

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah jenis plankton yang teridentifikasi pada kolam pemeliharaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) serta kualitas air yang akan dianalisis meliputi parameter fisika, kimia, dan biologi. Parameter fisika meliputi suhu dan kecerahan, parameter kimia meliputi pH, *Dissolved Oxygen* (DO), karbondioksida (CO_2), nitrat (NO_3), orthofosfat (PO_4), dan *Total Organic Matter* (TOM), serta parameter biologi yaitu plankton (fitoplankton dan zooplankton).

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Lampiran 2.

3.3 Metode Pengambilan Data

Metode pengambilan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dengan teknik *surveillance*. Menurut Suryabrata (1980), metode deskriptif bertujuan untuk membuat penggambaran sistematis, nyata dan akurat mengenai fakta-fakta dan sifat-sifat populasi atau daerah tertentu. Menurut Prajitno (2008), *surveillance* merupakan kegiatan yang secara sistematis mengumpulkan, menganalisis dan menyebarkan informasi untuk mendukung pernyataan bahwa suatu populasi bebas dan infeksi atau penyakit atau juga dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan penyakit yang bertujuan untuk pengendalian. Pada penelitian ini, metode deskriptif mencakup penjabaran mengenai kondisi lingkungan kolam budidaya, kualitas air di kolam budidaya dan kondisi ikan nila yang di budidayakan. Teknik *surveillance* digunakan pada penelitian ini berdasarkan atas Keputusan Kepala Badan Karantina Ikan,

Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan No. 367/KEP-BKIPM/2014 tentang petunjuk teknis surveilan hama dan penyakit ikan karantina atau hama dan penyakit ikan tertentu di unit usaha pembudidayaan ikan.

3.4 Teknik Pengumpulan Data

Menurut Sasmaya (2011), metode deskriptif adalah metode yang digunakan untuk memperoleh data yang ada saat penelitian dilakukan dan bertujuan untuk menjelaskan pembahasan dari permasalahan dalam penelitian. Teknik pengumpulan data merupakan salah satu rangkaian penelitian yang sangat dibutuhkan dalam mendukung suatu penelitian. Adapun sumber data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu data primer dan data sekunder.

3.4.1 Data Primer

Data primer dapat diperoleh melalui observasi atau pengamatan dan melakukan wawancara kepada pihak terkait. Berdasarkan pendapat Mulyanto (2008), bahwa data primer didefinisikan sebagai data penelitian yang dikumpulkan langsung dari sumber asli (pertama) oleh peneliti di lapangan tanpa melalui perantara. Black dan Champion (1999), berpendapat bahwa observasi adalah kegiatan mengamati dan melihat perilaku seseorang selama beberapa waktu tanpa melakukan, memanipulasi atau pengendalian, serta mencatat penemuan yang memungkinkan atau memenuhi syarat untuk digunakan kedalam tingkat penafsiran analisis. Wawancara adalah suatu kegiatan komunikasi verbal dengan tujuan mendapatkan informasi. Selain itu dengan wawancara akan mendapatkan gambaran yang menyeluruh dan mendapatkan informasi yang penting. Pengambilan data primer dalam penelitian ini meliputi sampel plankton untuk identifikasi, kualitas air dan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang menunjukkan gejala terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN).

3.4.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang diperoleh secara tidak langsung atau dari sumber kedua (Marzuki, 1983). Data sekunder adalah data primer yang diperoleh pihak lain (telah diolah) dan disajikan baik oleh pengumpul maupun pihak lain (Mulyanto, 2008). Data sekunder yang diambil terdiri dari segala informasi yang berhubungan dengan penelitian tentang identifikasi plankton dan kualitas air pada kolam pemeliharaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi VNN. Informasi tersebut diperoleh dari laporan penelitian, jurnal, buku, situs internet serta kepustakaan yang dapat dijadikan sebagai pustaka untuk menunjang hasil penelitian.

3.5 Metode Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel pada penelitian ini meliputi sampel kualitas air (parameter fisika, kimia dan biologi) dan sampel ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Pengambilan sampel dilakukan di desa Krakal kecamatan Wlingi kabupaten Blitar, Jawa Timur. Berikut merupakan metode pengambilan sampel dalam penelitian ini.

3.5.1 Pengambilan Sampel Kualitas Air

Pengambilan sampel kualitas air dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada kolam pemeliharaan ikan nila. Parameter kualitas air yang dianalisis meliputi parameter fisika, kimia dan biologi. Pengambilan sampel air dilakukan dengan menggunakan botol DO dan botol air mineral 600 ml yang dicelupkan secara langsung kedalam kolam. Selanjutnya sampel air dibawa ke laboratorium dan kemudian dilakukan analisis kualitas air.

3.5.2 Pengambilan Sampel Plankton

Pengambilan sampel plankton dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada kolam pemeliharaan ikan nila. Pengambilan sampel plankton dilakukan dengan menyaring sebanyak 25 liter air kolam menggunakan plankton net no. 25. Kemudian sampel plankton yang tersaring ditambahkan larutan lugol sebanyak 3 tetes. Selanjutnya sampel plankton dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi menggunakan mikroskop tipe Olympus BX53 dan *Scaning Electron Microscope* (SEM). Adapun buku yang digunakan untuk identifikasi plankton yaitu Davis dan Prescott.

3.5.3 Pengambilan Sampel Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Pengambilan sampel ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada kolam pemeliharaan ikan nila. Sampel ikan nila yang diambil merupakan ikan nila yang mempunyai gejala-gejala yang menunjukkan adanya infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Kemudian sampel ikan nila yang diperoleh dibawa ke laboratorium untuk deteksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dengan analisis *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

3.6 Prosedur Analisis Kualitas Air

Adapun parameter kualitas air yang dianalisis pada penelitian ini antara lain : parameter fisika, kimia, dan biologi serta kualitas tanah. Parameter fisika yang diukur yaitu suhu dan kecerahan. Parameter kimia yang diukur yaitu pH, nitrat (NO₃), orthofosfat (PO₄), karbondioksida (CO₂), oksigen terlarut (DO), dan *Total Organic Matter* (TOM). Sedangkan parameter biologi yang diukur yaitu plankton baik fitoplankton maupun zooplankton.

3.6.1 Parameter Fisika

Adapun prosedur pengukuran parameter fisika dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

a. Suhu

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran suhu menggunakan Termometer Hg adalah sebagai berikut:

- Memasukkan termometer Hg kedalam perairan dengan membelakangi matahari, dan ditunggu beberapa saat sampai air raksa dalam termometer berhenti pada skala tertentu.
- Mencatat dalam skala °C.
- Membaca skala pada saat termometer telah diangkat dari air dan jangan sampai tangan menyentuh bagian air raksa termometer.

b. Kecerahan

Menurut Bloom (1998), pengukuran kecerahan pada kolom perairan dapat menggunakan alat bantu berupa *secchi disc*. Adapun metode pengukurannya yaitu:

- Memasukkan atau menurunkan *secchi disc* secara perlahan ke dalam air hingga batas kelihatan atau batas tampak pertama kali dan dicatat kedalamannya (D1).
- Menarik pelan-pelan *secchi disc* sampai nampak pertama kali dan dicatat kedalamannya (D2).
- Memasukkan data ke dalam rumus berikut:

$$\text{Kecerahan (cm)} = \frac{D1+D2}{2}$$

3.6.2 Parameter Kimia

Adapun prosedur pengukuran parameter kimia dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

a. pH

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran pH dengan menggunakan pH meter adalah sebagai berikut:

- Melakukan kalibrasi pH meter dengan menggunakan larutan buffer atau aquadest.
- Memasukan pH meter kedalam air sampel selama 2 menit.
- Menekan tombol "HOLD" pada pH meter untuk menghentikan angka yang muncul pada pH meter.

b. Oksigen Terlarut

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran oksigen terlarut atau *dissolved oxygen* (DO) adalah sebagai berikut:

- Mengukur dan mencatat volume botol DO yang akan digunakan.
- Memasukkan botol DO ke dalam air secara perlahan-lahan dengan posisi miring dan diusahakan jangan sampai ada gelembung udara.
- Menambahkan $MnSO_4$ 2 ml, NaOH + KI 2 ml lalu bolak – balikkan botolnya sampai homogen.
- Mengendapkan dan didiamkan selama kurang lebih 30 menit sampai terjadi endapan coklat.
- Membuang air yang bening di atas endapan, dan menambahkan 1-2 ml H_2SO_4 dan mengkocok sampai endapan larut.
- Menambahkan 3-4 tetes amylum, diaduk dan dititrasikan dengan Na-thiosulfat 0,025 N sampai jernih.
- Mencatat volume titran.

- Mengukur kadar oksigen terlarut
- Menghitung kadar oksigen terlarut dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{DO (mg/l)} = \frac{v(\text{titran}) \times N(\text{titran}) \times 8 \times 1000}{V \text{ botol DO} - 4}$$

Keterangan :

- V (titran) = ml larutan Natrium Thiosulfat untuk titrasi (ml)
- N (titran) = Normalitas larutan Natrium thiosulfat
- V botol DO = Volume botol DO (ml)

c. Karbondioksida (CO₂)

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran karbondioksida adalah sebagai berikut:

- Masukkan 25 ml air contoh ke dalam erlenmeyer, kemudian tambahkan 1-2 tetes indikator pp.
- Apabila air berwarna merah muda (*pink*) berarti air tersebut tidak mengandung CO₂ bebas.
- Apabila air tetap tidak berwarna, segera mentitrasi dengan Na₂CO₃ 0,0454 N sampai warna menjadi merah muda (*pink*) pertama kali dan menghitung dengan rumus:

$$\text{CO}_2 \text{ bebas (mg/l)} = \frac{v(\text{titran}) \times N(\text{titran}) \times 22 \times 1000}{\text{ml air sampel}}$$

Keterangan :

- v = ml larutan Na₂CO₃ untuk titrasi
- N = Normalitas larutan Na₂CO₃

d. Nitrat (NO₃)

Menurut APHA (1992), prosedur analisis nitrat (NO₃) pada perairan di lokasi penelitian adalah sebagai berikut:

- Menyaring 25 ml sampel dan tuangkan ke dalam cawan porselin.

- Memanaskan cawan berisi sampel sampai kering dengan hati - hati dan didinginkan setelah terbentuk kerak.
- Menambahkan 1 ml asam fenol disulfonik, aduk dengan spatula.
- Mengencerkan dengan 10 ml aquadest.
- Menambahkan dengan meneteskan NH_4OH (1:1) sampai terbentuk warna.
- Mengencerkan dengan aquadest sampai 25 ml. Kemudian masukkan dalam cuvet.
- Membandingkan dengan larutan standar pembanding yang telah dibuat, baik secara visual atau dengan spektrofotometer (pada panjang gelombang 410 μm).

e. Orthofosfat (PO_4)

Menurut Hariyadi *et al.*, (1992), prosedur pengukuran orthofosfat adalah sebagai berikut :

- Menuangkan 12,5 ml air sampel ke dalam erlenmeyer 25 ml
- Menambahkan 0,5 ml ammonium molybdate dan kocok
- Menambahkan 1 tetes larutan SnCl_2 dan kocok
- Membandingkan warna biru sampel dengan larutan standar, baik secara visual atau dengan spektrofotometer (panjang gelombang 690 μm)

f. Total Organic Matter (TOM)

Menurut Hariyadi *et al.*, (1992) prosedur pengukuran *Total Organic Matter* (TOM) di adalah sebagai berikut :

- Mengambil sebanya 50 ml air sampel.
- Memasukkan air sampel ke dalam erlenmeyer 250 ml.
- Menambahkan 10 ml H_2SO_4 (1:4).
- Memanaskan sampel dalam pemanas air sampai suhu mencapai 70-80°C kemudian angkat.

- Apabila suhu telah turun menjadi 60-70°C, langsung menambahkan Na-oxalate 0,01 N perlahan sampai tidak berwarna.
- Mentitrasi dengan KmnO_4 0,01 N sampai terbentuk warna (merah jambu/pink). Catatlah sebagai ml titran (x ml).
- Mengambil 50 ml aquadest dengan pipet volume dan melakukan prosedur (1-6). Kemudian mencatat titran yang digunakan sebagai (y ml) serta menghitung kadar TOM perairan dengan menggunakan rumus :

$$\text{TOM (mg/l)} = \frac{(x - y) \times 31,6 \times 0,01 \times 1000}{\text{ml air sampel}}$$

Keterangan :

- x = ml titran untuk air sampel
- y = ml titran untuk aquadest
- 31,6 = 1/5 dari BM KMnO_4
- 0,01 = N KMnO_4

3.6.3 Parameter Biologi

Adapun prosedur pengukuran parameter biologi dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

a. Pengambilan Sampel Plankton

Menurut Tangen (1978) bahwa dalam proses pengambilan sampel plankton, dilakukan dengan menggunakan planktonet karena mampu menyaring air dan organisme dalam jumlah yang besar. Penetapan sampling secara sederhana yaitu jaring standart dengan susunan tali yang rapat sampai bagian ujung. Menurut Fournier (1978), tahapan pengambilan sampel plankton dengan penyaringan menggunakan plankton net yaitu :

- Mengumpulkan sampel air sebanyak 25 liter dari kolam.
- Menggunakan ember 5 liter dan mengambil air dari setiap titik air kolam.
- Menyaring air menggunakan planktonet yang telah dilengkapi botol pada ujung plankton netnya.

- Menambahkan 3 tetes larutan lugol kedalam sampel.

b. Identifikasi Plankton

Tahapan selanjutnya setelah sampel plankton diperoleh, maka dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop. Mikroskop yang dapat digunakan untuk pengamatan plankton yaitu menggunakan mikroskop cahaya (*light microscope*). Adapula mikroskop lensa okuler ganda (*binocular*) dengan pembesaran 100 sampai 1000 kali yang mampu menunjang proses identifikasi plankton dalam perairan. Beberapa mikroskop dilengkapi dengan fasilitas kamera sehingga mampu dilihat secara otomatis dengan layar (Nontji, 2008).

Menurut APHA (2005), Prosedur pengamatan plankton menggunakan mikroskop yaitu sebagai berikut :

- Menyiapkan alat dan sampel plankton yang telah diperoleh.
- Mengkalibrasi *cover glass* dan objek glass dengan menggunakan aquadest.
- Menyiapkan pipet tetes dan mengambil sampel plankton pada bagian dasar tabung falcon.
- Meneteskan 1-2 tetes sampel ke objek glass yang telah dikalibrasi.
- Menutup objek glass menggunakan *cover glass* dengan kemiringan 45° untuk menghindari adanya gelembung dan preparatpun siap digunakan.
- Menyalakan tombol ON pada mikroskop.
- Meletakkan preparat pada meja objek.
- mengidentifikasi plankton pada preparat

c. Kelimpahan Relatif Plankton

Menurut Handayani (2009), adapun perhitungan kelimpahan relatif dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$KR = \frac{n_i}{N} \times 100\%$$

Keterangan :

- KR = Kelimpahan relatif
- ni = Jumlah individu ke-i
- N = Jumlah total individu

d. Kelimpahan Plankton

Menurut APHA (2005), kelimpahan fitoplankton dalam perairan dapat dihitung menggunakan metode *Lackey Drop Microtransect Counting* dengan rumus sebagai berikut :

$$N = \frac{T \times V}{L \times v \times p \times W} \times n$$

Keterangan:

- N = Kelimpahan plankton (ind/ liter)
- n = Jumlah plankton pada setiap lapang pandang
- T = Luas *cover glass* (20 x 20 mm)
- L = Luas satu lapang pandang (πr^2 mm²)
- V = Volume botol film (ml)
- v = Volume 1 tetes air sampel (ml)
- p = Jumlah lapang pandang
- W = Volume air yang disaring oleh plankton net (L)

e. Indeks Keanekaragaman (H')

Indeks Keanekaragaman adalah indeks yang menunjukkan tingkat keanekaragaman jenis organisme yang ada dalam suatu komunitas. Perhitungan indeks keanekaragaman dengan menggunakan persamaan indeks Shannon-Weaver sebagai berikut (Sournia, 1978). Berikut merupakan rumus indeks keanekaragaman Shannon-Wiener :

$$H' = - \sum_{i=1}^s pi \log_2 pi \quad \longrightarrow \quad pi = \frac{ni}{N}$$

Keterangan :

- H' = indeks keanekaragaman
- ni = jumlah individu dari jumlah ke-i
- N = jumlah total individu
- s = jumlah spesies dalam sampel



Menurut Utami (2001), bahwa terdapat kriteria indeks keanekaragaman yang dibagi menjadi 3 kategori yaitu :

- $H' < 1$ = Keanekaragaman jenis rendah
- $1 < H' < 3$ = Keanekaragaman jenis sedang
- $H' > 3$ = Keanekaragaman jenis tinggi

f. Indeks Dominasi

Menurut Basmi (2005), menjelaskan bahwa untuk mengetahui kekayaan dan kestabilan plankton dilakukan analisis kuantitatif indeks biologi plankton meliputi perhitungan keragaman, keseragaman, dan dominasi. Berikut perhitungan indeks dominasi adalah sebagai berikut :

$$D = \sum (pi)^2$$

Keterangan :

- D = indeks dominasi
- Pi = kelimpahan relatif

Menurut Utami (2001), bahwa dalam penilaian indeks dominasi ada dua kriteria. Adapun kriteria nilai indeks dominasi yaitu apabila nilai indeks dominasi $0 < D < 1,15$ maka tidak terdapat jenis plankton yang mendominasi. Sedangkan apabila nilai indeks dominasi $1,15 < D < 2,30$ maka dalam suatu perairan terdapat jenis plankton yang mendominasi.