

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) merupakan komoditas hayati yang bernilai ekonomi tinggi dan menjadi salah satu produk ekspor unggulan Indonesia, terutama ke pasar Asia, Eropa, dan Amerika. Tingginya permintaan ekspor dan konsumsi domestik menyebabkan eksploitasi besar-besaran terhadap stok rajungan hasil tangkapan laut oleh nelayan (Ihsan *et al.*, 2019). Oleh karenanya perlu adanya pembenihan rajungan untuk memenuhi permintaan ekspor maupun untuk *restocking*. Salah satu pembenihan yang ada di Sulawesi Selatan yaitu di hatchery rajungan, BPBAP Takalar.

Meskipun budidaya rajungan terus dikembangkan, hingga saat ini produksi belum mampu memenuhi permintaan pasar yang semakin meningkat. Hal ini sebagian besar disebabkan oleh sangat rendahnya tingkat kelangsungan hidup larva yang hanya berkisar antara 0,004 % hingga 0,25 % (Ikhwannuddin *et al.*, 2013). Angka survival yang rendah ini menjadi salah satu kendala utama dalam pembenihan rajungan. Salah satu penyebab rendahnya angka kelangsungan hidup larva adalah serangan penyakit. Menurut Dhar *et al.*, (2014) bahwa sebagian besar penyakit menular pada hewan akuatik dalam sistem budidaya disebabkan oleh bakteri sebesar 54 %, virus (22,6 %), parasit (19,4 %), serta jamur (3,1 %). Penyakit tersebut bisa masuk kedalam media budidaya jika proses sterilisasi tidak optimal. Selain itu juga bisa disebabkan oleh pakan yang diberikan telah tercemar oleh patogen. Salah satu pakan yang diberikan pada larva rajungan adalah *Brachionus* sp. yang memperoleh nutrisinya dari *Chlorella* sp.

Chlorella sp. merupakan pakan yang biasanya diberikan langsung sebagai pakan larva ikan atau udang, namun juga bisa diberikan ke zooplankton terlebih dahulu seperti *Brachionus* sp. (Mufidah *et al.*, 2019). Oleh karena itu kualitas dan kuantitas *Chlorella* sp. sangat perlu diperhatikan. Namun, budidaya *Chlorella* sp. yang menggunakan air laut secara langsung tanpa proses sterilisasi atau perlakuan awal menjadi salah satu faktor utama yang membuka peluang masuknya mikroorganisme patogen, termasuk bakteri dari genus *Vibrio* sp., ke dalam sistem budidaya mikroalga.

Vibrio sp. merupakan bakteri yang tergolong dalam kelompok *marine bacteria* atau bakteri yang berasal dari lingkungan laut hingga muara sungai dan paling banyak menyebabkan kematian pada kulturan budidaya (Utami *et al.*, 2016). Bakteri *Vibrio* sp. diketahui bersifat patogen, dan mampu berkembang cepat dalam lingkungan yang kaya nutrisi seperti media kultur alga. Kehadiran *Vibrio* sp. dalam kultur *Chlorella* sp. bukan hanya menurunkan kualitas mikroalga itu sendiri, tetapi juga berpotensi menjadi faktor

utama penularan penyakit ke *Brachionus* sp. dan larva rajungan melalui rantai pakan, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian massal pada tahap awal budidaya seperti yang terjadi pada pembenihan rajungan. Menurut Hadijah *et al.*, (2021) bahwa salah satu faktor keberhasilan pembenihan rajungan adalah kualitas pakan alami yang diberikan, khususnya pada fase awal kehidupannya.

Salah satu bahan yang sering digunakan dalam menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. adalah penggunaan bahan kimia desinfektan seperti kaporit (kalsium hipoklorit). Kaporit merupakan senyawa yang umum digunakan dalam bidang perikanan untuk mensterilkan air, peralatan, dan lingkungan tambak karena sifatnya yang kuat dalam membunuh berbagai jenis mikroorganisme patogen. Meskipun efektivitas kaporit dalam menekan jumlah *Vibrio* sp. di media perairan telah banyak dibuktikan, penggunaannya langsung pada kultur mikroalga seperti *Chlorella* sp. masih perlu dikaji lebih lanjut, khususnya dalam hal dosis kaporit yang mampu menurunkan bakteri tanpa menyebabkan kerugian terhadap mikroalga dan organisme berikutnya dalam rantai pakan. Seperti yang dikatakan oleh Hartoyo *et al.* (2018) bahwa penggunaan kaporit yang berlebihan dapat membahayakan kultivan budidaya maupun lingkungan sekitar.

Berdasarkan hal di atas, maka perlu dilakukan pengkajian untuk mengetahui pengaruh pemberian kaporit dengan dosis yang berbeda dalam menurunkan kontaminasi bakteri *Vibrio* sp. dalam media budidaya *Chlorella* sp. Tidak seperti metode pencegahan atau pretreatment, kaporit dalam penelitian ini diberikan langsung ke dalam kultur *Chlorella* sp. yang telah terkontaminasi *Vibrio* sp., sehingga lebih menekankan aspek pengobatan (curative) daripada pencegahan (preventive).

1.2. Teori

1.2.1. *Vibrio* sp. dan Dampaknya Pada Budidaya Alga

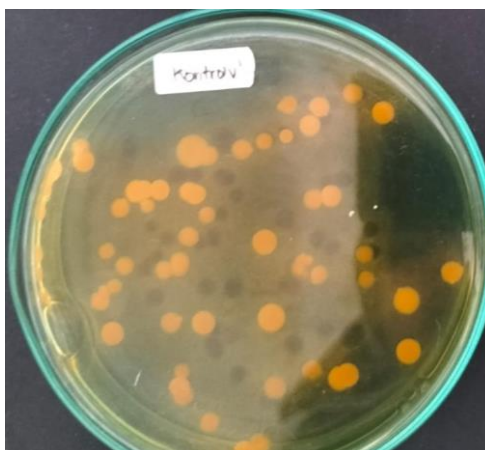
Bakteri *Vibrio* sp. merupakan bakteri yang umumnya ditemukan di lingkungan perairan laut dan payau. Sebagian besar spesies *Vibrio* sp. bersifat halofilik, yaitu mampu tumbuh pada salinitas tinggi 20-40 ppt, dan tumbuh optimal pada suhu air antara 20–30°C (Yanuhar & Caesar, 2020). Adapun klasifikasi bakteri *Vibrio* sp. menurut The Taxonomicon (2024) sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria (Woese <i>et al.</i> ,1990)
Phylum	: Proteobacteria (Craig <i>et al.</i> ,2010)
Class	: Gammaproteobacteria (Garrity <i>et al.</i> ,2005)
Ordo	: Vibrionales (Garrity & Holt, 2001)

Family : Vibrionaceae (Veron, 1965)

Genus : *Vibrio* (Pacini, 18,54)

Bakteri *Vibrio* sp. merupakan patogen oportunistik yang sangat berbahaya dalam akuakultur. Bakteri ini dapat menyerang ikan, udang, plankton, dan lain sebagainya. Bakteri *Vibrio* sp. dapat menginfeksi larva secara langsung atau melalui media pakan alami yang terkontaminasi, seperti *Brachionus* sp. dan mikroalga, dan dapat menyebabkan kematian massal pada sistem budidaya intensif (Novriadi *et al.*, 2014). Selain itu, kontaminasi bakteri *Vibrio* sp. pada budidaya *Chlorella* sp. dapat memiliki dampak yang signifikan dan merugikan. Bakteri *Vibrio* sp. dapat menghambat pertumbuhan *Chlorella* sp. dengan cara bersaing dalam mendapatkan nutrisi. Selain itu, beberapa bakteri *Vibrio* sp. menghasilkan enzim atau senyawa beracun yang dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh sel-sel *Chlorella* sp. (Fuentes *et al.*, 2016).



Gambar 1. Bakteri *Vibrio* sp.

1.2.2. *Chlorella* sp.

Chlorella sp. adalah mikroalga uniseluler dengan ukuran sel berkisar antara 2-8 mikron. Sel alga ini memiliki bentuk bulat menyerupai telur dan tampak berwarna hijau, yang disebabkan oleh dominasi pigmen klorofil dibandingkan pigmen lainnya. Mikroalga ini berkembang biak secara asexual melalui pembelahan sel. Meskipun *Chlorella* memiliki kemampuan bergerak, pergerakannya sangat lambat sehingga tampak diam saat diamati (Novianti *et al.*, 2017). Berikut klasifikasi *Chlorella* sp. menurut The Taxonomicon (2024):

Kingdom : Plantae (Haeckel, 1866)

Subkingdom : Viridiplantae (Caval, 1981)

Filum : Chlorophyta (Pascher, 1914)

Kelas : Trebouxiophyceae (Friedl, 1995)

Ordo : *Chlorellales* (Bold & M.J.Wynne, 1978)

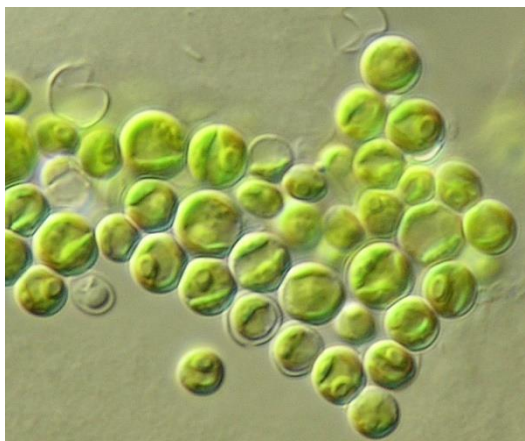
Famili : *Chlorellaceae* (Brunnthal, 1913)

Genus : *Chlorella* (Beijerinck, 1980)

Dalam budidaya mikroalga seperti *Chlorella* sp., proses pertumbuhan sel berlangsung secara bertahap melalui empat fase utama, yaitu fase lag (adaptasi), fase log (eksponensial), fase stasioner (penurunan laju pertumbuhan populasi), dan fase kematian. Di antara keempat fase tersebut, fase log merupakan tahap di mana *Chlorella* mengalami pembelahan sel yang sangat aktif, sehingga laju pertumbuhan populasi meningkat secara signifikan. Fase ini sangat penting karena merupakan waktu yang paling ideal untuk panen, baik untuk dikonsumsi langsung oleh *Brachionus* sp. maupun sebagai indikator keberhasilan kultur (Novianti *et al.*, 2017).

Chlorella sp. banyak dibudidayakan karena merupakan pakan alami bagi larva ikan atau udang. Alga ini memiliki kandungan nutrisi yang sangat baik untuk larva ikan atau udang. Menurut Andriani *et al.*, (2023), Potensi *Chlorella* sp. sebagai pakan alami tidak hanya terletak pada kandungan nutrisinya, tetapi juga pada kemampuannya untuk tumbuh dengan cepat dan beradaptasi di berbagai kondisi lingkungan. *Chlorella* sp. adalah sumber gizi yang sangat berguna dengan kandungan protein tinggi mencapai 50–60%, vitamin A, vitamin B12, vitamin C, vitamin E, mineral, dan asam lemak esensial (Andriani *et al.*, 2023). Selain sebagai pakan, mikroalga juga membantu meningkatkan kualitas air melalui fotosintesis dan penyerapan amonia. Kultur *Chlorella* sangat sensitif terhadap kondisi lingkungan, dan kehadiran patogen dapat menurunkan produktivitasnya secara signifikan.

Selain diberikan langsung ke larva, *Chlorella* biasanya digunakan sebagai pakan starter dengan diberikan ke *Brachionus* sp. terlebih dahulu (Anies *et al.*, 2024). Dalam sistem pakan berjenjang, *Chlorella* sebagai pakan awal *Brachionus* sp. berperan sangat penting. Jika mikroalga tercemar oleh bakteri patogen atau residu bahan kimia seperti kaporit, maka risiko transmisi ke *Brachionus* sp. dan larva menjadi tinggi. Untuk itu budidaya *Chlorella* harus tetap terkontrol baik kuantitas maupun kualitasnya.



Gambar 2. *Chlorella* sp. (Google 2025)

1.2.3. *Brachionus* sp.

Brachionus sp. merupakan kelompok zooplankton mikroskopis yang banyak digunakan sebagai pakan alami dalam tahap awal budidaya berbagai jenis larva ikan dan udang serta kepiting. Salah satu spesies *Brachionus* sp. yang paling umum dibudidayakan adalah *Brachionus plicatilis*. Spesies ini dikenal memiliki toleransi yang luas terhadap perubahan lingkungan, seperti salinitas dan suhu, serta kemudahan dalam pemeliharaan dan reproduksi secara partenogenesis, yaitu berkembang biak tanpa pembuahan oleh jantan (Lubzens *et al.*, 2001). *Brachionus* sp. mempunyai ukuran tubuh 40 μm –2,5 mm, dengan rata-rata 200 μm . Tubuh *Brachionus* sp. dibagi menjadi tiga bagian, yaitu kepala (anterior) berisi alat makan trofi, badan (trunk) sebagai pusat aktivitas fisiologis, dan kaki (posterior) berfungsi untuk menempel atau berenang (Wullur, 2017). Adapun klasifikasi dari *Brachionus* sp. berdasarkan Worms (2025) sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Rotifera

Kelas : Eurotatoria

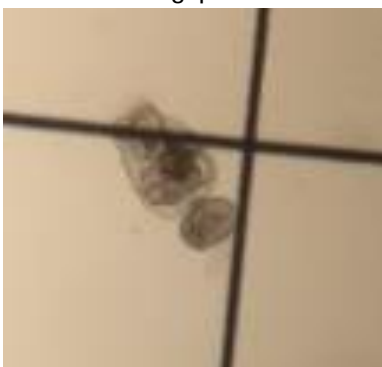
Ordo : Ploima

Famili : Brachionidae

Genus : *Brachionus*

Spesies : *Brachionus plicatilis*

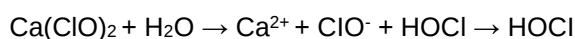
Brachionus sp. merupakan pakan awal bagi larva ikan yang sampai saat ini fungsinya belum dapat digantikan oleh pakan buatan. Kultur *Brachionus* sp. umumnya diberi pakan *Chlorella* laut (Widjaja, 2004). Pakan alami *Brachionus* sp. adalah makanan yang berasal dari mikroalga yang berperan sebagai sumber protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral dalam pertumbuhannya. Penggunaan mikroalga tersebut dimaksudkan agar *Brachionus* sp. yang dikultur mempunyai laju pertumbuhan populasi yang cepat dan memiliki kandungan gizi yang tinggi, karena masing-masing mikroalga mengandung nutrisi yang amat dibutuhkan bagi pertumbuhan larva.



Gambar 2. *Brachionus plicatilis*

1.2.4. Kaporit ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$)

Kaporit merupakan bahan kimia yang umum digunakan sebagai desinfektan dalam bidang akuakultur dan pengolahan air, dengan rumus kimia $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ atau kalsium hipoklorit. Zat ini termasuk senyawa oksidator kuat yang larut dalam air dan menghasilkan ion hipoklorit (ClO^-) serta asam hipoklorit (HOCl), dua bentuk aktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri (Nugroho *et al.*, 2021). Adapun reaksi pelarutan kaporit dalam air berlangsung sebagai berikut:



Asam hipoklorit (HOCl) kemudian akan terionisasi sebagian menjadi ion hipoklorit (ClO^-) tergantung pada pH media. Senyawa HOCl memiliki efek desinfeksi lebih kuat dibanding ClO^- karena molekulnya lebih kecil dan tidak bermuatan, sehingga dapat menembus membran sel bakteri dengan lebih efektif. Setelah masuk ke dalam sel bakteri seperti *Vibrio* sp., HOCl akan mengoksidasi komponen esensial seperti enzim, DNA, dan protein membran, sehingga menyebabkan kerusakan struktural dan akhirnya kematian sel (Nizer *et al.*, 2020). Efektivitas kaporit sangat tergantung pada dosis, waktu kontak, serta kualitas air, khususnya pH. Pada pH sekitar 6.5–7.5, HOCl tetap stabil dan efektif sebagai agen antimikroba (Nizer *et al.*, 2020). Suhu dan salinitas yang stabil juga turut mendukung kestabilan kaporit dalam sistem.

Namun, meskipun kaporit efektif dalam menurunkan jumlah bakteri *Vibrio* sp., penggunaannya dalam dosis tinggi dapat memberi efek toksik terhadap organisme non-target seperti fitoplankton (*Chlorella* sp.) dan zooplankton (*Brachionus* sp.). Oleh karena itu, penggunaannya harus mempertimbangkan keseimbangan ekosistem budidaya. Dosis yang terlalu tinggi dapat mengganggu pertumbuhan organisme yang menjadi komponen penting dalam rantai makanan di sistem budidaya, seperti *Chlorella* sp. sebagai pakan alami dan *Brachionus* sp. sebagai zooplankton konsumen utama. Dosis optimal perlu ditentukan agar tetap efektif sebagai desinfektan, tetapi tidak memberikan dampak negatif terhadap biota budidaya lainnya.

Penambahan kaporit dengan dosis yang tepat penting untuk supaya mikroorganisme yang ada di dalam air dapat tereduksi secara optimum. Kurangnya dosis yang digunakan dapat menyebabkan mikroorganisme tidak tereduksi secara sempurna dan kelebihan dosis juga dapat menyebabkan hasil yang tidak sempurna. Desinfeksi pada dasarnya bertujuan untuk membunuh mikroorganisme patogen yang terkandung didalam air. Menurut Cahyana, (2020) kaporit (kalsium hipoklorit) digunakan luas dalam pengolahan air karena ketersediaannya tinggi, murah, larut dalam air, dan memiliki efek oksidator yang kuat terhadap mikroorganisme.

Penelitian oleh Cha *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa kaporit efektif menurunkan jumlah bakteri *Vibrio* sp. dalam air dengan konsentrasi 5-20 ppm ppm dengan efektivitas optimal di 10 ppm dalam waktu 30-60 menit, tergantung pada tingkat salinitas dan bahan organik. Namun, menurut (Masithah, 2019), *Chlorella* sp. memiliki toleransi terbatas terhadap klorin bebas, terutama di atas konsentrasi 5 ppm, klorin bebas (HOCl dan ClO^-) dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan penurunan

fotosintesis, kerusakan sel, dan perlambatan pertumbuhan. Selain itu, sisa residu kaporit dalam pakan hidup bisa saja berdampak negatif terhadap kelangsungan hidup larva atau *Brachionus* sp. dalam rantai pakan, terutama jika waktu detoksifikasi tidak cukup.

1.3. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan dosis kaporit yang tepat dalam menurunkan jumlah kontaminasi bakteri *Vibrio* sp. dalam media budidaya *Chlorella* sp. tanpa membahayakan *Chlorella* sp. dan organisme lainnya dalam rantai pakan.

Hasil dari penelitian ini diharapkan menjadi pengetahuan baru dan menjadi acuan dalam melakukan pengendalian patogen yang terdapat dalam media budidaya *Chlorella* sp. sehingga aman dijadikan sebagai pakan.

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2024 di Hatchery Pakan Alami, Balai Perikanan Budidaya Air Payau, Takalar. Lokasi dipilih dengan pertimbangan bahwa lokasi tersebut memadai dalam hal sarana dan prasarana penelitian.

2.2. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 1** dan **Tabel 2**.

Tabel 1. Alat yang digunakan pada saat penelitian

Alat	Fungsi
Toples (5 L)	Sebagai wadah penelitian
Selang aerasi	Untuk menyalurkan oksigen
Timah pemberat	Untuk pemberat aerasi
Batu aerasi	Untuk penyebar oksigen dalam air
Neraca analitik	Menimbang kaporit dan TCBS
Gelas ukur	Untuk mengukur volume media penelitian
Botol sampel	Sebagai wadah sampel
Haemocytometer	Untuk menghitung sel <i>Chlorella</i> sp
Sedgewick rafter	Untuk menghitung sel <i>Brachionus</i> sp.
Mikroskop	Untuk pengamatan penghitungan <i>Chlorella</i> sp. dan <i>Brachionus</i> sp.
Cawan patry	Sebagai wadah isolasi bakteri
Erlemeyer	Sebagai wadah pembuatan media TCBS
Hot plate	Untuk memanaskan dan pengaduk media TCBS
autoklaf	Sebagai alat sterilisasi basah
mikropipet	Untuk mengambil sampel
Laminar air flow	Sebagai ruang kerja aseptik
Incubator	Untuk mengontrol lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan bakteri.
Tabung reaksi	Sebagai wadah pengenceran sampel
Vortex	Mencampur sampel atau larutan secara cepat dan efisien

Tabel 2. Bahan yang digunakan pada saat penelitian

Bahan	Fungsi
<i>Chlorella</i>	Organisme penelitian
<i>Brachionus</i> sp.	Organisme penelitian
Kaporit	Menurunkan bakteri <i>Vibrio</i> sp.
Formalin 10%	Membantu dalam pengamatan <i>Brachionus</i> sp.
TCBS	Media tumbuh bakteri
Trisalt	Sebagai larutan pengencer
Aquades	Sebagai pelarut media TCBS

2.3. Metode Penelitian

2.3.1. Plankton Uji

Chlorella sp. yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari kultur pakan alami yang sebelumnya dikultur secara massal di Balai Perikanan Budidaya Air Payau, Takalar. *Chlorella* sp. sebanyak 5 L dimasukkan kedalam wadah transparan, kemudian diberikan perlakuan. Setelah itu *Chlorella* sp. diujicobakan ke *Brachionus* sp. sebagai pakan.

2.3.2. Wadah Penelitian

Wadah yang digunakan berupa plastik transparan berbentuk silinder dengan volume 10 L. Sebelum digunakan wadah terlebih dahulu dicuci menggunakan deterjen dan dikeringkan. Setelah itu pengisian wadah dan pemasangan instalasi aerasi.

2.3.3. Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Yang terdiri atas 6 perlakuan dan masing-masing diberi ulangan sebanyak 3 kali sehingga terdapat 18 unit percobaan. Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan dosis kaporit pada budidaya alga. Adapun perlakuan yang dilakukan adalah: Perlakuan A: 0 ppm, Perlakuan B: 2 ppm, Perlakuan C: 4 ppm, Perlakuan D: 6 ppm, Perlakuan E : 8 ppm, Perlakuan F: 10 ppm.

2.3.4. Prosedur Penelitian.

Penelitian diawali dengan persiapan seluruh bahan dan peralatan yang telah disterilisasi sebelumnya untuk mencegah kontaminasi. *Chlorella* sp. yang digunakan merupakan kultur yang telah terinfeksi bakteri *Vibrio* sp., dengan status infeksi yang telah dipastikan melalui pemeriksaan awal. Masing-masing wadah/toples diisi dengan 5 L *Chlorella* sp. yang sebelumnya dikultur secara massal di BPBAP Takalar. Sebelum pemberian perlakuan, dilakukan pengambilan sampel awal pada media *Chlorella* sp. untuk mengukur kepadatan sel (sel/mL) menggunakan haemocytometer serta menghitung jumlah koloni bakteri *Vibrio* sp. (CFU/mL) melalui isolasi pada media TCBS. Penghitungan bakteri *Vibrio* sp. hanya dilakukan pada media *Chlorella*, tidak pada media lainnya.

Perlakuan diberikan dengan menambahkan kaporit (kalsium hipoklorit) ke dalam masing-masing wadah kultur *Chlorella* sp. sesuai dosis yang telah ditentukan, yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada kondisi lingkungan yang sama untuk semua perlakuan. Setelah 24 jam, dilakukan pengambilan sampel kedua pada media *Chlorella* sp. untuk kembali mengukur kepadatan sel dan menghitung jumlah koloni bakteri *Vibrio* sp. dengan prosedur yang sama seperti pada pengambilan sampel awal.

Pada wadah terpisah, dilakukan kultur *Brachionus* sp. dengan kepadatan awal yang sama pada setiap perlakuan. Sebelum pemberian pakan, dilakukan penghitungan

populasi awal *Brachionus* sp. menggunakan Sedgewick Rafter. Sampel *Brachionus* sp. diambil menggunakan pipet tetes, dimasukkan ke ruang hitung Sedgewick Rafter, ditambahkan satu tetes formalin 10%, kemudian diamati di bawah mikroskop. *Chlorella* sp. hasil perlakuan kaporit kemudian diberikan sebagai pakan untuk *Brachionus* sp., yang selanjutnya dipelihara selama 24 jam. Setelah 24 jam pemberian pakan, dilakukan penghitungan populasi akhir *Brachionus* sp. dengan metode yang sama seperti penghitungan awal.

Proses isolasi bakteri dilakukan hanya pada media *Chlorella* sp., baik sebelum maupun 24 jam setelah perlakuan kaporit. Pembuatan media TCBS diawali dengan menimbang bubuk media sesuai kebutuhan, melarutkannya dalam akuades steril, kemudian mensterilkan larutan menggunakan autoklaf. Larutan media dipanaskan di hot plate hingga mendidih, didinginkan, lalu dituangkan ke dalam cawan petri. Sampel *Chlorella* sp. diencerkan sesuai tingkat pengenceran yang diperlukan, divortex, kemudian diambil 1 mL menggunakan mikropipet dan disebarakan secara merata ke permukaan media TCBS. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Seluruh prosedur isolasi dilakukan di dekat nyala api bunsen untuk mencegah kontaminasi silang.

2.3.5. Pengukuran Parameter

2.3.5.1. Laju pertambahan populasi *Chlorella* sp. dan *Brachionus* sp.

Laju pertambahan populasi adalah suatu ukuran pertambahan biomassa dalam rentang waktu tertentu dan ditentukan dari fase eksponensial. Adapun penghitungan laju pertambahan populasi *Chlorella* menggunakan alat haemocytometer sedangkan rotifer menggunakan alat sedgewick rafter yang diamati dibawah mikroskop. Pengamatan *Chlorella* dilakukan sebelum perlakuan dan 24 jam setelah perlakuan. Sedangkan untuk pengamatan *Brachionus* sp. dilakukan sebelum pemberian pakan (*Chlorella* sp. pasca perlakuan) dan setelah pemberian pakan. Kemudian dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Laju Pertambahan Populasi} = \frac{(\ln N_t - \ln N_0)}{t} \times 100$$

Ket. :

N_0 : Biomassa awal (cell/mL)

N_1 : Biomassa akhir (cell/mL)

t : Waktu pengamatan (jam)

ln : Logaritma natural (basis e)

2.3.5.2. Tingkat Penurunan Bakteri *Vibrio* sp.

Pengamatan ini sepenuhnya dilakukan di laboratorium BPBAP Takalar. sampel yang telah diambil dikultur di media agar TCBS untuk melihat koloni bakterinya. Penghitungan dilakukan sebelum perlakuan dan setelah 24 jam perlakuan. Kemudian dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Tingkat Penurunan (\%)} = \frac{(C_{awal} - C_{akhir})}{C_{awal}} \times 100$$

Ket. :

C_{awal} : Jumlah *Vibrio* sp. sebelum perlakuan (CFU/mL)

C_{akhir} : Jumlah *Vibrio* sp. setelah perlakuan (CFU/mL)

2.3.5.3. Kualitas air

Parameter pendukung dalam penelitian sangat penting, yaitu kualitas air. Kualitas air diukur pada pagi dan sore hari selama penelitian berlangsung. Adapun parameter yang diamati seperti salinitas yang diukur menggunakan refraktometer, suhu menggunakan thermometer, DO menggunakan DO meter, serta pH menggunakan pH meter.

2.4. Analisis Data

Data dianalisis menggunakan ANOVA (Analysis of Variance) untuk mengetahui pengaruh perlakuan secara statistik terhadap ketiga parameter utama (persentase penurunan *Vibrio* sp., laju pertumbuhan populasi *Chlorella* sp., dan kelangsungan hidup *Brachionus* sp.). Jika hasil ANOVA menunjukkan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji tukey.