

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Kegiatan penelitian yang dilakukan memiliki materi penelitian mengenai analisis pencernaan pakan alami (*Chlorella* sp, *Daphnia magna* dan *Tubifex* sp.) terhadap pertumbuhan larva ikan koi (*Cyprinus carpio*) dengan kontrol kualitas air. Parameter kualitas air yang diukur dalam penelitian ini meliputi parameter fisika yaitu suhu, serta parameter kimia yaitu *Dissolved Oxygen* (DO), pH dan amonia. Parameter biologi yang diukur dalam penelitian ini yaitu laju pertumbuhan, laju pertumbuhan spesifik, kelangsungan hidup, pencernaan pakan pada lambung dan penyerapan protein pada pakan.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Pada penelitian ini, terdapat alat dan bahan yang digunakan untuk melakukan pengamatan dan memperoleh hasil penelitian. Dalam alat – alat yang digunakan antara lain aquarium, set aerasi, carboy, heater aquarium, termometer, DO meter, pH meter, spektrofotometer, erlenmeyer, beaker glass, pipet tetes, timbangan digital, sectio set, cawan petri, mikroskop, cover glass, objek glass, *handtally counter*, pengaris, lampu TL (*Fluorescent Lamp*), saringan dan botol bekas. Sedangkan bahan – bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah larva ikan koi (*C. carpio*), bibit *Chlorella* sp, *Daphnia magna*, *Tubifex* sp., pelet, abate, garam krasak, nessler, aquades, alkohol, kertas saring, kertas label dan lugol.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan teknik pengumpulan data secara observasi langsung atau eksperimen. Penelitian eksperimental adalah penelitian yang melakukan

memanipulasi (mengatur, merencanakan) atau mengontrol situasi alamiah menjadi situasi artifisial (buatan) sesuai dengan tujuan penelitian. Data primer yang diperoleh dibandingkan dengan data sekunder yang ada. Data sekunder adalah data yang didapatkan dan disimpan oleh orang lain yang biasanya merupakan data masa lalu/historical (Wibisono, 2003). Sehingga metode eksperimen yang dilakukan sangat tergantung dengan peneliti dan ketepatan logika yang terkandung di dalamnya (Setyanto, 2005).

3.3.1 Data Primer

Data primer merupakan data asli yang diperoleh secara langsung tanpa adanya perantara. Menurut Wandasari (2013), bahwa data primer adalah data yang diperoleh langsung dari sumber pertama yaitu individu atau perseorangan melalui proses. Salah satu teknik pengumpulan data yang dilakukan yaitu dengan observasi. Observasi merupakan bagian dalam pengumpulan data. Observasi berarti mengumpulkan data langsung dari lapangan. Pengamatan selama penelitian ini meliputi pengukuran kualitas air yaitu suhu, pH, DO, dan amonia, serta pengukuran biologi yaitu perhitungan panjang berat, bobot lambung awal setelah pemberian pakan dan bobot akhir setelah 4 jam pemberian pakan pada ikan koi (*C. carpio*) dan perhitungan kualitatif protein pada fase ikan akhir penelitian.

3.3.2 Data Sekunder

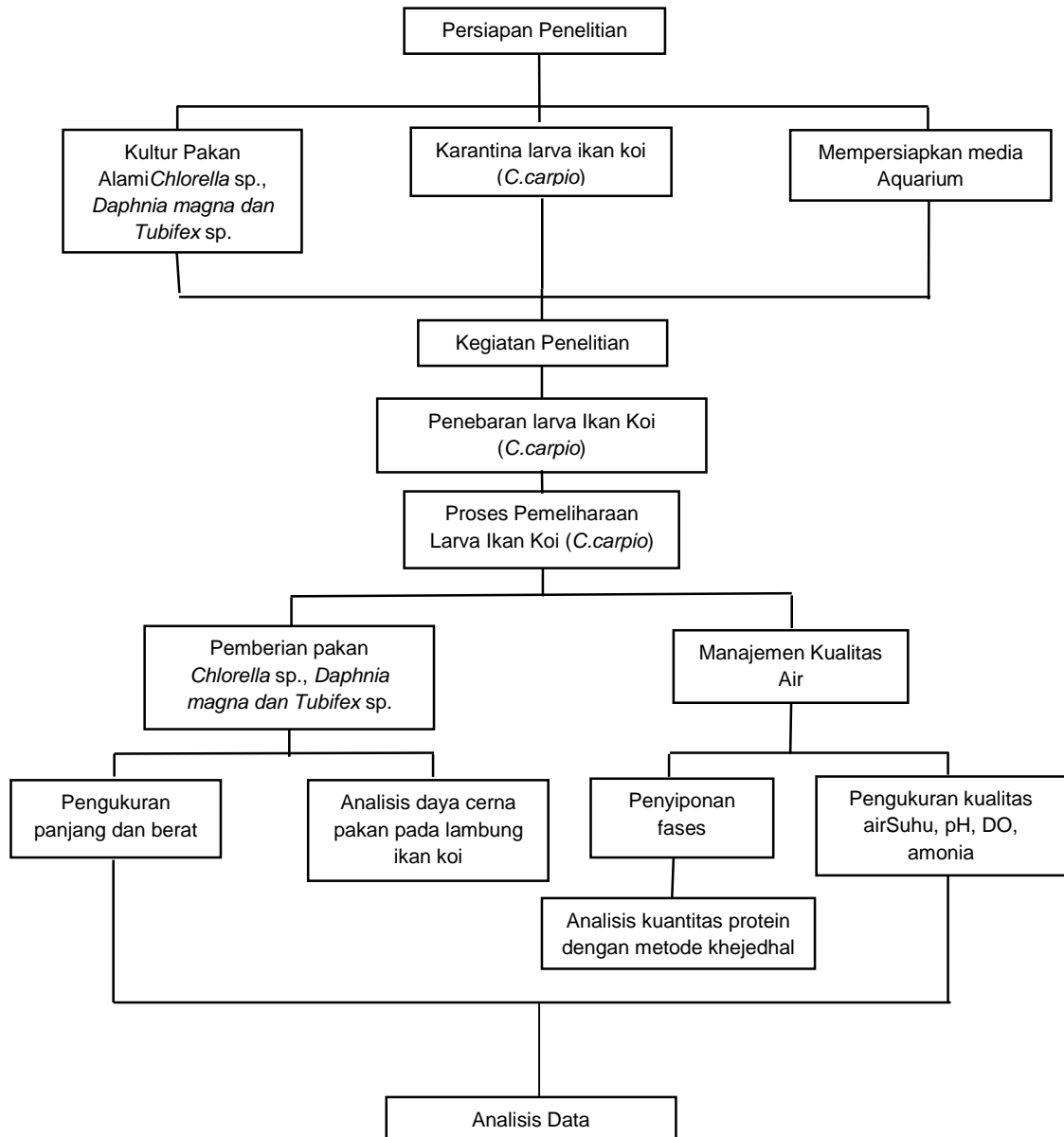
Data sekunder adalah kumpulan data yang diperoleh peneliti secara relevan terkait dengan permasalahan yang diperoleh dari media informan atau pengetahuan seperti buku dan instansi yang berhubungan dengan data yang dibutuhkan, baik secara tidak langsung melalui media perantara (diperoleh dan dicatat pihak lain) yang mendukung data primer. Data sekunder umumnya berupa bukti, catatan atau laporan historis yang telah tersusun dalam arsip

seperti buku dan jurnal (Syariati dan Rimawati, 2016).Data sekunder dalam penelitian meliputi buku dan jurnal penelitian terdahulu terkait informasi ikan koi (*C. carpio*), pakan alami berupa *Chlorella* sp., *Daphnia magna* dan *Tubifex* sp., prosedur pengukuran pencernaan pakan pada lambung, prosedur daya serap protein, pengukuran kualitas air dan prosedur mengkultur pakan alami. Selain itu data sekunder berupa buku dan jurnal digunakan dalam analisis data.

3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian mengenai analisis pencernaan pakan alami (*Chlorella* sp, *Daphnia magna* dan *Tubifex* sp.) terhadap pertumbuhan larva ikan koi (*Cyprinus carpio*) dengan kontrol kualitas air dilakukan selama 3 minggu dengan menggunakan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan dan 3 ulangan pada jenis pakan alami dan terdapat 1 perlakuan kontrol sehingga terdapat 10 unit parameter penelitian. Rancangan acak lengkap bertujuan untuk menghomogenkan data sehingga persentase kesalahan menjadi lebih kecil. Pengulangan dalam penelitian minimal harus dilakukan dengan tiga kali ulangan (Wijayanti, 2010)

Penelitian dilakukan didalam ruangan berupa *Green House* Laboratorium UPT Sumberpasir, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Penempatan unit penelitian didalam ruangan berupa *Green House* bertujuan untuk memudahkan pengontrolan kualitas air berupa suhu dan pengontrolan faktor-faktor eksternal lainnya yang dapat mengganggu penelitian. Adapun tahapan penelitian disajikan dalam Gambar 5



Gambar 7. Tahapan Penelitian

Terdapat tiga perlakuan dan tiga ulangan yang dilakukan pada kegiatan penelitian. Setiap perlakuan yang akan dilakukan pada larva ikan koi dilakukan dengan memberikan pakan alami secara ad-libitum (berlebih) dua kali sehari (pagi dan sore). Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini antara lain:

K : Pakan komersial (pellet)

A: Pakan *Chlorella* sp.

B : Pakan *Daphnia magna*

C.: Pakan *Tubifex* sp.

Perlakuan dengan ulangan pada penelitian ini ditempatkan secara acak. denah penelitian dapat dilihat pada Gambar 6.

C1	A1	B1	C2	A3	B2	C3	B3	A2	KONTROL
----	----	----	----	----	----	----	----	----	---------

Gambar 8. Denah Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian diawali dengan mempersiapkan aquarim kaca berukuran 50 x 30 x 25 cm sejumlah sepuluh buah dan alat-alat pendukung seperti aerasi dan batu aerasi. Sebelum digunakan terlebih dahulu akuarium dicuci dengan air tawar dan disterilkan dengan larutan kaporit 10 ppm untuk membunuh bakteri dan jamur yang menempel pada dinding akuarium. Kemudian akuarium dibilas dengan menggunakan air tawar sampai bersih. Selanjutnya masing-masing akuarium diisi air sebanyak dua puluh liter dan dilengkapi dengan aerasi. Aquarium kaca diisi dengan air sebanyak dua puluh liter dan dilakukan pengaturan aerasi. Aquarium diberi label nomor A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 dan C3 secara acak untuk menandakan tiga perlakuan dan tiga kali ulangan (Hanafiah, 2005).

3.4.2 Persiapan Pakan

a. Kultur *Chorella* sp.

Kegiatan kultur *Chorella* sp. dapat dilakukan dengan terlebih dahulu mempersiapkan carboy sebagai media kultur dan selang aerasi yang akan digunakan. Kemudian masukkan air steril sebanyak 3 liter. Air steril didapatkan dari proses perebusan dan selanjutnya diendapkan selama 24 jam. Proses pengkulturan dilakukan dengan cara mempersiapkan aerasi dan penambahan pupuk walne dengan dosis 1 ml/L. langkah selanjutnya memasukkan starter atau

bibit *Chorella* sp. yang berasal dari media kultur murni ke dalam carboy sebanyak 20-30% dari media kultur. Selanjutnya carboy ditutup untuk menjaga agar tidak terjadi kontaminasi dan serangga. Setelah 6-7 hari *Chorella* sp. dapat dikultur kembali dan sebagian dapat diberikan sebagai pakan ikan koi.

b. Kultur *Daphnia magna*

Kegiatan kultur *Daphnia magna* diawali dengan melakukan persiapan wadah dengan cara dengan pembersihan bak menggunakan sikat hingga bersih. Kemudian bak dibilas dengan air hingga bersih. Bak dikeringkan selama 24 jam, setelah itu diisi air sebanyak $\frac{3}{4}$ dari volume bak. Bak yang terisi air dibiarkan selama 24 jam untuk siap gunakan sebagai media kultur. Inokulan didapatkan dari peternak *Daphnia magna* yang berada di kota Malang. Kemudian inokulan ditebar pada masing-masing kolam dengan padat tebar awal 100 individu per liter. *Daphnia* dapat dipanen setelah 5 hari dari awal kegiatan kultur. *Daphnia* dipanen dengan kain *plankton net* dan dimasukkan dalam wadah pemanenan.

c . Kultur *Tubifex* sp.

Kegiatan kultur *Tubifex* sp. diawali dengan melakukan persiapan wadah yaitu aquarium berukuran 10 x 15 x 20 cm yang digunakan sebagai media kultur cacing *Tubifex*. Kemudian wadah kultur akan dialiri air yang tidak telalu deras secara terus menerus yang bersumber dari air kolam budidaya ikan koi yang berada di Laboratorium UPT Sumberpasir, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Air yang tumpah dari wadah kultur cacing akan mengalir kembali ke dalam kolam budidaya ikan koi. Setelah itu, bibit *tubifex* sp. yang diperoleh dari toko ikan hias diletakkan di media kultur. Pemberian pakan ikan koi dengan tubifex dilakukan dengan membersihkan

terlebih dahulu tubifex hingga bersih dan diletakkan di wadah yang bersih. Selanjutnya tubifex siap diberikan pada ikan.

3.4.3 Penebaran Benih

Penebaran benih dilakukan setelah ikan koi yang berumur 1 bulan dengan ukuran 5-7 cm dikarantina terlebih dahulu. Sebelum dilakukan penebaran benih kedalam media aquarium, terlebih dahulu larva ikan koi dikarantina selama 1 minggu dengan penambahan blue salt dan abate pada media karantina yang bertujuan sebagai pencegahan larva ikan koi dari bakteri dan jamur yang dibawa dari media budidaya sebelumnya. Larva ikan koi (*C. carpio*) ditebar sebanyak dua puluh lima ekor tiap aquarium. Menurut Widiastuti (2009), bahwa jumlah ikan pada wadah pemeliharaan akan mempengaruhi perkembangan pertumbuhan ikan. Dimana, apabila pada suatu wadah pemeliharaan ikan terlalu padat maka ikan akan cenderung kehilangan berat. Hal tersebut juga dapat meningkatkan persaingan pakan karena kompetisi untuk memperoleh makanan lebih tinggi pada padat penebaran yang lebih tinggi dibandingkan dengan padat penebaran yang lebih rendah. Oleh karena itu, pada padat penebaran yang lebih tinggi ukuran ikan lebih bervariasi sedangkan pada padat penebaran yang lebih rendah relatif seragam dan ukurannya lebih besar. Setelah ditebar, masing-masing benih setiap aquarium ditimbang berdasarkan berat biomassa, kemudian dirata-ratakan dan selanjutnya diukur panjang total ikan per individu, kemudian dirata-ratakan. Hal tersebut bertujuan agar dapat diketahui berat dan panjang awal ikan penelitian sebelum dilakukan pemeliharaan.

3.4.4 Perhitungan Pakan Alami

a. *Chlorella* sp.

Perhitungan kelimpahan sel fitoplankton digunakan sebagai salah satu ukuran mengetahui pertumbuhan fitoplankton, mengetahui kelimpahan bibit,

kelimpahan pada awal kultur dan kelimpahan pada saat panen. Untuk menghitung jumlah *Chlorella* sp. yang dihasilkan dalam skala waktu dapat menggunakan alat *haemocytometer*.

Menurut Chalid *et al.*(2006), penghitungan kelimpahan sel *Chlorella* sp. dapat menggunakan *haemocytometer* dan *handcounter* untuk membantu penghitungan. Penghitungan kelimpahan sel *Chlorella* sp. menggunakan metode "Big Block" karena *Chlorella* sp. memiliki ukuran sel lebih dari 6 mikron. Cara penghitungan sebagai berikut, sampel *Chlorella* sp. yang akan dihitung kepadatannya diambil menggunakan pipet tetes. Penetesan dilakukan dengan hati-hati agar tidak terjadi gelembung udara di bawah *cover glass*. Selanjutnya *haemocytometer* diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 atau 400 kali dan dicari bidang bujur sangkar. Langkah selanjutnya menjumlahkan penghitungan pada blok A, B, C, D pada bidang penghitungan bagian atas dan bagian bawah pada *haemocytometer*. Selanjutnya menghitung kepadatan fitoplankton (sel/mL) dengan rumus:

$$J_u \quad h \left(\frac{se}{m} \right) = \frac{J_u \quad h \quad s \quad d_i \quad 4 \quad k \quad (A, B, C, D)}{J_u \quad h \quad b \quad (= 4)} \times 10.000$$

Keterangan :

nA, nB, nC, nD = jumlah sel fitoplankton pada blok A, B, C, D

4 = jumlah blok yang dihitung

b. *Daphnia magna*

Menurut Mokoginta (2003), perhitungan kelimpahan pada kultur *Daphnia magna* dapat dilakukan dengan tanpa menggunakan alat pembesar atau mikroskop tapi dengan mata telanjang. *Daphnia magna* diambil dari dalam wadah kultur yang telah diaerasi agak besar sehingga *daphnia* merata berada

diseluruh kolom air, dengan memakai beaker glass 100 ml. *Daphnia magna* dan air didalam beaker glass selanjutnya dituangkan secara perlahan-lahan sambil dihitung jumlah daphnia yang keluar bersama air.

Apabila jumlah *Daphnia* yang ada sangat banyak, maka dari beaker glass 100 ml dapat diencerkan, caranya adalah dengan menuangkan kedalam Beaker glass 1000 ml dan ditambah air hingga volumenya 1000 ml. Dari gelas 1000 ml, lalu diambil sebanyak 100 ml. *Daphnia* yang ada dihitung seperti cara diatas, lalu kepadatan di dalam wadah budidaya dapat diketahui dengan cara mengalikan 10 kali jumlah di dalam gelas 100 ml. Sebagai contoh, apabila di dalam beaker glass 100 ml terdapat 200 ekor *Daphnia*, maka kepadatan *Daphnia* di wadah budidaya adalah $10 \times 200 \text{ ekor} = 2000 \text{ individu per } 1000 \text{ ml}$.

c. Tubifex sp.

Tubifex sp. atau cacing sutera yang terdapat pada wadah pemeliharaan diambil dengan cara memisahkan antara cacing dan substrat menggunakan saringan. Cacing sutera yang telah dibersihkan dengan air mengalir diambil dan ditempatkan di dalam wadah berukuran kecil yang selanjutnya akan ditimbang dengan timbangan digital dengan ketelitian 0.001 sebanyak 3 gram. Selanjutnya *tubifex* sp yang telah ditimbang siap menjadi pakan pada pemeliharaan benih ikan koi (*Cyprinus carpio*) (Tarigan, 2014).

3.4.5 Pemeliharaan

Kegiatan pemeliharaan ikan dilakukan dengan pengendalian pemberian pakan. Pemberian dilakukan pada pagi dan sore hari secara *ad libitum* dan memperhatikan kebutuhan larva ikan koi. Pemberian pakan diberikan secara *ad libitum* adalah pemberian yang tidak terbatas selama ikan masih mau untuk memakan pakan yang diberikan (Adam, 2013). Menurut Tahapari dan Suhenda (2009), bahwa sebelum melakukan pemberian pakan pada ikan terdapat

beberapa faktor yang perlu diperhatikan yaitu jenis spesies, jumlah pakan, waktu pemberian, nutrient pada pakan dan ukuran ikan. Sehingga pemberian pakan menjadi efisien untuk pertumbuhannya dan tidak memengaruhi kualitas air. Sebelum pemberian pakan pada larva ikan koi, terlebih dahulu dilakukan penimbangan pakan *Tubifex* sp. dengan timbangan analitik dan perhitungan kepadatan *Chorella* sp. dan *Daphnia magnapada* waktu awal pemberian. Penimbangan awal pada pakan tersebut bertujuan agar pemberian pakan tidak berlebih dan dapat menimbulkan penumpukan pakan akibat tidak dikonsumsi oleh ikan. Pemberian pakan pada larva ikan jumlah yang diberikan tidak dibatasi dan terus bertambah seiring dengan waktu sesuai dengan kebutuhan ikan agar tidak mengalami kekurangan pakan. Menurut Sugianto (2007), bahwa ikan akan mengalami pertumbuhan pada saat jumlah pakan yang dikonsumsi lebih banyak dari pada jumlah pakan yang dibutuhkan untuk pemeliharaan tubuhnya. Pakan yang dikonsumsi pertama kali akan dimanfaatkan untuk memelihara tubuh, mengganti sel-sel yang rusak dan selebihnya akan digunakan untuk memenuhi pertumbuhan ikan.

Selanjutnya kegiatan manajemen kualitas air dilakukan dengan pengukuran kualitas air dan penyifonan media penelitian. Penyifonan dan penggantian air dilakukan dengan menguras minimal 30% setiap dua hari sekali. Penyifonan berfungsi menjaga kadar ammonia agar tetap stabil dan menjaga senyawa kimia yang terlarut dalam air tidak terakumulasi. Menurut Haryanto *et al.* (2014), bahwa fungsi dari melakukan penyiponan yaitu untuk memastikan air yang digunakan dalam pemeliharaan dalam keadaan bersih dan terbebas dari kuman dan bibit penyakit yang dapat menyebabkan kematian massal pada ikan. Kualitas air yang buruk dapat mengakibatkan ikan stress yang berdampak pada menurunnya pertumbuhan ikan dan bahkan mengalami kematian (Effendi, 2003). Kegiatan pengumpulan feses dilakukan setiap hari dengan cara menyaring feses

dari selang dengan menggunakan kain. Pengumpulan fases tersebut digunakan untuk uji kadar protein. Pengukuran parameter kualitas air dalam penelitian ini yaitu suhu, kadar oksigen (DO), pH dan ammonia. Pemantauan kualitas air dilakukan untuk mengetahui keadaan kualitas air selama pemeliharaan larva ikan koi (Agustiningsih, 2012).

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Terdapat beberapa parameter utama yang diukur pada penelitian ini yaitu: laju pertumbuhan, kelangsungan hidup, daya cerna pakan pada lambung dan daya serap protein. Tujuan pengukuran parameter utama dengan sampel larva ikan koi (*C. carpio*) yaitu untuk mengetahui nilai pertumbuhan ikan berdasarkan pemberian pakan yang berbeda dan tingkat kelangsungan hidup ikan melalui penyesuaian ikan terhadap pakan dan lingkungannya. Pengukuran dilakukan dengan mengambil sampel ikan koi (*C. carpio*) sebanyak 6 ekor (24%) tiap perlakuan yang terlebih dahulu telah ditimbang beratnya dengan timbangan analitik dan diukur panjang ikan dengan menggunakan milimeter blok yang telah dilaminating. Pengukuran panjang ikan yang digunakan yaitu panjang total. Pengukuran panjang total ikan dilakukan dari ujung mulut hingga ke ujung ekor. Pengukuran dilakukan setiap 7 hari sekali selama 3 minggu pemeliharaan. Sedangkan untuk kelangsungan hidup benih ikan dilakukan perhitungan jumlah ikan pada awal penelitian dan jumlah ikan pada akhir penelitian terhadap keseluruhan jumlah ikan.

a. Pertumbuhan Mutlak

Pertumbuhan mutlak merupakan parameter yang digunakan untuk mengukur tingkat pertumbuhan ikan selama pemeliharaan. Dimana tingkat pertumbuhan ikan dapat diketahui berdasarkan hasil pengukuran panjang dan berat ikan pada

awal pemeliharaan dengan akhir pemeliharaan. Menurut Arief *et al.* (2009), pertumbuhan berat dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$W = W_t - W_o$$

Keterangan :

W = Pertumbuhan berat (g)

W_t = Berat akhir (g)

W_o = Berat awal (g)

Menurut Effendi (2002), bahwa rumus yang dapat digunakan untuk mengukur hasil pertumbuhan panjang ikan selama pemeliharaan adalah:

$$L = L_t - L_o$$

Keterangan :

L = Pertumbuhan panjang (cm)

L_t = Panjang akhir (cm)

L_o = Panjang awal (cm)

b. Laju pertumbuhan Harian (Growth Rate)

Laju pertumbuhan harian merupakan tingkat pertumbuhan pada ikan dalam kurun waktu tertentu dalam satu hari selama pemeliharaan. Menurut Arief *et al.* (2009), laju pertumbuhan dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$G = \frac{W - W_o}{t}$$

Keterangan :

GR = Laju pertumbuhan (g/hari)

Wt = Berat rata-rata akhir (g)

Wo = Berat rata rata awal (g)

T = Waktu (hari)

c. Laju Pertumbuhan Spesifik (SGR)

Menurut Effendi (2004), perhitungan laju pertumbuhan spesifik berat dan panjang dapat dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$S B = \frac{L W - L W}{t} \times 100\%$$

Keterangan :

SGR = Laju pertumbuhan harian (%/hari)

W₀ = Berat ikan pada awal penelitian (g)

W_t = Berat ikan pada akhir penelitian (g)

T = Waktu (hari)

Adapun cara untuk menentukan hasil dari laju pertumbuhan panjang spesifik dapat diketahui panjang awal penelitian dan akhir penelitian dengan mengambil beberapa sampel ikan dengan tujuan untuk mewakili jumlah ikan dalam wadah penelitian yang kemudian akan dibagi dengan rentang waktu pengukuran. Menurut Aggraeni dan Abdulgani (2013), perhitungan laju pertumbuhan panjang spesifik dapat menggunakan rumus:

$$S P = \frac{L L - L L}{t} \times 100\%$$

Keterangan :

SGR = Laju pertumbuhan harian (%/hari)

L_0 = Panjang ikan pada awal penelitian (cm)

L_t = Panjang ikan pada akhir penelitian (cm)

T = Waktu (hari)

d. Kelangsungan Hidup (Survival Rate)

Menurut Lucas *et al.* (2015), kelangsungan hidup (*Survival Rate*) merupakan parameter yang digunakan untuk mengetahui presentase kelangsungan hidup pada ikan selama pemeliharaan yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$S = \frac{N}{N} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Tingkat kelangsungan hidup (%)

N_t = Jumlah total ikan hidup sampai akhir penelitian

N_0 = Jumlah total ikan pada awal penelitian

e. Analisa Protein

Pada penelitian ini analisa kuantitatif protein pada fases ikan menggunakan metode Kjeldahl (Rosaini *et al.*, 2015),. Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode Kjeldahl, metode Kjeldahl terdiri dari 3 tahap yaitu: tahap destruksi, tahap destilasi dan tahap titrasi.

1. Tahap Destruksi Ditimbang 1 gram sampel yang telah diblender. Masukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL, kemudian pipet 10 mL asam sulfat pekat masukkan kedalam labu Kjeldahl. Tambahkan katalisator (campuran selenium) untuk mempercepat destruksi. Kemudian labu Kjeldahl tersebut di panaskan dimulai dengan api yang kecil setelah beberapa saat sedikit demi

sedikit api dibesarkan sehingga suhu menjadi naik. Destruksi dapat dihentikan pada saat didapatkan larutan berwarna jernih kehijauan.

2. Tahap destilasi, hasil destruksi yang didapatkan kemudian didinginkan, setelah itu diencerkan dengan aquadest sampai 100 mL. Setelah homogen dan dingin dipipet sebanyak 5 mL, masukkan ke dalam labu destilasi. Tambahkan 10 mL larutan natrium hidroksida 30% melalui dinding dalam labu destilasi hingga terbentuk lapisan dibawah larutan asam. Labu destilat dipasang dan dihubungkan dengan kondensor, lalu ujung kondensor dibenamkan dalam cairan penampung. Uap dari cairan yang mendidih akan mengalir melalui kondensor menuju erlemeyer penampung. Erlenmeyer penampung diisi dengan 10 mL larutan klorida 0,1 N yang telah ditetesi indikator metil merah. Cek hasil destilasi dengan kertas lakmus, jika hasil sudah tidak bersifat basa lagi maka penyulingan dihentikan.
3. Tahap titrasi setelah proses destilasi, tahap selanjutnya adalah titrasi. Hasil destilasi yang ditampung dalam erlemeyer berisi asam klorida 0,1 N ditetesi indikator metil merah sebanyak 5 tetes langsung dititrasi dengan menggunakan larutan natrium hidroksida 0,1 N. Titik akhir titrasi ditandai dengan warna merah muda menjadi kuning. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 3 kali untuk tiap sampel. Pengolahan Data menurut Sudarmadji *et al.* (1996), adalah sebagai berikut :

1. Penentuan kadar ammonium klorida

$$\text{Kadar Ammonium Klorida} = (V \text{ HCL} \times N \text{ HCL}) - (v \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH})$$

2. Penentuan Kadar Protein

$$\% \text{ K N} = \frac{K \text{ A} - K \text{ B} \times N}{W} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Kadar Protein} = \% \text{ Kadar Nitrogen} \times \text{Faktor Konversi (6,25)}$$

f. **Kecernaan Protein Pada Lambung**

Pengukuran kecernaan pakan pada lambung ikan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu dengan mengukur berat isi lambung setelah 1 jam pemberian pakan dan berat lambung ikan setelah 4 jam pemberian pakan yang kemudian diestimasi antara pakan yang termakan dengan pakan sudah tercerna. Menurut Sklan dan Hurwitz (1980) bahwa metode pengumpulan sisa pakan dari lambung dapat diperoleh dengan menghitung pencernaan dan penyerapan zat gizi yang terjadi pada lambung. Protein mulai dicerna di lambung dan kemudian di duodenum, sedangkan penyerapannya dimulai di duodenum dan berakhir di jejunum. Prosedur pengambilan pakan dengan cara metode ini dapat dilakukan dengan cara mengumpulkan pakan dari lambung setelah ikan dibunuh dan dibedah (Windell, 1978 dalam Haetami, 2006). Untuk menghitung persen daya cerna pakan pada lambung menggunakan rumus berikut :

$$K_t \quad P \quad (\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times P \quad p \quad (\%)$$

Keterangan :

W1 = Berat pakan pagi (gram)

W2 = Berat pakan siang (gram)

3.5.2 Kualitas Air

a. Suhu (SNI 2004)

Kegiatan pengukuran suhu dilakukan 2 kali sehari, pada waktu pagi hari pukul 06.00 dan sore hari pukul 16.00 dengan menggunakan thermometer Hg. Prosedur pengukuran suhu dengan thermometer Hg adalah sebagai berikut :

- Masukkan Thermometer Hg kedalam perairan hingga seluruh bagiannya masuk dalam air dan ditunggu beberapa saat sampai air raksa dalam Thermometer Hg berhenti pada skala tertentu.
- Mencatat angka yang tertera diskala tersebut dalam satuan derajat Celcius(⁰C).
- Membaca Thermometer Hg yang dilakukan pada saat thermometer masih dalam air dan pada bagian air raksa tidak sampai tersentuh oleh tangan secara langsung.

b. Dissolved Oxygen(DO) (SNI 2004)

Kegiatan pengukuran DO (*Dissolved Oxygen*) dilakukan setiap 2 kali sehari, pada waktu pagi hari pukul 06.00 dan sore hari pukul 16.00 dengan menggunakan DO meter. Prosedur pengukuran DO dengan DO meter adalah sebagai berikut :

- Probe disambungkan sebelum mengoperasikan DO meter.
- Kalibarsai probe DO meter menggunakan aquades.
- Probe dimasukkan ke dalam sampel air yang akan diukur kadar oksigen terlarutnya (DO).
- Tekan tombol ON dan ditunggu sampai muncul angka pada layar DO meter stabil.
- Kalibrasi probe setiap ganti air sampel dan sebelum DO meter di matikan.
- Tekan tombol OFF untuk mematikan DO meter.

c. pH (SNI 2004)

Kegiatan pengukuran pH dilakukan setiap 2 kali sehari, pada waktu pagi hari pukul 06.00 dan sore hari pukul 16.00 dengan menggunakan pH meter. Prosedur pengukuran pH dengan pH meter adalah sebagai berikut :

- Probe disambungkan terlebih dahulu sebelum digunakan.
- Probe dibilas dan dikalibrasi menggunakan aquades (pH netral).

- Tekan tombol ON, tunggu sampai muncul angka pada layar pH meter.
- Probe dimasukkan ke dalam sampel air yang akan diukur kadar derajat keasamannya (pH).
- Catat angka yang berada dilayar pH meter ketika sudah stabil.
- Kalibrasi probe setiap ganti air sampel dan sebelum pH meter di matikan.
- Tekan tombol OFF untuk mematikan pH meter.

d. Amonia (SNI 2004)

Kegiatan pengukuran amonia dilakukan setiap seminggu sekali, air sampel di ambil pada waktu pagi hari. Prosedur pengukuran amoniadengan metode titrasi adalah sebagai berikut :

- Disiapkan 25 ml air sampel yang telah disaring dalam Erlenmeyer.
- Ditambahkan 0,5 ml pereaksi nessler dan dihomogenkan.
- Dibiarkan selama ± 15 menit agar terbentuk warna kuning dengan sempurna. Kemudian larutan tersebut dimasukkan ke dalam cuvet.
- Hitung kandungan amonia dengan menggunakan spektrofotometer menggunakan panjang gelombang 425 nm.

3.6 AnalisisData

Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Model rancangan yang digunakan yaitu (Steel dan Torrie, 1982*dalam* Tarigan, 2014):

$$Y_{ij} = \mu + d_i + e_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} = Hasil Pengamatan

μ = Nilai Tengah

d_i = Nilai tambah akibat perlakuan

e_{ij} = Galat percobaan

Untuk menganalisis data percobaan, penelitian dianalisis dengan menggunakan SPSS 19 dan kemudian hasil data percobaan ditabulasikan dengan analysis of variance (ANOVA). Berdasarkan data penelitian yang diperoleh, maka dapat dibuat analisis data sebagai berikut:

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{Y^2}{r} = \frac{(T \quad n \quad \bar{p})^2}{T \quad b \quad p}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= \sum i.j.k Y_{i,j,k}^2 - F \\ &= \text{Jumlah Kuadrat Nilai Pengamatan} - \text{FK} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum i Y_i^2}{r} - F \\ &= \sum \frac{(T \quad \bar{p})^2}{r} - F \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} = \text{JKT} - \text{JKP}$$

$$\text{Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} = \frac{J_i}{d_i \quad p_i}$$

$$\text{Kuadrat Tengah Galat (KTG)} = \frac{J}{d \quad G}$$

$$F_{\text{hitung}} = \frac{K \quad p_e}{K \quad G}$$

Kemudian untuk mengetahui perbedaan nyata antara perlakuan dapat dilakukan dengan uji BNT.