

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat Penelitian : Laboratorium Ekologi dan Biosistematik jurusan Biologi Universitas Diponegoro Semarang.

Waktu Penelitian : Oktober 2000 – Oktober 2001

B. Alat dan Bahan

Tabel 02. Alat dan Bahan Penelitian

Alat	Bahan
- Bejana plastik bervolume 1 liter	- Biakan murni <i>Chlorella</i> sp. laut
- Blower (aerator)	- Kascing <i>Lumbricus rubellus</i>
- Pipet tetes	- Air laut salinitas 26 ‰
- Timbangan ohaus	- Aqua simba L
- Timbangan sartorius	- Chlorin
- Lampu TL 40 Watt	- Natrium thiosulfat
- Selang aerasi diameter 1 cm	- Aquadest
- pH meter	
- Gelas ukur 100 ml	
- Gelas beaker 800 ml	
- Thermometer	
- Refraktosalinometer	
- Mikroskop	
- Handy tally counter	
- DO meter	
- Plankton net nomor 25	

C. Cara Kerja

1. Persiapan

Pada tahap ini dilakukan sterilisasi alat dan air laut. Alat-alat yang akan digunakan untuk pembiakan disterilisasi dengan Chlorinasi, dengan larutan Chlorin 150 mg/l dan dinetralisasi dengan Natrium thiosulfat 40-50 mg/l

(Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Untuk sterilisasi air laut yang akan digunakan sebagai media, disaring terlebih dahulu dengan plankton net no. 25 setelah itu dididihkan (Mujiman, 1984), kemudian disterilkan lagi dengan penambahan Chlorin 60 mg/l dan dibiarkan selama 1 jam dan dinetralkan dengan Natrium thiosulfat 20 mg/l untuk menghilangkan sisa-sisa Chlorin dalam air laut hingga bau Chlorin hilang (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Kascing *Lumbricus rubellus* yang digunakan berasal dari hasil budidaya cacing oleh BCM (Bio Cipta Mandiri), Kelompok Wira Usaha Mahasiswa Biologi Universitas Diponegoro Semarang. Sedangkan *Chlorella* sp. yang digunakan berasal dari hasil kultur BBAP (Balai Budidaya Air Payau) Jepara.

2. Penelitian Pendahuluan

Sebelum dilakukan penelitian pendahuluan, peneliti telah mengamati biakan murni *Chlorella* sp. dibawah mikroskop, dan ternyata terdapat kontaminan berupa Protozoa yang besar kemungkinan berasal dari kascing *Lumbricus rubellus*. Dengan kondisi demikian, maka pada awal penelitian pendahuluan perlu ditambahkan suatu anti-kontaminan yaitu Aqua Simba L.

dan menyangrai kascing *Lumbricus rubellus* untuk mengurangi kontaminan.

Penelitian pendahuluan dimaksudkan untuk mencari kisaran konsentrasi kascing *Lumbricus rubellus* yang akan dipakai sebagai dasar pemberian perlakuan pada tahap penelitian utama. Pada penelitian pendahuluan, konsentrasi kascing *Lumbricus rubellus* yang dicobakan berturut-turut

sebesar 0 mg/l, 1 mg/l, 10 mg/l, 100 mg/l, 1.000 mg/l, 10.000 mg/l, 100.000 mg/l. Pengambilan batasan terhadap konsentrasi kascing tersebut adalah berdasarkan deret ukur, sehingga ada 7 unit perlakuan yang masing-masing dengan 3 kali ulangan. Mula-mula dibuat larutan kascing dengan konsentrasi 100.000 mg/l. Untuk membuat larutan dengan konsentrasi 10.000 mg/l, larutan kascing 100.000 mg/l tadi diambil sebanyak 1 ml dan diencerkan dengan aquades 9 ml.

Setelah itu diinokulasikan 10.000 sel/ml *Chlorella* sp. dalam 500 ml media air laut ke masing-masing bejana dan diaklimatisasi selama 24 jam. Kemudian dimasukkan larutan kascing *Lumbricus rubellus* sesuai dengan konsentrasi masing-masing dan selama penelitian hanya diperlakukan sekali yaitu pada awal penelitian, lalu diinkubasikan selama \pm 2 minggu serta diukur dan diamati hasilnya.

Populasi tertinggi yang mulai berbeda nyata pada penelitian pendahuluan adalah antara konsentrasi 100 mg/l – 1.000 mg/l. Sehingga untuk kisaran konsentrasi pada penelitian utama adalah pada 100 mg/l – 1.000 mg/l yang kemudian dipersempit menjadi 7 unit perlakuan utama dengan tujuan untuk menyamakan jumlah unit seperti pada penelitian pendahuluan.

3. Penelitian Utama

Dalam penelitian utama, selain meneliti pertumbuhan populasi *Chlorella* sp. juga untuk mengetahui potensi kascing *Lumbricus rubellus* sebagai sumber nutrisi. Oleh sebab itu juga diujicobakan memelihara *Chlorella* sp. dengan media larutan ZA 80 mg/l, TSP 30 mg/l, urea 20 mg/l, FeCl₃ 5 mg/l,

EDTA 20 mg/l (Hastuti, 1988). Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat dan membandingkan apakah media dengan kascing *Lumbricus rubellus* dapat unggul.

- a. Mula-mula dilakukan pengaturan salinitas media air laut (26‰), dengan menggunakan rumus Sverdrup (1961) dalam Kendar (1998), yaitu :

$$S_2 = A \times S_1 / (N + A)$$

Dengan :

S_2 = salinitas air laut yang diinginkan

S_1 = salinitas air laut mula-mula

N = volume air tawar yang digunakan untuk melakukan pengenceran

A = volume air laut semula

- b. Media air laut dimasukkan ke dalam 7 buah bejana, masing-masing dengan volume 500 ml (Kendar, 1998). Sebagai Pembanding (KT) diperlakukan dengan pemupukan menggunakan larutan ZA 80 mg/l, TSP 30 mg/l, urea 20 mg/l, $FeCl_3$ 5 mg/l, EDTA 20mg/l (Hastuti, 1988). Perlakuan A_1 , A_2 , ..., G_3 ditambahkan larutan kascing *Lumbricus rubellus* dengan konsentrasi 100 mg/l, 250 mg/l, 400 mg/l, 550 mg/l, 700 mg/l, 850 mg/l, 1.000 mg/l. Penetapan kisaran ini didasarkan pada hasil penelitian pendahuluan dengan populasi tertinggi yaitu antara 100 mg/l – 1.000 mg/l yang kemudian dipersempit kisarannya menjadi 7 unit perlakuan. Adapun cara pembuatan larutan kascing yang digunakan pada penelitian dihitung dengan rumus (Hastuti, 1988) :

$$Q = V / P \times K$$

Dengan :

- Q = berat bahan kascing yang akan dilarutkan (mg)
 V = volume pelarut atau aquades (100 ml)
 P = volume dosis penggunaan (1 ml)
 K = konsentrasi kascing yang dikehendaki (mg/l)

- c. Dimasukkan *Chlorella* sp. dengan kepadatan awal 10.000 sel per ml (Hastuti, 1988), ke dalam masing-masing bejana. Untuk menghitung besarnya inokulum yang dibutuhkan, digunakan rumus menurut Fox (1983) sebagai berikut :

$$V_f = V_c \times C_f / C_c$$

Dengan :

- V_f = volume inokulum yang dibutuhkan (ml)
 V_c = volume air media kultur (500 ml)
 C_f = kepadatan awal yang dibutuhkan (10.000 sel/ml)
 C_c = kepadatan sel inokulum (sel/ml)

Lalu diaklimatisasi selama 24 jam, kemudian larutan kascing baru dimasukkan sesuai dengan konsentrasinya masing-masing, dan perlakuan ini hanya dilakukan pada awal penelitian saja.

- d. Tiap-tiap bejana diletakkan dalam rak budidaya yang dilengkapi dengan blower dan lampu TL 40 Watt dengan intensitas cahaya \pm 3100 lux.
- e. Dilakukan ulangan sebanyak 3 kali ulangan dengan 7 unit taraf perlakuan, sehingga keseluruhan ada 21 unit percobaan.
- f. Penghitungan populasi *Chlorella* sp.

Pengamatan dan penghitungan kepadatan populasi *Chlorella* sp. dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada masing-masing bejana dengan meneteskan sampel pada bagian tengah "haemositometer

improvedneubauer” yang bervolume $0,1 \text{ mm}^3$ atau sama dengan $0,0001 \text{ ml}$ atau 10^{-4} ml . Jadi jika jumlah sel yang terhitung adalah n , maka jumlah sel tiap ml adalah sebanyak $n \times 10^4 \text{ sel/ml}$ (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

D. Parameter yang diamati

Tabel 03. Daftar Parameter Penelitian

Parameter	Alat	Waktu pengamatan
Biologi : – Kepadatan populasi	Mikroskop, Haemositometer improvedneubauer, handytally counter.	Tiap 24 jam selama 12-13 hari
Kimia : – O_2 terlarut – pH	DO meter pH meter	Tiap hari Tiap hari
Fisika : – Suhu – Salinitas – Intensitas cahaya	Thermometer Refraktosalinometer Lux meter	Tiap hari Tiap hari Tiap hari

Analisis kandungan larutan kascing *Lumbricus rubellus*

Analisis kandungan unsur makro dan mikronutrien yang terdapat di larutan kascing *Lumbricus rubellus* 1.000 mg/l dilakukan di Balai Teknik Kesehatan Lingkungan (BTKL) Yogyakarta dan Balai Penelitian dan Pengembangan Industri (BPPI) Semarang. Parameter senyawa makro adalah N_{total} , P_{total} , K_{total} , Mg_{total} , dan Ca_{total} , sedang unsur mikro adalah Zn, Cu dan Fe.

E. Analisis Data

Pada penelitian ini digunakan desain rancangan acak lengkap faktor tunggal yaitu peubah tak bebas konsentrasi kascing *Lumbricus rubellus* yang

berbeda dan peubah bebas kepadatan sel *Chlorella* sp. dengan 7 taraf perlakuan dan 3 kali ulangan. Selanjutnya dilakukan uji terhadap data kepadatan sel *Chlorella* sp. dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) berdasar uji nilai F dengan taraf uji 5 %. Selanjutnya apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf uji yang sama untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda (Heryanto, 1996).

