

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang terbagi menjadi dua, yaitu kultur makroalga coklat yang dilakukan di Laboratorium Teknobiologi-Industri, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta dan analisis kadar kolin dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM). Penelitian diadakan pada bulan November 2015 sampai dengan April 2016.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian kali ini antara lain timbangan analitik, mikropipet, pro-pipet, akuarium percobaan, ember percobaan, gelas ukur, pipet ukur, erlemeyer, aerator, kabel listrik, plastik (*trashbag*), gelas beker, pompa air Aquilla P1200, pH-meter Voltcraft PH-100 ATC, kertas payung, kapas, termometer, alat pengukur salinitas Refraktometer RHB-32-ATC, alat pengukur oksigen terlarut SensoDirect OXI-200 LEVIBOND, autoclave STMN-Y222 OMRON.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain bibit alga *Sargassum* sp yang berasal dari Gunungkidul, Daerah Istimewa Yogyakarta, akuades, NaNO₃, Fe-EDTA, Tris (Tris Hidroksi Metil Aminometan), air destilasi, air laut, larutan MnSO₄, larutan H₂SO₄, larutan Na₂S₂O₃ 0,025 N, dan lain-lain.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan penambahan medium PES dengan 4 variasi dan 5 kali pengulangan.

| No. | Perlakuan Sampel | Hari Pengukuran | Rata-Rata Kadar Kolin |
|-----|------------------|-----------------|-----------------------|
| 1. | Kontrol | Hari Ke-0 | |
| 2. | | Hari Ke-7 | |
| 3. | | Hari Ke-14 | |
| 4. | | Hari Ke-21 | |
| 5. | | Hari Ke-28 | |
| 6. | Medium PES 1 | Hari Ke-0 | |
| 7. | | Hari Ke-7 | |
| 8. | | Hari Ke-14 | |
| 9. | | Hari Ke-21 | |
| 10. | | Hari Ke-28 | |
| 11. | Medium PES 2 | Hari Ke-0 | |
| 12. | | Hari Ke-7 | |
| 13. | | Hari Ke-14 | |
| 14. | | Hari Ke-21 | |
| 15. | | Hari Ke-28 | |
| 16. | Medium PES 3 | Hari Ke-0 | |
| 17. | | Hari Ke-7 | |
| 18. | | Hari Ke-14 | |
| 19. | | Hari Ke-21 | |
| 20. | | Hari Ke-28 | |
| 21. | Medium PES 4 | Hari Ke-0 | |
| 22. | | Hari Ke-7 | |
| 23. | | Hari Ke-14 | |
| 24. | | Hari Ke-21 | |
| 25. | | Hari Ke-28 | |

Keterangan:

- I. Medium PES 1 (2 ml PES + 1.000 ml air laut).
- II. Medium PES 2 (3 ml PES + 1.000 ml air laut).
- III. Medium PES 1 (4 ml PES + 1.000 ml air laut).
- IV. Medium PES 1 (5 ml PES + 1.000 ml air laut).

V. Kontrol (1.000 ml air laut).

D. Tahapan Penelitian

1. Pengambilan Alga Coklat

Benih makroalga coklat diambil dari pantai Kukup, Gunung Kidul. Menurut Anggadiredja dkk (2006), benih alga *Sargassum* sp yang baik untuk budidaya berumur 25-30 hari. Benih diambil dan diletakkan di dalam kantong *trashbag* baru untuk dikarantina dan diadaptasikan. Setelah dikarantina, makroalga dibawa ke Laboratorium Teknobiologi-Industri, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta untuk dikulturkan.

2. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan disiapkan dan masing-masing dibungkus dengan kertas payung. Alat-alat dimasukkan ke dalam alat *autoclave* untuk di sterilisasi. Mesin *autoclave* dinyalakan dan dijalankan pada suhu 121°C selama 15 menit (Sutedjo, 1991). Air laut yang telah disterilisasi disimpan di dalam ruangan dengan suhu 23-24 °C (James, 2012).

Medium PES yang telah jadi, ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan kertas payung. Medium dimasukkan ke dalam alat *autoclave*. Mesin *autoclave* dinyalakan dan dijalankan pada suhu 121 °C selama 20 menit

(Sutedjo, 1991). Medium yang telah disterilisasi disimpan di dalam ruangan dengan suhu 23-24°C (James, 2012).

3. Pembuatan Medium PES (James, 2012)

dH₂O disiapkan dan dimasukkan ke dalam erlemeyer sebanyak 250 ml. NaNO₃ ditimbang pada timbangan analitik dan dimasukkan ke dalam masing-masing erlemeyer seberat 3,5 g. Erlemeyer masing-masing ditambahkan dengan Fe-EDTA seberat 0,1885 g dan Tris Buffer 52,25 g. Medium PES kemudian diaduk dengan sendok pengaduk kira-kira selama 30 detik. Medium disesuaikan pH-nya sekitar 7-7,8. Bila asam ditambahkan larutan KOH dan bila basa ditambahkan larutan HCl. Medium PES yang telah siap dimasukkan ke dalam aquarium yang telah berisi air laut steril sesuai dengan rancangan percobaan.

4. Uji Kualitas Air (Naid, 2013)

a. Pengukuran pH

Alat pH meter dicelupkan ke dalam kolam kultur. Hasil pembacaan pH dicatat. Pengukuran pH dilakukan pada minggu ke-0, 1, 2, 3, dan 4.

b. Pengukuran Salinitas

Sampel medium diambil menggunakan pipet tetes dan diteteskan di atas permukaan alat refraktometer. Hasil dilihat dan pembacaan hasil salinitas dicatat. Pengukuran salinitas dilakukan pada minggu ke-0, 1, 2, 3, dan 4.

c. Pengukuran Suhu

Alat termometer dicelupkan ke dalam kolam kultur. Hasil pembacaan pH dicatat. Pengukuran pH dilakukan pada minggu ke-0, 1, 2, 3, dan 4.

d. Pengukuran Oksigen Terlarut (DO)

Alat *sensodirect* dicelupkan ke dalam kolam kultur. Hasil pembacaan DO dicatat. Pengukuran DO dilakukan pada minggu ke-0, 1, 2, 3, dan 4.

5. Kultur Makroalga (Suniti dan Suada, 2012)

Makroalga yang diambil dari Pantai Kukup, dikarantina didalam medium kultur. Makroalga dimasukkan kedalam medium karantina berupa baskom besar dengan medium 60 cm yang telah berisi air laut sebanyak 25 l. Medium karantina dilengkapi dengan pompa air Aquilla P1200. Makroalga dikarantina selama 5 hari. Penggantian air laut medium karantina dilakukan

setiap 2 hari sekali sebanyak 25 l. Setelah dikarantina 5 hari, makroalga dibawa ke laboratorium untuk dikulturkan menggunakan medium PES.

Makroalga dimasukkan Akuarium sebanyak 5 buah diisi dengan air laut masing-masing 1.000 ml. Medium PES ditambahkan ke dalam masing-masing akuarium sesuai dengan rancangan percobaan. Benih dimasukkan ke dalam akuarium yang telah disiapkan sesuai dengan rancangan percobaan. Benih yang digunakan per akuarium dengan bobot 40-55 gram sebanyak 2 buah bibit hingga seberat 100 gram (Anggadiredja dkk., 2006). Pemanenan alga dilakukan pada hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28 untuk dilanjutkan dengan penimbangan biomassa.

6. Pemisahan dan Pengukuran Senyawa Kolin (Yoon, 2008)

Sebelum dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif, makroalga dikeringkan terlebih dahulu. Alga diambil dan diletakkan diatas nampan kemudian ditimbang di atas timbangan digital. Alga ditimbang dan dipotong seberat 15 gram untuk dikeringkan di atas nampan. Nampan diletakkan di atas meja di Teras Laboratorium Teknobia-Industri. Alga dikeringkan sekitar 5-7 hari setelah pemanenan.

Sampel yang telah dikeringkan dibawa ke Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM). Sampel

dipresipitasi terlebih dahulu sebelum ditotolkan ke plat silica kromatografi lapis tipis (KLT). Plat silica disiapkan, sampel hasil presipitasi kemudian ditotolkan ke plat silica bersama dengan larutan standar. Hasil KLT dapat dilihat dengan membandingkan tinggi puncak larutan standar dengan tinggi puncak sampel. Tinggi puncak larutan standard dan sampel akan selanjutnya dianalisis menggunakan alat densitometer.

E. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANAVA dengan tingkat kepercayaan 95 %. Apabila ANAVA menunjukkan hasil yang beda nyata, analisis dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) untuk mengetahui beda nyata antarperlakuan. Adapun data yang diperoleh berupa data hasil pengukuran kualitas air, data pertumbuhan, dan data hasil kadar kolin (Suniti dan Suada, 2012).