

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni-Juli 2014 bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Uji protein dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung, dan uji kandungan nitrat dilakukan di Laboratorium Kualitas Air Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (BBPBL), Lampung.

B. Materi Penelitian

B.1 Biota Uji

Biota uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Tetraselmis* sp. yang diperoleh dari balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. *Tetraselmis* sp. yang digunakan dikultur secara semi masal dengan menggunakan akuarium volume 100 l dengan kepadatan $1-2 \times 10^5$ sel/ml.

B.2 Media Uji

Media yang digunakan untuk kultur *Tetraselmis* sp. merupakan media cair atau larutan yang tersusun dari senyawa kimia (pupuk) yang merupakan sumber nutrient untuk pertumbuhan biota uji. Pupuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Conwy*. Pada penelitian ini digunakan dua komposisi pupuk *Conwy* yang

berbeda. Pertama pupuk dengan komposisi standar (Tabel 1) dan kedua pupuk dengan komposisi pengurangan kadar NaNO_3 sebanyak 50% dari jumlah standar (Tabel 2).

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

No	Bahan Kimia	Takaran Per Liter
1	Aquabides	hingga 1 liter
2	EDTA	45,00 g
3	FeCl_3	1,50 g
4	H_3BO_3	33,60 g
5	NaH_2PO_4	20,00 g
6	MnCl_2	0,50 g
7	NaNO_3	100,00 g
8	<i>Trace metal solution</i>	1,00 cc
	ZnCl_2	2,10 g
	CoCl_2	2,00 g
	CuSO_4	2,00 g
	$(\text{NH}_4)\text{MO}_7$	0,90 g
	Distilled	100,00 ml

Tabel 2. Komposisi pupuk *Conwy* untuk fitoplankton skala laboratorium dengan pengurangan kadar NaNO_3 50% (1 liter)

No	Bahan Kimia	Takaran Per Liter
1	Aquabides	hingga 1 liter
2	EDTA	45,00 g
3	FeCl_3	1,50 g
4	H_3BO_3	33,60 g
5	NaH_2PO_4	20,00 g
6	MnCl_2	0,50 g
7	NaNO_3	50,00 g
8	<i>Trace metal solution</i>	1,00 cc
	ZnCl_2	2,10 g
	CoCl_2	2,00 g
	CuSO_4	2,00 g
	$(\text{NH}_4)\text{MO}_7$	0,90 g
	Distilled	100,00 ml

B.3 Alat dan Bahan

Tabel 3. Alat yang digunakan pada penelitian

No	Alat	Jumlah
1.	Akuarium ukuran 15x15x30 cm	26 buah
2.	Toples volume 4 liter	4 buah
3.	Selang dan aerasi	30 buah
4.	Kertas <i>whatman</i>	30 buah
5.	<i>Haemacytometer</i>	1 buah
6.	Spektrofotometer	1 buah
7.	Lampu TL 36 watt	4 buah
8.	pH meter	1 buah
9.	DO meter	1 buah
10.	Thermometer	1 buah
11.	<i>Plastic wrap</i>	1 buah
12.	Cawan petri	42 buah

Tabel 4. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No.	Bahan	Jumlah
1.	Bibit <i>Tetraselmis</i> sp.	$1-2 \times 10^4$ sel/ml
2.	Air laut steril	± 50 l
3.	Pupuk <i>Conwy</i>	± 1 l

B.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan dua perlakuan, dengan tujuh kali pengamatan dan masing-masing tiga kali ulangan.

Perlakuan A : Pemberian NaNO_3 sebanyak 100%, sesuai komposisi pupuk standar.

Perlakuan B : Pemberian NaNO_3 sebanyak 50%, pengurangan jumlah dari komposisi pupuk standar

Pengamatan dilakukan dua jam sekali, pada jam ke 0, 2, 4, 6, 8, 10 dan 12

C. Prosedur Penelitian

C.1 Persiapan Penelitian

Alat dan bahan yang akan digunakan disterilkan, agar terbebas dari mikroba, sehingga tidak merusak media dan tidak mengkontaminasi. Selang dan batu aerasi direndam dalam larutan kaporit 150 ppm, lalu dicuci bersih dan disemprot alkohol.

Sterilisasi air laut dilakukan dengan ozonisasi dan diberi penyinaran UV. Setelah itu direbus dua kali selama ± 30 menit dan disaring menggunakan planktonet berukuran 20 μm .

C.2 Perhitungan Kepadatan sel *Tetraselmis* sp.

Perhitungan kepadatan sel *Tetraselmis* sp. diperoleh melalui persamaan garis hubungan regresi linier antara kepadatan *Tetraselmis* sp. dan absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer. Muhaemin (2008) menyatakan bahwa *optical density* (OD) spektrofotometer yang optimal dalam pengukuran kepadatan fitoplankton adalah sebesar 650 nm. Langkah perhitungan persamaan garis regresi linier untuk menghitung kepadatan sel *Tetraselmis* sp. disajikan pada lampiran 1.

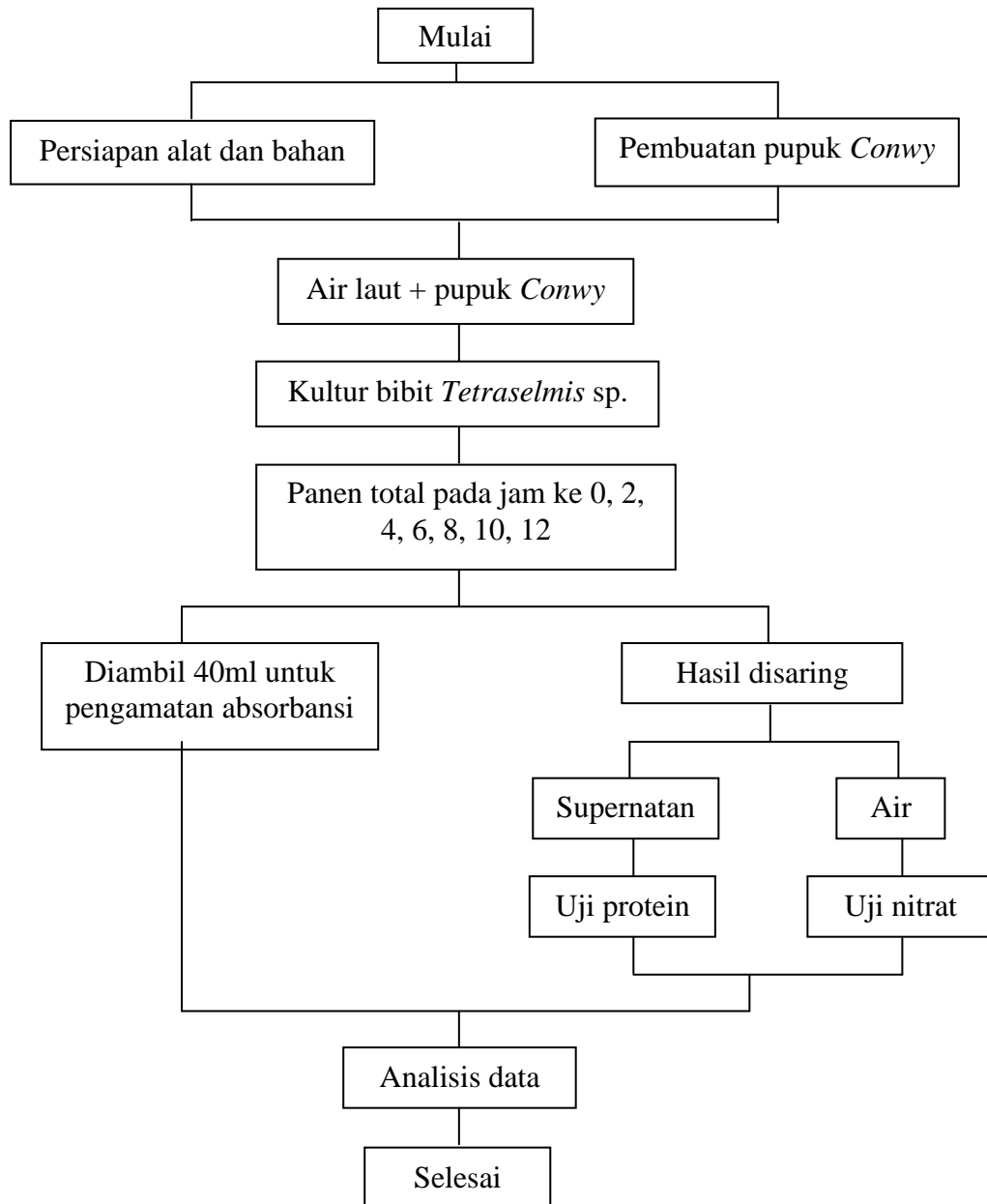
C.3 Pelaksanaan Penelitian

Tahap awal dalam penelitian ini yaitu persiapan alat dan bahan serta pembuatan pupuk *Conwy*. Setelah itu wadah kultur disiapkan disusun diatas rak kultur dan diberi aerasi serta pencahayaan lampu, kemudian diisi air dan diberi pupuk *Conwy* dengan perbandingan 1ml/l kultur. Lalu bibit *Tetraselmis sp.* dikultur dengan kepadatan awal $10-20 \times 10^4$ sel/ml. *Tetraselmis sp.* dipanen total pada jam kultur ke 0, 2, 4, 6, 8, 10, dan 12. Kemudian diambil sebanyak 40 ml untuk pengamatan absorbansi, sisa hasil kemudian disaring menggunakan kertas *Whatman*. Hasil saring berupa supernatan kemudian dilakukan uji protein dan pada airnya dilakukan uji kandungan nitrat (lampiran 2). Pelaksanaan penelitian secara ringkas disajikan dalam Gambar 5.

D. Parameter yang diamati

D.1 Kepadatan Sel *Tetraselmis sp.*

Kepadatan fitoplankton dihitung dari hasil panen total yang diambil sebanyak 40 ml. kemudian diamati absorbansinya menggunakan spektrofotometer. Hasil yang diperoleh dimasukkan ke persamaan garis $Y=ax+b$ untuk mengetahui kepadatannya.



Gambar 6. Tahapan alur penelitian

D.2 Konsentrasi Protein Total

Nilai protein total didapatkan dari uji proksimat protein pada *Tetraselmis* sp. dengan menggunakan metode Gunning (lampiran 3). Nilai persentasi protein diperoleh menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ N} = \frac{(\text{ml NaOH blanko} - \text{ml NaOH contoh}) \times \text{N NaOH} \times 14,008}{\text{gram contoh} \times 10}$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ N} \times \text{Faktor Konversi}$$

D.3 Kandungan Nitrat Anorganik Pada Media Kultur

Uji kandungan nitrat dalam *Tetraselmis* sp. dilakukan pada air laut steril (N_{-1}), saat setelah pupuk dimasukkan (N_0) dan pada jam kultur ke- 0, 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 dengan menggunakan spektrofotometer. Cara pengujian nitrat secara rinci digambarkan pada lampiran 4.

E. Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini menggunakan uji t untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan terhadap kepadatan dan kandungan nitrat pada media kultur. Uji t (t-test) digunakan untuk membandingkan dua nilai tengah contoh bebas apabila $n_1 = n_2 = n$, dengan anggapan bahwa kedua populasi menyebar normal dan memiliki ragam sama yang tidak diketahui nilainya (Steel dan Torrie, 1993).

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}}$$

$$S^2 = \frac{\sum x_1^2 - \frac{(\sum x_1)^2}{n} + \sum x_2^2 - \frac{(\sum x_2)^2}{n}}{2(n-1)}$$

$$S_{x_1 - x_2} = \sqrt{\frac{2S^2}{n}}$$

Keterangan:

n = jumlah sampel

t = Koefisien t

\bar{x} = rata-rata sampel

S^2 = ragam

S = simpangan baku

db = derajat bebas = 2 (n-1)

Analisis regresi dan korelasi digunakan untuk mempelajari hubungan antara nitrat anorganik pada media kultur dengan kepadatan, kepadatan dengan kandungan protein total, serta nitrat pada media kultur dengan kandungan protein total. Analisis regresi tersebut digunakan dengan maksud bahwa dari hubungan tersebut dapat memperkirakan besarnya dampak kuantitatif yang terjadi dari perubahan satu kejadian terhadap kejadian lainnya. Regresi polinomial merupakan model hubungan antara dua variabel berdasarkan persamaan garis polinomial berikut (Supangat, 2007):

$$Y = ax^2 + bx + c$$

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 $-1 < r < 1$, dijelaskan bahwa jika r mendekati -1 nilai korelasi berlawanan yang artinya korelasi negatif. Jika r mendekati 1, maka nilai korelasi searah yang artinya korelasi positif (Supangat, 2007).

Penentuan nilai korelasi menggunakan persamaan berikut (Supangat, 2007):

$$r = \frac{n (\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[n (\sum X^2) - (\sum X)^2][n (\sum Y^2) - (\sum Y)^2]}}$$

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