

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Peralatan Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini, gambar penelitian pada (Lampiran 1) adalah:

- Basket (Mika Plastik)
- Spuit 1ml
- Baskom
- Bulu ayam
- Gelas ukur
- Mikroskop
- Pipet Tetes
- Handlaly counter
- Kamera Digital
- WQC (Water Quality Caker)
- Stopwatch
- Timbangan Sartorius

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini, gambar penelitian pada (Lampiran 2) adalah:

- Ekstrak Daun Pepaya
- Indukan Ikan Patin
- NaFis

- Ovaprim
- HCG
- Aluminium Foil
- Telur Ikan Patin

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen di mana menurut Atmodjo (2012), penelitian eksperimen adalah suatu penelitian yang meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu (lebih) variabel pada satu (lebih) kelompok eksperimen dan membandingkannya dengan kelompok lain yang tidak mengalami manipulasi.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan di laboratorium. Karena media homogen maka media atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh pada respon yang diamati.

Model Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Sastrosupadi, (2000) adalah sebagai berikut : $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$

Keterangan:

Y_{ij} = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum

T_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = Pengaruh gallat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Jadi, dosis perendaman telur ikan patin yang akan dilakukan didapatkan dari penelitian pendahuluan dan juga didapatkan pada study literatur menurut Ghufron (2009) menggunakan dosis 21 ppt pada ikan mas, sehingga dalam penelitian ini menggunakan dosis sebagai berikut:

Perlakuan A : Dosis perendaman 11 ppt ekstrak kasar daun pepaya

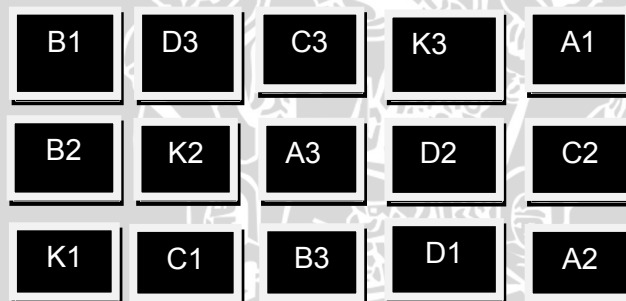
Perlakuan B : Dosis perendaman 16 ppt ekstrak kasar daun pepaya

Perlakuan C : Dosis perendaman 21 ppt ekstrak kasar daun pepaya

Perlakuan D : Dosis perendaman 26 ppt ekstrak kasar daun pepaya

Perlakuan K : Perlakuan kontrol (tanpa dilakukan perendaman).

Masing-masing perlakuan diulang 3 kali dengan denah percobaan hasil dari pengacakan dapat dilihat pada Gambar 3:



Gambar 3. Rancangan Denah Penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Ekstraksi Sampel

Menurut Farmakologi kedokteran (2013), Ekstraksi Sampel daun pepaya diperoleh dengan metode sebagai berikut :

1. Proses pengeringan

- Cuci bersih bahan alam (sampel basah) yang akan dikeringkan
- Potong kecil-kecil

- c. Lalu masukan oven dengan suhu 40-60 °C atau dengan panas matahari hingga kering (bebas kandungan air)

2. Proses ekstraksi

- a. Setelah kering, haluskan dengan blender sampai halus
- b. Timbang sebanyak 100 gram (sampel kering)
- c. Masukan 100 gram kering kedalam gelas erlenmeyer ukuran ± 1 L
- d. Kemudian rendam dengan etanol 900 mL (1 L)
- e. Kocok sampai benar-benar tercampur (± 30 menit)
- f. Didiamkan 1 malam sampai mengendap
- g. Ambil lapisan atas campuran etanol (pelarut) dengan zat aktif yang sudah tercampur (bisa dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring)
- h. Lakukan proses perendaman ini sampai 3 kali

3. Proses evaporasi

- a. Masukkan dalam labu evaporasi 1 L
- b. Pasang labu evaporasi pada evaporator
- c. Isi water bath dengan air sampai penuh
- d. Pasang semua rangkaian alat termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (atur sampai 90 °C atau sesuai dengan Titik Didih pelarut), sambungkan dengan aliran listrik
- e. Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi
- f. Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu ± 900 mL)

- g. Hasil yang diperoleh kira-kira $\frac{1}{5}$ dari bahan alam kering (100 gram bahan alam = ± 25 gram ekstraksi)
- h. Masukkan hasil ekstraksi kedalam botol plastik/kaca
- i. Kemudian simpan dalam freezer

3.4.2 Persiapan Induk

Dalam persiapan induk, terlebih dahulu disiapkan kolam indukan sebagai tempat penampungan sementara induk ikan patin sebelum perlakuan. Dimana ikan patin jantan dan betina ditempatkan di tempat yang terpisah.

3.4.3 Sterilisasi Bak-Bak Percobaan (Akuarium)

- Basket yang akan digunakan dipersiapkan terlebih dahulu
- Basket di cuci sampai kotoran-kotoran yang melekat hilang, kemudian dibilas dengan air sampai bersih
- Basket dikeringkan, lalu disterilisasi dengan aquades steril dan alkohol 70%, kemudian dikeringkan kembali
- Basket disusun berdasarkan denah penelitian
- Masing-masing basket diisi dengan air

3.4.4 Penyuntikan Hormon Pada Induk

- Induk betina diukur total panjang tubuh (*Total Length*) dan berat badannya dengan timbangan Oz
- Induk betina disuntik di bagian kedua sisi punggung induk dengan larutan ovaprim dan HCG
- Induk ikan patin dilakukan penyuntikan sebanyak dua kali dengan selang waktu 8 jam, kemudian dilakukan striping setelah 10 jam dari waktu penyuntikan pertama

3.4.5 Striping Induk

- Setelah melewati masa *latency time* (kurang lebih 12 jam), induk betina distripping
- Telur ditempatkan pada baskom kering dan ditutup dengan lap basah
- Telur diambil sebagai sampel untuk dihitung berat dan jumlah telurnya
- Striping indukan ikan patin jantan dan ikan patin betina

3.4.6 Perlakuan Fertilisasi

- Telur dan sperma di dalam baskom dicampur, kemudian ditambahkan air untuk mengaktifkan sperma
- Telur dan sperma yang sudah tercampur diaduk dengan bulu ayam
- Telur yang sudah terbuahi diberikan perlakuan perendaman ekstrak daun pepaya.

3.4.7 Perlakuan Kontrol Normal

- Telur diletakkan di mangkok dan ditambahkan dengan sperma lalu diaduk dengan bulu ayam dan dibilas dengan air mengalir
- Kemudian telur diletakkan dalam masing-masing saringan teh yang sudah disiapkan di atas permukaan air dalam akuarium dan diberi aerasi
- Dalam setiap perlakuan, dilakukan ulangan sebanyak 3 kali pemberian dosis ekstrak daun pepaya

3.4.8 Perlakuan Menggunakan Ekstrak Daun Pepaya

- Telur diletakkan di baskom dan ditambahkan dengan sperma lalu diaduk dengan bulu ayam dan dibilas dengan air mengalir
- Setelah tercampur kemudian telur dibagikan di dalam cawan petri yang sudah disiapkan

- Telur direndam dengan ekstrak daun pepaya setelah dicampur dengan sperma, karena saat telur dan sperma tercampur sudah terjadi pembuahan
- Telur direndam masing-masing dengan dosis perendaman 11 ppt, 16 ppt, 21 ppt, 26 ppt. Perhitungan dosis pada (Lampiran 3)
- Setelah perlakuan, telur dibilas dengan air hingga bersih sebanyak beberapa kali pembilasan, agar telur benar-benar bersih
- Telur yang terdapat pada cawan petri diletakkan dalam masing-masing basket yang sudah disiapkan
- Dalam setiap perlakuan, dilakukan ulangan sebanyak 3 kali pemberian dosis ekstrak daun pepaya

3.4.9 Pengamatan Perkembangan Embrio

- Embrio diambil dengan menggunakan pipet tetes dan diletakkan di atas objek glass
- Embrio diamati di bawah mikroskop, dicatat waktunya dan difoto
- Embrio yang telah diamati ditempatkan kembali pada saringan teh
- Pengamatan dilakukan setiap 2 jam sampai telur menetas

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati dalam penelitian tersebut yaitu derajat penetasan (HR) Menurut Rustidja (1997), rumus yang digunakan untuk menghitung nilai daya tetas telur pada masing-masing perlakuan dihitung dengan menggunakan rumus.

$$HR = \frac{a}{a+b+c} \times 100\%$$

Keterangan: HR = *Hatching rate* (derajat penetasan)

- a = jumlah telur yang menetas normal (larva normal)
- b = jumlah telur yang menetas cacat (larva cacat)
- c = jumlah telur yang tidak menetas

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian tersebut adalah tingkat pembuahan, parameter kualitas air yang meliputi suhu, pH dan DO (*Disolved Oxygen*). Untuk pengukuran suhu dan DO menggunakan alat DO meter dan untuk pengukuran pH menggunakan alat pH meter. Menurut Rustidja (1997), rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah presentase telur yang terbuahi yaitu:

$$\text{telur yang terbuahi} = \frac{\text{jumlah telur yang terbuahi}}{\text{jumlah total telur dalam setiap perlakuan}} \times 100\%$$

3.6 Analisa data

Penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 3 kali ulangan untuk masing-masing perlakuan. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan digunakan analisis keragaman atau uji F. Apabila nilai F berbeda nyata atau sangat nyata maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan yang memberi respon terbaik. Respon terbaik pada taraf atau derajat kepercayaan 5% dan 1%. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipengaruhi digunakan analisa regresi yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan yang terbaik

pada respon. Selanjutnya untuk mengetahui bentuk kerja antara perlakuan dengan penentuan penelitian dilakukan uji Polinomial Orthogonal.

