

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Maret 2020 di BBIAT Tanjung Morawa, Deli Serdang, Sumatera Utara.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat

Alat – alat penelitian yang digunakan selama penelitian berlangsung dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Alat	Kegunaan
1	Dissecting set	Alat perlengkapan bedah ikan (bagian dalam tubuh ikan)
2	Nampan	Alas pembedahan ikan
3	Object glass (slide)	Untuk meletakkan preparat
4	Mikroskop binokuler	Untuk pengamatan endoparasit
5	Cover glass	Penutup preparat
6	Cawan Petri	Tempat meletakkan organ target
7	Penggaris	Mengukur tubuh ikan sample
8	Timbangan	Mengukur berat tubuh ina sample
9	Kamera	Alat dokumentasi

3.2.2. Bahan

Bahan – bahan yang digunakan selama penelitian berlangsung dapat dilihat pada tabel 3/

Tabel 3. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Bahan	Kegunaan
1	Aquades	Pelarut dan pembentukn lapisan pada objek yang akan diamati
2	Larutan Garam Normal (0,75 % NaCl)	Pembentuk lapisan tipis pada objek yang akan diamati melalui mikroskop
3	Agar 1,5 %	Menghentikan gerakan parasit yang akan diamati

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Pengambilan sampel

Sampel adalah himpunan bagian atau sebagian dari suatu populasi. Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono, 2010).

Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil ikan yang mempunyai ciri khusus yaitu terdapat kelainan atau tanda terkena penyakit. Ikan mati tidak cocok digunakan sebagai sampel, karena organ – organ ikan yang sudah mati telah mengalami perubahan. Teknik pengambilan sampel yang meliputi sampling, proses dan pengirimannya merupakan tahapan yang perlu diperhatikan dalam mendiagnosa suatu penyakit (Heni, 2012).

Sampel yang perlu dipersiapkan tergantung jumlah dari tujuan dan metode dilakukan diagnosis. Pengamatan parasit pada ikan sangat dipengaruhi oleh pengambilan sampel yang tepat. Sampel yang diamati dalam pemeriksaan parasit harus mewakili jumlah komoditas secara keseluruhan (Samsundari dan Handajani, 2005).

3.3.2. Gejala Klinis

Menurut Klimpel et al (2014) habitat cacing endoparasit berada di organ dalam ikan atau rongga perut. cacing endoparasit ada yang bersifat zoonosis (Batara, 2008). Khairiyah (2011) mengatakan bahwa zoonosis merupakan penyakit atau infeksi yang ditularkan secara alamiah antara hewan avertebrata dan vertebrata dengan manusia maupun sebaliknya. Zoonosis dapat ditularkan melalui berbagai cara, yaitu dengan kontak langsung maupun tidak langsung. Berdasarkan agen penyebabnya, zoonosis disebabkan oleh bakteri, virus, parasit serta jamur. Menurut Grabda (1991), parasit ketika berada di dalam usus manusia akan menembus mukosa dan submukosa usus lalu menimbulkan luka.

Gejala klinis pada manusia tidak spesifik. Pada umumnya gejala terlihat 24 jam setelah mengomsumsi, gejala yang timbul antara lain diare, demam dan muntah, pada kasus akut dapat menyebabkan gastritis. *A. simplex* di dalam tubuh ikan dapat mengurangi kualitas dan nilai ekonomis Ikan Layang Deles (Susanti, 2008).

3.3.3. Diagnosa Penyakit

Diagnosa penyakit ikan adalah upaya untuk mengetahui adanya ketidaknormalan dan mengidentifikasi penyebab utamanya, sehingga tindak lanjut penanganannya diharapkan lebih efektif (Puskari, 2006). Diagnosa artinya

mengenali adanya ketidaknormalan pada ikan – ikan yang dibudidayakan serta dilanjutkan dengan mengidentifikasi agen penyebabnya. Tahapan diagnosa meliputi pengenalan atau pengamatan terhadap kelainan – kelainan yang terdapat pada tubuh ikan termasuk juga kelainan perilaku. Ikan sakit secara visual biasanya ditunjukkan dengan gejala klinis seperti warna kusam atau pucat, sirip rusak atau rontok, sisik lepas dan kadang tidak rapi, luka, pendarahan, produksi lendir berlebihan atau berkurang, tutup insang selalu terbuka dan warna lembar insang pucat, benjolan pada insang atau daging, mata menonjol, ukuran badan dan kepala tidak proporsional dan mungkin terjadi kelainan bentuk tubuh (Samsundari dan Handajani, 2005).

Diagnosa ataupun pemeriksaan parasit pada ikan dapat dilakukan dengan empat cara yaitu pemeriksaan tubuh bagian luar, pemeriksaan kulit insang, pemeriksaan tubuh bagian dalam dan pemeriksaan organ pencernaan (Puskari, 2006).

3.4. Teknik Identifikasi Penyakit Parasit Ikan

Identifikasi parasit dapat dilakukan dengan dua cara (Samsundari dan Handajani, 2005) yaitu :

3.4.1. Makroskopis

Dengan mengamati secara langsung penampilan maupun tingkah laku organisme peliharaan, maka organisme yang sakit akan memperlihatkan gejala-gejala yang berbeda dari organisme yang sehat. Pemeriksaan secara visual dapat pula dilakukan terhadap organ-organ dalam seperti gonad, ginjal, hati dan sebagainya dengan cara melakukan pembedahan. Adanya infeksi endoparasit dapat mengakibatkan ketidaknormalan bentuk dan warna organ dalam.

3.4.2. Mikroskopis

Pemeriksaan dengan menggunakan mikroskop terhadap ektoparasit maupun endoparasit pada organisme yang tidak mampu untuk dilihat secara jelas maupun tidak dapat dilihat sama sekali dengan metode pengamatan makroskopis. Menyatakan bahwa parasit pada organisme dapat diidentifikasi setelah melihat gejala yang ditimbulkan oleh parasit tersebut terhadap inangnya. Pemeriksaan pertama adalah pemeriksaan ektoparasit yang dilakukan pada permukaan tubuh, sirip dan insang. Sedangkan pemeriksaan endoparasit meliputi pemeriksaan pada organ dalam (usus, otak, otot) (Samsundari dan Handajani, 2005).

3.5. Metode Pemeriksaan Parasit Ikan

Parasit pada bagian insang diamati dengan cara memotong overculum dan tapis insang, diletakkan dalam petridish yang berisi air atau garam normal, kemudian diperiksa dibawah mikroskop. Pemeriksaan endoparasit dilakukan dengan cara membelah tubuh ikan kemudian mengambil organ-organ dalam seperti gonad, gelembung renang, ginjal, hati, dan sebagainya untuk kemudian diperiksa dibawah mikroskop secara terpisah (Samsundari dan Handajani, 2005).

Pemeriksaan pada usus dilakukan dengan cara memotong, mengeluarkan isinya dan diletakkan dalam petridish yang diberi air/larutan garam normal untuk selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop, sedangkan pemeriksaan terhadap otot dilakukan dengan cara membuat sayatan tipis. Kemudian pemeriksaan endoparasit pada bagian otak dan tulang belakang dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya parasit (Samsundari dan Handajani, 2005).

Penelitian ini memokuskan dalam pengidentifikasian endoparasit yang terdapat pada ikan air tawar di BBIAT Tanjung Morawa. Sampel pada penelitian

ini adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*), lele (*Clarias batrachus*), dan mas (*Cyprinus carpio*).

3.6. Prosedur Penelitian

Adapun prosedur dalam penelitian parasite sebagai berikut:

1. Pengambilan ikan sampel dilakukan secara acak dengan masing-masing ikan diambil 10-15 ekor lalu diukur berat dan pajang tubuh ikan-ikan tersebut. Pada penelitian ini sampel ikan diambil secara acak (*random sampling*) berdasarkan pengamatan gejala klinis ikan, anamnesa, data awal parameter kualitas air, asumsi prevalensi menurut kaidah pengambilan sampel yang merujuk pada Amos (1985) dalam Lightner (1996). Kaidah pengambilan sampel dapat dilihat pada Lampiran 1
2. Sterilisasi alat metode praktis yang dirancang untuk membersihkan dari mikroorganismenya, atau sengaja untuk menghambat pertumbuhannya. Maka dari itu harus dilakukan sterilisasi alat agar tidak terjadi kontaminasi sehingga mempermudah proses pengamatan (Nourina dan Martiadi, 2002)
3. Menyediakan wadah/nampan bedah dengan alat bedah (*dissecting set*);
4. Membedahkan ikan dan mengambil organ dalam satu persatu. Amati semua perubahan bentuk, warna dan lainnya yang tidak seperti biasanya;
5. Letakkan organ dalam tersebut ke petridish yang telah berisi larutan fisiologis untuk dilakukan pemeriksaan/identifikasi;
6. Untuk saluran pencernaan (usus) dibuka memanjang lalu diamati dengan mikroskop. Untuk mengambil parasite didalam usus yaitu dengan mengorek subtract dengan pinset;

7. Identifikasi dilakukan dengan cara menyocokkan endoparasit yang ditemukan dengan gambar dan data yang ada di literatur:
8. Hitung intensitas (I) (tingkat keganasan dengan suatu parasite).
9. Hitung tingkat prevalensi (p) (tingkat penyerangan suatu parasite).
10. Dicatat nilai intensitas dan prevalensi dari tiap-tiap parasite yang ditemukan.

3.7. Pewarnaan Endoparasit

Pewarnaan cacing menggunakan metode Semichen-Acetic Carmine yang mengacu pada Kuhlman (2006) dengan cara cacing disimpan dalam alkohol gliserin 5% selama 24 jam, yang dilanjutkan dengan memasukkan dalam alkohol 70% selama 5 menit. Setelah itu, memindahkan cacing dalam larutan carmine yang sudah diencerkan dengan alkohol 70% dengan perbandingan 1 : 2, dibiarkan selama 8 jam, kemudian cacing dipindahkan dalam larutan alkohol asam selama 2 menit (alkohol 70% + HCl). Setelah selesai, dipindahkan dalam larutan alkohol basa selama 20 menit (alkohol 70% + NaHCO₃).

Selanjutnya dilakukan dehidrasi bertingkat dengan alkohol 70% selama 5 menit, alkohol 85% selama 5 menit dan alkohol 95% selama 5 menit. Kemudian dilakukan mounting dalam larutan Hung's I selama 20 menit. Cacing diambil dari larutan Hung's I, meletakkan pada obyek glass yang bersih. Larutan Hung's II diteteskan di atas cacing tersebut, kemudian ditutup dengan cover glass.

3.8. Analisis Data

3.8.1. Prevalensi

Prevalensi adalah besarnya persentase ikan yang terinfeksi dari ikan contoh yang diperiksa. Berikut adalah rumus penghitungan prevalensi:

$$\text{Prevalensi (p)} = \frac{\text{Jumlah ikan yang terinfeksi parasit}}{\text{Jumlah ikan yang diperiksa}} \cdot 100\%$$

3.8.2. Intensitas

Intensitas adalah jumlah total keseluruhan parasite yang menyerang ikan sampel. Berikut ini adalah rumus penghitungan intensitas:

$$\text{Intensitas (I)} = \frac{\text{Jumlah total parasite A yang menginfeksi}}{\text{Jumlah ikan yang terserang parasit A}}$$

