

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi: akuarium sebanyak 12 buah, timbangan digital merek AND-EK 610i dengan ketelitian  $10^{-2}$  gram, aerator, selang aerasi, batu aerasi, nampan, serok, ember plastik, heater akuarium, gelas ukur, *thermometer Hg*, DO meter, pH meter, pipet tetes, *handtally counter*, *haemocytometer*, *object glass*, *cover glass*, dan mikroskop cahaya, botol plastik, timbangan digital, spatula, autoklaf, bunsen, cawan petri, inkubator, *colony counter*, *hot plate*, pipet tetes, *styrofoam*, spektrofotometer UV visible, cuvet, labu erlenmeyer, pipet volume, bola hisap, cawan porselen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, botol film, *object glass*.

##### 3.1.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu, ikan uji yang digunakan adalah ikan sidat (*Anguilla sp.*) pada *stadia glass eel* sebanyak 540 ekor. Ikan sidat didapat dari Kabupaten Situbondo, Jawa Timur. Pakan yang diberikan berupa cacing sutra (*Tubifex sp*) dan probiotik dengan merek Pro - Biofish.

#### 3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki. Tujuan eksperimen adalah untuk menemukan hubungan sebab dan akibat antara variabel. Hasil yang diperoleh menegaskan bagaimana hubungan kausal antar variabel-variabel yang diselidiki dan seberapa besar hubungan sebab dan akibat tersebut, dengan cara memberikan perlakuan

tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan. Teknik pengumpulan data dilakukan dengan observasi langsung atau dengan pengamatan secara langsung (Nazir, 1988).

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan di laboratorium. Karena media homogen maka media atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh pada respon yang diamati.

Model Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Sastrosupadi, (2000) adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

$Y_{ij}$  = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$\mu$  = Nilai tengah umum

$T_i$  = Pengaruh perlakuan ke-i

$\varepsilon_{ij}$  = Pengaruh gallat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari 3 perlakuan dan 1 kontrol, dengan 3 kali ulangan. Denah (*lay out*) rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 4 :

K1	A1	K3	C3
K2	A2	C1	B3
B2	C2	A3	B1

Gambar 4. Denah (*lay out*) Rancangan Penelitian

Keterangan :

- K : Kepadatan 3 ekor/l tanpa penambahan karbon
- A : Kepadatan 3 ekor/l dengan penambahan tepung dedak
- B : Kepadatan 3 ekor/l dengan penambahan tepung sagu
- C : Kepadatan 3 ekor/l dengan penambahan tepung tapioka

### 3.4 Pengambilan Data

Pengambilan data yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari tiga perlakuan yang berbeda. Dari ketiga perlakuan, data diambil dari penerapan yang berbeda-beda dengan usia pemeliharaan dan asal sidat (*glass eel*) yang sama. Pengambilan data dilakukan saat kegiatan sampling selama kegiatan pembesaran ikan sidat. Sehingga ketika sampling, data diperoleh melalui eksperimen. Data yang diambil meliputi parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah pertumbuhan volume, biomassa, luas flok, kepadatan plankton dan bakteri. Sedangkan parameter penunjang dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bobot harian, pertumbuhan panjang harian kualitas air (pH, suhu, DO, amoniak, nitrat, nitrit dan alkalinitas).

### 3.5 Analisa Data

Data yang diperoleh pada saat penelitian akan dianalisa dengan secara statistik menggunakan analisis keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan rancangan acak lengkap (RAL). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (*significant*) atau dengan hasil berbeda sangat nyata (*highly significant*) ( $F_{hitung} > F_{Tabel}$ ) maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Tukey/BNT (Beda Nyata Terkecil).

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Persiapan Penelitian

Media yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah air tawar pada Laboratorium Reproduksi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Air diperoleh dari sumur kemudian dialirkan lewat pipa menuju akuarium dan diberi aerasi sebagai penyuplai oksigen. Sedangkan wadah dari penelitian adalah akuarium sebanyak 12 buah berukuran 50 x 30 x 30 cm<sup>3</sup>, dengan kepadatan 3 ekor/l.

Persiapan penelitian meliputi persiapan alat dan persiapan hewan uji seperti berikut:

- Persiapan alat
- Pencucian akuarium
- Persiapan alat-alat pendukung
- Pengisian air pada akuarium
- Persiapan hewan uji

Ikan uji terlebih dahulu diaklimatisasi selama 3 hari untuk mengadaptasikan ikan terhadap lingkungan baru.

#### 3.6.2 Pemeliharaan Ikan dengan Bioflok

Bioflok yang terbentuk di media merupakan hasil pengkondisian sistem yang diterapkan. Pengkondisian yang dilakukan yaitu:

- Diberikan starter bakteri (probiotik) sebagai bakteri agen pembentuk bioflok.
- Dimasukan karbon dan dibiarkan tanpa perlakuan selama 3 hari untuk mengakumulasi N-anorganik yaitu amoniak sampai diatas 1 ppm yang digunakan oleh bakteri heterotrof untuk menghasilkan ekopolimer (protein).
- Dibuat pergerakan air media sampai kecepatan arusnya 10 cm/detik agar flok dalam keadaan tersuspensi.

- Dibuat kondisi aerob dengan menjaga DO diatas 2 ppm karena bakteri heterotrof mengkonsumsi oksigen.
- Diberi pakan dilakukan sebanyak 3 kali sehari yaitu pada pukul 09.00, 15.00 dan 21.00 WIB dengan FR 7%. Menurut Sarwono (2000) jumlah pakan harian untuk sidat 5 – 10 % dari seluruh berat ikan yang dipelihara.
- Diukur kualitas air seperti DO, pH dan suhu dilakukan setiap hari dan amoniak, nitrit, nitrat dan alkalinitas dilakukan sepuluh hari sekali.
- Diukur pertumbuhan flok, biomassa flok, ukuran flok, kepadatan plankton, kepadatan bakteri, identifikasi plankton, dilakukan sepuluh hari sekali.

### 3.6.3 Prosedur Penambahan Karbon

Proses intensifikasi mikrobial dilakukan dengan penambahan molase pada media budidaya dengan mengadaptasi perhitungan yang dilakukan oleh Avnimelech (1999). Kontrol akumulasi nitrogen anorganik di tambak dapat dilakukan dengan berdasarkan pada metabolisme karbon dan immobilisasi nitrogen oleh bakteri. Bakteri dan mikroorganisme yang lain menggunakan karbohidrat (gula, pati, dan selulosa) sebagai makanan guna mendapatkan energi dan tumbuh melalui pembentukan sel-sel baru (Avnimelech, 1999). Proses tersebut dapat dilihat pada persamaan berikut :



Penambahan karbohidrat potensial untuk mengurangi konsentrasi nitrogen anorganik pada budidaya dengan sistem intensif. Berdasarkan persamaan (1) dan definisi efisiensi konversi mikroba (persentase karbon yang terasimilasi berdasarkan karbon pakan yang tercerna), maka jumlah potensial asimilasi karbon mikroba adalah sebagai berikut :

$$\Delta C_{mik} = \Delta CH \times \% C \times E \quad (2)$$

Jumlah nitrogen yang dibutuhkan untuk memproduksi sel baru ( $\Delta N$ ) bergantung pada C/N rasio dari biomassa mikroba. Nilainya adalah sebagai berikut :

$$\Delta N_{mik} = \frac{\Delta C_{mik}}{[\frac{C}{N}]_{mik}}$$

$$\Delta N_{mik} = \frac{\Delta C_{mik} \times \% C \times E}{[\frac{C}{N}]_{mik}}$$

Jumlah nitrogen yang terdapat dalam pakan dapat dihitung melalui persamaan berikut :

$$\Delta N = \text{pakan} \times \%N \text{ pakan} \times \% N \text{ ekskresi (4)}$$

Berdasarkan persamaan-persamaan di atas, maka jumlah karbon yang harus ditambahkan untuk mendukung proses pertumbuhan bakteri, yaitu :

$$\Delta CH = \frac{(\text{pakan} \times \%N \text{ pakan} \times \% N \text{ ekskresi} \times [\frac{C}{N}]_{mik}}{\% C \times E}$$

Keterangan :

- [C/N]<sub>mik</sub> : rasio [C/N] bakteri
- $\Delta CH$  : jumlah karbon yang harus ditambahkan
- %C : kandungan karbon dari sumber karbon yang ditambahkan
- E : efisiensi konversi mikroba
- Pakan : jumlah pakan yang diberikan
- %N pakan : kandungan N dalam pakan
- %N ekskresi : kandungan N yang dikeluarkan oleh tubuh ikan

Penelitian ini dilakukan dengan melakukan pemeliharaan sidat pada beberapa perlakuan dengan jumlah karbon yang ditambahkan didasarkan pada rumus Avnimelech (1999) dengan berdasarkan pada nilai C/N rasio. Asumsi-asumsi yang digunakan dalam perhitungan antara lain :

1. Kadar protein pakan 70,73 %

2. Efisiensi konversi mikroba (E) 40%
3. Kadar karbon (%C) dalam Tepung dedak 29,195 % , tapioka 49,7 % dan sagu 49,84 %
4. Kadar nitrogen dalam pakan (%N pakan) 16%
5. Nitrogen yang diekskresikan (%N ekskresi) 33%
6. C/N rasio target 12

### 3.7 Parameter Uji

#### 3.7.1 Parameter Utama

##### A. Pengukuran Volume Flok

Tahapan pertama dalam pengukuran volume flok adalah pengambilan flok atau gumpalan pada masing-masing perlakuan yang akan diteliti. Cara pengukuran volume flok adalah sebagai berikut.

- Disiapkan gelas ukur sebanyak 9 buah.
- Diambil sampel air 10 ml.
- Sampel air diendapkan selama 20 menit.
- Dihitung jumlah endapan nya dengan rumus :

$$\text{Volume Flok (ml/l)} = \frac{\text{Volume air sampel}}{\text{Volume Endapan}} \times 1000$$

##### B. Biomassa Flok

Tahapan pertama dalam pengukuran biomassa flok adalah pengambilan flok atau gumpalan pada masing-masing perlakuan yang akan diteliti. Cara pengukuran biomassa flok berdasarkan kadar kering adalah sebagai berikut:

- Di ambil sampel flok 1 ml
- Di hitung bobot dengan timbangan analitik (g) sebagai bobot basah.
- Dioven dengan suhu 65 -100 °C sampai beratnya konstan +/- selama 24 jam (Avnimelech, 2012)
- Dihitung bobot dengan timbangan analitik (g) sebagai bobot kering

- Dikalikan jumlah volume flok pada bobot yang kering sebagai biomassa flok

### C. Pengukuran Luas Flok

Tahapan pertama dalam pengukuran luas flok adalah pengambilan flok atau gumpalan pada masing-masing perlakuan yang akan diteliti. Cara pengukuran luas flok adalah sebagai berikut:

- Disiapkan mikroskop dan *haemocytometer*.
- Diambil sampel air menggunakan pipet.
- Sampel air diteteskan ke *haemocytometer*.
- Diamati luas flok di mikroskop.

### D. Plankton

Pengamatan plankton dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler. Prosedur pengamatan plankton adalah sebagai berikut:

- Disiapkan botol film sebanyak 9 buah.
- Diambil sampel air pada lima titik pengambilan sampel, yaitu pojok atas bagian kanan dan kiri, tengah, serta pojok bawah bagian kanan dan kiri.
- Kemudian sampel air dikomposit.
- Sampel air dimasukkan ke dalam botol film.
- Ditambahkan 3 – 5 tetes larutan lugol.
- Ditutup botol film dan diberi label.
- Sampel air ditetesi pada objek glass.
- Diamati pada mikroskop binokuler dengan pembesaran 100 – 400 kali.
- Dihitung plankton pada bidang pandang dengan *handly counter*
- Dihitung kelimpahan plankton dengan rumus persamaan modifikasi

lackey drop:

$$N \text{ (Ind/l)} = \frac{TXV}{LXv \times PXW} \times n$$

Keterangan

- T = Luas cover glass ( $\text{mm}^2$ )
- V = Volume konsentrasi plankton dalam botol tampung
- L = Luas lapang pandang dalam mikroskop ( $\text{mm}^2$ )
- v = Volume konsentrasi plankton di bawah cover glass
- P = Jumlah lapang pandang
- W = Volume air sampel yang disaring
- N = Kelimpahan plankton (ind/l)
- N = Jumlah plankton dalam bidang pandang

### E. Identifikasi Plankton

Pengamatan plankton dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler. Prosedur pengamatan plankton adalah sebagai berikut:

- Sampel air ditetesi pada objek glass.
- Diamati pada mikroskop binokuler dengan pembesaran 100 – 400 kali.
- Diamati morfologi plankton.
- Dicocokkan dengan buku identifikasi plankton air tawar (Prescott, 1979).

### F. Bakteri

Pengamatan bakteri yang dilakukan dalam penelitian ini adalah kepadatan bakteri. Ada beberapa tahapan dalam perhitungan kepadatan bakteri flok ini, yaitu:

- ❖ Pengambilan sampel air

Tahapan pertama dalam perhitungan kepadatan bakteri flok adalah pengambilan sampel air pada masing-masing akuarium perlakuan yang akan diteliti. Cara pengambilan sampel adalah sebagai berikut.

- Disiapkan botol.
- Diambil sampel air.
- ❖ Kultur bakteri

Tahapan dalam kultur bakteri bioflok adalah:

- Disiapkan sampel yang akan dikultur bakterinya.
- 0,1 ml sampel campuran dituang ke dalam cawan petri kosong, kemudian dituang ke dalam cawan petri dan sampel diratakan dengan cara menggoyang cawan petri membentuk angka 8.
- Diinkubasi pada suhu ruang (27°C) selama 24 – 48 jam.
- Diamati dan dihitung kepadatan koloni bakteri yang tumbuh.

### 3.7.2 Parameter Penunjang

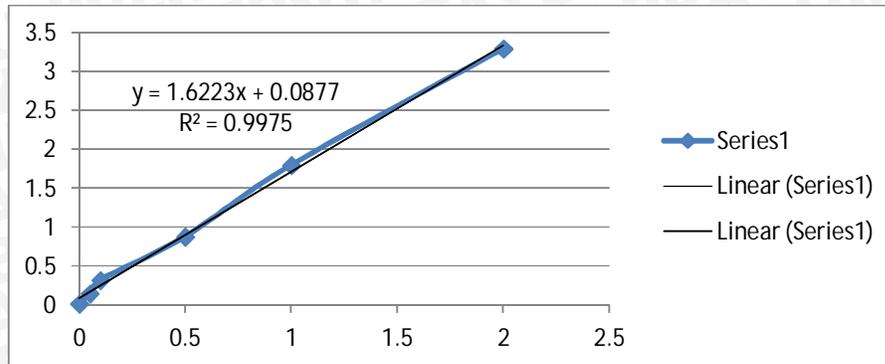
#### A. Amonia (NH<sub>3</sub>)

Pengukuran amonia dengan menggunakan Spektrofotometer UV Visible. Larutan standar amonia ditunjukkan pada Tabel 3 :

**Tabel 2. Konsentrasi Larutan Standart Amonia**

Konsentrasi (mg l <sup>-1</sup> )	Absorban
0	0,016
0,05	0,147
0,1	0,32
0,5	0,877
1	1,796
2	3,292

Nilai absorban digunakan untuk membuat regresi, dari hasil regresi amonia diperoleh persamaan  $y=1,6223x+0,0877$ . Kurva standart amonia dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Kurva Standart Amonia

Metode analisa amonia menggunakan Nessler (SNI 06-2479-1991) dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- Air sampel diambil sebanyak 12,5 ml dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 50 ml.
- Ditambahkan 0,5 ml larutan Nessler, goyang-goyang beaker glass agar larutan tercampur sempurna dan diamkan selama ± 30 menit.
- Dimasukkan sampel ke dalam cuvet kemudian ukur dengan menggunakan Spektrofotometer UV Visible dengan panjang gelombang 425 nm.

**B. Nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)**

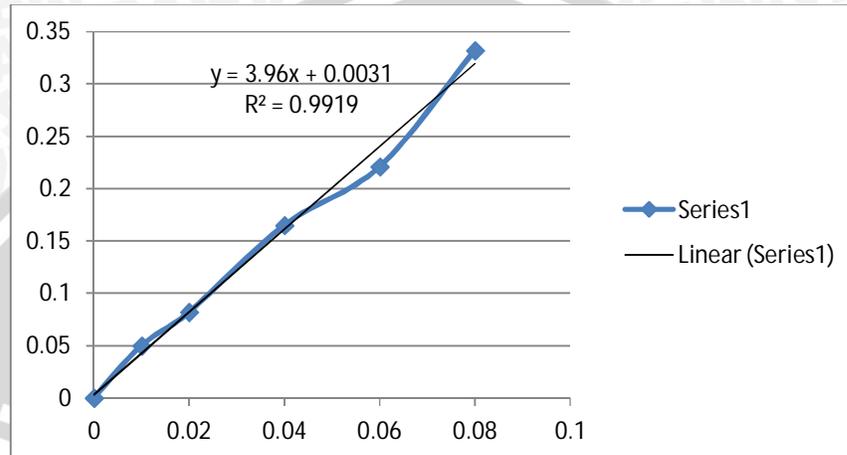
Pengukuran nitrit dengan menggunakan Spektrofotometer UV Visible. Larutan standar nitrit ditunjukkan pada Tabel 4 :

**Tabel 3. Konsentrasi Larutan Standart Nitrit**

Konsentrasi (mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> )	Absorban
0	0
0,01	0,05
0,02	0,082
0,04	0,165
0,06	0,221
0,08	0.332

- Nilai absorban digunakan untuk membuat regresi. Nilai absorban digunakan untuk membuat regresi, dari hasil regresi nitrit diperoleh persamaan  $y=3,96x+0,0031$ . Kurva standart nitrit dapat dilihat pada

Gambar 6.



Gambar 6. Kurva Standart Nitrit

Metode analisa Nitrit sesuai dengan Hariyadi *et al.*, (1992) dalam Delawati (2012) dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- Air sampel diambil sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 50 ml.
- Ditambahkan 4 tetes Sulfanilamid, digoyang-goyangkan tabung reaksi agar larutan tercampur sempurna dan diamkan selama  $\pm 5$  menit.
- Ditambahkan 4 tetes NED-*dihydrochloride*, digoyang-goyangkan tabung reaksi agar larutan tercampur sempurna dan diamkan selama  $\pm 10$  menit.
- Dimasukkan sampel ke dalam cuvet kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV Visible dengan panjang gelombang 543 nm.

### C. Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ )

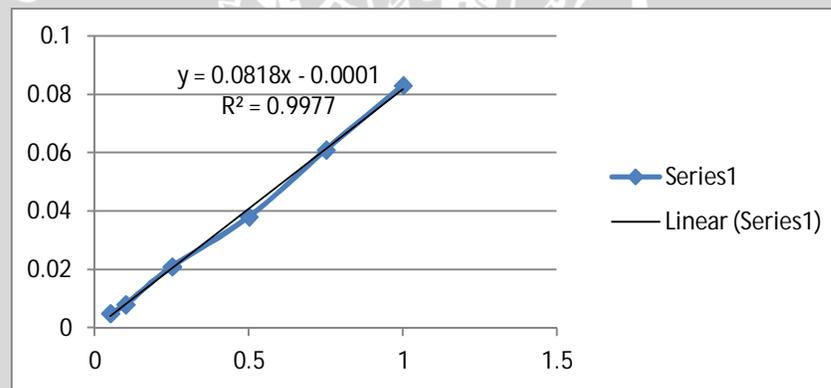
Pengukuran nitrat menggunakan Spektrofotometer UV Visible.

Larutan standar nitrat ditunjukkan pada Tabel 5 :

**Tabel 4. Konsentrasi Larutan Standart Nitrat**

Konsentrasi (mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> )	Absorban
0,05	0,005
0,1	0,008
0,25	0,021
0,5	0,038
0,75	0,061
1	0,083

Nilai absorban digunakan untuk membuat regresi. Nilai absorban digunakan untuk membuat regresi, dari hasil regresi nitrat diperoleh persamaan  $y=0,0818x-0,0001$ . Kurva standart nitrat dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Kurva Standart Nitrat

Metode analisa Nitrat sesuai dengan Boyd (1986) dalam Delawati (2012) dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- Air sampel sebanyak 12,5 ml diambil dan dimasukkan ke dalam cawan porselen.
- Air sampel dipanaskan dengan hot plate sampai terbentuk kerak pada cawan porselen.
- Ditambahkan 1 ml Asam Fenoldisulfonik ke dalam beaker glass yang telah dikerakkan.

- Ditambahkan aquades sebanyak 2 ml kemudian kerak pada beaker glass dikerik dengan spatula.
- Ditambahkan  $\text{NH}_4\text{OH}$  1 : 1 sampai kerak berubah warna menjadi kuning stabil dan ditambahkan aquades ke dalam beaker glass hingga volume 12,5 ml (volume awal).
- Dimasukkan sampel ke dalam cuvet dan diukur konsentrasi nitrat dengan Spektrofotometer UV Visible dengan panjang gelombang 410 nm.

#### D. Suhu

Prosedur pengukuran suhu adalah sebagai berikut:

- *Probe* disambungkan sebelum mengoperasikan suhu meter.
- *Probe* dimasukkan ke dalam sampel air yang akan diukur suhu ( $^{\circ}\text{C}$ ).
- Ditekan tombol ON, ditunggu sampai muncul angka pada layar suhu meter.
- Ditekan tombol CALL sebanyak 2 kali, ditekan RANGE maka alat akan mengukur suhu serta dicatat hasilnya.
- Ditekan tombol OFF untuk mematikan alat.

#### E. PH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter.

Prosedur pengukuran pH adalah sebagai berikut:

- *Probe* disambungkan terlebih dahulu sebelum digunakan.
- *Probe* dibilas dan dikalibrasi menggunakan aquades (pH netral).
- *Probe* dimasukkan ke dalam sampel air yang akan diukur kadar derajat keasamannya (pH).
- Ditekan tombol ON, ditunggu sampai muncul angka pada layar pH meter.
- Angka yang muncul ditunggu sampai posisi stabil.
- Kemudian, ditekan tombol OFF untuk mematikan alat.
- *Probe* dicuci dengan aquades dan ditutup.

## F. Oksigen Terlarut

Pengukuran DO dilakukan dengan menggunakan DO meter.

Prosedur pengukuran DO adalah sebagai berikut:

- *Probe* disambungkan sebelum mengoperasikan DO meter.
- *Probe* dimasukkan ke dalam sampel air yang akan diukur kadar oksigen terlarutnya (DO).
- Ditekan tombol ON, ditunggu sampai muncul angka pada layar DO meter.
- Ditekan tombol CALL sebanyak 2 kali, ditekan RANGE maka alat akan mengukur kadar DO serta dicatat hasilnya.
- Ditekan tombol OFF untuk mematikan alat.
- *Probe* dicuci dengan aquades dan ditutup.

## G. Pengukuran Alkalinitas

Tahapan pertama dalam pengukuran alkalinitas adalah pengambilan sampel air pada masing-masing perlakuan yang akan diteliti.

Cara pengukuran alkalinitas adalah sebagai berikut.

- Disiapkan erlenmeyer
- Dimasukan sampel sebanyak 25 ml
- Ditetes sebanyak 2 tetes indikator PP
- Dtitrasi dengan HCL 0,02 N
- Dicatat volume nya
- Dihitung dengan rumus :

$$\text{Alkalinitas} = \frac{\text{ml titran} \times \text{N.HCL} \times \frac{100}{2} \times 1000}{25}$$

## H. Pertumbuhan Individu/Mutlak (GR)

Pengamatan berat rata-rata dilakukan pada akhir pemeliharaan selama satu bulan satu bulan perlakuan. Tahapan pertama dalam mengetahui

pertumbuhan harian adalah pengambilan ikan sidat pada masing-masing perlakuan. Kemudian diambil 10 ekor ikan dalam keadaan tanpa air, ditimbang berat ikan dengan timbangan digital. Dengan menggunakan rumus :

$$GR = \frac{Wt - W0}{t}$$

Keterangan :

GR : Pertumbuhan individu/mutlak (gram/hari)

Wt : Berat rata-rata ikan di akhir pemeliharaan (ekor)

W0 : Berat rata-rata ikan di awal pemeliharaan (ekor)

t : Lama pemeliharaan (hari)

#### I. Ekstraksi

Flok yang sudah tumbuh pada wadah perlakuan selama satu bulan dilakukan pengambilan sampel. Ekstraksi dilakukan menggunakan metanol perbandingan sampel dan larutan adalah 40 ml/gram. Sampel dicampur dengan metanol PA kemudian di inkubator dengan suhu 28 °C dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah itu campuran disaring dengan kertas Whatmann no.4 dan di uapkan dengan rotary vacum evaporator pada suhu 40 °C sampai seluruh pelarut menguap. Ekstrak selanjutnya disimpan di dalam refrigerator dengan suhu 10 °C sebelum dianalisis.

#### J. Uji GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*)

Uji GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) GC-17A Agilent 5890 series II Plus. Injeksi sampel dalam mode split ke dalam kolom kapiler Hp 5-MS (50 m, 0,2 mm, 0,33 µm). Gas pembawa laju alir adalah Helium(He) 0,7 ml/min. Suhu injektor GC ditetapkan 295 °C. Program suhu oven ditetapkan 70 °C selama 2 menit dan kemudian meningkat sebesar 10 °C/menit samapai 295 °C 28 min.

### 3.8 Analisa Data

Data yang diperoleh hasil penelitian, akan dianalisa secara statistik dengan menggunakan analisa keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan rancangan acak kelompok (RAK). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

