan garis atau perubahan rata-rata pada  $Y$  untuk setiap satu unit perubahan (naik atau turun) pada variabel bebas  $X$

Koefisien korelasi merupakan tingkat hubungan antara dua variabel atau lebih.

Korelasi merupakan ukuran atau besaran yang menyatakan ada atau tidaknya hubungan diantara variabel-variabel yang bersangkutan dinyatakan dengan notasi ( $r$ ). Nilai korelasi ( $r$ ) dapat diartikan sebagai tingkat kekuatan hubungan antara dua variabel atau lebih (besarnya kontribusi yang diberikan oleh variabel yang mempengaruhi), baik secara langsung maupun tidak langsung. Tingkat korelasi bernilai antara  $-1 < r < 1$ . Jika nilai  $r$  berada pada kisaran  $-1 < r < 0$ , maka korelasi cenderung bersifat korelasi negatif. Jika nilai  $r$  berada pada kisaran  $0 < r < 1$ , maka korelasi cenderung bersifat positif. Penentuan nilai korelasi menggunakan persamaan berikut (Supangat, 2007):

$$r = \frac{n (\sum_{i=1}^n X_i Y_i) - (\sum_{i=1}^n X_i)(\sum_{i=1}^n Y_i)}{\sqrt{[n (\sum_{i=1}^n X_i^2) - (\sum_{i=1}^n X_i)^2][n (\sum_{i=1}^n Y_i^2) - (\sum_{i=1}^n Y_i)^2]}}$$

Keterangan:  $r$  = nilai korelasi  
 $n$  = jumlah sampel  
 $X$  = data kepadatan *Nannochloropsis* sp.  
 $Y$  = data protein total *Nannochloropsis* sp.

Koefisiensi determinasi ( $R^2$ ) merupakan ukuran (besar) untuk menyatakan tingkat kekuatan hubungan dalam bentuk persentasi (%). Koefisien tersebut dihitung dengan mengkuadratkan koefisiensi korelasi, sebagai berikut (Supangat, 2007) :

$$r = \sqrt{R^2}$$