

### **III. METODOLOGI**

#### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan selama 40 hari dari bulan Februari sampai dengan Maret 2013 bertempat di Laboratorium Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Bandar Lampung

#### **B. Alat dan Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain:

1. Bakteri *Bacillus cereus*, sebagai inokulan, didapat dari Universitas Brawijaya dan bakteri ini sudah dikomersilkan
2. Benur Udang

Benur udang berasal dari BLK (Balai Laut Khatulistiwa) berukuran PL 15 pada fase Intermol.

3. Media Bakteri

Media TSB (*Trypticase Soy Broth*), TSA (*Trypticase Soy Agar*), dan PCA (*Plate Count Agar*) digunakan sebagai media dalam kultur bakteri

4. Sumber Karbon (C) dan sumber Nitrogen (N)

Glukosa digunakan sebagai sumber C dan pakan buatan (pellet) dengan kandungan protein 38% sebagai sumber N dalam pembentukan bioflok

## 5. Reaksi Amoniak Standar

Reaksi amoniak standar digunakan untuk pengukuran TAN adalah:

- $\text{MnSO}_4$  0,003 N
- *Chlorat Solution*
- *Sodium Phenate*

## C. Peralatan yang digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini : wadah plastik bervolume 10 liter sebanyak 9 buah, pH meter, DO meter, aerasi, tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, tabung Erlenmeyer, jarum ose, *spreader*, *hot stirrer*, vortex, autoklaf, inkubator, spektrofotometer, timbangan digital, mikropipet, pipet tetes, kertas saring, corong, *Imhoff Cone*, alkohol 70%, aluminium foil, kapas, karet, dan plastik tahan panas.

## D. Desain penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian adalah rancangan acak lengkap, terdiri dari 3 perlakuan (10, 15, 20, ekor/wadah) dan 3 kali ulangan. Data yang didapat dianalisis dengan Chi-square ( $\alpha=0.05$ ).

## E. Prosedur penelitian

### E.1 Persiapan wadah

Wadah yang digunakan berupa wadah plastik volume 10 liter sebanyak 9 buah. Wadah dibersihkan dan diisi air laut hingga penuh dan masing-masing wadah dilengkapi selang aerasi.

### E.2 Kultur bakteri heterotof (*Bacillus cereus*)

- Media TSB ditimbang sebanyak 3 gram, dan dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer
- Ditambahkan air laut sebanyak 100 ml
- Erlenmeyer yang telah berisi larutan TSB kemudian dipanaskan sambil terus diaduk dengan menggunakan *hot stirrer* hingga homogen
- Larutan TSB yang telah homogen dimasukkan ke dalam autoklaf dan disterilisasi pada tekanan 121 atm selama 15-20 menit
- Setelah tekanan menunjukkan 0 atm, penutup autoklaf dibuka, larutan TSB diangkat, didiamkan agar dingin
- Larutan TSB yang dimasukan ke dalam 10 tabung reaksi masing-masing 7 ml
- Biakan *Bacillus cereus* diinokulasikan dalam larutan TSB (disisakan 1 larutan TSB tanpa inokulasi dan digunakan sebagai kontrol)
- Diinkubasi selama 24-48 jam
- Diukur kepadatan bakteri menggunakan spektrofotometer ( $\lambda = 625$  nm).

### E.3 Pembentukan bioflok

Penimbangan bahan-bahan pembentuk bioflok terdiri dari

- Glukosa sebanyak 15,1 gram sebagai sumber karbon (sumber C)
- Pakan udang (pellet) dengan kandungan protein 38% sebanyak 5 gram sebagai sumber N (Nitrogen)
- Sumber C dan N dimasukkan ke dalam wadah penelitian yang berisi air laut bersama larutan TSB yang sudah diinokulasi bakteri *Bacillus cereus*

- Campuran diaerasi
- Pada hari ke- 11, bioflok telah terbentuk

## F. Tahapan pelaksanaan

### F.1. Pemeliharaan udang putih (*Litopenaeus vannamei*) dalam sistem bioflok

1. Setelah terbentuk bioflok, oksigen terlarut (DO), pH, suhu, dan amoniak diukur
2. Masing-masing wadah diisi udang putih (*L.vannamei*) PL 15 fase intermol dengan padat tebar 10, 15, dan 20 ekor/wadah, dan dipelihara selama 30 hari
3. Udang diberi pakan dengan *feeding rate* (FR) 5% yang diikuti dengan penambahan gula sebagai sumber karbon sehingga C/N 20,9
4. Pakan (pellet) dengan kandungan protein 38% diberikan 2 kali sehari.
5. Selama pemeliharaan ditambahkan bakteri *Bacillus cereus* pada hari ke 3 dan 15 untuk menstimulasi pertumbuhan bakteri heterotof
6. Pertumbuhan diukur pada awal tebar dan akhir pemeliharaan (hari ke-30) Pengukuran DO, suhu, pH dilakukan setiap 3 hari, sedangkan amoniak diukur setiap 5 hari.

### F.2. Pegukuran kepadatan bakteri

Pengukuran kepadatan bakteri dalam media pemeliharaan dilakukan pada hari ke 15 dan 31. Penghitungan kepadatan bakteri berdasarkan Filzahazny (2013).

1. Sampel air media pemeliharaan diambil sebanyak 7 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi

2. Sampel air diencerkan dengan pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , dan  $10^{-4}$  dan diplating ke dalam cawan petri, diinkubasi selama 24 jam
3. Dihitung jumlah koloni yang terbentuk

Total bakteri pada media pemeliharaan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Jumlah koloni bakteri (CFU/ml)} = N \times \frac{1}{fp} \times \frac{1}{s}$$

Keterangan:

N: Jumlah bakteri dalam cawan petri (koloni)

fp: faktor pengenceran

S :Jumlah sampel yang diambil dari suspensi bakteri (ml)

### **F.3.Pengukuran kepadatan bioflok**

Pengukuran kepadatan bioflok dilakukan berdasarkan Filzahazny (2013).

1. Menyiapkan alat berupa “imhoff cone”
2. Mengambil flok yang terdapat dalam wadah pemeliharaan menggunakan gelas ukur sebanyak 1 liter dan dimasukkan ke dalam “imhoff cone”
3. Mengendapkan flok, hingga 30 menit
4. Mengukur endapan flok melalui skala (ml/l) yang tertera pada “imhoff cone”

### **F.4. Pengukuran AMMONIA ( $\text{NH}_3$ )**

Pengukuran ammonia dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- Diambil sampel air dari setiap wadah pemeliharaan sebanyak 10 ml
- Disaring sampel air dengan menggunakan corong dan kertas saring tempatkan ke dalam tabung reaksi
- Ditambahkan larutan 0,05 ml MnSO<sub>4</sub> setara 1 tetes
- Ditambahkan larutan 0,5 ml Hypochlorous setara 10 tetes

- Ditambahkan larutan 0,6 ml phenol setara 12 tetes
- Ditempatkan pada magnetic stirrer agar larutan homogen
- Dibuat larutan blanko menggunakan akuades dan ditambahkan juga larutan standar amoniak.
- Ditunggu ± 1 jam hingga larutan berubah warna
- Diamati dengan spektrofotometer ( $\lambda = 625 \text{ nm}$ )
- Penentuan nilai TAN disesuaikan dengan grafik standar berdasarkan rumus :  

$$\text{TAN} = 0,357478 \cdot A$$
- Ammonia dihitung berdasarkan koefisien nilai suhu dan pH

## **G. Parameter yang diamati**

Pengukuran parameter utama, berupa spesific growth rate (SGR), tingkat kelangsungan hidup (SR), biomassa dilakukan pada awal dan akhir penelitian.

### **G.1. SGR (*Spesific Growth Rate*)**

Laju pertumbuhan spesifik atau SGR (*Specific Growth Rate*) diukur berdasarkan rumus (Purnomo, 2012):

$$\text{SGR} = \frac{\ln W_t - \ln W_o}{t} \times 100\%$$

Keterangan :

SGR : *Specific Growth Rate* atau laju pertumbuhan berat tubuh (%/hari)

W<sub>t</sub> : Berat tubuh akhir udang (gram)

W<sub>o</sub> : Berat tubuh awal udang (gram)

t : Lama pemeliharaan (hari)

## **G.2. Tingkat Kelangsungan Hidup**

Kelangsungan hidup adalah perbandingan jumlah udang yang hidup dari awal hingga akhir penelitian. Kelangsungan hidup dihitung dengan rumus (Purnomo, 2012) :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

SR = Kelangsungan hidup (%)

Nt = Jumlah benih pada akhir pemeliharaan (ekor)

N0 = Jumlah benih pada awal pemeliharaan (ekor)

## **G.3. Biomassa udang putih (*L. Vannamei*)**

Biomassa merupakan hasil perkalian berat rata-rata organisme dengan populasi.

## **G.4. Pengukuran kualitas air**

Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian yaitu: DO, suhu, pH, dan amoniak.

## **H. Analisis Data**

### **H.1. Keragaan udang**

Keragaan udang dianalisis dengan analisis chi- square (  $\alpha$ : 0,05)

### **H.2. Parameter pendukung**

Data kualitas air, kepadatan bioflok dianalisis secara deskriptif.