

IV. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pengembangan Wilayah Pantai Prof. Dr. Gatot Rahardjo Joenoes, Universitas Diponegoro, Jepara.

Penelitian dilakukan bulan Agustus sampai Oktober 1994.

B. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan Penelitian

a. *Chlorella* sp yang diambil dari biakan murni

b. Pupuk yang terdiri dari :

- ZA 100 ppm
- Urea 10 ppm
- TSP 30 ppm

Zat tambahan :

- FeCl₃ 3 ppm
- EDTA 2 ppm

Komposisi di atas untuk volume media 10 mililiter sampai 25 liter.

(Anonim. 1985)

c. Bekatul

Dari hasil pengujian bekatul jenis Cisadane hasil slep yang digunakan, didapat kadar thiamin sebesar 23,42 mg/kg. Berdasarkan perhitungan maka dapat ditentukan berat bekatul dengan kadar thiamin yang diinginkan. Cara penggunaannya adalah sebagai berikut :

- Bekatul yang akan digunakan ditimbang sesuai dengan kadar thiamin yang diinginkan.
 - Bekatul yang sudah ditimbang tersebut, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan diberi aquadest sebanyak 100 ml.
 - Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 120°C selama 10 menit (Wahyu,1988).
 - Dimasukkan dalam media kultur sebanyak 900 ml, dengan salinitas tertentu.
- d. Air Laut salinitas 20 permil
- e. Aquadest
- f. Deterjen
- g. Lugol's
- h. Chlorin 150 ppm
- i. Natrium thiosulfat 45 ppm
- j. Zat-zat untuk pengujian CO_2 dan O_2

2. Alat Penelitian

- a. Botol Kultur volume 3 liter
- b. Aerator
- c. Lampu TL 40 watt
- d. Thermometer
- e. Refraktosalinometer
- f. Luxmeter
- g. Kertas pH
- h. Timbangan
- i. Haemocytometer
- j. Mikroskop
- k. Autoklaf

- l. Oven
- m. Heater
- n. Hand Tally Counter
- o. Kertas Saring
- p. Desikator
- q. Cawan Porselen
- r. Pipet
- s. Peralatan Pengujian CO₂ dan O₂

C. Cara Kerja

1. Persiapan

Pada tahap ini dilakukan sterilisasi alat dan air laut. Alat-alat yang akan digunakan, dicuci dengan deterjen, dibilas lalu dikeringkan. Setelah itu diberi chlorin 150 ppm dan untuk menetralkannya diberi natrium thiosulfat 45 ppm (Anonim, 1985). Untuk sterilisasi air laut dan air tawar yang akan digunakan untuk media, masing-masing air tersebut disaring dengan plankton net dan setelah itu dididihkan dalam tempat bukan logam (dalam hal ini digunakan botol kultur) (Mujiman, 1991).

2. Penelitian Pendahuluan

Pada tahap ini dilakukan penelitian tentang kisaran berat bekatul dengan kadar thiamin yang tertentu sehingga dapat menghasilkan pertumbuhan populasi *Chlorella* sp yang tertinggi. Bekatul yang digunakan dalam penelitian ini dengan berat 4,27 gr/l, 8,54 gr/l, 12,8 gr/l dan 17,07 gr/l; masing-masing perlakuan itu dengan perkiraan thiamin sebesar 0,1

ppm; 0,2 ppm; 0,3 ppm dan 0,4 ppm. Hasil yang paling baik ialah bekatul dengan berat antara 4,27 gr/l sampai 8,54 gr/l dengan perkiraan thiamin antara 0,1 ppm sampai 0,2 ppm.

3. Penelitian Utama

Pada penelitian ini mula-mula dilakukan pengaturan salinitas. Untuk memperoleh salinitas yang diinginkan, maka digunakan rumus dari Svedrup (1961) :

$$S_2 = \frac{a \times S_1}{(n + a)}$$

Keterangan :

- S_1 : salinitas air laut mula-mula (permil)
 S_2 : salinitas yang diinginkan (permil)
 n : volume air tawar yang digunakan untuk pengenceran (liter)
 a : volume air laut semula S_1 (liter)
 $(n + a)$: volume air campuran (liter)

Untuk mendapatkan air medium dengan salinitas yang benar-benar tepat, maka air hasil pencampuran di atas diukur lagi dengan refraktosalinometer.

Setelah medium kultur yang sudah mengandung bekatul tadi diberi pupuk, kemudian dimasukkan bibit *Chlorella* sp dengan padat penebarannya 320.000 sel/ml (Nastiti, 1989). Untuk menghitung volume bibit yang diperlukan, digunakan rumus :

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

(Martosudarmo dan Wulani, 1990)

Keterangan :

V_1 : volume bibit yang ditebarkan

V_2 : volume medium kultur

N_1 : kepadatan stok

N_2 : kepadatan penebaran awal yang dikehendaki

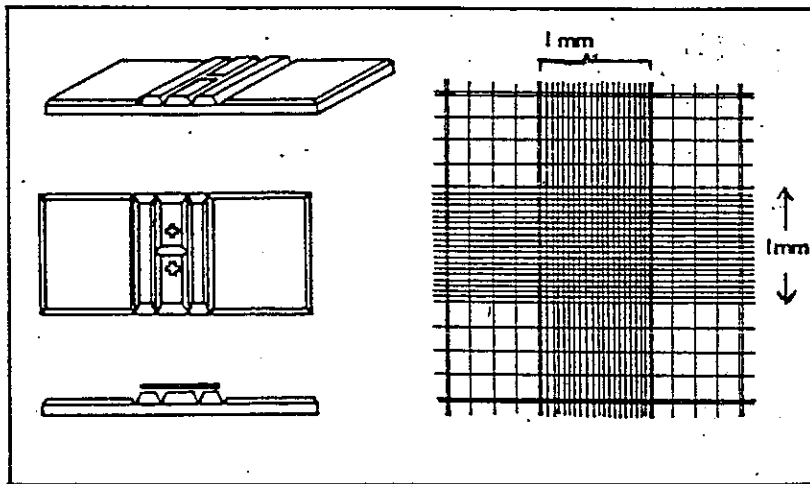
Setelah praktek budidaya siap, kemudian dimasukkan aerator dan diletakkan di dalam ruang budidaya, yang dilengkapi dengan lampu TL.

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan maka pada penelitian utama ini digunakan bekatul sebesar 0 gr/l; 2,14 gr/l; 4,27gr/l; 6,41 gr/l dan 8,54, gr/l.

4. Pengumpulan Data

4.1. Penghitungan Jumlah Sel

Penghitungan jumlah sel menggunakan Haemocytometer. Pada Haemocytometer diteteskan sampel dari medium kultur sebanyak satu tetes, kemudian diamati di bawah mikroskop. Sampel diteteskan pada bagian tengah Haemocytometer, dimana volume pada bagian tersebut yaitu $0,1 \text{ mm}^3 = 0,0001 \text{ ml}$, jika jumlah sel yang dihitung ada N buah, maka jumlah sel tiap ml = $10.000 \times N$ sel (Mujiman, 1991).



Gambar 07. Haemocytometer (Mujiman, 1991)

4.2. Pengukuran Berat Kering

Pengukuran berat kering dilakukan dengan menyaring air medium sebanyak 10 ml dengan kertas saring dan kemudian dibilas dengan aquades lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 2 jam. Sebelum ditimbang kertas saring tersebut didinginkan dalam desikator. Bobot kering *Chlorella* sp dapat dihitung dengan rumus :

$$B = \frac{Ba - (Bk + K)}{C} \times 1000$$

(Taras dan Greenberg, 1971)

Keterangan :

- B : Bobot kering *Chlorella* sp (gr/l)
 Ba : Bobot kertas saring dan *Chlorella* sp
 Bk : Bobot kertas saring
 C : Jumlah contoh (ml)
 K : Faktor Koreksi

Faktor Koreksi didapat dengan menyaring air yang salinitasnya sama dengan air medium kultur. Kemudian dibilas dengan aquades dan dioven pada suhu 105°C selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam desikator.

$K = \text{Bobot akhir} - \text{bobot kertas}$

Karena dalam penelitian ini terdapat bekatul dalam media, maka Ba dikurangi dengan berat bekatul.

Berat bekatul diperoleh dengan menyaring air medium kultur yang akan digunakan dalam penelitian. Setelah itu dibilas dengan aquades dan dioven pada suhu 105°C selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam desikator. Dari kepadatan populasi dan bobot kering, didapatkan bobot jenis :

bobot kering

Nilai bobot jenis = $\frac{\text{-----}}{\text{kepadatan populasi}}$ (mg/sel)

kepadatan populasi

(Taras dan Greenberg, 1971)

5. Parameter yang diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu jumlah sel, berat kering dan bobot jenis *Chlorella* sp. Pengamatan dilakukan selama dua belas

hari. Selain itu juga diamati kualitas air medium kultur yang merupakan faktor pendukung pertumbuhan populasi *Chlorella* sp. yang meliputi suhu, CO₂, O₂, salinitas, pH dan intensitas cahaya.

5.1. Pengukuran CO₂ bebas (Hariyadi, 1992)

Dilakukan pada awal dan akhir penelitian dengan metode titrasi. Pengambilan air contoh harus diusahakan sedemikian rupa sehingga terhindari kontak antara air contoh dengan udara. Analisa harus dilakukan segera. yaitu dalam waktu 2 - 3 jam setelah pengambilan contoh.

Diambil 60 ml air sampel dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dengan hati-hati, sedapat mungkin dikurangi pengaruh aerasi. Kemudian ditambahkan 3 - 4 tetes indikator PP, jika berwarna merah muda berarti tidak ada CO₂. Jika tidak berwarna berarti ada CO₂ dan segera dititrasi dengan Natrium karbonat (Na₂CO₃) 0,0454 N sampai diperoleh warna merah muda yang stabil selama 30 detik. Dicatat titran yang digunakan. Perhitungannya sebagai berikut :

$$\text{CO}_2 \text{ (mg/l)} = \frac{\text{ml titran} \times \text{N titran} \times 44/2 \times 1000}{\text{volume sampel (60 ml)}}$$

5.2 Pengukuran O₂ terlarut (Hariyadi, 1992)

Dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Dipindahkan air sampel ke dalam botol BOD sampai meluap,

(jangan sampai terjadi gelembung udara), kemudian ditutup. Setelah itu ditambahkan 1 ml Sulfamic Acid dengan pipet di bawah permukaan, ditutup dan diaduk dengan membolak-balik botol. Ditambahkan 2 ml Mangan Sulfat ($MnSO_4$), dan 2 ml NaOH + KI. Penambahan reagen-reagen ini juga dengan memasukkan pipet di bawah permukaan air dalam botol. Ditutup dengan hati-hati dan diaduk dengan membolak-balik botol. Dibiarkan beberapa saat hingga endapan coklat terbentuk dengan sempurna. Kemudian ditambahkan 2 ml H_2SO_4 pekat dengan hati-hati, diaduk dengan cara yang sama hingga semua endapan larut. Kalau endapan belum larut semua ditambahkan lagi 0,5 ml H_2SO_4 pekat. Setelah itu diambil 100 ml air dari botol BOD tersebut dengan menggunakan gelas ukur, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, diusahakan jangan sampai terjadi aerasi. Dititrasi dengan Natrium thiosulfat hingga terjadi perubahan warna dari kuning tua ke kuning muda. Ditambahkan 5 - 8 tetes indikator amylum hingga terbentuk warna biru. Dilanjutkan titrasi dengan Na-thiosulfat hingga tepat tidak berwarna (bening).

Perhitungan :

$$\text{mg } O_2/l = \frac{\begin{array}{l} \text{(ml titran)} \text{ (Normalitas thiosulfat)} \\ \text{(8) (1000)} \end{array}}{\text{(ml sampel)}}$$

5.3. Pengukuran Suhu

Pengukuran suhu dilakukan dengan termometer air raksa dengan ketelitian 1°C , pengukuran dilakukan setiap hari pada jam 06.30 dan 18.30.

5.4. Pengukuran Salinitas

Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan refraktosalinometer dengan ketelitian 0,5 permil. Pengukuran dilakukan setiap hari sebanyak dua kali.

5.5. Pengukuran pH

Pengukuran pH menggunakan kertas pH dengan ketelitian satu dan dilakukan setiap hari.

5.6. Pengukuran Intensitas Cahaya

Pengukuran intensitas cahaya menggunakan luxmeter dan dilakukan pada awal, tengah dan akhir penelitian.

D. Analisa Data

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan lima perlakuan dan empat kali ulangan. Data dianalisa dengan analisa sidik ragam berdasarkan uji nilai F . Dari hasil perhitungan menunjukkan bahwa nilai F -hitung $>$ F -tabel (5% dan 1%), maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) atau LSD.