

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis, Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental yang telah dilaksanakan pada bulan Agustus hingga September 2022. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Perairan (BDP), Program Studi Ilmu Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.

3.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu akuarium berukuran $30 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$ sebanyak 2 unit (wadah pemeliharaan induk), ukuran $100 \times 50 \times 25 \text{ cm}^3$ sebanyak 1 unit (wadah kontrol suhu air pemijahan), plastik (*thinwall*) berukuran $20 \times 15 \times 10 \text{ cm}^3$ sebanyak 12 unit (wadah pemijahan induk), dan gelas plastik berukuran 300 ml sebanyak 120 unit (wadah inkubasi telur). Alat ukur kualitas air yaitu DO meter, pH meter, dan termometer digital. Alat pembuatan pakan, koleksi data, serta pemeliharaan yaitu mikroskop, *sprayer*, unit sistem aerasi, saringan dengan diameter 10 cm, selang air, pompa filter, alat tulis, papan jalan, ember berukuran 5 L, laptop, kamera, tali plastik (rafia), kertas label. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah induk ikan *Oryzias woworae* (F2) sebanyak 24 ekor hasil budidaya di Lab. BDP Untirta, satu wadah penelitian berisi 1 jantan dan 1 betina. Tepung *C. vulgaris*, pakan komersil yaitu Feng Li 1, garam ikan, larutan *methylene blue* dan air tawar.

3.3 Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan perbedaan dosis penambahan tepung *C. vulgaris*. Pada penelitian ini dosis penambahan tepung *C. vulgaris* masing-masing pakan uji yaitu 0% (perlakuan A), 5% (perlakuan B), 10% (perlakuan C) dan 20% (perlakuan D). Tiap

perlakuan diulang sebanyak tiga kali, sehingga terdapat 12-unit satuan percobaan.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Wadah dan Substrat

Wadah-wadah yang digunakan dalam penelitian ini dicuci terlebih dahulu dan direndam dengan *methylene blue* untuk pencegahan tumbuhnya patogen pada wadah. Dosis *methylene blue* sesuai dengan dosis anjuran yang tertera pada produk. Perendaman dilakukan selama satu hari kemudian dibilas dengan air bersih. Pencucian ini dilakukan sehari sebelum wadah digunakan karena wadah harus dikeringkan terlebih dahulu sebelum digunakan. Wadah kemudian diisi air dan ditambahkan *methylene blue* untuk menghindarkan tumbuhnya jamur (Agatha *et al.* 2021). Parameter kualitas air seperti suhu, pH, *dissolved oxygen* (DO) dan ammonia di media pemeliharaan tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Kualitas air

Parameter	Media Pemijahan			
	A	B	C	D
Suhu (°C)	26,7	26,5	26,5	26,8
pH	8,84	8,87	8,97	8,83
DO (mg/L)	5,50	5,20	5,00	5,80
Ammonia (mg/L)	0,25	0,25	0,25	0,25

Keterangan : A (kontrol), B (penambahan tepung *C. vulgaris* 5%), C (penambahan tepung *C. vulgaris* 10%), D (penambahan tepung *C. vulgaris* 20%)

Substrat pemijahan terbuat dari tali rafia yang dipotong dengan panjang 6 - 8 cm (Nafiyanti *et al.* 2021). Pembuatan substrat dengan cara mengikat satu sisi kemudian sobek sisi lainnya hingga ujung yang terikat agar menjadi helaian yang lebih halus, sehingga menyerupai akar di alam. Setelah dihaluskan, 5 buah substrat diikat menjadi satu (Gambar 2). Penggunaan bahan ini mengacu pada Herjayanto *et al.* (2016) karena substrat dengan bahan tali rafia cukup efisien, bisa digunakan berulang kali, mudah dibersihkan dan tidak mengotori wadah pemijahan.



Gambar 2. Substrat pemijahan

3.4.2 Pembuatan Pakan Uji

Pakan uji yang digunakan merupakan pakan komersial (Feng Li 1) dengan kandungan protein 40 – 50% yang dicampur dengan tepung *C. vulgaris* sesuai perlakuan yang didapatkan secara komersial dengan harga Rp. 1000 per gram. Proses pembuatan pakan uji menggunakan metode *coating* mengacu pada Febriani *et al.* (2013) yang telah dimodifikasi yaitu pakan uji akan dilapisi tepung *C. vulgaris* sesuai dengan perlakuan. Setiap 100 g pakan komersial ditambahkan tepung *C. vulgaris* sesuai dengan perlakuan. Tepung *C. vulgaris* dicampur dengan 1 g putih telur, 0,2 g kuning telur dan 250 ml air, lalu diaduk sampai homogen. Selanjutnya, disemprotkan pada pakan uji hingga merata. Pakan dikeringkan dengan cara dioven selama 6 jam dengan suhu 60°C. Setelah kering pakan disimpan dalam botol tertutup dan diletakan pada suhu ruang. Pakan uji yang telah dibuat kemudian dianalisis nutriennya dengan menggunakan metode AOAC (2012). Hasil proksimat pakan uji tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil proksimat pakan uji

Parameter	Kadar (%)			
	A	B	C	D
Kadar Air	7,22	5,74	7,05	5,87
Kadar Abu	10,54	10,35	10,16	9,87
Lemak	7,60	8,14	7,61	6,27
Protein	38,59	41,80	42,25	42,58
Serat Kasar	1,12	1,32	1,33	0,71

Keterangan : A (kontrol), B (penambahan tepung *C. vulgaris* 5%), C (penambahan tepung *C. vulgaris* 10%), D (penambahan tepung *C. vulgaris* 20%)

3.4.3 Seleksi dan Pemijahan Induk

Induk yang digunakan dalam penelitian ini merupakan induk yang telah matang gonad dan telah lulus seleksi secara dimorfisme (ukuran dan warna) dan dikromatisme. Menurut Agatha *et al.* (2021) induk *O. woworae* jantan memiliki ciri dimorfisme perak kebiruan yang menyala serta sirip dada merah terang dan pada pagi hari cenderung menghitam, sedangkan pada betina warna tidak begitu mencolok dan secara dikromatisme perut ikan membuncit. Menurut Nafiyanti *et al.* (2021) ikan jantan memiliki ukuran tubuh lebih besar dan baik jantan maupun betina akan bergerak aktif saat matang gonad.

Setelah melewati tahap seleksi, ikan jantan dan betina dimasukkan ke dalam akuarium pemeliharaan induk yang berbeda dengan padat tebar 12 ekor per wadah. Pemisahan induk jantan dan betina dilakukan untuk menjaga performa ikan dan telur agar tetap baik. Selama pemeliharaan, ikan diberikan pakan dengan metode *at satiation* atau sampai kenyang (Herjayanto *et al.* 2017) dengan frekuensi pemberian pakan sebanyak 3 kali sehari yaitu pagi jam 07.00, siang jam 12.00 dan sore hari jam 18.00. Pakan yang diberikan berupa pakan komersil sesuai perlakuan. Penyiponan dilakukan setiap hari untuk menjaga kualitas air agar tetap baik (Agatha *et al.* 2021). Tahapan pemeliharaan induk dilakukan selama 14 hari.

Ikan kemudian dipindahkan ke dalam wadah pemijahan berupa wadah dengan rasio 1 jantan : 1 betina. Pemberian pakan untuk induk selama pemijahan dilakukan sebanyak 3 kali sehari dengan metode *at satiation* (Herjayanto *et al.* 2017). Pakan yang diberikan berupa pakan masing-masing perlakuan. Penyiponan dilakukan setiap pagi hari sebelum pemberian pakan. Ikan yang telah dipasangkan dapat memijah pada hari pertama (Firmansyah *et al.* 2021a). Proses pemijahan induk dilakukan selama 10 hari. Adapun parameter data yang diamati pada tahap ini adalah jumlah telur, dan kualitas air pada awal, tengah dan akhir pemijahan. Penyiponan dan pergantian air dilakukan setiap hari sekali sebanyak 25% dari total air dalam wadah pemijahan.

3.4.4 Inkubasi Telur dan Pemeliharaan Larva

Telur hasil koleksi dari wadah pemijahan dipindahkan ke dalam wadah

penetasan. Proses ini dilakukan dengan teliti dan hati-hati agar tidak terjadi kerusakan pada telur. Wadah penetasan berisi air dengan penambahan tetesan *methylene blue* untuk mencegah terjadinya infeksi jamur pada telur yang dapat mempengaruhi kinerja penetasan telur. Selanjutnya telur diinkubasi selama 10 hari atau sampai menetas. Pada tahap ini parameter data yang diamati adalah volume kuning telur dan tingkat penetasan telur. Larva dipelihara selama 3 hari tanpa pemberian pakan. Pada akhir pemeliharaan dilakukan pengamatan sintasan larva.

3.5 Parameter Penelitian

3.5.1 Jumlah Telur

Jumlah telur yang keluar dari ovarium yang dihasilkan induk selama proses pemijahan dihitung dengan menjumlahkan setiap telur yang dihasilkan induk (Herjayanto *et al.* 2016).

Jumlah Telur (butir) = \sum Telur yang dikeluarkan induk betina

3.5.2 Morfometri Telur

Morfometri telur yang diamati pada penelitian ini adalah morfologi telur, diameter telur, dan volume kuning telur. Pengamatan morfologi telur berkaitan dengan perkembangan telur yang didokumentasikan tiap hari sampai menetas. Pengamatan perkembangan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10 kali. Diameter telur diukur menggunakan aplikasi ImageJ. Volume kuning telur dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Nacario 1983):

$$V = \pi/6 \times L \times H$$

Keterangan:

V = volume kuning telur (mm³)

L = diameter panjang kuning telur (mm)

H = diameter lebar kuning telur (mm)

3.5.3 Tingkat Penetasan Telur

Penentuan tingkat penetasan telur yang diperlukan adalah jumlah telur yang menetas pada masing-masing perlakuan dan dinyatakan dalam persen (%). Tingkat penetasan telur (*hatching rate*) dapat dihitung menggunakan rumus (Sinjal, 2014):

$$HR(\%) = \frac{\text{Jumlah telur menetas}}{\text{Jumlah telur total}} \times 100$$

3.5.4 Sintasan dan Jumlah Larva

Pengamatan parameter sintasan larva dilakukan untuk mengetahui tingkat kelangsungan hidup larva yang diamati sampai berumur 3 hari. Menurut Effendi (1997), kelangsungan hidup larva dihitung dengan menggunakan rumus:

$$S (\%) = \frac{N_t}{N_0} \times 100$$

Keterangan:

S = Sintasan (%)

N₀ = Jumlah ikan yang hidup pada awal periode (ekor)

N_t = Jumlah ikan yang hidup pada akhir periode (ekor)

Jumlah Larva yang menetas dari telur yang dihasilkan induk selama proses pemijahan dan melalui proses inkubasi telur. Jumlah larva dihitung dengan menjumlahkan setiap larva yang berhasil menetas (Herjayanto *et al.* 2016).

Jumlah larva (ekor) = \sum larva yang menetas dari telur

3.5.5 Pertumbuhan Bobot Mutlak Ikan

Pertumbuhan bobot mutlak didapatkan dengan menimbang bobot induk ikan satu persatu secara keseluruhan baik jantan dan betina pada awal dan akhir pemijahan.

3.6 Analisis Data

Parameter jumlah telur, diameter telur, volume kuning telur, tingkat

penetasan telur, sintasan larva, total larva, bobot mutlak dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) pada selang kepercayaan 95%. Apabila data berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Morfologi telur, morfometri telur, rata rata larva menetas, morfologi larva dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk gambar.