

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan bulan Juli 2011 sampai September 2011 bertempat di Balai Benih Ikan Sentral (BBIS) Purbolinggo, kecamatan Purbolinggo, kabupaten Lampung Timur.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah kolam dengan ukuran 32x15x1m³ untuk pemeliharaan induk, happa dengan ukuran 1x1x1m³ untuk tempat pematangan gonad induk, alat suntik, tabung polietilen, alat bedah, mikroskop, kamera digital, timbangan digital, gelas ukur, penggaris, semprotan, dan alat ukur kualitas air (termometer).

Bahan yang digunakan adalah induk betina ikan baung dengan berat ± 500 gr/ekor sebanyak 45 ekor, Ekstrak Testis Sapi (ETS), EDTA, minyak cengkeh, aquades, formalin, pakan komersial.

C. Prosedur Penelitian

1. Persiapan

Pada tahap persiapan dilakukan beberapa kegiatan yang meliputi pemeliharaan induk. Induk dipelihara dalam kolam dengan ukuran 32x15x1 m³.

Masa adaptasi ikan dilakukan selama tujuh hari dengan pemberian pakan komersial sebanyak dua kali sehari secara *ad satiation* (sampai ikan kenyang). Pakan komersil digunakan karena mudah didapat, protein yang tinggi dan tidak berebut dengan manusia. Persiapan kolam dilakukan dengan menguras kolam berukuran 32x15x1m³. Kolam dikeringkan selama 3 hari, selanjutnya pada hari keempat kolam diisi air sampai ketinggian sekitar 80 cm dan dibiarkan sampai hari ke-7. happa berukuran 1x1x1 m³ dipasang sesuai dengan perlakuan yang ditentukan.

2. Perlakuan

Perlakuan dalam penelitian ini yaitu pemberian Ekstrak Testis Sapi (ETS) dalam pakan (pelet). Dosis ekstrak testis sapi yang diberikan berbeda yaitu 0, 0,75, 1,5, 2,5 dan 4,5 mg/kg pakan dengan 3 kelompok. Perlakuan selama penelitian disajikan pada Tabel 2.

Table 2. Ekstrak Testis Sapi yang diberikan pada berbagai aras dosis yang dicobakan pada ikan baung.

Kelompok (hari)	Dosis Ekstrak Testis Sapi (mg/kg pakan)				
10	0	0,75	1,5	2,5	4,5
20	0	0,75	1,5	2,5	4,5
30	0	0,75	1,5	2,5	4,5

Model rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak kelompok (RAK). Model dalam RAK adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

- Y_{ij} = Pengaruh perlakuan dosis penyuntikan ETS ke-i dan ulangan ke-j
 μ = Nilai tengah data
 τ_i = Pengaruh dari perlakuan dosis ETS ke-i
 β_j = Pengaruh kelompok hari pemberian pakan ke-j
 ε_{ij} = Galat dosis penambahan ekstrak testis sapi pada pakan dari perlakuan ke-i ulangan ke-j
i = Dosis penyuntikan ETS
j = Ulangan (1, 2, dan 3)

3. Pembuatan pakan

Tahapan pembuatan pakan dengan ETS yaitu :

Pembuatan pakan yang mengandung ETS dilakukan dengan melarutkan ETS sesuai dosis pada larutan alkohol 70% sebanyak 50 ml. Larutan ETS selanjutnya dimasukkan ke dalam sprayer dan disemprotkan secara merata pada pakan yang telah disiapkan berupa pakan tenggelam. Pakan diangin-anginkan selama 24 jam agar alkohol menguap.

4. Pelaksanaan Penelitian

Tahapan pelaksanaan penelitian yaitu :

1. Hari pertama pengambilan darah pada setiap kelompok.
2. Induk baung ditempatkan pada masing-masing hapa sesuai perlakuan. Pakan (pellet) ditambah ETS dengan dosis ETS 0, 0,75, 1,5, 2,5, dan 4,5 mg/kg pakan. Pakan yang ditambah ETS diberikan dengan waktu berbeda yaitu 10 hari, 20 hari, 30 hari.

3. Pengukuran Estradiol-17 β dilakukan pada hari 15 dan 30 masa pemeliharaan. Pengukuran persentase kondisi kematangan gonad dan pengamatan histologi dilakukan pada akhir penelitian (hari ke-30).
4. Pengamatan kualitas air dilakukan tiap 7 hari sekali meliputi mengukur kadar DO, suhu dan pH.

D. Parameter Yang Diamati

1. Konsentrasi Hormon Estradiol 17 β

Pengukuran konsentrasi hormon estradiol dalam plasma darah dilakukan menggunakan radioimmunoassay (RIA) kit yang dilakukan di Laboratorium Balai Penelitian Ternak Ciawi Bogor. Pengukuran estradiol dalam setiap induk ikan baung dilakukan dengan cara mengambil darah induk sebanyak 3 ml pada bagian belakang sirip anal menggunakan spuit yang diberi EDTA . Darah disimpan dalam tabung polietilen agar tidak tumpah. Darah disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm, setelah terpisah sel-sel darah dan plasma darah, plasma darah diambil dan disimpan dalam tabung polietilen, disimpan dalam freezer (-20°C) untuk diukur konsentrasi hormon estradiol dalam darah (Zanuy *et al*, 1999; Yusuf, 2005).

2. Analisa Histologi Gonad

Histologi dilakukan untuk menentukan tingkat kematangan gonad induk tiap perlakuan. Histologi dilakukan di akhir penelitian. Pewarnaan preparat gonad dilakukan dengan metode Hematoksilin Eosin. Setelah pewarnaan, kematangan

gonad diamati dengan membandingkan ciri jaringan gonad ikan baung yang telah diberi perlakuan dengan tingkat kematangan gonad ikan baung (Tabel 1).

Tabel 3. Tahapan kondisi kematangan gonad

Tahap Ovarium Berkembang	Tahap Oosit Hadir Dalam Ovarium	Deskripsi Oosit
Previtellogenic	Previtellogenic oosit	Oosit dengan vakuola sitoplasma bebas
Onset vitellogenesis endogen	Previtellogenic oosit dan oosit di vitellogenesis endogen	Oosit pada tahap vesikel kuning primer, glikoprotein muncul dan menempati 2 atau 3 cincin di pinggiran sitoplasma (vitellogenesis endogen awal)
Penyelesaian vitellogenesis endogen	Previtellogenic oosit dan oosit memiliki vitellogenesis endogen lengkap	Oosit penuh glikoprotein di inklusi . Folikular dan lapisan seluler dibedakan (vitellogenesis endogen akhir)
Eksogen vitellogenesis	Previtellogenic oosit dan oosit pada berbagai tahap vitellogenesis eksogen	Oosit menumpuk gumpalan kuning telur dan kuning telur berada di pinggiran vesikula sitoplasma
Akhir pematangan	Previtellogenic oosit dan oosit dalam pematangan akhir	Penampilan dari mikropil dan migrasi dari vesikel germinal untuk mikropil

Sumber: *Journal of Cell and Molecular Research* (2009) 1 (2), 97-105

3. Kualitas air

Pengukuran kualitas air meliputi suhu, pH, dan DO (*dissolved oxygen*). Suhu diukur setiap hari, sedangkan DO dan pH diukur setiap minggu.

F. Analisis Data

Hasil Estradiol-17 β diuji dengan menggunakan sidik ragam dengan selang kepercayaan 95% dengan software SPSS versi 19. Jika hasil yang diperoleh terdapat perbedaan antara perlakuan yang diberikan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan selang kepercayaan 95%.