

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 MATERI PENELITIAN

##### 3.1.1 Peralatan yang digunakan dalam Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini (Lampiran 1), adalah bak fiber 2355 liter sebanyak 6 unit untuk wadah pemeliharaan ikan nila (*O. niloticus*). Do meter dan pH meter untuk uji fisik kualitas air, *spektrofotometer* UV/VIS untuk uji absorpsi amoniak dan nitrit. *ELISA READER* untuk pembacaan uji residu. Timbangan untuk menimbang bahan yang digunakan dalam penelitian. Baskom, sendok, beker glass, dan nampan untuk pembuatan pakan obat. Sesar digunakan dalam pengambilan sampel. Peralatan preparasi, *vortex*, blender, *centrifuge*, botol dan peralatan laboratorium digunakan dalam pengujian residu obat dalam daging ikan. Lemari es untuk penyimpanan bahan, peralatan tulis, kamera dan label digunakan untuk dokumentasi dan pelabelan.

##### 3.1.2 Bahan-Bahan yang digunakan dalam Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini (Lampiran 2), adalah Ikan nila (*O. niloticus*)  $\pm 75$ gr 420 ekor, pakan buatan (pelet), antibiotik *oxytetracycline*, plastik, binding, akuadestilata, reagen untuk analisa ammonia dan nitrit sampel air, KIT ELISA *oxytetracycline* 2 buah, aquabidest, methanol, *Sodium hydroxide* (NaOH), *Sodium chloride* (NaCl), *Magnesium sulfate 7-hydrate* ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ), Amonium klorida ( $NH_4Cl$ ), *Potassium peroxodisulfate* ( $K_2S_2O_8$ ), Fenol ( $C_6H_5OH$ ), Etil alcohol ( $CH_3OH$ ) 95%, Natrium nitropruside ( $C_5FeN_6Na_2O$ ), *Sodium hydrogen carbonate* ( $NaHCO_3 \cdot H_2O$ ), Trisodium sitrat, *Sodium hypochlorite* (NaClO) 5%. Reagen pengujian nitrit: Sulfanilamide ( $H_2NC_6H_4SO_2NH_2$ ), HCl pekat, *N-(1-naphthyl)-ethylene diamine dihydrochloride* (NED dihidroklorida), Natrium oksalat ( $Na_2C_2O_4$ ), *Ferro ammonium sulfate* (FAS), Natrium nitrit ( $NaNO_2$ ),  $CHCl_3$  dan

Kalium permanganate ( $\text{KMnO}_4$ ), dan reagen analisa amonia dan nitrit pada sampel air.

### **3.2 Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode percobaan atau *experiment*. Menurut Nazir (2014), metode *experiment* adalah observasi dibawah kondisi buatan dimana kondisi tersebut dibuat dan diatur oleh orang yang melakukan penelitian. Tujuan dari penelitian *experiment* untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan sebab-akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok *experiment* dan menyediakan kontrol sebagai pembanding.

#### **3.2.1 Variabel Penelitian**

Menurut Nursalam (2008) variabel merupakan perilaku atau karakteristik yang memberikan nilai beda terhadap sesuatu seperti benda, manusia, dan lain sebagainya. Variabel juga merupakan konsep dari berbagai level abstrak yang didefinisikan sebagai suatu fasilitas untuk pengukuran dan atau manipulasi penelitian. Konsep yang dituju dalam suatu penelitian bersifat konkret dan secara langsung dapat diukur.

##### **1) Variabel Bebas**

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau nilai dari variabel lain (Nursalam, 2008). Dalam penelitian ini pemberian antibakteri *oxytetracycline* menjadi variabel bebas, penambahan antibakteri pada pakan ikan nila (*O. niloticus*) selama pemeliharaan sebagai perlakuan untuk kelompok eksperimen dan untuk kelompok kontrol tidak diberikan penambahan obat namun sama-sama dilakukan uji kandungan *oxytetracycline*.

## 2) Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang pengaruh nilainya ditentukan oleh variabel lain. Variabel terikat adalah faktor yang diamati dan diukur untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh atau hubungan dari variabel bebas (Nursalam, 2008). Dalam penelitian ini yang menjadi variabel terikat adalah konsentrasi *withdrawal time* antibakteri *oxytetracycline* pada ikan nila (*O. niloticus*) yang diuji dengan *ELISA READER*.

### 3.2.2 Populasi dan Sampel

#### 1) Populasi Penelitian

Populasi adalah keseluruhan sumber data yang diperlukan dalam suatu penelitian (Saryono, 2010), adapun yang menjadi populasi dari penelitian ini adalah ikan nila (*O. niloticus*) sebanyak 450 ekor yang dibagi menjadi 75 ekor/bak untuk kelompok perlakuan dan 75 ekor/bak lainnya untuk kelompok kontrol.

#### 2) Sampel Penelitian

Sampel adalah sebagian atau mewakili bagian dari populasi yang dapat digunakan sebagai subjek penelitian melalui sampling (Nursalam, 2008). Sampel penelitian berupa ikan nila (*O. niloticus*) yang dipilih secara acak sebanyak 5 ekor per bak pemeliharaan selama 10 hari pemberian obat (uji farmakokinetik) pada hari ke H1, H3, H5, H7 dan H9 dan untuk uji *withdrawal time* sampel sebanyak 5 ekor diambil secara acak pula pada hari ke H0, H1, H2, H4 dan H5 setelah pemberian obat terakhir.

#### 3) Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampling yang digunakan dalam penelitian ini merupakan teknik sampling *probability sampling* jenis *simple random sampling* dimana sampel diambil secara acak dengan setiap anggota atau unit dari populasi mempunyai kesempatan yang sama sebagai sampel (Notoatmodjo, 2012).

Sampel random sederhana dipilih karena anggota populasi ikan nila (*O. niloticus*) relatif homogen.

### **3.2.3 Uji Asumsi Dasar**

Uji asumsi dasar digunakan untuk mengetahui pola dan varian serta linieritas dari suatu populasi (data). Apakah populasi atau data berdistribusi normal atau tidak, atau juga uji dapat digunakan untuk mengetahui apakah populasi mempunyai beberapa varian yang sama, serta untuk menguji kelinearitasan data. Terbagi menjadi beberapa tahap yakni uji normalitas, uji homogenitas yang tahapnya menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Setelah tahap diatas terjawab barulah dilanjutkan dengan uji hipotesis.

#### **1) Uji Normalitas**

Tujuan dilakukanya uji normalitas terhadap serangkaian data adalah untuk mengetahui apakah populasi data berdistribusi normal atau tidak, bila data berdistribusi normal, maka dapat digunakan uji statistik berjenis parametrik sedangkan bila data berdistribusi tidak normal, maka digunakan uji statistik nonparametrik. Metode uji yang digunakan yaitu metode Shapiro-wilk uji normalitas data dengan menggunakan program SPSS, kriteria pengujian yang diambil berdasarkan nilai probabilitas. Jika probabilitas (*sig*) > 0.05, maka H<sub>0</sub> diterima, jika probabilitas (*sig*) < 0.05, maka H<sub>0</sub> ditolak. H<sub>0</sub> merupakan data berdistribusi normal.

#### **2) Uji Homogenitas**

Pengujian homogenitas bertujuan untuk mengetahui apakah objek (tiga sampel atau lebih) yang diteliti mempunyai varian yang sama. perhitungan uji homogenitas menggunakan program SPSS dengan uji levene statistik, nilai (*sig*) > 0.05 terima H<sub>0</sub>, jika nilai (*sig*) < 0.05 tolak H<sub>0</sub>. H<sub>0</sub> merupakan data bervariansi sama.

### 3) Uji Hipotesis

Uji hipotesis yang digunakan yaitu pengujian hipotesis komperatif. Menurut Siregar (2014), analisis komperatif atau analisis perbedaan adalah suatu analisis yang digunakan untuk mengetahui perbedaan antara dua variabel (data) atau lebih. Teknik statistik dalam analisis pembeda yang digunakan adalah analisis komperatif dua sampel independen yang artinya sampel dinyatakan tidak berkolerasi (*independent*) antara dua kelompok, bila sampel-sampel yang menjadi objek penelitian dapat dipisahkan secara tegas bahwa anggota kelompok A tidak ada yang menjadi anggota kelompok B, perhitungan uji menggunakan program SPSS. Kriteria pengambilan keputusan berdasarkan nilai probabilitas dua sisi, maka nilai  $\alpha/2$  kriteria pengujian menjadi: jika probabilitas  $> 0.05/2$ , maka  $H_0$  diterima, jika probabilitas  $< 0.05/2$ , maka  $H_0$  ditolak.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *one-group posttest-only design* yaitu suatu rancangan yang paling sederhana, dimana terdapat 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok yang tidak diberi perlakuan. *Posttest* yang digunakan dalam penelitian ini adalah mengukur konsentrasi *oxytetracycline* pada daging dan organ ikan nila (*O. niloticus*) setelah pemberian *oxytetracycline* selama 10 hari perlakuan. Menurut definisinya, *one group post test design* melibatkan satu grup di dalam progres yang perhitungan hanya di akhir dari intervensi. Kita dapat menggunakan desain ini sebagai desain penelitian untuk mengevaluasi pengaruh penyalagunaan obat sebagai contohnya pada komunitas (Kirst-Ashman dan Hull, 2015). Pola rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 1 sebagai berikut :

**Tabel 1.** Pola Rancangan Penelitian *One-Group Posttest-Only Design*

Kelompok	Treatment	Postest 1	Postest 2	Postest 3
P	X	PT	PT	PT
K	-	PT	PT	PT

Keterangan :

P : Kelompok Perlakuan\

K : Kelompok Kontrol

X : Perlakuan

PT : *Post-test*

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan Penelitian

##### 1) Persiapan Sampel Uji *Withdrawal Time*

Penyiapan sampel uji *withdrawal time* dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: (1). Penyiapan wadah uji berupa 6 bak fiber berukuran 2.355 liter dengan ketinggian air 75 cm serta ditambahkan aerasi. (2). penyiapan hewan uji ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan berat  $\pm 75$  gr sebanyak 70 ekor/bak dan ikan diaklimatisasi selama 14 hari, (3). Ikan uji dibagi sebagai kontrol dan perlakuan dengan tiga kali ulangan. Pada kelompok kontrol tidak diberi antibiotika pada pakan. Pada perlakuan dengan tiga kali pengulangan ditambahkan masing-masing obat, yaitu kelompok perlakuan dosis obat *oxytetracycline* 1 g/4kg bobot ikan/hari. Prosedur penelitian mengacu pada peraturan direktur jenderal perikanan budidaya nomor 49/PER-DJPB/2015 mengenai pedoman pengujian lapang dalam rangka penerbitan surat nomor pendaftaran obat ikan.

##### 2) Penentuan Dosis dan Aplikasi Obat

Dosis dan lama pengujian pemberian obat ikan *Oxytetracycline* 1 g/4kg bobot ikan/hari yang diberikan selama 10 hari pada ikan uji. Aplikasi obat ikan selama pengujian dilakukan melalui oral dengan dicampur ke dalam pakan buatan berupa pellet. Pemberian dosis pada pakan sesuai dengan kandungan zat aktif *oxytetracycline* yaitu sebesar 400 mg per 1 gr obat. Pemberian pakan atau *feeding*

rate (FR) sebesar 3% biomasa ikan 70 ekor/bak pemeliharaan. Dengan bobot ikan  $\pm 75$  gr maka didapat FR pada hari pertama sebesar 157.5 gram/hari yang dibagi 3 kali pemberian pakan secara normal yaitu pagi, siang dan sore hari 52.5 gr pakan. Kebutuhan perekat dan kebutuhan obat dapat dilihat pada Lampiran 3. Perhitungan pakan dan dosis obat terlampir pada Lampiran 4.

### **3) Pembuatan Pakan Obat *Oxytetracycline***

Ikan nila (*O. niloticus*) dipelihara dengan pemberian pakan yang telah ditambahkan obat *oxytetracycline* dan perekat atau binding. *Oxytetracycline* yang digunakan pada hari pertama sebanyak 1.3125 gr/kg bobot pakan yang akan diberikan. Adapun binding yang digunakan sebanyak 0.0315 gr (0.002 gr X10% total pakan). Pakan yang digunakan adalah pakan komersial berupa pellet. Penambahan obat *oxytetracycline* ke dalam pakan pada penelitian ini dilakukan dengan cara melarutkan obat dengan aquades secukupnya dan dicampurkan dengan binding hingga merata, kemudian dicampurkan dengan 10% jumlah pakan untuk menghindari pakan mengandung antibiotik tidak termakan, dicampur merata agar obat *oxytetracycline* menempel pada pakan dan dikering anginkan. Pakan pellet yang telah dikeringkan siap untuk diberikan pada ikan uji. Pembuatan pakan obat *oxytetracycline* dilakukan setiap hari selama 10 hari dengan metode yang sama, dengan tujuan dihasilkannya pakan obat yang segar nantinya. Metode pembuatan pakan obat sesuai setandar oprasional prosedur (SOP) KKP (2012). Bagan alir pembuatan pakan obat yang mengandung *oxytetracycline* terlampir pada lampiran 5.

#### **3.4.2 Pelaksanaan Penelitian**

##### **1) Pengambilan Sampel Uji**

Pengambilan sampel uji dilakukan secara acak, untuk uji farmakokinetik pengambilan sampel uji dilakukan setelah 3 jam pemberian pakan berobat terakhir

masing-masing 5 ekor per masing-masing perlakuan setiap 2 hari sekali pada hari ke 1, 3, 5, 7 dan 9. Pada uji *withdrawal time* sampel ikan uji diambil masing masing 5 ekor setelah pengobatan terakhir pada hari ke 0, 1, 2, 4 dan 5, pengambilan sampel dilakukan 3 jam setelah pemberian pakan terakhir.

## **2) Pengujian Residu Obat *Oxytetracycline* Menggunakan Metode Elisa**

Pengujian residu obat oxytetracycline dalam daging ikan menggunakan metode ELISA yang dilakukan sesuai dengan Instruksi Kerja (IK) Laboratorium Residu LP2IL Serang. Adapun langkah pengujiannya terdiri dari beberapa tahap yaitu tahap preparasi ikan, ekstraksi daging dan tahap preparasi standard kerja *oxytetracycline*.

### **a. Prosedur Preparasi Ikan**

Proses preparasi ikan uji (Lampiran 5) dimulai dari ikan sampel uji dikeluarkan dari lemari penyimpanan sampel dalam keadaan beku, tunggu hingga tidak membeku kemudian pisahkan daging dan hati ikan dari tubuh ikan kemudian dilumatkan daging dengan menggunakan blender hingga halus lalu ditimbang sebanyak 1 gr, masukkan daging ke dalam tabung sentrifius. Lumatkan hati dengan cara dicacah menggunakan gunting hingga halus, lalu timbang hati sebanyak 1 gr, masukkan ke dalam tabung sentrifius.

### **b. Prosedur Ekstraksi**

Daging sampel 1 gr ikan yang telah dilumatkan ditambahkan 3 mL Buffer Ekstraksi 1X OXYTET lalu vortex daging selama 10 menit dalam multi-tube vortexer atau guncang selama 30 menit dengan alat *shaker*, sentrifus selama 10 menit pada 6000 rpm. dipindahkan 200  $\mu$ L supernatan kedalam tabung baru yang berisi 800  $\mu$ L 10 mM PBS *buffer*, kemudian divortex selama 30 detik dan gunakan 75 $\mu$ L per *well* untuk *assay*. Bagan alir preparasi sampel pada daging ikan nila (*O. niloticus*) dapat dilihat pada lampiran 5.



### c. Preparasi Standar Kerja *Oxytetracycline*

Proses preparasi standar kerja *oxytetracycline* disediakan standar *oxytetracycline* 450 ng dan ditambahkan 1,5 mL mM PBS ke tabung stok standar. Homogenkan tabung stok dengan *mini mixer* selama 2 menit dan didiamkan selama 10 menit pada suhu 20-25°C, ulangi langkah berikut sebanyak 3 kali untuk memastikan semua serbuk telah larut sempurna, sehingga diperoleh stok *oxytetracycline* 300 ng/ml. Bagan alir preparasi standar kerja *oxytetracycline* dapat dilihat pada lampiran 5.

- Preparasi Standar Kerja *Oxytetracycline* 4,5 ng/ml

Larutan standar stok *oxytetracycline* 300 ng/ml dilarutkan sebanyak 30 µL ke dalam 1970 µL *standart diluent*, kocok dengan *mini mixer* selama 30 detik.

- Preparasi Standar Kerja *Oxytetracycline* 1,5 ng/ml

Larutan standar stok *oxytetracycline* 4,5 ng/ml dilarutkan sebanyak 500 µL ke dalam 1000 µL *standart diluent*, kocok dengan *mini mixer* selama 30 detik.

- Preparasi Standar Kerja *Oxytetracycline* 0,75 ng/ml

Larutan standar stok *oxytetracycline* 1,5 ng/ml dilarutkan sebanyak 500 µL ke dalam 500 µL *standart diluent*, kocok dengan *mini mixer* selama 30 detik.

- Preparasi Standar Kerja *Oxytetracycline* 0,375 ng/ml

Larutan standar stok *oxytetracycline* 0,75 ng/ml dilarutkan sebanyak 500 µL ke dalam 500 µL *standart diluent*, kocok dengan *mini mixer* selama 30 detik.

- Preparasi Standar Kerja *Oxytetracycline* 0,15 ng/ml

Larutkan 500 µL larutan standar stok *oxytetracycline* 0,375 ng/ml ke dalam 750 µL *standart diluent*, kocok dengan *mini mixer* selama 30 detik.

- Preparasi Standar Kerja *Oxytetracycline* 0 ng/ml

*standart diluent* dilarutkan sebanyak 500 µL ke dalam tabung kosong.

- Preparasi 1 X Wash Solution

Wash solution dibuat dengan cara mencampurkan *aquabidest* perbandingan 1 : 20 yang artinya 1 volume *wash solution* + 19 volume *aquabidest*. *Wash solution* dibuat berdasarkan jumlah *well* yang digunakan kemudian dikalikan 3 x 2 (banyaknya pencucian).

- Preparasi Antibodi #1 Solution

Pengambilan satu atau lebih *Antibody#1 Oxytetracycline*, berdasarkan jumlah *well* yang digunakan lalu ditambahkan 4,5 ml *Antibody#1 Diluent* untuk setiap tabungnya, tabung dikocok secara vertikal ke atas dan ke bawah sebanyak 10 kali, diamkan tabung pada suhu kamar selama 15 menit, setelah itu tabung dikocok kembali secara vertikal keatas dan kebawah sebanyak 10 kali. Bagan alir preparasi *Antibody#1 Solution* dapat dilihat pada lampiran 5.

- X HRP-Conjugated Antibodi #2

Pembuatan X HRP-Conjugated Antibodi #2 dengan cara melarutkan *Antibody #2* dengan *Antibody #2 Diluent* dengan perbandingan 1 : 100 artinya : 1 volume *Antibody #2* + 99 volume *Antibody #2 Diluent*. HRP-Conjugate dibuat berdasarkan jumlah *well* yang digunakan.

#### **d. Prosedur Kerja Elisa**

Standar *oxytetracycline* ditambahkan sebanyak 75 µL dari setiap (kontrol negatif 0.15 ng/ml, 0.375 ng/ml, 0.75 ng/ml, 1.5 ng/ml dan 4.5 ng/ml) dan dibuat duplo kedalam *well* yang berbeda. Penambahkan standar *oxytetracycline* untuk setiap *well* dilakukan berurutan di mulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi.

- Masing-masing sampel ditambahkan 75 µL yg dibuat duplo (dua kali ulangan) ke sumur sampel yang berbeda.
- 100 µL *oxytetracycline Antibody # 1* ditambahkan dan dicampur rata kemudian *well* digoyangkan lembut secara manual selama 1 menit.

- *Well* diinkubasi selama 55 menit pada suhu kamar (20-25°C / 68-77°F) dalam kondisi tertutup dan gelap.
- Buang cairan dari dalam sumur (*well*) sampai benar-benar kering dengan cara mengetukkan *microtiter plate* dengan keras secara terbalik pada alas yang dilapisi oleh kemas tisu sehingga cairan dalam sumuran (*well*) keluar semua.
- *Well* dicuci 3 kali dengan 250 µL *Wash Solution* 1X, setelah penencucian terakhir, *well* dibalikkan dan ditekan lembut sampai kering pada kertas tisu. Jangan biarkan *microtiter plate* mengering.
- 1X HRP-*conjugated Antibody* # 2 ditambahkan sebanyak 150 µL lalu diinkubasi selama 25 menit pada suhu kamar (20-25°C / 68-77°F) (hindari dari sinar matahari langsung dan *bench*. *Well* ditutup selama inkubasi).
- Buang cairan dari dalam sumuran (*well*) sampai benar-benar kering dengan cara mengetukkan *microtiter plate* dengan keras secara terbalik pada alas yang dilapisi oleh kertas tisu sehingga cairan dalam sumuran (*well*) keluar semua.
- Cuci *well* sebanyak 3 kali dengan 250 µL *wash solution* 1X, setelah penencucian terakhir, *well* dibalikkan dan ditekan lembut sampai kering pada kertas tisu. Jangan biarkan *microtiter plate* mengering.
- Setiap sumur (*well*) ditambahkan 100 µL TMB *Substrate*. Waktu reaksi segera setelah menambahkan *substrate*. Campur larutan dengan goyang *well* perlahan secara manual selama 1 menit.
- Inkubasi selama 15 menit pada suhu kamar (20-25°C / 68-77°F) sementara inkubasi berlangsung tidak menempatkan substrat apapun kembali ke wadah asli untuk menghindari kontaminasi potensial. Disarankan untuk menutup *mikrotiter plate* selama inkubasi). Setelah diinkubasi selama 15 menit pada suhu kamar (20-25°C / 68-77°F)

- 100  $\mu$ L Stop Buffer tambahkan disetiap *well* untuk menghentikan reaksi enzim.
- Baca absorbansi setiap sumuran (*well*) sesegera mungkin setelah penambahan Buffer dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 450 nm (sebelum dilakukan pembacaan, bersihkan bagian bawah *well* menggunakan kain halus untuk memastikan tidak ada kelembaban sidik jari mengganggu bacaan).  
Prosedur kerja ELISA dapat dilihat pada lampiran 5.

#### e. Perhitungan Hasil

- Kurva kalibrasi standar *oxytetracycline* dapat dibuat dari pembacaan % absorbansi setiap standar dengan konsentrasi standar dalam ng/ml pada kurva logaritma.

$$\text{Absorbansi relatif (\%)} = \frac{\text{Absorbansi standart atau contoh} \times 100}{\text{Absorbansi standart 0 ng/ml}}$$

Keterangan :

Absorbansi relatif (%) : Rasio Logaritmik relatif

Absorbansi standart : Rasio Logaritmik Standart Contoh

Absorbansi standart 0 ng/ml : Rasio Logaritmik 0 ng/ml

- Masukkan hasil pembacaan % absorbansi contoh ke dalam kurva kalibrasi standart {x = konsentrasi standart (ng/ml), y = absorbansi relatif (%)}
- Nilai konsentrasi *oxytetracycline* pada contoh diperoleh dari persamaan logaritma standart dalam nilai  $\mu$ g/g setelah dikalikan dilution factor. Untuk mengubah nilai absorbansi ke konsentrasi digunakan program software Ridosoft win.

### 3.5 Parameter Uji

#### 3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah waktu henti obat (*withdrawal time*), penetapan *withdrawal time* dilakukan dengan uji *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Analisis data menggunakan rumus farmakokinetika dan persamaan regresi eksponensial atau logaritmik pada nilai upper dengan selang kepercayaan 95 % (LP2IL, 2015).

#### 3.5.2 Parameter Penunjang

Kandungan residu *oxytetracycline* pada hati ikan dan kualitas air merupakan parameter penunjang yang harus dilakukan dalam pengujian *withdarawal time*. Pemeriksaan kualitas air meliputi parameter DO, pH dan suhu dilakukan setiap hari pada pagi hari sebelum pemberian pakan menggunakan alat yaitu pH meter dan DO meter sedangkan untuk parameter ammonia dan nitrit dilakukan pengujian secara kimia pada awal dan akhir pengujian.

### 3.6 Analisa Data

Data yang didapat dianalisis untuk mengetahui adanya perbedaan residu obat antara saat pemberian obat dan setelah pemberian obat menggunakan uji T tidak berpasangan untuk mengetahui perbedaan antara dua kelompok terhadap konsentrasi *oxytetracycline* pada daging dan organ ikan nila (*O. niloticus*) dengan menggunakan SPSS. Parameter yang dianalisis adalah waktu henti obat yang ditentukan berdasarkan waktu terlama pada suatu organ dan atau daging (tidak ditemukan lagi residu dan/atau residu dibawah BMR). Ananalisis data penentuan menggunakan persamaan regresi eksponensial atau logaritmik pada nilai *upper* dengan selang kepercayaan 95%.