III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan April 2014 di Laboratorium Budidaya Perikanan Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan di Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung (BBPBL) untuk pembuatan preparat histologi.

B. Alat dan Bahan

1. Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain wadah pemeliharaan berupa akuarium berukuran 60 x 40 x 40 cm^3 sebanyak 15 buah, mesin penggiling pakan, instalasi aerasi, timbangan digital, Modifed *Toca Color Finder* (M-TCF), mikroskop, *tissue prosesor automatic*, *liquid parafin dispenser*, *mikrotom*, *waterbath*, *floating bath*, strimin, termometer, *DO* meter, *pH* meter, serokan, baskom, dan alat tulis.

2. Bahan penelitian

Bahan- bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut :

a. Ikan uji

Ikan uji berupa ikan komet berasal dari pedagang ikan komet di kawasan Tanjung Karang, Bandar Lampung serta berasal dari indukan yang sama dengan ukuran 6-7 cm dengan berat rata-rata 4-5 gram dan umur rata-rata ± 2 bulan sebanyak 108 ekor.

b. Bahan baku pakan ikan

Bahan baku pakan yang digunakan terdiri atas *Spirulina* sp., yang berasal dari PTPN VII Unit Usaha Bekrie Lampung Tengah, tepung ikan, tepung kedelai, tepung jagung, minyak ikan, minyak jagung, premix dan tepung tapioka.

C. Rancangan Penelitian

Berdasarkan uji kandungan karoten pada *Spirulina* sp. dengan hasil 5,82 mg/1000 gram, maka pada penelitian ini menggunakan Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 5 perlakuan yaitu:

Perlakuan A : 0% *Spirulina* sp. dari jumlah pakan.

Perlakuan B : 0,3% *Spirulina* sp. dari jumlah pakan.

Perlakuan C : 0,6% *Spirulina* sp. dari jumlah pakan.

Perlakuan D : 0,9% *Spirulina* sp. dari jumlah pakan.

Perlakuan E : 1,2% *Spirulina* sp. dari jumlah pakan.

Pada masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Model Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang digunakan adalah:

$$\boxed{Y_{ij} = \mu + \sigma_i + \epsilon_{ij}}$$

Keterangan:

Yij : Data pengamatan perlakuan ke-i, ulangan ke-j

μ : Nilai tengah umum

σi : Pengaruh pemberian pakan ke-i

єij : Galat percobaan pada Perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

i : Perlakuan pakan A, B, C

j : Ulangan (1,2,3)

D. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Wadah Penelitian

Persiapan yang dilakukan adalah menyiapkan akuarium dengan ukuran 60x40x40cm^3, kemudian akuarium dibersihkan, dibilas dengan air bersih dan dikeringkan selama 24 jam. Setelah kering akuarium diisi air hingga ketinggian 30 cm atau dengan volume 48 liter air dan dilengkapi dengan instalasi aerasi.

2. Pembuatan Pakan

Pakan yang digunakan berupa pakan buatan, bahan baku terdiri dari tepung ikan, tepung *Spirulina* sp., tepung kedelai, tepung jagung, tepung tapioka, minyak ikan, minyak jagung dan premix. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian kandungan protein dan karoten dari tepung *Spirulina* sp.. Pengujian dilakukan di Laboratorium Departemen Ilmu dan Tekhnologi Pangan IPB, pada bulan Agustus tahun 2013. Hasil pengujian terhadap sampel tepung *Spirulina* sp. menunjukkan bahwa dalam *Spirulina* sp. yang digunakan mengandung kadar air 10,83 %, kadar abu 18,62 %, protein 39,63 %, lemak 0,3 %, karbohidrat terdapat serat kasar 17,27 % dan BETN (Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen) 13,35 %, dan memiliki kandungan karoten 5,82 % (Lampiran 1 dan 2).

E. Masa Adaptasi

Ikan komet yang akan digunakan dalam penelitian terlebih dahulu diaklimatisasi selama 4 hari dengan tujuan agar ikan menyesuaikan terhadap kondisi lingkungan dan jenis pakan yang diberikan. Ikan dipilih dan digunakan sebagai ikan uji yang berbentuk normal dan sehat dengan bobot relatif sama. Ikan tersebut ditebar ke dalam akuarium ukuran 60 x 40 x 40 cm^3 dengan volume air 48 liter dan padat penebaran 7 ekor pada setiap akuarium.

F. Pelaksanaan Penelitian

1. Pemeliharaan dan Pemberian Pakan

Benih ikan komet berukuran 4-5 cm dipelihara selama 60 hari dalam akuarium sebanyak 7 ekor atau dengan padat tebar 1 ekor/6 liter air pada setiap akuarium. Pemberian pakan tiga kali sehari pada pukul 08.00 WIB, 12.00 WIB. dan 16.00 WIB, dengan *feeding rate* (FR) 3% dari bobot tubuh ikan pada tiap ulangan dan perlakuan.

2. Pengamatan Kecerahan Warna dan Pertumbuhan Berat Mutlak

Pengamatan yang dilakukan adalah peningkatan kecerahan warna ikan komet menggunakan M-TCF yang diamati oleh 5 orang panelis dari hari pertama sampai akhir penelitian selama 60 hari. Syarat-syarat menjadi penelis adalah tidak mengalami gangguan pada mata seperti buta warna, rabun, dan penyakit mata lainnya. Pengamatan dilakukan secara visual dengan cara membandingkan warna asli ikan dengan warna yang ada di setiap warna M-TCF, setiap warna diberi nilai atau pembobotan. Sedangkan pengukuran pertumbuhan berat mutlak dan panjang ikan komet menggunakan timbangan digital dan penggaris besi. Pengukuran dilakukan setiap 10 hari pada pukul 07.00 WIB.

3. Pergantian Air dan Pengontrolan Kualitas Air

Pergantian air total dilakukan setiap 10 hari yakni pada pagi hari sebelum pemberian pakan. Pengontrolan kualitas air dilakukan setiap hari dengan menyifon kotoran dan sisa pakan yang ada di dasar akuarium. Pengisian air dilakukan kembali menggunakan air yang berasal dari tandon yang memiliki kualitas yang sama dengan media pemeliharaan.

G. Parameter yang diamati

Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan terhadap kecerahan warna menggunakan M-TCF, perhitungan jumlah sel kromatofor, pertumbuhan berat mutlak dan kualitas air.

1. Kecerahan Warna Menggunakan M-TCF

Pengamatan terhadap kecerahan warna ikan komet sebelumnya dilakukan pemberian nilai atau pembobotan pada kertas warna M-TCF, pembobotan dimulai dari terkecil 1,2,3 hingga skor terbesar 30 dengan gradasi warna dari orange muda hingga merah pekat. Pengamatan kecerahan warna ikan komet dilakukan setiap 10 hari sekali selama 60 hari dan warna yang diamati adalah warna merah. Pengamatan dilakukan dengan cara membandingkan warna asli ikan pada kertas warna TCF dan diamati oleh 5 orang dengan 1 orang memegang per perlakuan untuk keakuratan data. Adapun tingkat konsistensi dari 5 orang panelis tersebut adalah baik atau konsisten.

Pada pengamatan selama 60 hari, ikan yang digunakan selama penelitian ditandai dengan memotong sebagian sirip ekor yang bertujuan untuk membedakan antar ikan dalam pengamatan kecerahan warna dan pertumbuhan berat serta pertumbuhan panjang, selanjutnya peningkatan warna ke arah yang lebih kontras diberi nilai 1, 2, 3, sampai dengan 30, sehingga akan didapatkan selisih antara nilai warna awal dan nilai warna di akhir penelitian (Lampiran 3).

2. Pengamatan Sel Kromatofor

Pengamatan sel kromatofor pada lapisan epidermis ikan dilakukan pada awal dan akhir penelitian, metode yang digunakan adalah teknik pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E). Sebelum dilakukan pengamatan sel kromatofor,

dilakukan pembuatan preparat jaringan. Pembuatan preparat jaringan dilakukan dengan mengambil sampel kulit ikan di bagian punggung, kemudian sampel dipotong menjadi potongan-potongan kecil, dehidrasi, dan penyusupan. Setelah pembuatan preparat jaringan dilakukan pengamatan jumlah sel kromatofor secara deksriptif. (Luna, 1960; Jirasak *et al*, 1999).

3. Pertumbuhan Berat Mutlak

Pengukuran pertumbuhan dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh tepung *Spirulina* sp. pada ikan komet. Pertumbuhan yang diukur meliputi pertambahan berat tubuh ikan setiap 10 hari sekali selama 60 hari.

$$Wm = Wt - Wo$$

Keterangan : Wm : pertumbuhan berat mutlak (g)

Wt : bobot ikan pada waktu t (g)

W_o : berat rata-rata awal penelitian (g)

4. Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran kualitas air meliputi suhu, derajat keasaman (pH), kandungan oksigen terlarut.

H. Analisis Data

Data peningkatan kecerahan warna ikan komet (pembobotan M-TCF) dan pertumbuhan berat mutlak ikan komet dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) pada selang kepercayaan 95%. Apabila hasil uji berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut dengan Uji Duncan pada taraf α: 0,05 (Gasperz, 1991). Hasil pengamatan sel kromatofor setiap perlakuan dianalisis secara deksriptif.