

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2017 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Basah Program Studi Budidaya Perikanan Universitas Muhammadiyah Gresik.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan yang digunakan

Ikan yang digunakan adalah ikan nila yang diperoleh dari Desa Karangrejo, berukuran bobot 10 – 11gr sebanyak 120 ekor. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih yang diperoleh dari Desa Karangrejo, pakan pellet pabrik, EDTA 10% (antikoagulan), Hayem (mengencerkan darah, membuat eritrosit terlihat jelas sedangkan leukosit dan trombosit tidak terlihat), Minyak cengkeh (bahan bius), *Turk* (berfungsi untuk mengencerkan darah, melisiskan sel darah selain leukosit sehingga memudahkan perhitungan), etanol 95%, giemsa (untuk mewarnai darah sehingga mudah dibedakan dan dapat terlihat jelas saat diamati. Waktu perendaman ini sebaiknya jangan terlalu lama karena darah bisa tidak terlihat akibat pewarnaan yang terlalu pekat), aquades, alkohol dan *methilen blue*.

3.2.2 Alat yang digunakan

Alat yang digunakan selama penelitian pengaruh pemberian bubuk daun sirih (*Piper betle*) terhadap laju pertumbuhan, *eritrosit* dan *leukosit* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dapat dilihat pada tabel

Tabel 2. Alat dan fungsi yang digunakan selama penelitian.

Alat	Fungsi
Timbangan Analitik	Untuk mengukur berat bahan yang akan digunakan.
Tabung <i>Eppendorf</i>	Untuk menyimpan larutan-larutan yang mudah rusak apabila terkena cahaya, dan memisahkan komponen-komponen zat atau

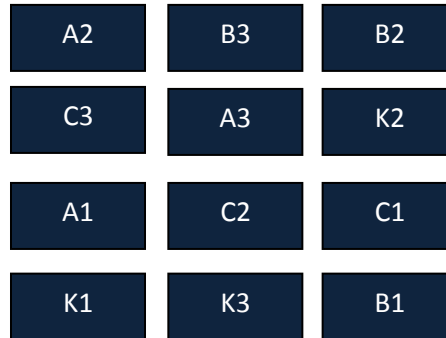
	bahan berdasarkan perbedaan massa zat. Dgn ukuran 1,5 ml.
<i>Hemocytometer</i>	Untuk melakukan pemeriksaan perhitungan sel darah
Mikroskop	Untuk mengamati gambaran darah.
Jarum Suntik	Untuk mengambil darah dari tubuh ikan. Dgn ukuran 1 ml.
Akuarium	Untuk tempat percobaan atau wadah penelitian
Alat Tulis	Untuk mencatat segala hal penting yang berkaitan dengan penelitian ini.
Selang Penyhipon	Untuk membersihkan kotoran pada akuarium.
Batu Aerator	Untuk Aerasi
Penggaris	Untuk mengukur pertumbuhan panjang ikan nila.
Saring	Untuk mendapatkan bubuk halus daun sirih
Kain lab	Untuk mengambil ikan nila yang sudah dibius.
Blender	Untuk memperhalus daun sirih menjadi bubuk

3.3 Rancangan Percobaan

Perlakuan dalam penelitian ini adalah pemberian pakan yang mengandung bubuk daun sirih pada benih ikan nila dan pada setiap perlakuan diisi 10 ekor ikan nila. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Adapun rincian perlakuan sebagai berikut:

- A: Pakan pelet 100 g + 0,3 g serbuk daun sirih
- B: Pakan pelet 100 g + 0,6 g serbuk daun sirih
- C: Pakan pelet 100 g + 0,9 g serbuk daun sirih
- K: Pakan pelet tanpa serbuk daun sirih (kontrol)

Denah *layout* penelitian yang digunakan selama penelitian pengaruh pemberian serbuk daun sirih (*Piper betle*) terhadap laju pertumbuhan, eritrosit dan leukosit pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dapat dilihat pada gambar



Gambar 5. Denah *Layout* Penelitian

Dalam penelitian Mulia dan Husin (2013) menggunakan daun sirih pada ikan patin dengan dosis terbaik 0,2 g /100 g pakan yang dapat meningkatkan sintasan.

3.4 Parameter Yang Diamati

3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah

1. Perhitungan Total Eritrosit mengacu pada Blaxhall dan Daisley (1973):

$$\text{Eritrosit} = \sum \text{Eritrosit terhitung} \times 10^4 \text{ Sel/mm}^3$$

2. Perhitungan Total Leukosit mengacu pada Blaxhall dan Daisley (1973):

$$\text{Leukosit} = \sum \text{Leukosit terhitung} \times 50 \text{ Sel/mm}^3$$

3.4.2 Parameter Pendukung

Parameter pendukung yang diamati adalah parameter kualitas air yang meliputi suhu, pH, oksigen terlarut. Suhu dan pH diamati setiap hari, sedangkan oksigen terlarut diamati setiap minggu. Suhu diukur menggunakan termometer, pH diukur menggunakan pH meter, sedangkan oksigen terlarut diukur menggunakan DO meter.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.2 Variabel Bebas

Bubuk daun sirih hijau (*Piper betle*) dengan dosis berbeda untuk meningkatkan kesehatan ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

3.5.3 Variabel Terikat

Gambaran darah ikan nila antara lain total *eritrosit* dan total *leukosit*

3.6 Tahapan Penelitian

3.6.1 Persiapan Alat dan Bahan

Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan ukuran bobot 10 ± 11 cm sebanyak 120 ekor. Ikan nila dipelihara dalam 12 akuarium dengan kepadatan 10 ekor/akuarium. Ikan nila dipelihara dalam akuarium berukuran 40x30x40 cm.

3.6.2 Persiapan Daun Sirih

Daun sirih (*Piper betle*) diperoleh dari desa Karangrejo, Kecamatan Manyar. Daun sirih dicuci bersih kemudian di jemur selama 1^{-3} hari sampai kering. Daun sirih yang sudah kering di buat serbuk dengan cara dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian diayak sehingga mendapatkan serbuk yang halus.

3.6.3 Pencampuran Pakan

Pakan diberikan secara oral dengan mencampurkan serbuk daun sirih hijau pada pakan. Sebagai perekat bubuk daun sirih dalam pakan maka digunakan putih telur. Putih telur ini berfungsi sebagai perekat sehingga tahapan pencampurannya yaitu putih telur kemudian ditambah dengan bubuk daun sirih hijau baru dikocok. Kemudian ditambahi pellet dan dikeringkan.

3.6.4 Penebaran Ikan Uji

Ikan yang dipelihara dalam kolam saat persiapan alat dan bahan. Setelah persiapan alat dan bahan telah siap maka ikan dimasukkan dalam wadah penelitian atau akuarium.

3.6.5 Pemberian Pakan

Pemberian pakan pada ikan uji dilakukan pada pagi hari jam 07.00 WIB, siang hari 12.00 WIB, dan pada malam hari 18.00 WIB

3.6.6 Pengamatan Parameter

Pengamatan gambaran darah antara lain *eritrosit*, *leukosit* dan SR (kelangsungan hidup), dilakukan 4 (empat) hari sekali. Sedangkan pengamatan kualitas air dilakukan setiap hari. Penambahan stressor dilakukan pada hari ke 42, setelah di peroleh dosis terbaik pemberian daun sirih.

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini meliputi jumlah *eritrosit* dan *leukosit* dengan menggunakan analisis sidik ragam (*Analysis of Variance / ANOVA*) dengan menggunakan program Microsoft Excel 2007 untuk mengetahui pengaruh masing-masing perlakuan. Apabila data yang telah dianalisis sidik ragam terdapat perbedaan yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Tuckey* pada taraf uji 5% .