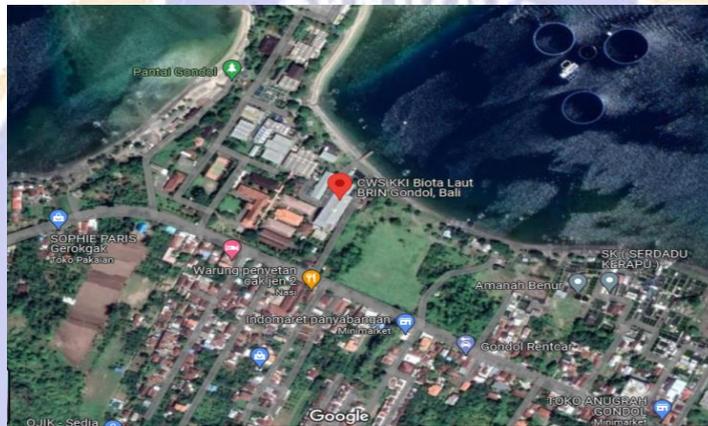


## BAB III

### METODELOGI PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai dari bulan maret sampai mei 2023 yang bertempat di Laboratorium Patologi, Kawasan Konservasi Ilmiah Biota Laut (KKIBL), BRIN, Gondol, Desa Penyabangan, Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng, Bali.



Gambar 3.1  
Peta Lokasi Penelitian

Tabel 3.1  
Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Kegiatan	Bulan											
		Maret				April				Mei			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Persiapan												
2	Kohabitasi												
3	Uji <i>in vitro</i>												
4	Uji <i>in vivo</i>												
5	Analisis data												
6	penyusunan Laporan												

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian kuantitatif dengan metode eksperimen. Menurut Sugiyono (2017) metode penelitian eksperimen adalah metode yang digunakan untuk mengetahui dampak dari perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendali. Pada penelitian ini dilakukan pengujian pengaruh Variabel X (HCl) terhadap Y (respon lintah laut).

Persiapan penelitian yang dilakukan adalah melakukan kohabitasi terhadap ikan kerapu hibrida dengan parasit lintah laut (*Z. arugamensis*). Parasit lintah laut (*Z. arugamensis*) yang sudah menginfeksi ikan kerapu hibrida akan diambil sebanyak 120 individu dan ditempatkan didalam *petri dish* (cawang petri diameter 8 cm ) untuk uji *in vitro* dengan 6 perlakuan yang berbeda. Ikan kerapu hibrida yang sudah melalui kohabitasi dan sudah terinfeksi lintah laut akan ambil 72 ekor untuk

melakukan uji *in vivo* dengan 6 perlakuan yang berbeda. Setelah proses uji *in vitro* dan *in vivo* akan dilakukan analisis data.

### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah parasit lintah laut (*Z. Arugamensis*) yang menginfeksi ikan kerapu hibrida. Sampel dalam penelitian ini adalah ikan kerapu hibrida yang ada dipelihara di Lab. Patologi KKIBL, BRIN.

### 3.4 Tahapan Pelaksanaan Penelitian

Tahapan pelaksanaan kegiatan dalam penelitian ini meliputi :

#### 3.4.1 Pembuatan Larutan

Larutan HCl yang digunakan adalah asam klorida (HCl) murni dengan konsentrasi 36% (dengan berat molekul = 36,46) (Wako, Jepang) untuk uji *in vitro* terhadap lintah laut, daya tetas telur lintah laut, dan uji *in vivo*. Konsentrasi HCl murni dalam penelitian ini disetarakan dengan 100%. Pada uji *in vitro*, HCl diambil dengan menggunakan mikropipet berukuran 10 dan 100  $\mu\text{L}$  (0,01 dan 0,1 mL, Dragon Lab) masing-masing sebanyak 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; dan 0,1 mL. Setiap HCl ditambahkan ke dalam lima Erlenmeyer 500 mL (Pyrex®, Iwaki) yang telah diisi dengan 200 mL air laut menggunakan pipet 10 mL (Dragon Lab). Sebelum menambahkan HCL ke dalam setiap Erlenmeyer, air laut dikurangi sebanyak 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, dan 0,1 mL, sehingga menghasilkan konsentrasi akhir 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm. Sementara itu, satu Erlenmeyer diisi dengan 200 mL air laut sebagai kontrol (0 ppm). Pada uji *in vivo*, larutan HCl dibuat dengan melarutkan 10, 20, 30, 40, dan 50 mL HCL murni dalam air laut (99,9; 99,8; 99,7; 99,6; dan 99,5 L) dengan volume wadah/bak plastik 120 L.

### 3.4.2 Uji kohabitasi

Uji kohabitasi pada penelitian ini adalah memasukan ikan kerapu hibrida yang sudah terinfeksi parasit lintah laut kedalam wadah yang terisi ikan sehat dengan tujuan menyebarkan parasit lintah ke ikan yang masih sehat. Tahapan pada uji kohabitasi penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. 4 buah bak plastik disiapkan sebagai wadah untuk melakukan kohabitasi ikan sakit ke ikan sehat.
2. 72 ekor ikan kerapu hibrida cantang dimasukan kedalam 4 bak plastik yang sudah disiapkan.
3. Kohabitasi dilakukan dengan perbandingan : 1 ekor ikan kerapu hibrida cantang yang terinfeksi lintah laut dengan 3 ekor ikan sehat (ratio 1:3). Kohabitasi dilakukan selama 30 hari.

### 3.4.3 Uji *in vitro*

Uji *in vitro* dilakukan dengan waktu perendaman yang bervariasi. Masing-masing 24 cawan petri (diameter 8 cm) diisi langsung dengan air laut. Lintah laut yang menempel dan menginfeksi ikan kerapu hibrida diambil secara hati-hati dengan menggunakan sarung tangan dan dimasukkan ke dalam cawan petri. Setiap cawan petri diisi dengan 10 ekor lintah laut. Biarkan cawan petri selama 10-15 menit hingga lintah menempel erat ke permukaan dasar. Lintah kemudian dibilas sebanyak tiga kali dengan air laut untuk menghilangkan lendir ikan yang terbawa oleh lintah serta lintah-lintah lemah yang mengapung di air.

Masing-masing air laut pada empat cawan petri yang berisi lintah laut diganti dengan larutan HCl sesuai dengan perlakuan, 0 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm. Masing-masing dari sepuluh lintah laut yang

direndam dalam larutan HCl/ cawan petri (0-500 ppm) dipindahkan secara perlahan ke dalam cawan petri berdiameter 3 cm yang berisi air laut dengan menggunakan pinset. Pengambilan dan pemindahan lintah laut dilakukan setiap 15 menit hingga 60 menit. Respon dan sintasan lintah laut diamati 60 menit setelah dipindahkan ke cawan petri kecil untuk memungkinkan mereka pulih.

Uji *in vitro* juga dilakukan untuk mengetahui daya tetas telur lintah laut setelah direndam dalam HCl selama 30 dan 60 menit. Sebanyak sepuluh cawan petri diisi dengan 50-60 ekor lintah laut. Semua cawan petri diinkubasi selama tiga hari pada suhu 29-30°C agar lintah laut dapat bertelur. Lintah laut kemudian dikeluarkan dari cawan dengan pinset, sehingga hanya menyisakan telurnya saja. Air laut dari masing-masing cawan petri yang berisi telur lintah laut diganti dengan larutan HCl dengan konsentrasi 0, 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm. Perendaman dalam larutan HCl dengan konsentrasi yang berbeda dilakukan selama 30 dan 60 menit. Setelah 30 dan 60 menit, setiap cawan petri/perlakuan diganti dengan air laut. Kemudian, semua cawan petri diinkubasi pada suhu 29-30°C, dengan air laut yang diganti setiap hari. Selama 15 hari, pengamatan dilakukan terhadap perkembangan dan jumlah telur yang menetas. Indikator kualitas air seperti pH, suhu, dan salinitas diukur pada dua cawan petri untuk setiap perlakuan.

#### **3.4.4 Uji *in Vivo***

Uji *in Vivo* dalam penelitian ini dilakukan setelah uji *in vitro* selesai. Uji *in vivo* yaitu pengujian dimana dosis perlakuan yang sudah diuji terhadap parasit lintah laut (*Z. arugamensis*) pada metode *in vitro* diterapkan pada ikan kerapu hibrida cantang yang sudah terinfeksi lintah laut (*Z. Arugamensis*). Berikut adalah tahapan pada uji *in vivo*:

1. Sebanyak 0 mL, 10 mL, 20 mL, 30 mL, 40 mL dan 50 mL HCl disiapkan dengan mengambil larutan HCl menggunakan mikropipet 100 mL. Masing-masing larutan tersebut dimasukkan ke dalam bak plastik yang telah diisi air laut sebanyak 100 L sehingga konsentrasi akhir menjadi 0, 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm. Masing-masing konsentrasi HCl menggunakan 6 buah bak plastik volume 100 L.
2. Masing-masing sebanyak 12 ekor ikan terinfeksi lintah laut dimasukkan ke setiap bak plastik.
3. Masing-masing satu bak plastik yang berisi ikan terinfeksi lintah di setiap perlakuan di panen dan diamati kondisi ikan, dihitung prevalensi ikan yang terinfeksi lintah laut, intensitas lintah laut yang masih menempel di setiap ekor ikan, jumlah lintah laut di bak serta sintasan ikan. Panen dilakukan pada masing-masing 3 ekor ikan/perlakuan di setiap 15 menit (15, 30, 45 dan 60 menit). Ikan yang telah dipanen dan masih hidup dikembalikan ke bak plastik yang diisi air laut dan diamati kondisi ikan selama 1 hari.

### **3.5 Alat dan bahan Penelitian**

Peralatan dan bahan pada penelitian ini menggunakan fasilitas yang telah disediakan oleh Laboratorium Patologi, Kawasan Konservasi Ilmiah Biota Laut (KKIBL), BRIN, Gondol.

- a. Alat-alat dan kegunaannya yang dipakai dalam penelitian ini seperti tertera pada tabel berikut :

Tabel 3.5. Alat – Alat Penelitian

Nama Alat	Jumlah	Kegunaan
Petri dish	54 unit	Wadah untuk merendam lintah laut
Erlenmeyer	6 unit	Tempat untuk menyimpan larutan HCL (uji <i>in vitro</i> )
Glass bottle	5	Tempat untuk menyimpan HCl (uji <i>in vivo</i> )
pH meter	1 set	Mengukur pH larutan HCL
Hand counter	1 set	Menghitung respon lintah laut
Buku Catatan dan alat tulis	1 buah	Mencatat hasil dari pengamatan
Kamera	1 buah	Mendokumentasikan kegiatan serta hasil pengamatan
Bak plastik	24 buah	Wadah untuk perlakuan uji <i>in vivo</i>

b. Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ikan kerapu hibrida cantang
2. Lintah laut (*Z. arugamensis*)
3. HCl
4. Air Laut

### 3.6 Metode dan Teknik Analisis Data

#### a. Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan mengamati respon sampel uji yang telah direndam dengan larutan HCl pada masing-masing perlakuan pengamatan.

#### b. Analisis Data

Analisis data hasil penelitian dilakukan dengan menggunakan IBM SPSS. Mortalitas lintah laut setelah perendaman dalam larutan HCl secara *in vitro*, serta jumlah lintah laut yang masih menempel pada tubuh ikan kerapu hibrida setelah perendaman dalam larutan HCl (*in vivo*), dianalisis dengan menggunakan uji normalitas dan homogenitas varian.

### 3.7 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah dan tinjauan pustaka yang telah diuraikan, maka hipotesis yang dapat dirumuskan sebagai berikut:

H0: Asam klorida (HCl) tidak efektif untuk mengatasi infeksi lintah Laut (*Z. arugamensis*) pada Ikan kerapu hibrida Cantang (*Ephinephelus fuscoguttatus* x *E. lanceolatus*)

H1: Asam klorida efektif untuk mengatasi infeksi lintah laut (*Z. arugamensis*) pada Ikan kerapu hibrida cantang (*Ephinephelus fuscoguttatus* x *E. lanceolatus*)