

#### IV. METODA PENELITIAN

##### A. Tempat dan Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengembangan Wilayah Pantai (LPWP) Jepara.

Penelitian ini berlangsung dari bulan Agustus sampai bulan Oktober 1994.

##### B. Bahan dan Alat

###### 1. Bahan

- a. Air media kultur
- b. Chlorine 150 ppm dan natrium thiosulfat 60 ppm
- c. Seperangkat pupuk untuk mengkultur *Tetraselmis chuii*
- d. Aquades
- e. Bibit *Tetraselmis chuii*
- f. Bibit *Brachionus plicatilis* O.F. Muller
- g. Lugol's

###### 2. Alat

- a. Botol kultur bervolume 3,5 L
- b. Seperangkat peralatan aerasi
- c. Timbangan elektrik
- d. Gelas ukur
- e. Pipet tetes
- f. Heater 600 watt
- g. Pipet hisap 10 ml
- h. Mikroskop
- i. Hemasitometer

- j. Sedgwick Rafter Counting Cell
- k. Hand Tally Counter
- l. Plankton net untuk fitoplankton
- m. Termometer
- n. Refraktosalinometer
- o. Kertas pH
- p. Seperangkat alat untuk mengukur kadar oksigen, kadar karbon dioksida, dan kadar ammonia.
- q. Lampu neon 40 watt

### C. Metoda penelitian

Rancangan Percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap, dengan jumlah perlakuan 5 dan ulangan sebanyak 3 kali.

Parameter yang diamati dan dihitung adalah kepadatan *Brachionus plicatilis* O.F. Muller. Sebagai data pendukung diukur kualitas air yang meliputi suhu, salinitas, pH, kadar oksigen, kadar karbon dioksida, dan kadar amoniak.

### D. Cara kerja

#### 1. Persiapan Alat penelitian

##### a. Sterilisasi tempat kultur

Tempat yang digunakan adalah botol bervolume 3,5 L. Botol tersebut disterilisasi terlebih dahulu dengan cara direndam di dalam larutan chlorine 150 ppm dan kemudian dinetralisasi dengan natrium thiosulfat 60 ppm atau sampai bau chlorine hilang (Mujiman, 1984).

## b. Sterilisasi Peralatan aerasi

Peralatan aerasi yang digunakan adalah batu aerasi, pengatur aerasi, dan selang aerasi. Untuk mengusahakan agar tekanan di dalam botol kultur sama antara botol yang satu dengan lainnya, maka digunakan batu aerasi yang sama ukurannya, dan pengatur aerasi yang dihubungkan oleh selang yang sama panjangnya. Sebelum digunakan peralatan aerasi tersebut disterilisasi terlebih dahulu dengan cara direndam di dalam chlorine 150 ppm dan kemudian dinetralisasi dengan natrium thiosulfat 60 ppm.

## 2. Persiapan Bahan Penelitian

### a. Persiapan air media kultur

Air media kultur yang digunakan baik untuk mengkultur *Tetraselmis chuii* maupun untuk mengkultur *Brachionus plicatilis* O.F.Muller terdiri dari campuran air laut dan air tawar. Air media tersebut diperoleh dari Laboratorium Pengembangan Wilayah Pantai (LPWP) Jepara. Sebelum digunakan air tersebut disterilisasi terlebih dahulu dengan jalan merebus air tersebut hingga mendidih, kemudian didinginkan, setelah itu disaring dengan kapas. Sterilisasi terhadap air media kultur dimaksudkan untuk menjaga agar tidak terdapat jamur, ganggang maupun zooplankton serta organisme yang lain yang berada dalam air tersebut. Untuk mengatur salinitas air media

kultur sesuai dengan salinitas yang diinginkan, maka dilakukan pencampuran air laut dengan air tawar yang sudah disterilkan, dengan menggunakan rumus :

$$S_n = \frac{S_1.V_1 + S_2.V_2}{V_1 + V_2}$$

Keterangan :

S<sub>1</sub> : Salinitas air laut yang diencerkan

S<sub>2</sub> : Salinitas air untuk pengenceran

V<sub>1</sub> : Volume air laut yang diencerkan

V<sub>2</sub> : Volume air tawar untuk pengenceran

(Anshory,1988)

Untuk mendapatkan air media kultur yang salinitasnya benar-benar tepat, maka air campuran yang diperoleh dengan menggunakan rumus tersebut diatas hasilnya diukur lagi dengan menggunakan refraktosalinometer.

#### b. Pengadaan *Tetraselmis chuii*

*Tetraselmis chuii* yang akan digunakan sebagai pakan *Brachionus plicatilis* O.F. Muller dikultur terlebih dahulu untuk mendapatkan stok *Tetraselmis chuii*. Untuk mengkultur *Tetraselmis chuii* ini digunakan pupuk yang terdiri :

|                   |    |     |
|-------------------|----|-----|
| Urea              | 80 | ppm |
| TSP               | 20 | ppm |
| ZA                | 15 | ppm |
| FeCl <sub>3</sub> | 2  | ppm |
| EDTA              | 5  | ppm |

Vit B12            0,5 ppm

Vit B1             0,5 ppm

(Anonymus, 1990)

Adapun cara —pembuatan larutan pupuk yang diperlukan dalam penelitian ini menggunakan rumus :

$$Q = \frac{V}{P} \times K$$

Keterangan

Q : Berat bahan yang akan dilarutkan (mg)

V : Volume pelarut atau aquades (ml)

P : Volume penggunaan (ml/L)

K : Konsentrasi pupuk yang diketahui (mg/ml)

(Fogg, 1965)

Adapun cara membudidayakannya adalah :

1. Botol kultur dan peralatan aerasi yang telah disterilkan, disiapkan terlebih dahulu.
2. Media kultur yang telah disterilisasi dan mempunyai salinitas 25 per mil dimasukkan di dalam botol kultur
3. Dipasang aerasi yang merata di dalam botol kultur.
4. Pupuk dimasukkan satu per satu ke dalam air media kultur sampai semua melarut sempurna.
5. Setelah pupuk larut di dalam air media kultur, bibit *Tetraselmis chuii* dengan kepadatan 200.000 sel/ml, kemudian dimasukkan ke dalamnya.

6. Botol-botol kultur ditempatkan pada rak dalam ruangan tertutup.
7. Sebagai sumber energi untuk fotosintesa dipasang lampu TL 40 watt.
8. Setelah 5 hari pemeliharaan, baru dapat diberikan sebagai makanan *Brachionus plicatilis*.

c. Pengadaan bibit *Brachionus plicatilis*

Bibit *Brachionus plicatilis* O.F. Muller yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Makanan Alami Budidaya Air Payau Jepara. Bibit tersebut berupa kultur murni *Brachionus plicatilis* O.F. Muller.

3. Penebaran *Tetraselmis chuii*

*Tetraselmis chuii* yang ditebar diambil dari stok *Tetraselmis chuii* yang telah dipersiapkan terlebih dahulu sebelum penelitian dimulai. Kepadatan *Tetraselmis chuii* yang diberikan sebagai pakan *Brachionus plicatilis* O.F. Muller merupakan perlakuan dalam penelitian ini. Ada 5 macam perlakuan :

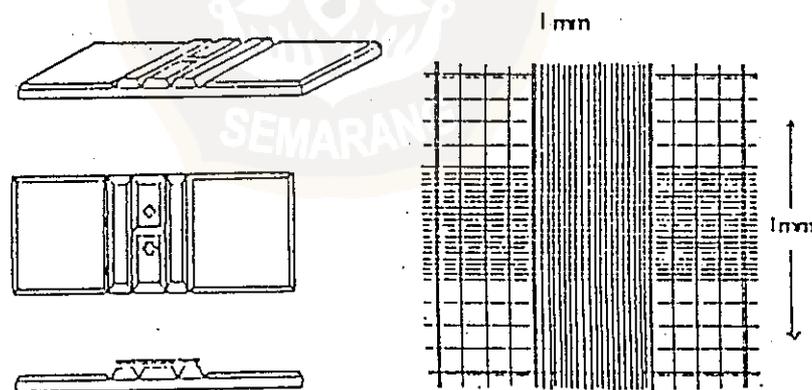
- A : Pemberian makanan berupa *Tetraselmis chuii* dengan kepadatan 250.000 sel/ml
- B : Pemberian makanan berupa *Tetraselmis chuii* dengan kepadatan 500.000 sel/ml
- C : Pemberian makanan berupa *Tetraselmis chuii* dengan kepadatan 750.000sel/ml
- D : Pemberian makanan berupa *Tetraselmis chuii*

kepadatan 1.000.000 sel/ml

E : Pemberian makanan berupa *Tetraselmis chuii* dengan kepadatan 1.250.000 sel/ml.

Untuk mendapatkan kepadatan *Tetraselmis chuii* sesuai dengan perlakuan maka perlu dilakukan hal-hal sebagai berikut :

3.1. Dihitung terlebih dahulu kepadatan *Tetraselmis chuii* pada stok *Tetraselmis chuii*. Untuk menghitung kepadatan *Tetraselmis chuii* digunakan hemasitometer yang dibantu oleh Hand tally Counter. Hemasitometer ini berupa gelas obyek atau gelas preparat yang mempunyai kedalaman yang telah tertulis pada gelas tersebut sebesar 0,100 mm<sup>3</sup>. Pada permukaan yang rendah terdapat garis-garis yang kalau dibesarkan akan terlihat seperti gambar berikut ini :



Gambar 05. Penampang Hemositometer (Mujiman, 1984)

Untuk menghitung jumlah sel *Tetraselmis chuii*, pertama-tama sampel yang telah diberi lugol's diambil dengan pipet dan diteteskan diatas permukaan gelas preparat di bagian tengah, kemudian ditutup dengan gelas penutup. Sampel tersebut akan menutupi permukaan gelas yang bergaris. Karena luas permukaan yang bergaris sudah diketahui yaitu 1 mm dan kedalamannya juga sudah diketahui yaitu 0,100 mm, maka volume sampel di atas permukaan bergaris sama dengan 1 mm kali 0,100 mm yaitu 0,1 mm atau 0,0001 cc. Jika jumlah sel yang terhitung adalah N, berarti jumlah sel *Tetraselmis chuii* per cc adalah  $N \times 10^4$  sel.

3.2. Setelah diketahui kepadatan *Tetraselmis chuii*, selanjutnya dilakukan pengenceran agar kepadatannya sesuai dengan perlakuan. Pengenceran tersebut dilakukan berdasarkan rumus pengenceran sebagai berikut :

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

Keterangan :

N1 : Kepadatan sel inokulum (kepadatan stok *Tetraselmis chuii*)

N2 : Kepadatan awal yang diinginkan (kepadatan perlakuan)

V1 : Volume inokulum yang dibutuhkan (volume

stok *Tetraselmis chuii*)

V2 : Volume air media kultur

( Erlina dan Hastuti , 1986 )

4. Penebaran *Brachionus plicatilis* O.F. Muller

Setelah botol-botol kultur diberi *Tetraselmis chuii* dengan kepadatan sesuai perlakuan, maka *Brachionus plicatilis* O.F. Muller dapat diinokulasikan ke dalamnya. Adapun kepadatan *Brachionus plicatilis* O.F. Muller yang diinokulasikan adalah 10 individu/ml.

5. Perawatan selama penelitian

a. Aerasi

Aerasi diberikan secara terus menerus selama penelitian. Pemberian aerasi ini menggunakan batu aerasi dan selang aerasi yang dimasukkan ke dalam botol kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller dan diusahakan aerasi ini merata dalam botol kultur.

b. Penambahan makanan setiap hari

Penambahan makanan yang berupa *Tetraselmis chuii* diberikan satu kali setiap harinya. Untuk mengetahui volume stok *Tetraselmis chuii* yang akan ditambahkan, maka dilakukan perhitungan sebagai berikut :

1. Mula-mula dihitung kepadatan sisa *Tetraselmis chuii* yang masih ada di dalam media kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller. Sehingga

dapat diketahui kepadatan *Tetraselmis chuii* yang dikehendaki untuk ditambahkan di dalam kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller. Kepadatan yang dikehendaki untuk diberikan adalah kepadatan perlakuan dikurangi kepadatan sisa *Tetraselmis chuii* yang masih ada di dalam kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller. Kemudian dihitung juga kepadatan *Tetraselmis chuii* di dalam stok *Tetraselmis chuii*. Setelah diketahui kepadatan *Tetraselmis chuii* yang hendak ditambahkan ke dalam kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller dan kepadatan *Tetraselmis chuii* di dalam stok *Tetraselmis chuii*, kemudian dilakukan perhitungan volume stok *Tetraselmis chuii* yang hendak ditambahkan ke dalam kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller. Perhitungan tersebut dengan menggunakan rumus pengenceran.

2. Adapun cara penambahan *Tetraselmis chuii* setiap hari, adalah sebagai berikut :  
*Tetraselmis chuii* ditambahkan beserta air media kulturnya. Supaya volume air media kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller tetap, maka sebelum *Tetraselmis chuii* ditambahkan, air media kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller dikurang terlebih dahulu sebanyak volume *Tetraselmis chuii* yang akan ditambahkan. Dan pada waktu pengurangan

air media kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller tersebut disaring dengan plankton net untuk fitoplankton.

## 6. Pengamatan

### a. Kepadatan *Brachionus plicatilis* O.F. Muller

Pengambilan sampel untuk pengamatan dilakukan sebelum pemberian pakan. Adapun cara pengamatannya adalah sebagai berikut :

Mula-mula media kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller diaduk secara merata. Kemudian diambil secara acak dengan pipet hisap. Setelah itu dihitung jumlah *Brachionus plicatilis* O.F. Muller menggunakan Sedgwick Rafter Counting Cell. Kepadatan *Brachionus plicatilis* O.F. Muller dihitung dengan rumus :

$$\text{individu per ml} = i \times \frac{a}{b} \times \frac{c}{d}$$

Keterangan :

- i : Jumlah individu terhitung
- a : jumlah kotak Sedgwick
- b : jumlah kotak yang diamati
- c : Volume filtrat
- d : Volume air sampel

(Greenberg, Connors, and Jenkins, 1981).

### b. Sebagai data pendukung adalah kualitas air :

Kualitas air yang diukur pada penelitian ini adalah :

Suhu . Pengamatan dilakukan 2 kali sehari pada pukul 06.00 dan pukul 18.00. Pengamatan dilakukan dengan termometer air raksa yang mempunyai ketelitian  $0^{\circ}\text{C}$ . Cara pemakaian alat tersebut adalah dengan memasukkan ujung bawah termometer ke dalam kultur dan memegang tali yang diikatkan pada ujung atas termometer.

Salinitas . Salinitas diamati 2 kali sehari pada pukul 06.15 dan 18.15. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan refraktosalinometer yang mempunyai ketelitian 0,5 per mil. Cara pemakaian alat tersebut adalah sebagai berikut :

Setetes air media kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller ditempatkan pada prisma alat tersebut, kemudian bagian prisma diarahkan ke cahaya yang cukup terang dengan maksud untuk melihat bidang perbatasan gelap dan terang yang menunjukkan besarnya salinitas.

pH . pH diukur 2 kali sehari pada pukul 06.30 dan 18.30. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan kertas lakmus yang mempunyai ketelitian satu 1. Cara pengukurannya adalah sebagai berikut :

Mula-mula kertas lakmus dimasukkan ke dalam air media kultur *Brachionus plicatilis* O.F. Muller, kemudian warna yang terjadi dicocokkan dengan warna pH standard.

Kandungan Oksigen Terlarut.

Pengukuran

kandungan oksigen terlarut (DO) dengan menggunakan modifikasi metoda Winkler. Cara pengukurannya adalah sebagai berikut :

1. Air sampel dipindahkan ke botol BOD volume 60 ml sampai meluap (jangan sampai terjadi gelembung udara), kemudian ditutup kembali dengan rapat.
2. Ditambahkan asam sulfamic 5 tetes dengan pipet, ditutup dan diaduk dengan membolak-balik botol.
3. Ditambahkan  $MnSO_4$  dan pereaksi oksigen masing-masing 10 tetes dengan pipet. Ditutup dengan hati-hati dan diaduk dengan membolak-balik botol, sampai terbentuk endapan coklat.
4. Ditambahkan  $H_2SO_4$  pekat dengan pipet, ditutup hati-hati dan diaduk hingga endapan semua larut.
5. Air sampel tersebut kemudian dipindahkan ke dalam erlenmeyer, diusahakan jangan sampai terjadi aerasi.
6. Air sampel (No.5) dititrasi dengan Na-thiosulfat hingga terjadi perubahan warna dari kuning tua menjadi kuning muda.
7. Selanjutnya 5 sampai 6 tetes amilum ditambahkan ke dalam air sampel tersebut, sehingga terbentuk warna biru. Kemudian dititrasi dengan

Na-thiosulfat dilanjutkan sampai air sampel tersebut tidak berwarna.

Perhitungan Oksigen terlarut :

$$\text{mg O}_2/\text{L} = \frac{(\text{ml titran}) \times 0,025\text{N} \times 8 \times 1000}{(\text{ml smpl})(\text{ml btl BOD} - \text{ml reagen}) \times \text{ml btl BOD}}$$

( Hariyadi, 1992 )

Kandungan CO<sub>2</sub>. Kandungan karbondioksida diukur dengan metoda Winkler. Cara pengukurannya adalah sebagai berikut :

Air sampel diambil 100 cc kemudian dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer. Ditambahkan 5 tetes indikator Phenolphtalin. Jika terjadi perubahan warna menjadi merah jambu berarti tidak terdapat karbon dioksida di dalam air sampel tersebut. Bila air sampel ditambah 5 tetes phenolphtalin warna air tetap jernih, maka harus dititrasi dengan larutan natrium carbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 0,045 N dan titrasi itu dihentikan setelah terjadi warna merah jambu. Kandungan karbon dioksida dalam air contoh tersebut dapat dihitung :

$$\text{CO}_2 \text{ mg/L} = \frac{\text{ml titran} \times \text{N}_{\text{titran}} \times 44/2 \times 1000}{\text{volume sampel}}$$

(Hariyadi, 1992)

Kandungan Ammonia. Cara pengukuran kandungan ammonia adalah sebagai berikut :

1. Dibuat larutan blanko, dengan menggunakan 50 ml aquabidest ditambah 2 ml Phenol (20 gr Phenol + 200 ml Alkohol 95 %) ditambah 2 ml Na. nitropruside (1 gr Na. nitropruside + 200 ml aquabidest) ditambah 5 ml larutan oksidasi.
2. Dibaca larutan blanko pada 640 nm (untuk standarisasi).
3. Dimasukkan 50 ml sampel dalam erlenmeyer. Ditambahkan 2 ml Phenol, 2 ml Na. Nitropruside, 5 ml lar. oksidasi. Kemudian dikocok dan didiamkan.
4. Botol erlenmeyer ditutup dan didiamkan selama 1 jam.
5. Dibaca pengukuran pada Spektrofotometer pada skala 640 nm (= a1)
6. Metode 3 - 5 dilakukan lagi, tetapi ditambah 50 ml larutan amonia kalibrasi.
7. Dibaca pengukuran pada 640 nm (= a2).

Rumus :

$$F = 3 / a2$$

$$C \text{ (ppm NH}_3\text{)} = \frac{F \times a1 \times \text{BM NH}_3}{1000}$$

( Anonim, 1994)

#### E. Analisa Data

Data yang diperoleh dari perhitungan kepadatan *Brachionus plicatilis* O.F. Muller pada puncak populasi dianalisa dengan analisa varians menggunakan uji F. Kemudian dilanjutkan dengan uji LSD.

