

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian dilaksanakan bulan Agustus sampai September 2011 bertempat di Laboratorium Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian transportasi dilakukan dengan simulasi di dalam angkutan umum dan dilakukan pengangkutan selama 12 jam.

#### **3.2 Tahap Penelitian**

Penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu tahap penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Pada penelitian pendahuluan dilakukan penentuan kemampuan puasa ikan, tingkat konsumsi oksigen, laju ekskresi amoniak, penentuan kapasitas zeolit dan karbon aktif dalam penyerapan Total Amonia Nitrogen (TAN). Penelitian utama dilakukan dengan mengevaluasi efektifitas zeolit dan karbon aktif dalam mempertahankan kelangsungan hidup benih ikan gurami, serta penyerapan amonia pada saat pengangkutan.

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Penelitian pendahuluan**

Alat yang digunakan untuk penelitian pendahuluan adalah 3 buah akuarium berukuran 30x30x30 cm<sup>3</sup> untuk wadah pemeliharaan ikan, DO-meter, termometer,

pH-meter, *styrofoam* dengan ukuran 120x40x42 cm<sup>3</sup>, pipet Mohr, spektrofotometer, botol plastik, kain kasa, gelas piala dan kertas label. Sedangkan bahan yang digunakan adalah air yang telah diendapkan selama 24 jam, pereaksi uji amoniak, air dengan kadar TAN 0,1 mg/l, zeolit berbentuk granula dan karbon aktif berbentuk granul. Sedangkan ikan uji yang digunakan yaitu benih ikan gurami yang telah diaklimatisasi berasal dari Kalirejo dengan panjang total 4-6 cm.

### **3.3.2 Penelitian utama**

Alat yang digunakan yaitu kantong plastik *polyetylen (PE)* ukuran 60x80 cm<sup>2</sup> sebanyak 18 lembar, karet gelang, termometer, pH-meter, DO-meter, dan spektrofotometer. Bahan yang digunakan yaitu air bersih, NaCl, oksitetrasiklin, zeolit dan karbon aktif berukuran granula dengan mesh size 2-5 mm, reagen uji amoniak dan ikan uji yaitu benih ikan gurami dengan panjang total 4-6 cm.

### **3.4 Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *eksperiment laboratories* dan penelitian utama dilakukan dalam transportasi 12 jam dengan rute perjalanan Kalirejo-Metro-Bandar Lampung.

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Penelitian pendahuluan**

##### **3.5.1.1 Penentuan kemampuan puasa ikan**

Pemuasaan dalam jangka waktu tertentu hanya bertujuan untuk menurunkan proses metabolisme dan bukan menghentikan proses metabolisme itu sendiri,

sehingga dengan tidak adanya bahan yang harus dicerna, secara tidak langsung juga akan menurunkan kebutuhan oksigen. Dengan tidak adanya bahan yang harus dicerna juga akan menyebabkan tidak adanya sisa hasil pencernaan berupa feses, urin dan energi panas yang berpotensi meningkatkan kekeruhan, konsentrasi amoniak dan kenaikan suhu pada media pengangkutan (Imanto, 2008). Sebelum dilakukan penentuan kemampuan puasa ikan, dilakukan aklimatisasi terlebih dahulu. Penentuan kemampuan puasa ikan dilakukan dengan tujuan mengetahui lama hidup benih ikan gurami tanpa diberi pakan. Hal ini berguna pada saat pengangkutan dilakukan, ikan tidak diberikan pakan dan apabila terjadi kematian bukan karena kelaparan. Penentuan puasa ikan dilakukan dengan cara menyiapkan 3 buah akuarium berukuran  $30 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$  yang telah dibersihkan dan dikeringkan selama 1 hari kemudian diisi air dengan tinggi air 20 cm yang diaerasi selama 2 hari lalu dimasukkan ikan uji dengan padat tebar 10 ekor/l dengan pemberian aerasi. Kemudian mengamati tingkah laku ikan uji setiap hari dan mencatat pada hari keberapa ikan mulai mengalami lemas dan mengalami kematian. Selama pengamatan penentuan puasa ikan, dilakukan pengamatan kualitas air yaitu suhu, pH dan DO.

### **3.5.1.2 Penentuan tingkat konsumsi oksigen**

Sebelum dilakukan penentuan tingkat konsumsi oksigen, jumlah oksigen terlarut dalam media air diukur dan ikan uji diaklimatisasi terlebih dahulu. Penentuan tingkat konsumsi oksigen bertujuan untuk menghitung konsentrasi oksigen yang dibutuhkan ikan tiap satuan waktu, sehingga dapat diketahui jumlah konsentrasi oksigen yang dibutuhkan pada saat pengangkutan. Benih ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) dimasukkan ke dalam 3 buah akuarium berukuran

30x30x30 cm<sup>3</sup> yang telah dibersihkan dengan padat tebar 10 ekor/l, kemudian akuarium ditutup dengan *styrofoam* dengan ukuran 30 x 30 cm<sup>2</sup> hingga menyentuh permukaan air, sebelumnya *styrofoam* dilubangi untuk mengukur DO dan dipasang 1 set DO meter. Kemudian diamati 1 jam sekali dengan 3 kali ulangan selama 6 jam. Sebelum pengukuran ikan dipuasakan selama 2 hari. Selama penentuan tingkat konsumsi oksigen ikan uji dipuasakan dan tidak diberikan aerasi sebagai bentuk simulasi pada saat pengangkutan. Untuk menghitung tingkat konsumsi oksigen ikan uji, setiap nilai oksigen terlarut dikurangi dengan nilai oksigen terlarut awal yang dirumuskan dengan :

$$X = (X_o - X_i) / t$$

X = tingkat konsumsi oksigen  
 X<sub>o</sub> = konsentrasi O<sub>2</sub> awal  
 X<sub>i</sub> = konsentrasi O<sub>2</sub> akhir  
 t = satuan waktu

### 3.5.1.3 Penentuan Laju Ekskresi Amoniak

Sebelum dilakukan penentuan laju ekskresi amoniak, ikan uji diaklimatisasi terlebih dahulu. Penentuan laju ekskresi amoniak ikan bertujuan untuk menghitung jumlah amoniak yang diekskresikan ikan tiap satuan waktu, sehingga dapat diketahui jumlah akumulasi amoniak pada waktu tertentu. Percobaan ini dilakukan dengan menyiapkan 3 buah akuarium berukuran 30x30x30 cm<sup>3</sup> yang telah dibersihkan dan dikeringkan selama 1 hari, kemudian diisi air sebanyak 3 liter. Ikan uji berupa benih ikan gurami dimasukkan ke dalam wadah masing-masing dengan padat tebar 10 ekor/l. Kemudian dilakukan pengambilan sampel air sebanyak 30 ml setelah 6 jam untuk mengukur konsentrasi total amoniak

nitrogen (TAN). Selama penentuan laju ekskresi amoniak ikan uji dipuasakan dan tidak diberikan aerasi sebagai bentuk simulasi pada saat pengangkutan.

#### **3.5.1.4 Penentuan kapasitas zeolit dan karbon aktif dalam menyerap TAN**

Penentuan kapasitas zeolit dan karbon aktif ini bertujuan untuk mengetahui jumlah TAN yang diadsorpsi tiap satuan waktu tertentu, sehingga dapat diketahui jumlah zeolit dan karbon aktif yang harus diberikan untuk mengadsorpsi akumulasi TAN.

Prosedur yang dilakukan adalah dengan cara menyiapkan 2 buah potongan botol plastik dengan volume 600 ml yang telah dibersihkan dan dikeringkan, diposisikan terbalik (leher botol menghadap ke bawah), di masing-masing leher botol tersebut diisi dengan zeolit dan karbon aktif masing-masing sebanyak 10 gram. Selanjutnya air dengan volume 1 liter yang mengandung TAN 0,1 mg/l dialirkan melewati zeolit dan karbon aktif yang terdapat pada leher botol. Langkah ini dilakukan setiap 10 menit selama 7 kali. Setiap setelah air melewati zeolit dan karbon aktif, diambil sampel 30 ml kemudian diukur kadar TAN, pH dan suhu.

### **3.5.2 Penelitian utama**

#### **3.5.2.1 Penambahan Zeolit dan Karbon Aktif**

Disiapkan 18 lembar kantong plastik dan karet pengikat, salah satu ujung plastik dipasang keran untuk mengambil sampel air. Selanjutnya kantong plastik diisi dengan perbandingan masing-masing 1 bagian air : 2 bagian oksigen, masukkan zeolit dan karbon aktif dan ikan uji yang telah dipuasakan selama 2 hari ke dalam

kantong plastik dengan dengan padat tebar 10 ekor/l, diikat dengan karet gelang, kemudian dimasukkan kedalam kotak *styrofoam*. Masing-masing *styrofoam* berisi 3 buah kantong plastik. Selanjutnya dimasukkan 4 kg es batu dalam kotak *styrofoam* agar suhu stabil sekitar 20°C, kemudian ditutup. Masing-masing perlakuan dosis terdiri dari 3 kali ulangan (gambar pada lampiran 1). Zeolit dan karbon aktif yang digunakan dalam penelitian utama ini menggunakan jumlah dosis yang berbeda.

Pengamatan terhadap ikan uji dilakukan setiap 6 jam, dan pengambilan sampel air sebanyak 30 ml per kantong setiap 24 jam. Pengamatan dan pengambilan sampel dihentikan hingga jam ke-72. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara membuka keran yang sudah dipasang di ujung plastik sehingga air yang ada di dalam plastik dapat keluar tanpa mengalami difusi udara dari luar *packing*. Proses transportasi dilakukan dengan menyimpan di boks *Styrofoam* yang terguncang sesuai dengan situasi bus umum dalam perjalanan.

### **3.5.3 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dengan 6 perlakuan dan 3 ulangan, yaitu :

- 1) Perlakuan kontrol (tanpa penambahan zeolit dan karbon aktif)
- 2) Perlakuan A (penambahan 20 g zeolit)
- 3) Perlakuan B (penambahan 15 g zeolit + 5 g karbon aktif)
- 4) Perlakuan C (penambahan 10 g zeolit + 10 g karbon aktif)
- 5) Perlakuan D (penambahan 5 g zeolit + 15 g karbon aktif)
- 6) Perlakuan E (penambahan 20 g karbon aktif)

Model rancangan yang digunakan yaitu :

$$Y_{ij} = \pi + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  = data pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$\mu$  = nilai tengah data

$\tau_i$  = pengaruh perlakuan ke-i

$\varepsilon_{ij}$  = kesalahan percobaan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

### 3.5.4 Pengumpulan data

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah data tingkat kelangsungan hidup dan nilai kualitas air (TAN, NH<sub>3</sub>, DO, pH dan suhu).

#### 3.5.4.1 Sintasan

Sintasan (*survival rate*) merupakan nilai perbandingan antara jumlah ikan yang hidup hingga akhir pengepakan dengan jumlah ikan pada awal pengepakan. Untuk menghitung SR dapat digunakan rumus dari Goddard (1996), yaitu :

$$SR = \frac{\sum N_t}{\sum N_o} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = sintasan

$N_t$  = jumlah ikan akhir (ekor)

$N_o$  = jumlah ikan awal (ekor)

#### 3.5.4.2 Total amoniak nitrogen (TAN) dan NH<sub>3</sub>

Nilai TAN didapatkan dari perbandingan nilai adsorban dari sampel dan standar kemudian dikalikan konsentrasi larutan yang dipakai.

$$TAN = \frac{\text{Abs.Sampel} - \text{Abs.Blanko}}{\text{Abs.Standar} - \text{Abs.Blanko}} \times [\text{Standar}]$$

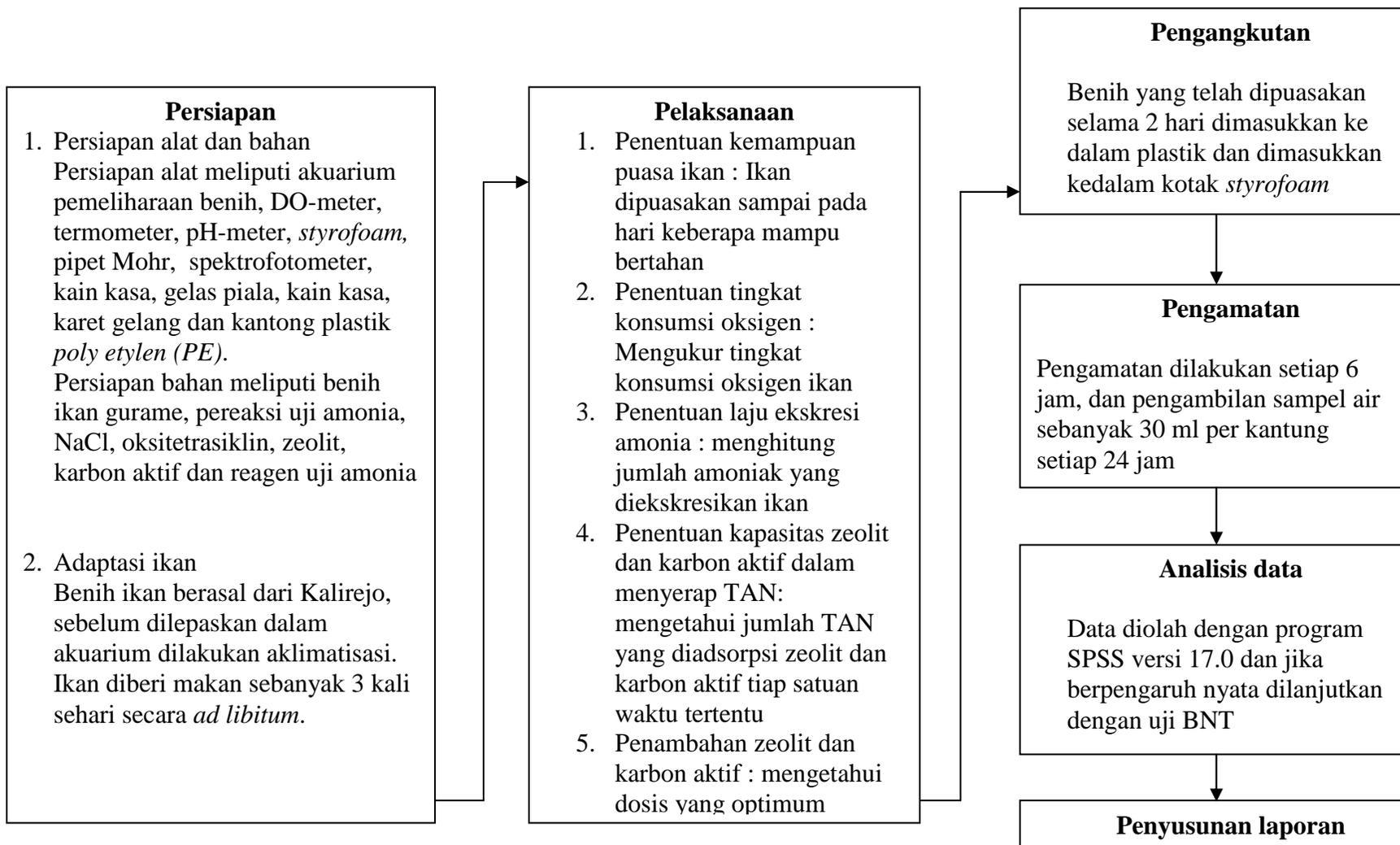
$\text{NH}_3$  = Nilai TAN yang dikalikan dengan persentase amoniak yang tidak terionisasi berdasarkan pH dan suhu (tabel 1).

Tabel 1. Persentase amoniak tidak terionisasi ( $\text{NH}_3$ ) pada pH dan suhu yang berbeda (Boyd, 1990).

Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	pH				
	6.5	7	7.5	8	8.5
18	0,1	0,3	0,9	2,9	8,5
20	0,1	0,3	1,1	3,3	9,8
22	0,1	0,4	1,2	3,8	11,2
24	0,2	0,5	1,4	4,4	12,7
26	0,2	0,5	1,7	5	14,4

### 3.5.5 Analisis data

Analisis data menggunakan analisis ragam (anova) dengan uji F pada selang kepercayaan 95% menggunakan program MS.Excel 2007 dan SPSS 17.0. Apabila berpengaruh nyata, untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan diuji dengan menggunakan uji BNT. Namun untuk perhitungan TAN menggunakan uji Kruskal Wallis karena data yang didapatkan tidak homogen.



Gambar 4. Road map penelitian