

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Januari sampai Februari 2020 di Laboratorium Fakultas Perikanan Dharmawangsa, Jl. K.L Yos Sudarso No. 224 Medan.

3.2 Alat

Adapun alat yang digunakan selama penelitian ini adalah :

1. Akuarium
2. Ember
3. Pisau
4. Suntik

3.3 Bahan

Adapun bahan yang digunakan selama Penelitian ini adalah :

1. Ikan Mas
2. Bakteri *A. hydrophila*
3. Daun Pepaya

3.4 Metode Penelitian

Penelitian eksperimental yaitu suatu cara mencari hubungan sebab akibat (hubungan kausal) antara dua faktor yang sengaja ditimbulkan oleh peneliti dengan mengeliminasi atau mengurangi atau menyisihkan faktor- faktor lain yang mengganggu. Oleh karena itu, jelaslah bahwa penelitian eksperimental memiliki dua unsur, yaitu adanya kelompok (kontrol) dan kelompok eksperimen. Kelompok yang diberi perlakuan disebut kelompok eksperimen dan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut kelompok kontrol (Suharsimi 2010).

Adapun tujuan dari metode eksperimen menurut (Dedi Sutedi 2009) adalah untuk menguji efektifitas dan efisiensi dari suatu pendekatan, metode, teknik, atau media pengajaran dan pembelajaran, sehingga hasilnya bisa diterapkan jika memang baik atau tidak digunakan jika memang tidak baik dalam pengajaran sebenarnya.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Ikan

Penelitian ini dilakukan dengan membersihkan semua akuarium dan peralatan dengan sabun dan didisinfeksi menggunakan kaporit. Setelah itu dibilas dengan air bersih dan dijemur selama 24 jam. Setelah kering akuarium diisi air sampai ketinggian 20 cm menggunakan air tandon yang diaerasi dulu. Akuarium ditutup dengan plastik hitam dan diaerasi selama 1 hari sebelum ikan uji dimasukkan.

Ikan yang akan digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari para pembudidaya yang berukuran 15 cm. Ikan mas yang akan digunakan direndam terlebih dahulu dalam larutan garam 5ppm selama 5 menit untuk menghilangkan parasit yang menempel pada tubuh ikan. Kemudian ikan mas diadaptasikan terhadap pakan dan lingkungannya selama 3 hari sebelum dilakukan pengujian. Selama masa adaptasi, ikan diberi pakan berupa pelet dengan frekuensi 2 kali/ hari (pagi dan sore). Untuk menjaga kualitas air, dilakukan penyiponan air setiap hari.

3.5.2 Persiapan Ekstrak Daun Pepaya

Daun pepaya yang akan digunakan masih segar didapatkan dari petani. Berikut cara pembuatan ekstrak daun pepaya :

1. Daun pepaya segar, dicuci dengan air mengalir untuk memisahkan daun dari kotoran yang ada pada permukaan daun.
2. Daun ditiriskan lalu dipotong kecil- kecil sampai menjadi serbuk.
3. Lalu diblender untuk mendapatkan serbuk yang benar benar halus.
4. Serbuk yang halus dalam perbandingan 50 gr per 500 ml etanol 96% dimaerasi selama 5 jam.

3.5.3 Persiapan Bakteri

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia). Bakteri kemudian diinokulasikan pada media agar pada cawan petri. Isolat bakteri dengan kepadatan 10^5 cfu/ml diambil sebanyak 0,1 ml menggunakan mikropipet dan siap digunakan.

3.6 Perlakuan

Pada penelitian ini dilakukan *uji in vivo* dengan perlakuan pencegahan dan pengobatan serta satu kontrol, yaitu kontrol positif. Pada kontrol positif, ikan disuntik dengan bakteri *A. hydrophila* secara *intramuscular* dengan kepadatan 10^5 cfu/ml sebanyak 0,1 ml/ekor. Mengikuti penelitian sebelumnya, Yuhana *et al.* 2008.

Pada perlakuan pencegahan, ikan uji disuntik dengan ekstrak daun pepaya dosis 25 mg/ml secara *intramuscular* dengan volume 0,1 ml/ekor. Penyuntikan ini dilakukan 7 hari sebelum ujiantang. Uji ini dilakukan dengan menyuntikkan suspensi bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan sel 10^5 cfu/ml sebanyak 0,1 ml/ekor.

Untuk perlakuan pengobatan, ikan uji disuntik dengan *A. hydrophila* 10^5 cfu secara *intramuscular* sebanyak 0,1 ml/ekor. Dua hari setelah infeksi buatan, ikan disuntik ekstrak daun pepaya dosis 50 mg/ml sebanyak 0,1 ml/ekor.

3.7 Pengumpulan Data

3.7.1 Uji Refleks dan Respon Makan

Pengujian terhadap refleks ikan dilakukan dengan cara menepuk dinding akuarium bagian luar dan diamtati responnya. Pengamatan terhadap respon makan dilakukan dengan melihat reaksi ikan uji pada saat pemberian pakan dan pakan yang tersisa.

3.7.2 Gejala Klinis dan Pengukuran Kelainan Jenis

Pengamatan gejala klinis dilakukan setiap hari setelah ikan diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pengukuran diameter klinis dilakukan dengan mengukur luas tukak, kemudian dilakukan pembobotan terhadap data yang diperoleh. Dari nilai bobot tersebut diketahui kondisi tubuh ikan uji, semakin tinggi nilai bobot maka kondisi tubuh ikan semakin buruk. Nilai bobot kelainan klinis dilakukan dengan ketentuan sebagai berikut (Utami *et. al.*, 2005) :

- Sn = ikan sembuh → Nilai bobot 0
- N = ikan normal → Nilai bobot 0
- R = ikan radang → Nilai bobot 1
- H = ikan hemoragi → Nilai bobot 2
- T = ikan tukak → Nilai bobot 3
- M = ikan mati → Nilai bobot 4

Diameter klinis dibagi 4 kelompok antaralain :

- Diameter kelainan klinis beradadi antara (0,1-0,3) diberi angka 1
- Bila diameter kelainan jenis beradadi antara (0,4-0,6) diberi angka 2
- Bila diameter kelainan klinis beradadi antara (0,7-0,9) diberi angka 3
- Bila diameter kelainan klinis beradadi antara (1,0-1,3) diberi angka 4

3.7.3 Bobot Rata - rata

Pengukuran bobot tubuh ikan uji dilakukan pada awal dan akhir perlakuan menggunakan timbangan digital. Ikan pada masing masing akuarium ditimbang bobot biomasnya dan dihitung nilai rata-rata bobot tiap perlakuan dan pertambahan bobotnya. Pertambahan bobot tubuh ikan dihitung dengan menggunakan rumus (Zonnoveld *et al*, 1991) :

$$W = W_t - W_0$$

Keterangan :

W : Pertambahan bobot

W_t : Bobot rata-rata akhir

W_0 : Bobot rata-rata awal

3.7.4 Mortalitas

Pengamatan mortalitas ikan uji dilakukan setiap hari, mulai dari awal hingga akhir perlakuan. Kematian ikan dicatat untuk mengetahui mortalitas ikan uji dan dihitung dengan rumus (Effendy, 1979) :

$$MR = \frac{\text{jumlah ikan yang mati} \times 100\%}{\text{jumlah populasi}}$$

3.7.5 Pengamatan Organ Dalam

Perlakuan akhir perlakuan, ikan yang diuji kemudian dibedah untuk mengetahui keadaan organ dalam tubuhnya dan dibandingkan antara perlakuan pencegahan, pengobatan, dan kontrol positif.