

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan wader cakul (*Puntius binotatus*) yang diambil telurnya untuk selanjutnya diberi perlakuan pH yang berbeda. Induk ikan wader cakul ini berasal dari Unit Pelaksana Teknis Pengembangan Budidaya Air Tawar, Umbulan, Pasuruan, Jawa Timur.

3.1.2 Media penelitian

Air media percobaan yang digunakan yaitu air tawar yang ditempatkan pada wadah akuarium percobaan yang berjumlah 9 buah dengan volume 5 L dan diaerasi.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Timbangan digital (ketelitian 0,01 gr) untuk menimbang berat induk
- b. Penggaris untuk mengukur panjang tubuh induk
- c. Akuarium ukuran 50 x 30 x 40 cm³ sebanyak 3 buah untuk tempat pemijahan
- d. Perlengkapan aerasi (aerator, selang aerasi, dan batu aerasi) untuk penyediaan aerasi selama perlakuan
- e. Sesar halus untuk memindahkan telur
- f. Objek glass cekung sebagai alas telur untuk diamati dibawah mikroskop

- g. Mikroskop untuk mengamati perkembangan embrio telur ikan *wader cakul* (*Puntius binotatus*) selama perlakuan
- h. Kamera digital untuk mendokumentasikan data selama penelitian
- i. Akuarium ukuran 30 x 30 x 40 cm³ sebagai wadah perlakuan telur
- j. Pipet tetes digunakan untuk mengambil telur selama penelitian
- k. Botol gelap untuk menyimpan larutan pH buffer
- l. pH meter untuk mengukur pH air
- m. *Oxygen meter* meter untuk mengukur oksigen terlarut dalam air
- n. Termometer untuk mengukur suhu
- o. Lup sebagai alat untuk mengamati larva
- p. Beaker glass, buret, statif, erlenmeyer, spatula sebagai alat untuk mengamati kesadahan

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan selama penelitian antara lain:

- a. Air sebagai media hidup telur dan induk ikan wader cakul
- b. Telur Ikan Wader Cakul
- c. KOH 10% untuk menaikkan pH
- d. Asam sitrat 10% untuk menurunkan pH
- e. Kertas label untuk memberi tanda pada perlakuan yang diberikan
- f. Kertas tisu untuk membersihkan alat penelitian
- g. Akuades untuk membersihkan alat penelitian
- h. Ijuk dan akar eceng gondok (*Eichornia crassipes*) sebagai media melekatnya telur ikan wader cakul.
- i. Na-EDTA, indikator EBT sebagai larutan buffer kesadahan dan indikator warna.

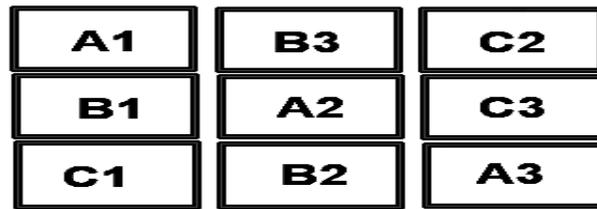
3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah metode penelitian yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengandalkan pengaruh variabel lain. Metode ini dilaksanakan dengan memberikan variable bebas secara sengaja (bersifat induce) kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam variable terikat (Nasution,1982).

Pengambilan sampel dilakukan secara acak, artinya sampel diambil sedemikian rupa sehingga setiap individu atau anggota populasi mempunyai kemungkinan yang sama untuk menjadi anggota sampel. Metode yang digunakan biasanya adalah mendaftar seluruh populasi lalu dengan menggunakan sistem lotere, didapatkan sampel sesuai dengan besar sampel yang telah ditetapkan sebelumnya. Cara lain yang digunakan adalah dengan menggunakan tabel bilangan random. Tabel bilangan random biasanya tersedia dibuku yang membahas metodologi penelitian (Surakhmad,1998).

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan yaitu perlakuan pH dengan nilai 5 (A), 7 (B), dan 9 (C). Masing-masing perlakuan diberi ulangan sebanyak 3 kali (Gambar 4). RAL dapat didefinisikan sebagai rancangan dengan berberapa perlakuan yang disusun secara random untuk seluruh unit percobaan. Tidak ada pembatasan yang dikenakan dalam menyusun perlakuan untuk tiap unit percobaan (Hanafiah,1993).



Gambar 4. Denah pada Penelitian Daya Tetas Telur Ikan *Wader cakul* (*Puntius binotatus*)

Keterangan :

Perlakuan A: Perlakuan pH 5 terhadap daya tetas telur ikan *wader cakul* (*Puntius binotatus*)

Perlakuan B: Perlakuan pH 7 terhadap daya tetas telur ikan *wader cakul* (*Puntius binotatus*) (Kontrol)

Perlakuan C: Perlakuan pH 9 terhadap daya tetas telur ikan *wader cakul* (*Puntius binotatus*)

1, 2, 3 : Ulangan

Rancangan acak lengkap merupakan jenis rancangan percobaan dimana perlakuan diberikan secara acak kepada seluruh unit percobaan. Hal ini dapat dilakukan karena lingkungan tempat percobaan diadakan relatif homogen sehingga media atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh berarti pada respon yang diamati. Adapun model rancangan acak lengkap adalah sebagai berikut (Sastrosupadi, 2000) :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

dengan : $i = 1, 2, \dots, t$ dan $j = 1, 2, \dots, r$

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

μ = rata-rata umum.

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i.

ϵ_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

Pelaksanaan penelitian tentang uji perlakuan nilai pH yang berbeda terhadap daya tetas telur ikan wader cakul (*Puntius binotatus*) dimulai pada bulan Februari 2017 hingga Maret 2017. Persiapan dilakukan pada saat awal penelitian (Februari 2017). Tahap-tahap yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Dipersiapkan semua alat dan bahan yang akan digunakan untuk penelitian. (Lampiran.1).
2. Dipersiapkan akuarium bersih ukuran 50 x 30 x 40 cm³ sebagai tempat pemijahan induk ikan wader cakul sebanyak 3 buah.
3. Akuarium diisi air hingga ketinggian 30 cm.
4. Substrat (lujuk dan enceng gondok) dipersiapkan untuk penempelan telur
5. Induk ikan wader cakul hasil seleksi matang gonad dimasukkan ke dalam akuarium dengan perbandingan jantan:betina 1:3.
6. Aerator dipasang sebagai penyuplai oksigen pada akuarium pemijahan dan akuarium penelitian.
7. Untuk perlakuan pH air ditambahkan asam sitrat (10%) atau 10 gr asam sitrat yang dilarutkan dalam 100 ml akuades untuk menjadikan air menjadi asam , dan KOH (10%) atau 10 gr KOH yang dilarutkan dalam 100 ml akuades untuk menjadikan air menjadi basa. Masing masing larutan ditambahkan kedalam media percobaan sesuai dengan dosis yang diperlukan.
8. Diamati kegiatan pemijahan induk ikan wader cakul sampai telur dan sperma di keluarkan, setelah itu telur yang telah fertilisasi dipindahkan ke dalam akuarium yang telah diberi perlakuan pH.
9. Dimasukkan telur ikan wader cakul di setiap akuarium yang telah di beri perlakuan pH sebagai sampel. Jumlah sampel ditentukan dengan

menggunakan metode Slovin (Sevilla et. al., 1960:182), dengan rumus sebagai berikut:

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

dimana

n: jumlah sampel

N: jumlah populasi

e: batas toleransi kesalahan (*error tolerance*)

10. Telur diamati perkembangannya dibawah mikroskop dengan perbesaran 40 kali.
11. Dilakukan pengukuran dan pengontrolan nilai pH dengan pH meter, oksigen terlarut dengan *Oxygen meter*, suhu dengan termometer dan kesadahan dengan perhitungan pada laboratorium secara intensif.
12. Pada setiap pengamatan dilakukan dokumentasi berupa foto dan video menggunakan kamera.
13. Dilakukan pemeliharaan hingga larva berumur 1 minggu.

3.5.2 Proses Pemijahan

Pemijahan dilakukan di akuarium pemijahan yang telah dipasang ijuk dan eceng gondok. Perbandingan jantan dan betina yang digunakan yaitu 1:3 untuk setiap pasang induk. Penelitian ini menggunakan 3 pasang induk. Ketika induk jantan dan induk betina siap memijah maka induk betina akan mengeluarkan telur dan jantan akan mengeluarkan sperma. Telur tersebut akan jatuh dan menempel pada substrat yang telah dipasang dalam akuarium pemijahan.

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Parameter Utama

a. Penetasan Telur

Penelitian ini menggunakan daya tetas telur ikan wader cakul sebagai parameter utama yang diamati. Pengamatan daya tetas telur ikan wader cakul (*Puntius binotatus*) dilakukan dengan cara melihat dan menghitung secara langsung berapa banyak presentase telur ikan wader cakul yang telah berhasil menetas. Menurut Arisandi (2007), metode pengukuran jumlah telur adalah:

- Menyiapkan alat dan bahan untuk memindahkan telur yang akan diamati
- Mengambil telur menggunakan saringan halus, bisa juga menggunakan *beaker glass* yang selanjutnya dihitung menggunakan pipet tetes
- Selanjutnya hasil dari pengamatan telur dijumlahkan
- Jumlah telur menetas atau Hatching rate dirumuskan sebagai berikut :

$$\text{Hatching rate (HR)} = \frac{\text{Total telur menetas}}{\text{Total telur yang terbuahi}} \times 100\%$$

Perhitungan telur yang terbuahi menggunakan metode gravimetri. Metode gravimetri dilakukan dengan mengukur berat seluruh telur. Kemudian sebagian kecil jumlah telur tersebut diambil dan diukur berat telurnya.

$$F = \frac{G}{Q} \times N$$

Keterangan :

F = fekunditas (butir)

G = bobot tubuh (g)

Q = bobot gonad sampel (g)

N = jumlah telur pada gonad sampel (butir)

b. Presentase kelangsungan hidup (*Survival rate*)

Survival rate atau tingkat kelangsungan hidup adalah jumlah larva yang berhasil hidup dari awal hingga akhir penelitian. Parameter yang digunakan untuk mengetahui presentase kelulushidupan pada ikan selama pemeliharaan. Metode perhitungan *Survival rate* menurut Ansori (2014) adalah dengan menghitung jumlah larva pada awal penelitian lalu menghitung jumlah larva yang masih hidup hingga penelitian berakhir. *Survival rate* atau tingkat kelangsungan hidup larva dapat dihitung dengan rumus :

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

Dimana:

SR = Tingkat kelangsungan hidup (%)

No = Jumlah larva pada awal penelitian (ekor)

Nt = Jumlah larva yang hidup pada hari ke-7 setelah menetas (ekor)

3.5.2 Parameter Penunjang

Pengamatan parameter penunjang pada penelitian ini yaitu kualitas air yang dilakukan pada kegiatan penelitian terdiri dari parameter fisika yang meliputi pengukuran suhu, serta parameter kimia yang meliputi pengukuran pH , oksigen terlarut dan kesadahan.

a. Suhu

Menurut Suprpto (2011), parameter kualitas air tentang suhu diukur dengan thermometer Hg. Bagian ujung thermometer dimasukkan ke dalam perairan hingga seluruh bagiannya masuk dalam air dan ditunggu beberapa saat sampai air raksa dalam thermometer berhenti pada skala tertentu. Kemudian dicatat angka yang tertera di skala tersebut dalam satuan derajat celcius (°C). Pembacaan thermometer dilakukan pada saat thermometer masih dalam air dan

pada bagian air raksa tidak sampai tersentuh oleh tangan secara langsung. Pada penelitian ini, pengamatan suhu dilakukan setiap 1 jam sekali selama proses inkubasi telur ikan wader cakul (*Puntius binotatus*) mulai dari telur pertama kali diberi perlakuan sampai menetas.

b. Derajat keasaman (pH)

Menurut Surapto (2011), pH meter atau pH pen merupakan salah satu alat yang dapat digunakan untuk mengukur nilai pH dalam perairan. Dalam penelitian ini pengukuran pH menggunakan pH pen warna kuning tipe 009-(I) A. Pengukuran pH dilakukan berskala pada pagi, siang, dan sore hari. Prosedur awal yang dilakukan dalam pengukuran pH yaitu menyalakan tombol on pada pH pen. Setelah itu mengkalibrasi pH pen ke dalam perairan dan dilakukan dengan menggunakan larutan akuades untuk menetralkan pH pada pH pen. Langkah berikutnya masukkan pH pen ke dalam perairan kurang lebih selama 2 menit. Setelah itu nilai pH akan tertera pada layar pH pen. Pengamatan ini dilakukan setiap 1 jam sekali selama proses inkubasi telur ikan wader cakul (*Puntius binotatus*) mulai dari telur pertama kali diberi perlakuan sampai menetas.

c. Oksigen Terlarut

Pada penelitian ini pengukuran oksigen terlarut menggunakan *Oxygen meter*. Menurut Saputri (2014), pengukuran oksigen terlarut dilakukan dengan menggunakan *Oxygen meter*. Adapun prosedur pengukurannya adalah menyiapkan alat *Oxygen meter*, setelah itu mengkalibrasi *Oxygen meter* dengan menggunakan akuades. Selanjutnya adalah mencelupkan *Oxygen meter* ke dalam air sampel selama kurang lebih 1 sampai 2 menit. Setelah itu menekan tombol ON dan menunggu angka yang tertera pada layar stabil lalu menekan tombol HOLD ketika angka sudah stabil. Selanjutnya adalah melihat secara teliti skala yang tertera pada *Oxygen meter* dan kemudian mencatat nilai oksigen terlarut yang

diperoleh. Pengamatan oksigen terlarut ini dilakukan setiap 1 jam sekali selama proses inkubasi telur ikan *wader cakul* (*Puntius binotatus*) mulai dari telur pertama kali diberi perlakuan sampai menetas.

d. Kesadahan

Kesadahan air adalah kandungan mineral mineral penentu dalam air. Umumnya ion Ca^{2+} dan Mg^{2+} dalam bentuk garam karbonat Setelah dilakukan pengukuran kualitas air suhu , pH , dan oksigen terlarut, dilanjutkan ke pengukuran kesadahan. Menurut Hariyadi *et al.*, (1992), prosedur penentuan kesadahan total adalah mengambil sampel dengan pipet sebanyak 10 ml air sampel dan memasukkan ke dalam erlenmeyer. Setelah itu menambahkan 2 ml larutan buffer, kemudian mengaduknya. Setelah diaduk, ditambahkan 8 tetes indikator EBT, kemudian mengaduknya kembali. Setelah itu dilakukan titrasi dengan Na-EDTA hingga terjadi perubahan warna dari merah anggur ke biru. Selanjutnya adalah perhitungan nilai kesadahan dengan rumus yaitu :

$$\text{mgCaCO}_3 = \frac{\text{Vtitran} \times \text{N titran} \times 1000 \times \text{BE CaCO}_3}{\text{ml air sampel}}$$

Keterangan :

V titran : Volume yang digunakan dalam titrasi (ml)

N titran : Normalitas dari Na-E

3.7 Analisis data

Setelah melakukan penelitian, data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisa secara statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance* atau yang biasa disingkat dengan ANOVA. Sesuai dengan rancangan yang digunakan, yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa

perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (beda nyata terkecil) dan regresi untuk menentukan perlakuan yang memberikan respon terbaik dengan derajat kepercayaan 5% dan 1%.

Tabel 2. Struktur tabel sidik ragam

| Sumber Keragaman | Derajat bebas (DB) | Jumlah kuadrat (JK) | Kuadrat tengah (KT) | F-hitung |
|---|--------------------|---------------------|---------------------|----------|
| Ulangan sama $r_1 = r_2 = \dots = r$ | | | | |
| Perlakuan | t-1 | JKP | KTP | KTP/KTG |
| Galat | t(r-1) | JKG | KTG | |
| Total | tr-1 | JKT | | |
| Ulangan tidak sama $r_1 \neq r_2 \neq \dots \neq r_t$ | | | | |
| Perlakuan | t-1 | JKP | KTP | KTP/KTG |
| Galat | $\sum (r_i - 1)$ | JKG | KTG | |
| Total | $\sum r_i - 1$ | JKT | | |

Menurut Sumertajaya dan Mattjik (2006), rumus untuk menghitung jumlah kuadrat dibedakan menjadi dua yaitu untuk percobaan dengan ulangan setiap perlakuan sama dan ulangan setiap perlakuan tidak sama. Untuk percobaan dengan ulangan setiap sama dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. FK (Faktor Koreksi) $= \frac{Y^2}{tr}$
2. JKT (Jumlah Kuadrat Total) $= \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2 - FK$
3. JKP (Jumlah kuadrat perlakuan) $= \sum \frac{Y_i^2}{r} - FK$
4. JKG (Jumlah Kuadrat Galat) $= JKT - JK$

Sedangkan untuk percobaan dengan ulangan setiap perlakuan tidak sama maka perhitungan jumlah sedikit berbeda yaitu:

1. FK (Faktor Koreksi) $= \frac{Y^2}{\sum_{i=1}^t r_i}$
2. JKT (Jumlah Kuadrat Total) $= \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^{r_i} Y_{ij}^2 - FK$
3. JKP (Jumlah kuadrat perlakuan) $= \sum \frac{Y_i^2}{r_i} - FK$
4. JKG (Jumlah Kuadrat Galat) $= JKT - JKP$