

BAB IV
METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu

Tempat : Laboratorium Biologi Dasar Fakultas MIPA UNDIP-Tembalang

Waktu : Februari - April 1998

B. Bahan dan Alat

Bahan :

- Kultur Murni *Spirulina* sp.

- Pupuk Media :

Pupuk TSP : 30 ppm

Pupuk ZA : 20 ppm

FeCl₃ : 2 ppm

Vitamin B₁₂ : 0,001 ppm

Larutan EDTA : 10 ppm (Erlina dan Hastuti, 1986)

- Pupuk Urea : 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm (Diana, 1990)

- Air Media

Air laut

Aquadest

- Larutan Pensteril

Klorin : 150 ppm

Natrium thiosulfat : 20 ppm

Alat :

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Alat	Ketelitian / Kapasitas	Kegunaan
1.	Tabung tembus cahaya	1500 ml	wadah kultur alga
2.	Lampu TL	40 watt	sumber cahaya
3.	Lux meter	5000 lux	intensitas cahaya
4.	Aerator	-	sumber aerasi
5.	Pipa plastik (perangkat aerasi)	-	aerasi
6.	Handy Tally Counter	9999	alat penghitung
7.	Mikroskop	-	alat pembesar
8.	Thermometer	100 ⁰ C	mengukur suhu
9.	Refraktosalinometer	1ppm	mengukur salinitas
10.	pH meter	0,01	mengukur pH
11.	DO meter	0,01	mengukur oksigen
12.	CO ₂ kid	0,1	mengukur CO ₂
13.	Sedgewick Rafter Field Counting Cell	1 ml	menghitung jumlah sel
14.	Corong gelas	-	alat bantu memasukkan air
15.	Pipet tetes	-	pengambilan sampel
16.	Kertas saring Whatman no. 40	-	menyaring sampel
17.	Vacum pump	-	menyaring sampel
18.	Oven	-	mengeringkan sampel
19.	Eksikator	-	menghilangkan uap

C. Cara kerja

Tahap persiapan

1. Botol tembus cahaya, pipa plastik, pipet dan perangkat lain dicuci dengan detergent, kemudian direndam dengan klorin 150 ppm selama 1 jam dan dinetralsir dengan natrium thiosulfat 20 ppm lalu dikeringkan (Erlina dan Hastuti, 1986).

2. Persiapan air media

Air media diambil dari air laut yang telah dipanaskan sampai mendidih, kemudian didinginkan dan disaring dengan kapas. Selanjutnya diberikan larutan klorin 150 ppm selama 1 jam dan dinetralsir dengan larutan natrium thiosulfat 20 ppm (Erlina dan Hastuti , 1986).

3. Persiapan pupuk media

Pupuk media dibuat dengan dosis:

pupuk TSP : 30 ppm

pupuk ZA : 20 ppm

FeCl_3 : 2 ppm

vitamin B₁₂ : 0,001 ppm

larutan EDTA : 10 ppm (Erlina dan Hastuti, 1986)

4. Pengaturan intensitas cahaya

Dilakukan dengan menempatkan lampu TL berkekuatan 40 watt di atas tabung-tabung tembus cahaya. Letak tabung tembus cahaya TL diatur, sehingga dengan lux meter diketahui intensitas cahaya sebesar 3000 lux untuk masing-masing tabung tembus cahaya.

Tahap Penelitian Pendahuluan

1. Tabung tembus cahaya yang telah disterilkan diisi dengan air media yang telah diberikan klorin 150 ppm dan dinetralisir dengan natrium thiosulfat 20 ppm masing-masing 1 liter, untuk mendapatkan salinitas air media yang diinginkan, dilakukan pengenceran air laut dengan menggunakan rumus Sverdrup (1961), yaitu:

$$S_c = \frac{M_a S_a + M_b S_b}{M_a + M_b}$$

Keterangan :

S_c = salinitas yang diinginkan (ppt)

S_a = salinitas air laut (ppt)

S_b = salinitas aquades (ppt)

M_a = massa air laut (liter)

M_b = massa aquadest (liter)

Masing masing tabung tembus cahaya diberi pupuk media dan pupuk urea 80 ppm. Kemudian dilakukan kombinasi perlakuan sebagai berikut:

S_1 = salinitas 0 ppt

S_2 = salinitas 10 ppt

S_3 = salinitas 20 ppt

S_4 = salinitas 30 ppt

S_5 = salinitas 40 ppt

Masing-masing perlakuan tersebut diulang 3 kali.

Tiap-tiap tabung tembus cahaya dilengkapi dengan pipa plastik dan disumbat dengan gabus. Kemudian untuk menghomogenkan media dilakukan aerasi selama 1 jam.

2. Bibit *Spirulina* sp. dimasukkan didalam tabung tersebut dengan kepadatan awal sebesar 10000 unit/ml. Untuk menentukan besarnya volume inokulum yang dibutuhkan digunakan rumus:

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

dimana :

V_1	=	volume inokulum yang dibutuhkan (ml)
N_1	=	kepadatan sel inokulum (unit/ml)
V_2	=	volume air media kultur (ml)
N_2	=	kepadatan awal yang dikehendaki (unit/ml)

(Erlina dan Hastuti , 1986)

3. Penelitian pendahuluan dilakukan selama 12 hari dan setiap hari dilakukan penghitungan *Spirulina* sp. dengan bantuan mikroskop perbesaran 100 kali.

Tahap Penelitian Utama

1. Tahap penelitan utama didasarkan atas hasil penelitian pendahuluan. Berdasarkan penelitian pendahuluan diperoleh kisaran salinitas antara 10 sampai dengan 20 ppt yang paling optimum bagi pertumbuhan populasi *Spirulina* sp., sehingga salinitas

yang digunakan pada penelitian utama antara 10 sampai dengan 20 ppt yang terbagi dalam empat tingkat. Yaitu :

S1 = Salinitas 12,5 ppt

S2 = Salinitas 15 ppt

S3 = Salinitas 17,5 ppt

S4 = Salinitas 20 ppt

Faktor kedua adalah dosis pupuk urea yang terbagi dalam 3 tingkat yaitu:

U1 = dosis pupuk urea 80 ppm

U2 = dosis pupuk urea 100 ppm

U3 = dosis pupuk urea 120 ppm

Adapun kombinasi keduanya adalah :

S1U1 = salinitas 12,5 ppt dan dosis pupuk urea 80 ppm

S1U2 = salinitas 12,5 ppt dan dosis pupuk urea 100 ppm

S1U3 = salinitas 12,5 ppt dan dosis pupuk urea 120 ppm

S2U1 = salinitas 15 ppt dan dosis pupuk urea 80 ppm

S2U2 = salinitas 15 ppt dan dosis pupuk urea 100 ppm

S2U3 = salinitas 15 ppt dan dosis pupuk urea 120 ppm

S3U1 = salinitas 17,5 ppt dan dosis pupuk urea 80 ppm

S3U2 = salinitas 17,5 ppt dan dosis pupuk urea 100 ppm

S3U3 = salinitas 17,5 ppt dan dosis pupuk urea 120 ppm

S4U1 = salinitas 20 ppt dan dosis pupuk urea 80 ppm

S4U2 = salinitas 20 ppt dan dosis pupuk urea 100 ppm

S4U3 = salinitas 20 ppt dan dosis pupuk urea 120 ppm

2. Bibit *Spirulina* sp. ditebarkan dengan kepadatan awal populasi 10000 unit/ml. Untuk mengetahui pertumbuhan populasi *Spirulina* sp. masing-masing perlakuan, dilakukan penghitungan kepadatan populasi setiap hari. Contoh *Spirulina* sp. diambil sebanyak 1 ml dan dihitung dengan menggunakan Sedgewick Rafter Field Counting Cell dengan bantuan mikroskop. Adapun perbesaran mikroskop yang digunakan adalah perbesaran 100 kali. Pengamatan dilakukan selama 10 hari.
3. Data berat basah diperoleh dengan menyaring *Spirulina* sp. Penyaringan dilakukan pada hari ke 10 yaitu setelah pertumbuhan populasi mencapai puncaknya. Hasil saringan tersebut ditimbang untuk mendapatkan berat basah.
4. Data berat kering diperoleh dari hasil pengeringan biomassa basah, yaitu dengan cara memasukkan biomassa basah tersebut ke dalam oven pada suhu 80^o C, dikeluarkan, dieksikator kemudian ditimbang dan dimasukkan kembali ke oven serta diulang sampai diperoleh berat konstan. Hasil akhir ini merupakan data berat kering.
5. Data penunjang didapatkan dari pengukuran beberapa parameter fisika-kimia media kultur seperti temperatur, intensitas cahaya, pH dan oksigen terlarut setiap hari pada jam yang sama dengan saat penebaran untuk mendeteksi adanya perubahan yang ada. Pengukuran karbondioksida bebas dilakukan pada awal dan akhir penelitian.

D. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pola faktorial 4 kali 3 dengan 3 ulangan.

Data hasil penelitian dianalisis menurut prosedur sidik ragam, yaitu dengan menggunakan uji F pada taraf kepercayaan 1%. Apabila terdapat perbedaan nyata pada uji F, maka dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan.

