

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian telah dilakukan pada bulan November – Desember 2013, bertempat di Laboratorium Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian meliputi: akuarium 10 x 15 x 30 cm³ sebagai bak penampung dan pemingsan benih, aerator, *stopwatch*, timbangan digital, saringan, blender, kertas label, alat tulis, DO meter, termometer, pH meter, kantung plastik ukuran 100 cm x 60 cm³ dengan tebal 2 mm, karet, *styrofoam* 60 x 40 x 30 cm³, pipet tetes, kertas saring, dan lakban.

Bahan penelitian yang digunakan adalah benih ikan nila berukuran 3-5 cm sebanyak 720 ekor, ekstrak bunga kamboja, etanol, akuades, gas oksigen, pakan komersil, dan es batu.

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang akan dilakukan terdiri atas dua tahap, yaitu tahap pendahuluan dan tahap penelitian utama. Tahap pendahuluan berupa persiapan ikan uji, pembuatan ekstrak bunga kamboja yang akan digunakan dalam penelitian, penentuan selang konsentrasi, dan penentuan *median lethal concentration* dengan melakukan uji toksisitas menggunakan metode probit menurut Finney (1971).

Penelitian utama berupa kegiatan simulasi transportasi menggunakan sistem media air (basah) dengan bahan anestesi ekstrak bunga kamboja dan pemeliharaan ikan pasca transportasi.

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

a. Persiapan Ikan Uji

Ikan yang akan digunakan dalam penelitian diaklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu dengan menempatkan benih ikan pada akuarium yang bersuhu 26-28°C. Aklimatisasi bertujuan agar benih ikan nila dapat menyesuaikan dengan kondisi air yang digunakan dalam penelitian dan meminimalkan kesalahan yang disebabkan oleh faktor lingkungan.

Ikan uji yang digunakan adalah benih ikan nila yang memiliki panjang total 3-5 cm, yang didapat dari lokasi pembenihan ikan Politeknik Negeri Lampung. Benih ikan nila yang digunakan sebagai hewan uji adalah benih ikan yang sehat dan tidak cacat. Benih ikan yang sehat ditandai dengan gerak renang aktif, reaktif terhadap rangsangan

dari luar, sisik tidak lepas, mulut dan sirip tidak cacat atau luka, mata cerah dan tidak ada bercak putih.

Sebelum digunakan dalam penelitian, ikan dipuasakan selama 24 jam di dalam bak penampungan dan diberi aerasi. Puasa bertujuan untuk menurunkan aktifitas metabolisme ikan.

b. Pembuatan Ekstrak Bunga Kamboja

Pembuatan ekstrak bunga kamboja dilakukan berdasarkan Kopkhar (2008), yang telah dimodifikasi, dengan tahapan sebagai berikut.

1. Bunga kamboja yang digunakan berwarna kuning tua.
2. Selanjutnya bunga dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dibiarkan dengan suhu ruang selama 1 minggu hingga bunga tersebut kering
3. Bunga yang sudah kering kemudian ditimbang sebanyak 800 gram dan dihaluskan menggunakan blender.
4. Bunga yang sudah halus dibagi dua (400 gram) kemudian dilarutkan dengan pelarut yaitu etanol dan aquades. Masing – masing pelarut yang digunakan sebanyak 1600 ml.
5. Larutan tersebut kemudian disaring untuk memisahkan larutan dengan bunga yang tidak terlarut. Hasil saringan tersebut dibiarkan menguap hingga tersisa serbuk ekstrak bunga kamboja.

c. Penentuan Selang Konsentrasi

Pada tahap ini bertujuan untuk memperoleh konsentrasi ambang atas dan ambang bawah bahan anestetik ekstrak bunga kamboja. Konsentrasi ambang adalah konsentrasi yang menyebabkan 95% populasi hewan uji hidup dalam waktu 48 jam (ambang bawah) dan konsentrasi yang menyebabkan hewan uji mati dalam waktu 24 jam (ambang atas).

Pada penentuan konsentrasi ambang digunakan derajat konsentrasi ekstrak bunga kamboja (bahan uji) yaitu 0.01 ml/L, 0,1 ml/L, 1 ml/L dan 10 ml/L, dan 100 ml/L. Setiap konsentrasi merupakan perlakuan yang diulang sebanyak 3 kali. Pengamatan dilakukan pada jam ke 24 dan ke 48, dimulai saat bahan uji dimasukkan dalam wadah uji. Kedalam wadah percobaan dimasukkan 10 ekor benih ikan nila. Selama percobaan benih ikan nila tidak diberi pakan dan air media diaerasi. Benih ikan nila yang mati pada setiap perlakuan dicatat dan dikeluarkan dari wadah percobaan.

d. Penentuan Uji Toksisitas

Pengujian aktivitas bahan anestesi ekstrak bunga kamboja meliputi penentuan toksisitas dengan *Median Lethal Concentration* (LC 50) merupakan konsentrasi yang menyebabkan 50% hewan uji mengalami kematian. Dosis perlakuan pada uji toksisitas dan daya anestetik ekstrak bunga kamboja dapat ditentukan berdasarkan Finney (1971) dalam interval logaritmik dengan rumus :

$$\text{Log} \frac{N}{n} = K \left(\log \frac{a}{n} \right) \dots\dots\dots(1)$$

$$\frac{a}{n} = \frac{b}{a} = \frac{c}{b} = \frac{d}{c} = \frac{e}{d} = \frac{N}{e} \dots\dots\dots(2)$$

Ket:

N = Konsentrasi ambang atas

n = Konsentrasi ambang bawah

k = Jumlah Konstrasi yang diuji

a = Konsentrasi yang paling kecil dari deret yang ditentukan

Dengan rumus (1) dapat dihitung nilai konsentrasi terkecil. Selanjutnya dapat dihitung berturut-turut konsentrasi b, c,d, dan e dengan menggunakan rumus (2).

3.3.2 Penelitian Utama

a) Persiapan

- Mempersiapkan benih ikan sebanyak 720 yang diambil dari kolam pembenihan ikan di Politeknik Negeri Lampung dengan ukuran 3-5 cm dan berat 5- 10 gram.
- Mempersiapkan kantung plastik yang diisi dengan 1 L akuades yang mengandung ekstrak bunga kamboja sesuai dengan perlakuan yang telah ditentukan dan diukur kualitas airnya.
- Menyiapkan es batu yang telah diperkecil ukurannya dengan cara dihancurkan. Es berfungsi untuk menjaga suhu agar tetap dingin.

b) Anestesi Ikan

- Sebelum melakukan anestesi, benih ikan nila dipuasakan dan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 48 jam dalam bak penampungan.
- Benih ikan nila dimasukkan ke dalam akuarium berukuran 10 x 15 x 30 cm³ yang terisi air sebanyak $\frac{3}{4}$ bagian dengan jumlah 30 ekor per akuarium.
- Selanjutnya ekstrak bunga kamboja dimasukkan ke dalam akuarium dengan konsentrasi yang diinginkan serta mengukur kualitas air.
- Mengamati efek yang dihasilkan dari proses anestesi yaitu dengan cara mencatat lama waktu pingsan.
- Memasukkan benih ikan nila yang sudah terbius ke dalam kantung plastik yang telah dirangkap dan berisi akuades, kemudian diberi gas oksigen. Suhu air awal dibuat 15°C dan perbandingan antara akuades, ikan serta oksigen adalah 1 : 1: 2.
- Kantung plastik yang berisi benih ikan nila tersebut kemudian diikat rapat dengan karet lalu dimasukkan ke dalam kotak *styrofoam* yang pada sudut-sudutnya telah diberi es. Kotak *styrofoam* kemudian ditutup dengan lakban.

c) Simulasi Trasportasi

Ikan yang telah dikemas kemudian ditransportasikan selama 6 jam menggunakan kendaraan roda empat.

d) Pengamatan Pulih Sadar

Langkah dalam pengamatan pulih sadar adalah sebagai berikut.

Menyiapkan aquarium sebanyak 24 buah dan masing-masing diisi air sebanyak 10 liter dan mengukur kualitas airnya.

- e) Benih ikan nila yang telah selesai ditransportasikan diambil kemudian dimasukkan kedalam aquarium dan diamati waktu pulih sadar benih tersebut. Indikator pulih sadar adalah benih ikan nila bergerak aktif.

f) Pemeliharaan benih

- Mempersiapkan aquarium yang telah diisi air dan memberi aerasi kedalam aquarium selama 48 jam sebelum digunakan untuk memelihara ikan.
- Ikan uji tersebut dipelihara selama 30 hari.
- Pakan yang akan diberikan adalah pakan buatan komersil dengan frekuensi 2 kali sehari, yaitu pada pukul 08.00 dan pukul 16.00 WIB.
- Penyiponan akan dilaksanakan setiap hari dan dilakukan pergantian air selama 3 hari sekali.
- Setelah memelihara ikan selanjutnya melakukan penghitungan *survival rate* dan pertumbuhan harian.

3.4 Analisis Data

Perlakuan yang akan diuji adalah konsentrasi yang di bawah *sublethal* dari ekstrak bunga kamboja dengan perlakuan konsentrasi uji masing-masing perlakuan 6 kali ulangan dalam waktu transportasi 6 jam.

Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Model rancangan yang digunakan yaitu :

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + \epsilon_{ij}$$

$$I = 1, 2, 3, \dots, a \quad j = 1, 2, 3, \dots, a$$

Keterangan :

Y_{ij} = Nilai Pengamatan dari perlakuan konsentrasi ekstrak bunga kamboja ke-i terhadap imotilisasi benih ikan nila ke j

μ = Rataan umum

A_i = Pengaruh konsentrasi ekstrak bunga kamboja ke-i

B_j = Pengaruh imotilisasi benih ikan ke-j

E_{ij} = Galat percobaan perlakuan konsentrasi ekstrak bunga kamboja terhadap anestesi benih ikan ke-j

Analisis data menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada selang kepercayaan 95%. Apabila berpengaruh nyata, untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan diuji dengan menggunakan uji BNT (Stell and Torrie, 1991).

3.5 Parameter yang Diamati

3.5.1 Uji Toksisitas

Pengujian toksisitas LC-50 menggunakan metode analisa probit (Finney, 1971).

3.5.2 Kecepatan Pingsan

Kecepatan pingsan diukur pada saat mulai memberikan bahan anestesi sampai benih ikan pingsan. Ciri-ciri ikan pingsan ditandai

dengan pergerakan operkulum yang lambat dan ikan diam di dasar akuarium.

3.5.3 Lama Pulih Sadar

Lama pulih sadar benih ikan nila diamati setelah simulasi transportasi dengan cara memasukkan benih ikan nila ke dalam akuarium yang berisi air. Air yang digunakan telah diaerasi selama 24 jam, selanjutnya dihitung waktu yang dibutuhkan untuk ikan sadar dari pingsan yang ditandai dengan aktifnya pergerakan ikan.

3.5.4 *Survival rate* (SR)

Kelangsungan hidup (*survival rate*) adalah nilai dari perbandingan antara jumlah ikan yang hidup sampai akhir pemeliharaan dengan jumlah awal ikan saat dipelihara. Menurut Effendy (1997), untuk menghitung *survival rate* (SR) dapat digunakan dengan rumus :

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

Keterangan :

SR : Derajat kelangsungan hidup

N_t : Jumlah ikan akhir (ekor)

N_o : Jumlah ikan awal (ekor)

3.5.5 Laju Pertumbuhan Harian

Laju pertumbuhan harian (*growth rate*) adalah laju pertumbuhan kurun waktu tertentu dalam satu hari. Menurut Huisman (1976), laju pertumbuhan harian dapat dinyatakan dengan rumus :

$$\alpha = \sqrt{Wt/W_0} - 1 \times 100\%$$

Keterangan :

α = Laju Pertumbuhan Harian (%)

t = Periode pengamatan

Wt = Bobot rata-rata akhir (gram)

W₀ = Bobot rata-rata awal (gram)

3.5.6 Kualitas Air

Kualitas air yang diamati adalah pada saat pemeliharaan ikan selama 30 hari. Kegiatan ini telah dilaksanakan setiap hari sampai pemeliharaan selesai. Parameter yang telah diamati yaitu suhu, DO, dan pH.