

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Penggembalaan Ternak Lebah Madu CV. Kembang Joyo yang berada di Desa Cendoro, Kecamatan Dawarblandong, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur pada 10 Desember 2017 sampai 5 Januari 2018.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Bibit yang digunakan berasal dari lebah *Apis mellifera* sebanyak 24 koloni (*stup*) yang memiliki 6 sisiran sarang lengkap (sarang berisi telur, larva, pupa, dan pakan) di dalamnya. Koloni lebah madu *Apis mellifera* yang digunakan diperoleh dari peternakan lebah madu Kembang Joyo Karangploso, Malang.
- b. Pakan yang diberikan merupakan pasta dari campuran berbagai komposisi polen substitusiyaitu tepung tempe kedelai (polen pengganti), gula dan tepung sari alami. Bahan baku pakan pengganti diperoleh dari pasar Dinoyo, Malang.

3.2.2 Peralatan

Peralatan yang digunakan untuk pemeliharaan lebah antara lain: kotak koloni (*stup*), tolo (*frame*), tempat pakan (*feeder frame*), penyekat ratu (*queen excluder*). Alat-alat untuk pembuatan pakan pengganti adalah timbangan, tumbukkan, solet dan plastik transparan. Peralatan yang digunakan untuk pengujian antara lain: kamera, penggaris, plastik transparan dan spidol berwarna sebanyak 3 buah.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan rancangan percobaan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun perlakuan yang dicobakan adalah pasta dari tepung tempe kedelai yang dicampurkan dalam gula dan tepungsari alam. Perlakuan yang diberikan sebagai berikut :

- a. $P_0 = \text{Tepungsari } 25\% + \text{Tepung tempe kedelai } 0\% + \text{Gula } 75\%$ (Kontrol)
- b. $P_1 = \text{Tepungsari } 20\% + \text{Tepung tempe kedelai } 5\% + \text{Gula } 75\%$
- c. $P_2 = \text{Tepungsari } 15\% + \text{Tepung tempe kedelai } 10\% + \text{Gula } 75\%$
- d. $P_3 = \text{Tepungsari } 10\% + \text{Tepung tempe kedelai } 15\% + \text{Gula } 75\%$
- e. $P_4 = \text{Tepungsari } 5\% + \text{Tepung tempe kedelai } 20\% + \text{Gula } 75\%$
- f. $P_5 = \text{Tepungsari } 0\% + \text{Tepung tempe kedelai } 25\% + \text{Gula } 75\%$

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Tahap Pembuatan Tepung Tempe Kedelai

1. Pembuatan Tempe Kedelai

Ada beberapa proses dalam pembuatan tempe menurut BSN (2012) yaitu :

1. Pilih kedelai yang berkualitas baik, lalu bersihkan dan dicuci dengan air bersih.
2. Setelah bersih kedelai direbus selama 30 menit atau sampai mendekati matang.

3. Kedelai yang sudah direbus direndam selama semalam hingga menghasilkan kondisi asam.
4. Kulit ari dikupas setelah direndam semalam.
5. Keping kedelai dicuci kemudian ditanak didalam dandang sampai matang.
6. Setelah matang, dihamparkan tipis diatas tampah, ditunggu sampai keping kedelai mengering.
7. Ditambahkan ragi tempe dengan mencampurkan dengan ukuran 1 kg kedelai menggunakan 1 gram ragi.
8. Bungkus kedelai dengan plastik dan kemudian difermentasi selama 24 jam.
9. Sesudah difermentasi, dilakukan penusukan dengan lidi agar udara segar dapat masuk kedalam bahan tempe.
10. Diperam selama 24 jam lagi untuk kemudian dapat digunakan.

2. Penepungan Tempe Kedelai

Tempe dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 48 jam kemudian digiling dan diayak (Arianne, 2007). Menurut Widowati (2013) *pollen substitusi* direkomendasikan memiliki ukuran partikel di bawah 500 µm agar dapat dimakan oleh lebah. Jayuli (2017) melaporkan dilihat diameter di bawah mikroskop dengan diameter equatorial 21-42 µm dan diameter pollar 27-49 µm maka dapat digunakan sebagai polen.

3.4.2 Persiapan Penelitian

1. Persiapan Koloni

Dipilih koloni sebanyak 24 stup yang seragam dalam ukuran populasi, kondisi, umur ratu, dan jumlah sisiran. Koloni yang dipakai di dalamnya terdapat 6 sisiran sarang dengan anggota lengkap (lebah ratu, lebah jantan, lebah pekerja) dan setiap kotak hanya ada satu ratu. Serta terdapat wadah pakan yang terbuat dari plastik transparan yang diletakkan diatas *frame*.

2. Penempatan Koloni

Koloni ditempatkan secara sejajar pada tanah perkebunan, setiap perlakuan masing-masing ulangan diletakkan secara acak dan berdekatan.

3. Pembuatan Pakan Pengganti

Tepung tempe kedelai, gula dan tepungsari alami ditumbuk dengan persentase masing-masing perlakuan hingga membentuk pasta dengan konsistensi yang baik agar lebah mudah untuk menghisap dan mengkonsumsi pakan buatan tersebut.

4. Penentuan Sampel

Penentuan sampel yang digunakan adalah anakan pada fase telur yang berumur 1 hari, sampai fase larva dan fase pupa.

5. Pemberian Kode Pada Frame

Pemberian kode pada frame bertujuan untuk memudahkan dalam pemberian perlakuan dan ulangan serta memudahkan dalam pengambilan data penelitian, disajikan pada Tabel 5. Pada setiap kotak koloni diberi kode perlakuan. Kode ini diberikan menggunakan kertas label.

Tabel 1. Kode perlakuan penelitian

P0	P5	P2	P1	P4	P1	P3	P1
P5	P4	P0	P3	P0	P3	P4	P5
P1	P2	P3	P4	P1	P5	P0	P2

3.5 Pelaksanaan Penelitian

a. Pemberian Pakan

Pemberian pakan untuk kegiatan penelitian dilakukan pada sebanyak 24 koloni. Pemberian pakan ini diberikan pada tempat pakan yang bernama *feeder frame* yang dibuat dari kertas minyak berbentuk persegi berukuran 20x20 cm. Setiap koloni diberi 100 g pakan. Pemberian pakan dilakukan setiap 3 hari sekali.

b. Pengambilan data

Pengambilan data pertama dilakukan setelah 3hari pemberian tepung tempe kedelai sebagai polen pengganti. Hal tersebut dilakukan untuk mengurangi pengaruh polen alami yang telah dikonsumsi sebelumnya oleh lebah. Pengambilan data untuk setiap variabel dilakukan dengan waktu dan cara yang berbeda-beda. Data yang diambil yaitu luas sisiran, jumlah dan mortalitas anakan (telur, larva dan pupa).

- Menghitung luas sisiran dengan cara menggambar luas sel sisiran yang telah terisi telur pada plastik mika dengan spidol. Memfotocopy kertas mika, kemudian digunting dan ditimbang serta dibandingkan dengan berat awal kertas asli tersebut. Adapun cara menghitung luas sisiran larva dan pupa sama seperti telur. Perhitungan dapat dilakukan dengan rumus:

$$\frac{Bt}{Ba} \times La = d \text{ cm}^2$$

Keterangan:

La = P x L

Bt = Berat kertas yang terukur (dari guntingan kertas yang ditimbang)

Ba = Berat kertas asli/awal

- Menghitung jumlah telur dengan cara menggambar segiempat ukuran 5x5 cm pada plastik mika. Adapun caranya yaitu semua telur yang terdapat di dalam gambar segiempat dihitung kecuali yang terkena garis (e). Hasil perhitungan luas sisiran sarang telur ditransfer ke jumlah telur dengan cara:

$$\frac{d \text{ cm}^2}{(5 \times 5) \text{ cm}^2} \times e = f$$

Untuk perhitungan jumlah larva dan pupa sama seperti perhitungan jumlah telur.

- Penentuan tingkat mortalitas anakan diperoleh dengan cara menghitung jumlah kematian pada setiap 100 sel anakan di masing-masing koloni. Selebar plastik transparan ditempelkan pada salah satu permukaan sisiran yang berisi sel anakan dan digambar dengan menggunakan spidol berwarna berbeda untuk setiap fasenya; seperti untuk telur digambar dengan warna merah; larva dengan warna hijau; dan pupa dengan warna biru. Setiap sampel sel sarang yang tidak berkembang diberi tanda silang sebagai tanda bahwa sel tersebut pernah mengalami kematian. Data mortalitas telur dihitung pada hari ke 4, mortalitas larva dihitung pada hari ke 6, dan mortalitas pupa dihitung pada hari ke 12. Berdasarkan data gambar tersebut dihitung masing-masing jumlahnya. Adapun rumus perhitungan mortalitas:

- % Mortalitas per-perlakuan = (Jumlah telur mati/Populasi telur) x 100%
- % Mortalitas per-perlakuan = (Jumlah larva mati/Populasi larva) x 100%
- % Mortalitas per-perlakuan = (Jumlah pupa mati/ Populasi pupa) x 100%

3.6 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian ini antara lain:

- Luas sisiran anakan
- Jumlah anakan
- Mortalitas anakan

3.7 Analisa Data

Percobaan yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Model linier Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebagai berikut :

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

Keterangan :

Y_{ij} = Nilai pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum

T_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = Kesalahan (galat) pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

3.8 Batasan Istilah

1. Polen : Sel kelamin atau anthera bunga jantan.
2. Nektas : Kelenjar yang berada di bagian dasar bunga.
3. Pasta : Campuran polen alami, tepung tempe dan gula.
4. *Stup* : Kotak koloni.
5. *Frame* : Tolo atau sisiran.
6. *Feeder frame* : Tempat pakan.
7. *Queen excluder* : Penyekat ratu.
8. Mortalitas : Jumlah kematian yang terjadi dalam suatu populasi.

9. Telur : Zigot yang dihasilkan melalui *fertilisasi* sel telur dan berfungsi memelihara dan menjaga embrio.
10. Larva : Bentuk muda dari hewan yang mengalami *metamorphosis*.
11. Pupa : Tahapan dimana jaringan larva mengalami pembelahan dan deferensiasi sel-sel yang sebelumnya tidak aktif pada tahapan larva dan nantinya akan menjadi rgan tubuh.
12. Mortalitas telur : Tidak terdapat adanya cairan bewarna putih di dalam sel.
13. Mortalitas larva : Larva akan menguning dan mengering, serta tidak tertutup lilin menuju fase pupa.
14. Mortalitas pupa : Sel tidak tertutup rapat dan terdapat lubang pada lilin tipis penutup sel.