

III. METODELOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada bulan Maret - April 2014.

B. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian terdiri dari botol kultur berukuran 250 ml, gelas ukur, pipet tetes, *sedgewich rafter*, gelas penutup, kain kasa, kapas, aluminium foil, termometer, termometer ruang, timbangan digital, pH paper, luxmeter, alat sentrifugasi, mikroskop binokuler, lampu TL 36 watt, autoklaf, tabung sentrifugasi, steroform, kertas label, pipet tetes, terminal listrik, bunsen, alat tulis, dan instalasi aerasi.

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain:

1. *Spirulina* sp.

Spirulina sp. yang digunakan sebagai inokulan berasal dari PTPN VII Unit Usaha Bekri, Lampung Tengah yang dikultur di Laboratorium Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

2. Kulit buah kakao

Kulit buah kakao yang digunakan adalah kulit buah kakao segar yang baru dipanen dan umur tanaman \pm 4 bulan berasal dari sentra produksi kakao di Desa Labuhan Ratu Dua, Kabupaten Lampung Timur. Jenis kakao yang digunakan adalah dari jenis *Theobroma cacao* L.

3. Akuades

Akuades yang digunakan berasal dari Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

4. Buffer

Buffer yang digunakan adalah kapur jenis CaCO_3 dengan perbandingan buffer dan akuades yaitu 1:10, artinya 10 gr Buffer dimasukkan ke dalam 100 ml akuades.

5. Alkohol 70%

Alkohol 70% digunakan untuk mensterilisasi alat yang digunakan dalam, penelitian seperti botol kultur, pipet tetes, botol film dan lain-lain.

C. Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 3 kali ulangan dengan penambahan larutan cair kulit buah kakao yang berbeda sebagai perlakuan yaitu:

A tanpa penambahan 0%: 0 ml media cair kulit buah kakao + 200 ml akuades

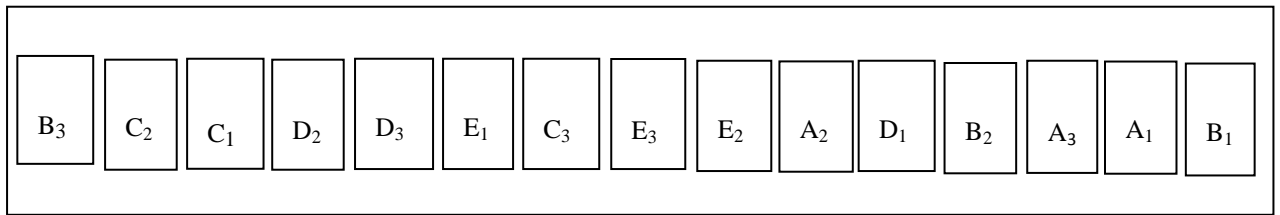
B penambahan nutrisi 1%: 2 ml media cair kulit buah kakao + 198 ml akuades

C penambahan nutrisi 3%: 6 ml media cair kulit buah kakao + 194 ml akuades

D penambahan nutrisi 5%: 10 ml media cair kulit buah kakao + 190 ml akuades

E penambahan nutrisi 7%: 14 ml media cair kulit buah kakao + 186 ml akuades

Selama penelitian dilakukan penempatan dan ulangan secara acak (Gambar 5).



Gambar 5. Penempatan botol kultur selama Penelitian

Keterangan :

A ₁ : Kontrol A ulangan 1	D ₁ : Perlakuan D ulangan 1
A ₂ : Kontrol A ulangan 2	D ₂ : Perlakuan D ulangan 2
A ₃ : Kontrol A ulangan 3	D ₃ : Perlakuan D ulangan 3
B ₁ : Perlakuan B ulangan 1	E ₁ : Perlakuan E ulangan 1
B ₂ : Perlakuan B ulangan 2	E ₂ : Perlakuan E ulangan 2
B ₃ : Perlakuan B ulangan 3	E ₃ : Perlakuan E ulangan 3
C ₁ : Perlakuan C ulangan 1	
C ₂ : Perlakuan C ulangan 2	
C ₃ : Perlakuan C ulangan 3	

Model Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang digunakan adalah sebagai

berikut : $Y_{ij} = \mu + \sigma_i + \sum ij$

Keterangan : Y_{ij} = Data pengamatan perlakuan ke-i, Ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum

σ_i = Pengaruh penambahan ekstrak air kulit kakao ke-i

$\sum ij$ = Galat percobaan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Pengujian perbedaan antar perlakuan digunakan analisis varian (ANOVA) pada selang kepercayaan 95% dan apabila berbeda nyata akan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada selang kepercayaan 95%.

D. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Alat dan Bahan Penelitian

Persiapan penelitian yang dilakukan meliputi persiapan alat dan bahan serta sterilisasi alat-alat yang akan digunakan untuk mencegah kontaminasi. Seluruh

peralatan yang akan digunakan dalam penelitian dicuci, dibilas dengan air tawar, dan dikeringkan. Peralatan yang terbuat dari kaca dibungkus dengan plastik anti panas lalu disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Pembuatan Media Cair Kulit Buah Kakao

Pembuatan media cair kulit buah kakao sebagai berikut :

- a) mencacah kulit buah kakao segar sekecil mungkin agar mudah dalam proses pengeringan dan penggilingan.
- b) kulit buah kakao yang telah dicacah dijemur dibawah sinar matahari hingga kering (\pm dua hari panas).
- c) kulit buah kakao kering digiling hingga halus menjadi tepung.
- d) tepung kulit buah kakao ditimbang sebanyak 50 gr lalu dibungkus dengan kain kasa dan direndam dalam aquades 150 ml selama \pm 1 jam.
- e) media cair kulit buah kakao yang sudah bewarna pekat disaring dengan kasa lalu dimasukkan ke dalam wadah dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- f) media cair didiamkan sampai dingin dan setelah itu diambil dengan konsentrasi yang sudah ditentukan.

3. Menghitung Kepadatan Awal *Spirulina* sp.

Biakan *Spirulina* sp. dihitung kepadatannya untuk mengetahui kepadatan awal inokulan yang akan digunakan. Penghitungan jumlah bibit *Spirulina* sp. untuk kultur menggunakan rumus (Edhy dan Kurniawan, 2003).

$$V_1 = \frac{N_2 \times V_2}{N_1}$$

Keterangan:

V_1 = Volume bibit untuk penebaran awal (ml)

N_1 = Kepadatan bibit/ stock *Spirulina* sp. (unit/ ml)

V_2 = Volume media kultur yang dikehendaki (L)

N_2 = Kepadatan bibit *Spirulina* sp. yang dikehendaki (unit/ ml)

Spirulina sp. sebanyak 1 ml (kepadatan $\pm 10^5$ unit/ml) disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2500 rpm untuk memisahkan biomassa *Spirulina* sp. dari media. Endapan *Spirulina* sp. diinokulasikan ke dalam masing-masing 200 ml botol kaca yang telah berisi media perlakuan. Jumlah yang *Spirulina* sp. digunakan sebagai inokulan $\pm 10^5$ unit/ml.

Botol kultur secara acak diletakan ke dalam rak kultur dan diberi pencahayaan satu lampu TL 36 watt dengan intensitas cahaya $\pm 3.600-4.000$ lux. Lampu diletakan disamping rak kultur yang berjarak 10 cm dari botol kaca dengan fotoperiode 18 jam terang dan 6 jam gelap.

E. Pelaksanaan

1. Sampling

Penghitungan pertumbuhan populasi dilakukan dengan cara mengambil sampel pada tiap-tiap botol kultur sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet tetes dan setelah itu diamati di bawah mikroskop binokuler dengan menggunakan *sedgewick rafter* untuk memudahkan perhitungan. Pengambilan sampel dilakukan setiap 24 jam sekali sekali dimulai dari hari ke-0 (t_0).

2. Pengelolaan Kualitas Air

Parameter kualitas air diukur setiap 24 jam sekali. Intensitas cahaya diukur menggunakan luxmeter pada akhir penelitian.

F. Pengamatan

1. Kepadatan *Spirulina* sp.

Pengamatan jumlah populasi *Spirulina* sp. menggunakan *sedgewick rafter* dan *counter* yang diamati dibawah mikroskop binokuler. Kemudian perhitungan kepadatan populasi dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Sidabutar, 2010).

$$N = n \left(\frac{s}{lp} \right) \times \left(\frac{p}{v} \right)$$

Keterangan:

N = Kepadatan *Spirulina* sp.(unit/ml)

n = Jumlah plankter dalam 10 lapang pandang (unit)

s = Jumlah lapang pandang *Sedgewich rafter*

lp = Jumlah lapang pandang yang digunakan

p = Volume subsampel (ml)

v = Volume sampel (ml)

2. Kecepatan Pertumbuhan

Kecepatan pertumbuhan (k) mikroalga dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Gotelli 1995 dalam Andresen 2005).

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

Keterangan :

K = Kecepatan pertumbuhan (unit/ml/jam)

N_t = Kepadatan populasi pada waktu t (unit/ml)

N_0 = Kerapatan populasi sel pada waktu 0 (unit/ml)

T_0 = Waktu awal (jam)

T_t = Waktu pengamatan (jam)

3. Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur meliputi suhu air dan nilai pH. Sedangkan faktor lingkungan lain meliputi suhu ruang, cahaya dan kelembapan.

G. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian berupa kepadatan *Spirulina* sp.. Data kepadatan tersebut selanjutnya dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) program SPSS 17. Apabila hasil uji antar perlakuan berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 95 % (Kusriningrum, 2008).