

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen, yaitu penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian serta adanya kontrol (Nazir, 1988).

3.2 Desain Penelitian

Desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan acak lengkap dapat didefinisikan sebagai rancangan dengan beberapa perlakuan yang disusun secara random untuk seluruh unit percobaan. Desain ini digunakan karena percobaan dilakukan di laboratorium dan kondisi lingkungan dapat dikontrol (Nazir, 1988). Menurut Gomez *et al.*, (1995) penentuan banyaknya jumlah pengulangan dapat ditentukan dengan rumus sebagai berikut :

$$(t) (r-1) \geq 21,$$

Keterangan : t = Treatment (Perlakuan)
 r = Replication (Pengulangan)
 21 = Faktor nilai derajat kebebasan umum

Berdasarkan rumus diatas jika jumlah perlakuan (t) = 5 maka jumlah pengulangan dapat diketahui sebagai berikut :

$$\begin{aligned} (t) (r-1) &\geq 21 \\ (5) (r-1) &\geq 21 \\ 5r - 5 &\geq 21 \end{aligned}$$

$$5r \geq 26$$

$$r \geq 5.2$$

$$r \approx 5$$

maka pada penelitian ini dilakukan lima kali pengulangan sehingga jumlah keseluruhan sampel adalah sebanyak 25 botol.

E5	B2	A3	D3	E4
A1	B3	C3	C1	D4
A5	D1	B5	C4	A2
B1	C5	E3	D2	C2
E2	A4	E1	B4	D5

Gambar 3.1 Bagan posisi/letak media perlakuan secara random

Keterangan : A = Larutan *freshwater* (kontrol)
 B = Larutan MSG 1 ppm/l
 C = Larutan MSG 2 ppm/l
 D = Larutan MSG 2.5 ppm/l
 E = Larutan MSG 3 ppm/l
 A, B, C, D dan E = botol kultur

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian yang dilakukan yaitu *Daphnia magna* yang berumur lima hari dan merupakan hasil kultur di Laboratorium Ekologi Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI, sedangkan untuk sampel penelitian yaitu *Daphnia magna* berjumlah 10 individu yang digunakan pada masing-masing konsentrasi dan pengulangannya.

3.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2012 sampai dengan bulan Mei 2012 di Laboratorium Ekologi Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.

3.5 Langkah Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap persiapan dan tahap pelaksanaan.

1. Tahap Persiapan

Tahap persiapan ini dilakukan dengan mendata, mengumpulkan dan membersihkan alat yang akan digunakan selama penelitian, persiapan bibit *Daphnia magna* yang akan digunakan, pengulturan bibit dan pembuatan media kultur yang akan digunakan dalam penelitian.

a. Persiapan Bibit

Bibit *Daphnia magna* diperoleh dari Puslitbang Sumber Daya Air yang diambil dengan menggunakan saringan dan disimpan ke dalam botol bekas air mineral berukuran 1500 ml. Bibit tersebut kemudian dikultur kembali di Laboratorium Ekologi FPMIPA UPI dan diaklimasi sampai stabil, baik dalam jumlah maupun kondisi fisik hewan uji.

b. Pengulturan Bibit

Pada tahap kultur *Daphnia magna* di laboratorium, terlebih dahulu disiapkan alat dan bahan berupa akuarium kaca bervolume 30 liter, aerator, air sumur sebagai media kultur dan fermipan sebagai sumber makanannya

(Sutarman, 2003). Air sumur dimasukkan kedalam akuarium bervolume 30 liter dan ditutup dengan menggunakan kain tile, kemudian diaklimatisasi dengan aerasi selama 24 jam. Setelah aklimatisasi dilakukan, *Daphnia magna* dimasukkan ke dalam akuarium. Fermipan yang telah dilarutkan dengan menggunakan aquades kemudian dimasukkan dengan cara ditetaskan dengan menggunakan pipet tetes. Pengulturan dilakukan selama 10-14 hari sampai *Daphnia magna* stabil dalam jumlah dan dalam kondisi sehat. *Daphnia magna* betina dewasa yang siap bereproduksi kemudian dipilih untuk dilakukan subkultur. Pemilihan *Daphnia magna* didasarkan kepada morfologinya. *Daphnia magna* yang dipilih adalah *Daphnia magna* betina dewasa yang memiliki telur dibagian posterior tubuhnya.

Pengulturan kedua dilakukan (subkultur) terhadap *Daphnia magna*. Subkultur dilakukan dengan cara memindahkan induk *Daphnia magna* yang siap bereproduksi ke dalam botol kaca. Pada tahap subkultur ini, akan didapatkan *neonate Daphnia magna* yang berumur kurang dari 24 jam. *Neonate-neonate* tersebut kemudian dimasukkan kedalam botol kaca untuk dipelihara selama empat hari. Botol subkultur yang digunakan yaitu botol kaca dengan volume 900 ml. Jumlah botol yang digunakan untuk subkultur yaitu sebanyak lima buah, sedangkan botol yang digunakan untuk penelitian yaitu sebanyak 25 botol. Botol-botol penelitian diletakkan sesuai dengan posisi yang telah ditentukan sebelumnya dan tidak terpapar oleh cahaya matahari secara berlebihan. Botol-botol kultur tersebut

dilengkapi dengan alat penunjang untuk mengukur suhu dan aerasi, yaitu *thermometer* dan aerator.



Gambar 3.2 Botol Kultur Bibit *Daphnia magna*
Sumber : Dokumentasi Pribadi

c. Pembuatan Media Kultur

1) Media *Freshwater*

Larutan *freshwater* yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kandungan 80-100 mg CaCO_3/l , alkalinitas 60-70 mg/l, pH $7,6 \pm 0,2$ dan konduktivitas 300 $\mu\text{c}/\text{cm}$ (APHA 2005). Bahan yang diperlukan untuk membuat larutan *freshwater* sebanyak satu liter yaitu dengan melarutkan 0.096 gram NaHCO_3 , 0.06 gram $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.06 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 0.004 gram KCl ke dalam satu liter aquades. Untuk mencampurkan bahan-bahan tersebut hingga larut dalam akuades, digunakan *magnetic stirrer* untuk mempermudah pelarutan dan semua

bahan tercampur dengan baik. Setelah itu, media *freshwater* disaring dengan menggunakan kertas WHATMAN no.1 kemudian diaerasi dengan menggunakan aerator selama \pm 30 menit sebelum digunakan (EPS, 1990). Media *freshwater* ini digunakan untuk proses aklimatisasi *Daphnia magna*. Selain itu, media *freshwater* juga digunakan untuk pelarut dan kontrol dalam penelitian ini. Kontrol berfungsi sebagai pembanding terhadap keempat sampel kultur yang diuji.

2) Media Pakan Monosodium Glutamat

Media pakan yang digunakan pada penelitian ini adalah monosodium glutamat. Konsentrasi yang digunakan untuk masing-masing media pakan yaitu 0 ppm /l (kontrol), 1 ppm /l, 2 ppm /l, 2,5 ppm /l dan 3 ppm /l. Pembuatan media pakan ini diawali dengan membuat larutan stok sebanyak 3 liter. Larutan stok dibuat dengan melarutkan monosodium glutamat sebanyak 100 gram ke dalam tiga liter *freshwater*. Monosodium glutamat yang digunakan yaitu vetsin dengan merek dagang X. Vetsin dengan merek dagang X ini diketahui memiliki kandungan monosodium glutamat murni sebanyak lebih dari 99%. Vetsin ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dilarutkan ke dalam tiga liter *freshwater* sehingga didapatkanlah larutan stok. Larutan stok tersebut dimasukkan ke dalam toples kaca dan disimpan didalam kulkas. Setelah didapatkan larutan stok, kemudian dilakukan tahap pengenceran sesuai dengan konsentrasi yang telah disebutkan

sebelumnya hingga volumenya mencapai 600 ml. Masing-masing larutan dengan masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam botol media perlakuan yang sebelumnya telah diletakkan dengan peletakan posisi seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Botol-botol yang telah terisi oleh larutan perlakuan dan kontrol kemudian ditutup dengan menggunakan kain tile pada masing-masing botol. Hal ini bertujuan untuk mencegah masuknya serangga maupun hewan lainnya. Media kultur yang diperoleh berwarna bening dan tidak berbau. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari penelitian yang dilakukan Sahidin (2000). Sahidin (2000) menyatakan bahwa keuntungan yang diperoleh dari menggunakan monosodium glutamat sebagai media pakan adalah media tersebut tidak berwarna dan tidak berbau.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Pemberian Perlakuan Kepada Hewan Uji *Daphnia magna*

Setelah dilakukan tahap persiapan, maka selanjutnya dilakukan tahap pelaksanaan. Pada tahap ini, disediakan 25 buah botol dan penempatan botol sesuai dengan yang telah dijelaskan sebelumnya. Pada masing-masing botol, dimasukkan *Daphnia magna* dengan kepadatan awal 10 individu. Sebelum dimasukkan ke dalam botol perlakuan, terlebih dahulu *Daphnia magna* dicuci. Pencucian tersebut dilakukan dengan cara menaruh *Daphnia magna* diatas kain saring halus. *Daphnia magna* yang berada di atas kain saring halus kemudian disemprot dengan air bersih sehingga

kotoran-kotoran pada hewan uji akan lolos, sedangkan hewan uji tetap berada diatas saringan. Pengukuran kondisi fisik air seperti pH dan suhu dilakukan setiap satu minggu sekali, yaitu pada minggu pertama, kedua, ketiga dan keempat. Selanjutnya, media diberi perlakuan aerasi dengan menggunakan aerator setiap hari selama 30 menit.

b. Pengamatan Laju Pertumbuhan Populasi *Daphnia magna*

Pengamatan dan penghitungan laju pertumbuhan dilakukan dua hari sekali. *Daphnia magna* diambil dari masing-masing media perlakuan dengan menggunakan pipet tetes sebanyak satu ml dengan tiga kali pengulangan. Sebelum dilakukan pengambilan, air media terlebih dahulu diaduk perlahan-lahan dengan pipet tetes agar *Daphnia magna* tersebar secara merata sehingga dapat mewakili semua yang terdapat pada media. Jumlah *Daphnia magna* yang terambil dihitung dengan menuangkan terlebih dahulu ke dalam cawan petri. Setelah dilakukan penghitungan, *Daphnia magna* dimasukkan kembali ke dalam botol kultur. Nilai rata-rata hasil perhitungan kemudian dikonversikan ke dalam 600 ml untuk mengetahui kepadatan rata-rata dan pertumbuhan populasi optimum *Daphnia magna*. Untuk memudahkan perhitungan dan perbandingan, jumlah pertumbuhan populasi dikonversikan ke dalam satu liter (Lampiran I.1).

c. Pergantian Media Kultur

Pembuatan media pengganti ini sama dengan media awal

pemeliharaan. Penggantian media kultur ini dilakukan dengan cara membuang 50% dari media kultur dengan menggunakan selang yang pada salah satu ujungnya telah ditutup oleh kain tile. Setelah itu, pada ujung yang lain dilakukan penyedotan sampai air bergerak melalui selang. Media kultur kemudian ditambahkan media pengganti sampai volumenya sama dengan media awal pemeliharaan. Jika ada *Daphnia magna* yang ikut terambil saat pemindahan media ke dalam *Beaker glass*, maka *Daphnia magna* tersebut dipisahkan dan dimasukkan ke dalam cawan petri. Penggantian media ini dilakukan sebanyak dua kali seminggu dengan total pergantian air sepuluh kali.

3.6 Analisis Data

Setiap pengamatan selesai dilakukan penghitungan jumlah populasi *Daphnia magna*, selanjutnya dianalisis dengan menggunakan rumus menurut Fogg (1975), sebagai berikut :

$$K = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}$$

Dimana :
 K = Laju pertumbuhan jumlah populasi *Daphnia magna* per hari
 N_t = Jumlah populasi *Daphnia magna* setelah t hari
 N₀ = Jumlah populasi awal *Daphnia magna*
 t = Waktu pengamatan (hari)

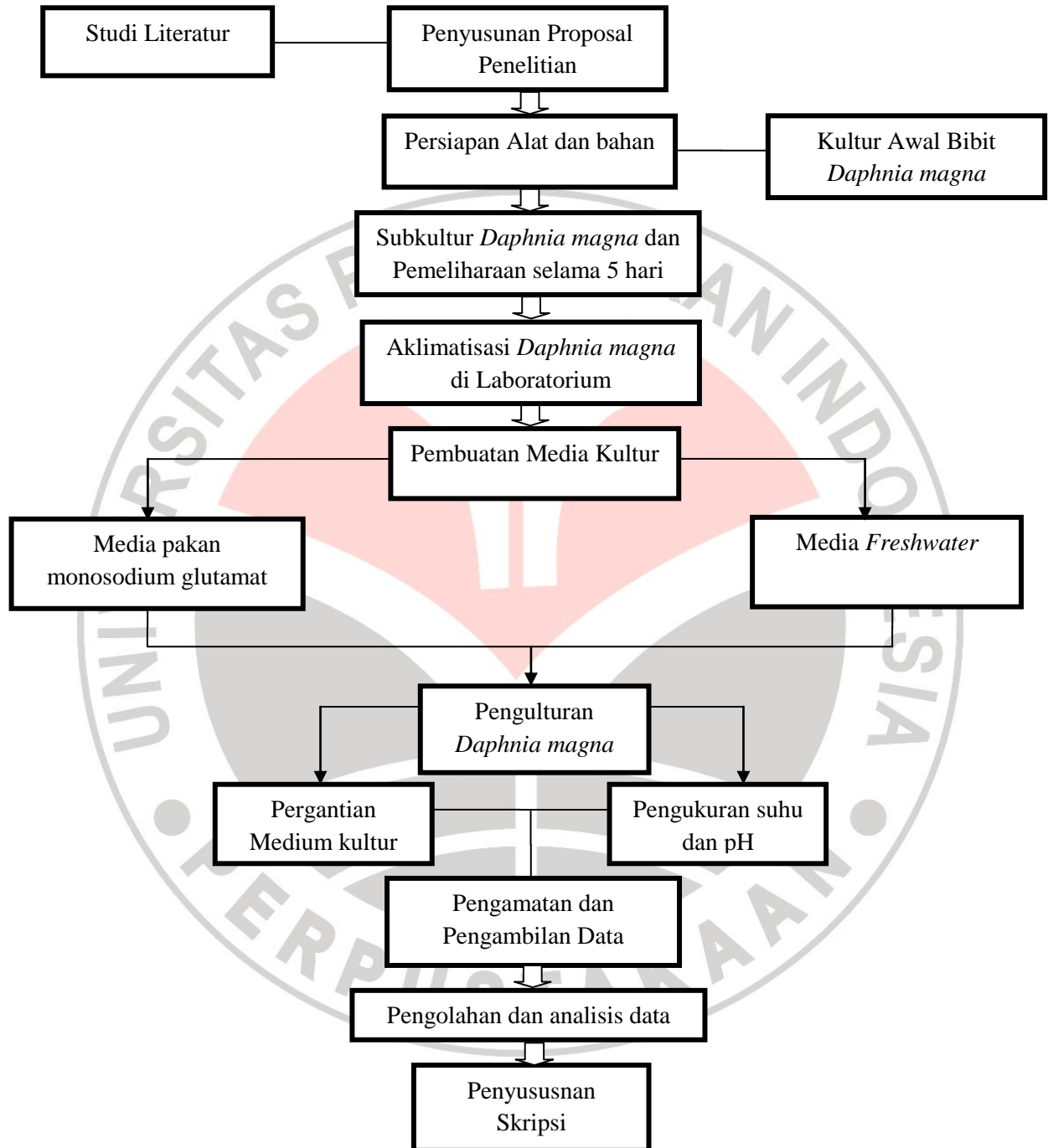
Setelah melakukan perhitungan dengan mengambil satu ml media kultur menggunakan pipet tetes pada semua perlakuan dan kontrol, kemudian data yang diperoleh dihitung jumlah dan rata-ratanya (**Lampiran I.2**). Hasil rata-rata tersebut kemudian akan digunakan untuk menghitung jumlah pertambahan

Fani Masani, 2012

Monosodium Glutamat Sebagai Bahan Nutrisi untuk Pengembangan Kultur *Daphnia magna*

populasi *Daphnia magna* yang dihitung dengan menggunakan rumus jumlah [pertumbuhan populasi(/600ml) : 600] X 1000 (**Lampiran I.1**). Hasil dari perhitungan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam rumus Fogg (1975) seperti yang telah dituliskan di atas untuk memperoleh nilai laju pertumbuhan populasi *Daphnia magna* (**Lampiran I.3**). Data yang diperoleh dari perhitungan-perhitungan tersebut kemudian ditafsirkan secara deskriptif. Hal ini dikarenakan data yang diperoleh bersifat tidak normal dan tidak homogen setelah dilakukan uji statistika dengan menggunakan *ssoftware SPSS 17 for windows* (**Lampiran II**). Untuk mengetahui apakah media pakan MSG memberikan pengaruh atau tidak terhadap pertumbuhan populasi *Daphnia magna* digunakan uji statistika *Kruskal Wallis* (**Lampiran II.3**).

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Bagan Alur Penelitian