

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan – Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- Ikan mas (*Cyprinus carpio* L) ukuran 13 – 15 cm
- Minyak cengkeh
- Na-oksalat 1%
- Wax
- Aquadest
- Tissue
- Kapas
- Kertas label
- Tissue lensa

3.1.2 Alat – Alat Penelitian

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Lapangan

- Keramba dari bambu dan kayu balok dibentuk persegi panjang dengan ukuran L = 0,5 m, P = 1,5 m dan T = 0,8 m
- Scoop net
- Baskom
- Pengikat

2. Laboratorium

- Cover glass
- Gelas ukur
- Syringe
- Pipet tetes
- Handtally counter
- Mikroskop
- Centrifuge hematokrit
- Haemositometer
- Objek glass
- Kaca preparat
- Timbangan
- Thermometer
- pH meter
- Kamera digital
- DO meter
- Evendorf

- Jarum Besar
- Pisau Bedah
- Penjepit arteri gunting
- Sonde

Adapun gambar peralatan umum laboratorium dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan di Lampiran 1.

3.2 Metode Penelitian dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah kegiatan percobaan untuk melihat hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki (Suryasubrata, 1994). Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen (Nazir, 1988).

Eksperimen atau percobaan merupakan tahap pengujian kebenaran hipotesis yang diajukan dalam suatu penelitian eksperimen. Percobaan dapat menentukan berhasil tidaknya pemecahan yang ditawarkan untuk mengatasi permasalahan. Suatu percobaan yang baik memberi peluang peneliti untuk membuktikan kebenaran hipotesisnya sehingga mendapatkan kesimpulan dan rekomendasi hasil yang tepat dan benar sesuai faktanya (Hanafiah, 2008).

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK). Menurut Bambang (2008), rancangan acak kelompok adalah rancangan paling sederhana yang sesuai untuk percobaan di lapangan (field experiment). Kondisi di lapangan tidak homogen, selalu mengalami perubahan kondisi (temperatur, air dll.) Kontrol lokal merupakan pengelompokan perlakuan secara lengkap sebagai kelompok atau blok tertentu seperti areal tanah, laut, yang

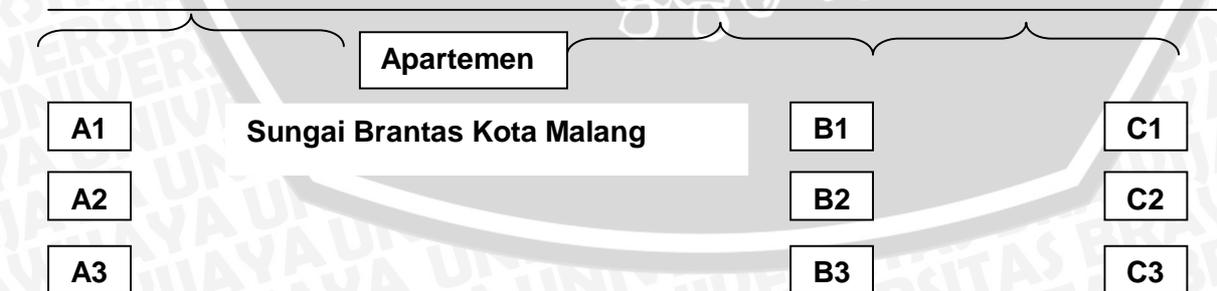
kondisinya berbeda untuk tujuan percobaan. Kondisi yang dapat dianggap sebagai kelompok antara lain:

- Areal lahan (daratan, perairan dan laut)
- waktu pengamatan (siang dan malam)
- alat percobaan (mesin berbeda merek)
- tenaga kerja (wanita , anak, tenaga terlatih dan kurang pengalaman.)

Penelitian ini terdiri dari 3 (tiga) perlakuan dengan 3 (tiga) kali ulangan untuk masing – masing perlakuan. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 1. Sebagai perlakuan A adalah penempatan keramba 50 m pada aliran sebelum apartemen Kecamatan Lowokwaru Kota Malang. Perlakuan B adalah penempatan keramba 50 m dari berdirinya apartemen Kecamatan Lowokwaru Kota Malang. Perlakuan C adalah penempatan keramba 100 m dari berdirinya apartemen Kecamatan Lowokwaru Kota Malang. Untuk lebih jelasnya denah DAS Brantas dapat dilihat pada Lampiran 2.

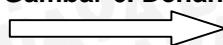
Tabel 1. Rancangan Penelitian

| Perlakuan | Kelompok | | | Jumlah | Rerata |
|-----------|----------|------|------|--------|--------------------|
| | I | II | III | | |
| A | A1 | A2 | A3 | TP 1 | |
| B | B1 | B2 | B3 | TP 2 | |
| C | C1 | C2 | C3 | TP 3 | |
| Total | TK 1 | TK 2 | TK 3 | T ij | (\bar{y}_{ij}) |
| | 50 m | 50 m | 50 m | | |



Gambar 6. Denah Percobaan

Keterangan:



- A : Keramba 1 dengan jarak 50 m sebelum apartemen kecamatan Lowokwaru kota Malang
 B : Keramba 2 dengan jarak 50 m setelah apartemen kecamatan Lowokwaru kota Malang
 C : Keramba 3 dengan jarak 100 m setelah apartemen kecamatan Lowokwaru kota Malang

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Wadah

Wadah yang digunakan untuk pemeliharaan ikan pada penelitian ini adalah karamba dengan ukuran 1,5 x 0,8 x 0,5 m dan disekat menjadi 3 (tiga) bagian pada setiap perlakuan. Karamba yang digunakan dibuat dari bambu. Sebelum diisi ikan karamba didiamkan dialiran sungai selama 7 hari untuk menetralkan bau kayu dari karamba tersebut.

3.3.2 Persiapan Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan mas (*Cyprinus carpio* L) yang dibeli dari Balai Benih Ikan (BBI) Punten, Kota Batu. Ikan mas yang digunakan adalah ikan mas yang sehat sebanyak 300 ekor dengan ukuran 13 – 15 cm, bobot 50 – 80 gr lalu dibagi masing–masing 30 ekor dalam tiap karamba.

Selama pemeliharaan ikan diberi pakan pellet 2 mm (*Crude protein* min 30%) secara *adlibitum* pada pagi hari. Dalam satu minggu sekali, keramba dibersihkan dari pasir dan lumut yang menempel agar tidak menghambat pertumbuhan ikan. Disamping itu, di cek kesehatan ikan secara visual dan di hitung jumlah ikan tiap keramba. Setelah 30 hari pemeliharaan, ikan di panen dengan cara mengangkat ikan dengan menggunakan *scoopnet*. Ikan yang telah di panen selanjutnya di letakkan di dalam wadah plastik yang selanjutnya dipindahkan kedalam akuarium yang telah disiapkan sebelumnya di laboratorium.

3.3.3 Pengambilan Darah

Darah di ambil dari pembuluh darah bagian caudal. Sebelum disuntik ikan di bius terlebih dahulu menggunakan minyak cengkeh. Ikan di suntik dari bagian tengah tubuh di belakang sirip anal jarum menyentuh bagian belakang. Darah di hisap secara perlahan sejumlah yang dibutuhkan. Jarum *syringe* di lepas dan darah dipindahkan dalam *tube* (Bijanti, 2005).

3.3.3.1 Perhitungan Kadar Haematokrit

Ikan di buat tidak sadar dengan cara tusukkan sonde pada kepala bagian atas secara horizontal yang dapat di lihat pada Lampiran 3. Timbang ikan dengan menggunakan neraca, ambil sampel darah ikan pada bagian caudal, tampung darah yang keluar menggunakan tube, hisap dengan pipa kapiler sampai $\frac{3}{4}$ bagian, jangan ada gelembung gas pada pipa kapiler. Putar pipa kapiler yang berisi darah berulang-ulang, tutup salah satu bagian pipa kapiler menggunakan wax. Sentrifugasi pipa kapiler 12000 rpm selama 4-5 menit. Sesuaikan tinggi sel darah merah pada pipa kapiler dengan hematocrit *reading chart* (Bijanti, 2005). Untuk lebih jelasnya dapat di lihat pada Lampiran 3.

3.3.3.2 Perhitungan Kadar Trombosit

Trombosit di hitung dengan menggunakan metode fase kontras, diawali pengenceran darah dengan larutan ammonium oksalat 1% sehingga semua eritrosit di hemolisis. Sel trombosit dihitug dengan menggunakan kamar hitung standar dan mikroskop fase kontras. Adapun skema perhitungan kadar trombosit dapat di lihat pada Lampiran 4. Sel-sel leukosit dan trombosit tampak bersinar dengan latar belakang gelap. Trombosit terlihat bulat atau bulat telur dan berwarna biru muda/lila terang. Bila fokus dinaik-turunkan tampak perubahan yang bagus/kontras, mudah dibedakan dengan kotoran karena sifat refraktilnya. Kesalahan dengan metode ini sebesar 8 – 10% (Siswanto,2009).

Menurut Anonymous (2010^d) perhitungan trombosit diawali dengan pengambilan darah pada evendorf dengan pipet eritrosit sampai tanda 0,5 dan diencerkan dengan larutan pengencer sampai tanda 101 (pengenceran 200x), lalu dikocok selama 3 - 5 menit. Perhitungan trombosit dihitug dalam waktu 30 menit, agar tidak terjadi disintegrasi sel-sel trombosit. Kemudian cawan petri bagian dalam disiapkan, dasar dan tutupnya ditempli kapas berukuran sama

yang sebelumnya telah dibasahi air. Darah didalam pipet dibuang 4 tetes pertama dan tetesan ke lima diisikan ke dalam bilik hitung. Selanjutnya bilik hitung dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah dipersiapkan, biarkan selama 15 menit , agar trombosit mengendap dan tidak terjadi penguapan. Bilik hitung diletakkan di bawah mikroskop dengan perbesaran 100X obyektif dan perbesaran 40 x. Trombosit akan tampak refraktif dan mengkilat berwarna biru muda / nila, lebih kecil dari eritrosit serta bentuk bulat, lonjong atau tersebar atau bergerombol.

3.3.4 Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan seminggu sekali pada saat pagi hari. Adapun parameter yang diukur yaitu:

a. Suhu

Pada pengukuran suhu ini, alat yang digunakan adalah termometer. Termometer di masukkan kedalam sungai sekitar 10 cm, dimana ujung thermometer di ikat dengan tali dijadikan pegangan agar suhu termometer tidak terkontaminasi oleh suhu tubuh. Tunggu selama 2-3 menit sampai air raksa atau alkohol tidak bergerak lagi. Suhu dapat di baca dalam satuan $^{\circ}\text{C}$.

b. Oksigen Terlarut

Air sampel sungai diambil dengan menggunakan botol film, selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium. Oksigen terlarut di ukur menggunakan alat DO meter. Sebelumnya DO meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan akuades, lalu pen pada DO meter dicelupkan ke dalam air sampel, diamati angka yang tertera pada layar DO meter.

c. pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan kertas lakmus yang dicelupkan langsung di perairan Sungai Brantas selama 2 menit, lalu dibiarkan

setengah kering dengan cara diangin-anginkan. Selanjutnya di setarakan dengan kotak standar pH.

3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama dari penelitian yang dilakukan adalah persentase hematokrit dan total trombosit pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). Perhitungan kadar hematokrit dengan menggunakan haemocytometer, sedangkan perhitungan trombosit menggunakan kamar hitung eritrosit. Adapun perhitungan jumlah trombosit dapat menggunakan rumus berikut :

$$\text{Jumlah trombosit} = \frac{\text{Rata-rata jumlah trombosit tiap kotak} \times \text{pengenceran}}{\text{volume kotak trombosit (kotak kecil)}}$$

3.4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati adalah kualitas air yang meliputi suhu, oksigen terlarut dan pH.

3.5 Analisa Data

Hasil yang didapatkan berupa data deskriptif, yang setelah dilakukan perhitungan kadar hematokrit dan trombosit dimasukkan ke dalam tabel hasil (*Denny table*) yang disajikan pada Lampiran 5. Data di analisa menggunakan sidik keragaman sesuai dengan rancangan yang digunakan (RAK). Untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang di ukur dilakukan Analisis Sidik Ragam (Uji F). Apabila dari sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh beda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).