

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Januari - April 2012. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Penelitian Biologi Akuatik Gedung MIPA Terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini alat-alat yang akan digunakan yaitu akuarium fiber yang akan digunakan sebagai akuarium pemeliharaan indukan lobster air tawar dengan kapasitas volume air 100 liter. Akuarium fiber untuk tempat pemijahan dan aklimasi dengan kapasitas volume air 48 liter. Akuarium kaca untuk uji perlakuan dan pengamatan dengan kapasitas volume air 5 Liter. Cawan petri untuk pengamatan morfologis lobster. Neraca digital untuk pengukuran berat tubuh juvenil lobster. Lup untuk pengamatan morfologis juvenil lobster. Jangka sorong dan milimeter blok untuk pengukuran panjang tubuh juvenil lobster. Pengukuran kualitas air menggunakan DO meter untuk pengukuran *Dissolved Oxygen* (DO), pHmeter untuk pengukuran pH dan thermometer untuk

pengukuran suhu. Alat yang digunakan adalah *rotary vaccum evaporator* untuk pengeringan ekstrak teripang, labu ukur 500 ml untuk wadah stok ekstrak teripang 100% dan gelas beker 250 ml untuk wadah ekstrak teripang. Selain itu lembar kerja dan kalkulator juga dibutuhkan untuk pencatatan data parameter pengamatan dan penghitungan data parameter pengamatan.

Sedangkan bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian meliputi hewan uji yang berupa juvenil lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) dengan panjang tubuh berukuran sekitar 10 -12 mm. Ekstrak organ dalam teripang pasir (*Holothuria scabra* Jaeger) sebagai sumber hormon steroid. Pakan untuk lobster air tawar dapat berupa taoge, cacing sutera atau pelet, dan diberikan dengan frekuensi pakan 2 x sehari pagi dan sore hari. Air sebagai media pemeliharaan dalam akuarium pengeraman, aquarium pemijahan-aklimasi maupun akuarium perlakuan. Etanol, dietil eter, aseton, kalium hidroksida serta phenolptalein untuk ekstraksi teripang pasir (*Holothuria scabra* Jaeger).

C. Rancangan Penelitian

Juvenil lobster yang digunakan sebagai objek penelitian ini mulai diberikan perlakuan dalam akuarium bervolume 4 liter sebanyak 24 buah pada saat berumur 2 minggu setelah diaklimasi. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu variabel

yaitu pemberian hormon steroid teripang dengan lama perendaman yang berbeda yaitu 0 jam (kontrol), 6 jam, 12 jam, 18 jam, 24 jam dan 30 jam. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali (Tabel 1). Konsentrasi ekstrak teripang pasir yang diberikan adalah 2 ppm. Setiap bak digunakan untuk memelihara 15 ekor juvenil. Perlakuan dilakukan untuk mengetahui lama perendaman ekstrak teripang yang paling berpengaruh terhadap rasio peningkatan kelamin jantan lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*). Data yang didapat dari hasil perlakuan akan diuji dengan analisis ragam (Anara). Dan jika terdapat perbedaan nyata akan diuji dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan $\alpha = 5\%$.

Tabel 1. Tata Letak Percobaan

O1	D2	A1	E3
E1	B4	C1	A2
A4	O2	D1	C2
C3	A3	D4	O4
D3	C4	B3	E2
E4	B2	O3	B4

Keterangan :

Perendaman : O = kontrol, A = 6 jam, B = 12 jam, C = 18 jam, D = 24 jam, E = 30 jam.

D. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Ekstrak Steroid Teripang (*Holothuria scabra* Jaeger)

Menurut Dewi (2008) tahapan pertama untuk mendapatkan ekstrak steroid teripang yaitu dengan memisahkan dan mengeluarkan jeroan teripang dengan daging teripang yang kemudian diawetkan sementara dalam freezer pada suhu 4°C. Jeroan yang didapat lalu di ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol menggunakan cara refluks dengan perbandingan bahan utama dengan pelarut adalah 1 : 2 yang dilakukan pada suhu antara 40- 50°C selama 3-4 jam atau hingga pelarut habis. Supernatan yang didapat dicampur dengan 50 ml KOH 1 M dan direfluks kembali pada suhu 70° selama 1 jam, kemudian campuran hasil refluks didinginkan dengan penambahan aquades sebanyak 100 ml. Campuran refluks dimasukkan ke dalam tabung pemisah dan disabunkan dengan dietil eter sebanyak 100 ml, lalu dikocok dan diendapkan hingga diperoleh supernatan dan residu. Residu yang didapat dipisahkan dan disabunkan kembali dengan cara yang sama hingga diperoleh supernatan kedua dan ketiga. Semua supernatan yang diperoleh lalu digabungkan dan dimasukkan ke dalam corong untuk dicuci dengan aquades 40 ml sebanyak 3 kali. Residu yang diperoleh dipisahkan dan ditambahkan dengan KOH 0,5 M 40 ml dan 1 tetes phenol ptalin (pp), kemudian dikocok dan didiamkan hingga terbentuk 2 fasa. Dua fasa yang terbentuk lalu dipisah, supernatan yang diperoleh ditambahkan 40 ml aquades,

kemudian dikocok dan didiamkan kembali hingga terbentuk dua fasa lalu dipisahkan kembali. Supernatan ditambah KOH 0,5 M 40 ml lalu dikocok dan didiamkan kembali hingga terbentuk dua fasa, kemudian dipisahkan kembali. Supernatan dicuci dengan aquades hingga tidak terbentuk lagi warna merah muda jika ditambahkan indikator phenol ptalin (pp). Larutan yang diperoleh kemudian didestilasi dengan aquades hingga seluruh pelarut menguap pada suhu 55°C. Ekstrak steroid yang didapat dianggap 100%.

b. Persiapan wadah dan air untuk media pemeliharaan

1. Wadah pemeliharaan berupa akuarium pengeraman, pemijahan dan aklimasi dipersiapkan. Seluruh akuarium berukuran 63 x 40 x 40 cm³
 - a. Akuarium pemeliharaan calon induk lobster air tawar berjumlah 3 unit dengan volume air mencapai 50 liter dan jumlah lobster air tawar yang dipelihara sebanyak 3 ekor per akuarium (2 ekor betina dan 1 ekor jantan)
 - b. Akuarium pemijahan induk lobster berjumlah 3 unit dengan volume air 50 liter dan jumlah indukan lobster yang dapat dipelihara 1 ekor.
 - c. Akuarium pemijahan dan aklimasi berjumlah 1 unit dengan volume air 20 liter
 - d. Akuarium perlakuan berjumlah 24 unit (25 x 25 x 40 cm) dengan volume air 5 liter dan jumlah juvenil lobster yang dapat dipelihara adalah 20 ekor per akuarium.

2. Air yang digunakan sebagai media pemeliharaan berupa air sumur.

c. Pengeraman telur lobster air tawar dan aklimasi lobster air tawar

Pengeraman telur lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) dilakukan selama kurang lebih 3 – 5 minggu. Pemeliharaan dilakukan pada saat telur lobster telah menetas menjadi juvenil pada abdomen induk. Juvenil akan melepaskan diri dari tubuh induknya, lalu juvenil diadaptasikan dalam akuarium aklimasi pemeliharaan. Aklimasi dilakukan selama 2 minggu dengan pemberian pakan, kebutuhan oksigen dan sanitasi akuarium dijaga tetap konstan.

d. Seleksi juvenil lobster air tawar

Juvenil lobster air tawar yang digunakan dalam perlakuan diseleksi terlebih dahulu dengan melihat ciri-ciri morfologisnya seperti warna tubuh, kelengkapan anggota tubuh, dan panjang tubuh yang berkisar antara 10 – 12 mm. Umur juvenil lobster yang diseleksi sekitar 2 minggu setelah penetasan.

e. Pelaksanaan penelitian

Juvenil lobster air tawar dipelihara secara bersamaan (massal) dalam akuarium adaptasi. Selanjutnya diberikan perlakuan berupa perendaman dalam ekstrak steroid teripang pada konsentrasi 2 ppm

dengan lama perendaman yang berbeda. Jumlah juvenil dalam akuarium pengamatan adalah 15 ekor per 4 liter. Setelah diberi perlakuan, juvenil dipelihara di dalam bak yang sama selama kurang lebih 60 hari. Setiap bak dengan kepadatan yang sama yaitu 15 ekor per 4 liter dan diberikan pakan dengan dosis yang telah ditentukan yaitu 10 % dari berat badan individu. Pengamatan dilakukan sesuai dengan parameter yang diukur atau diketahui.

f. Parameter Penelitian

1. Parameter utama

- a. Kelulushidupan (*survival rate*) juvenil lobster air tawar merupakan jumlah juvenil lobster air tawar yang mati sejak setelah perlakuan hingga akhir penelitian. Rasio kelulushidupan juvenil lobster air tawar ditentukan dengan menggunakan rumus Effendi (1979) yaitu :

$$SR (\%) = \frac{N}{N} \times 100\%$$

Keterangan :

SR : *Survival rate* / Rasio kelulushidupan juvenil lobster (%)

No : Total juvenil lobster hidup pada awal penelitian

Nt : Total juvenil lobster hidup pada akhir penelitian

- b. Jumlah individu kelamin jantan yang terbentuk diamati secara morfologi. Pengamatan jenis kelamin dapat diamati dengan

menggunakan lup berdasarkan tanda kelamin jantan pada lobster, yaitu adanya pethasma yang terdapat pada kedua pangkal periopod kelima. Pengamatan dilakukan setiap 10 hari sekali setelah perlakuan selesai terhadap 20 individu lobster untuk setiap perlakuan. Rasio pembentukan individu berkelamin jantan dapat ditentukan dengan menggunakan rumus Sarida (2008) yaitu :

$$J (\%) = \left[\frac{A}{T} \right] \times 100\%$$

Keterangan :

- J : Persentase juvenil lobster kelamin jantan (%)
A : Jumlah juvenil lobster berkelamin jantan
T : Jumlah sampel yang diamati

2. Parameter penunjang

- a. Pertumbuhan lobster air tawar yang berupa pertambahan panjang dan berat tubuh juvenil diukur setiap 10 hari sekali dimulai setelah perlakuan selesai terhadap 20 individu lobster. Pertambahan berat badan juvenil dilakukan penimbangan dengan menggunakan neraca O'Hauss, sedangkan pertambahan panjang tubuh juvenil diukur dengan menggunakan jangka sorong dan milimeter blok (d disesuaikan dengan ukuran tubuh juvenil). Menurut Effendi(2002) rata-

rata pertumbuhan dapat ditentukan dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{SGR} = \frac{(\text{Ln} . \text{Wt}) - (\text{Ln} . \text{Wo})}{t} \times 100\%$$

Keterangan :

SGR : *Standard Growth Rate* / laju pertumbuhan standar juvenil

Wt : Berat tubuh juvenil lobster pada pengamatan akhir

Wo : Berat tubuh juvenil lobster pada pengamatan awal

T : Waktu pengamatan

- b. Kualitas air diamati tiap pagi dan sore hari yaitu pada pukul 06.00 dan 17.00 sebelum pemberian pakan yang meliputi:
1. pH diukur dengan menggunakan pH meter elektrik,
 2. Suhu diukur dengan menggunakan thermometer air,
 3. *Dissolved Oxygen* (DO) diukur menggunakan DO meter elektrik.
- c. Jumlah juvenil lobster yang cacat atau kelainan pada morfologi diamati menggunakan lup pada hari ke-60 (pada akhir pengamatan). Persentase juvenil yang cacat dapat ditentukan dengan menggunakan rumus Sarida (2008) yaitu:

$$C (\%) = \frac{A}{T} \times 100\%$$

Keterangan :

C : Persentase juvenil lobster yang cacat (%)

A : Jumlah juvenil lobster yang cacat

T : Jumlah juvenil lobster yang diamati