

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian dan Desain penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian *experimental laboratory*. Metode ini termasuk dalam penelitian kualitatif yang digunakan agar dapat mengetahui hubungan antar variabel dengan menguji hipotesis melalui perlakuan yang berbeda terhadap objek penelitian. Metode eksperimental merupakan proses pengujian dimana ada perubahan atau modifikasi terhadap variabel input dari sebuah sistem sehingga dapat diamati dan diidentifikasi sebab perubahan yang dihasilkan dalam penelitian (Montgomery *et al.*, 1992).

Dalam penerapannya, metode tersebut termasuk pada jenis penelitian kualitatif yang pada praktiknya dilakukan dengan tujuan mengetahui ada atau tidaknya keterkaitan antar variabel yang analisisnya nanti digunakan untuk menguji suatu hipotesis dengan pemberian suatu perlakuan yang berbeda kepada objek penelitian dengan lingkungan yang ditetapkan. Dalam melakukan penelitian kualitatif, maka harus dilakukan dengan menerapkan paradigma atau pendekatan penelitian yang bersifat induktif yang seringkali difokuskan kepada makna secara individual, dan dapat mengeksplanasi sebuah kompleksitas permasalahan yang timbul (Creswell, 2007).

Desain metode yang diterapkan dalam penelitian ini yaitu dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang seringkali digunakan pada kondisi kesatuan data yang relative homogen (Muhammad *et al.*, 2014). Penelitian dengan rancang metode seperti ini dilakukan dalam lingkungan yang terkondisikan sehingga jika ada pengaruh yang timbul pada set data objek penelitian hanya dilihat dari adanya perbedaan pemberian perlakuan terhadap objek penelitian. Penerapan metode RAL dalam penelitian ini adalah dengan membuat 5 perlakuan dengan penambahan 2 set kontrol positif dan negatif (pakan komersial dan pakan tanpa

tepung buah ciplukan dan simpur) serta masing masing perlakuan dibuat sejumlah 3 pengulangan.

### 3.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan memberi perlakuan pemberian pakan buatan dengan formulasi yang berbeda terhadap ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan ukuran tubuh 10-12 cm dan bobot berkisar antara 16-28 gram pada tujuh kelompok perlakuan dengan tiga pengulangan pada lingkungan terkontrol. Ikan nila yang dijadikan objek penelitian kemudian disortir dan ditempatkan dengan ukuran yang relatif sama dalam kolam pemeliharaan. Pemberian perlakuan berupa pakan buatan dilakukan selama 2 minggu dengan frekuensi 3 kali pemberian pakan per hari (08.00 am; 12.00 pm; dan 16.00 pm).

### 3.3 Waktu dan Lokasi Penelitian

Pengambilan data pembuatan pakan Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan campuran tepung buah Ciplukan (*Physalis angulata*) dan buah Simpurn (*Dillenia philippinensis*) dilaksanakan pada bulan Mei 2023. Lokasi yang digunakan selama proses pemberian perlakuan dan pengambilan data penelitian yakni Kebun Botani Universitas Pendidikan Indonesia. Pakan yang dibuat untuk perlakuan kepada objek penelitian (ikan nila) dibuat dalam bentuk pelet yang kemudian pakan diuji kandungannya dengan uji proximat dan diuji kandungan antioksidannya yang dimaksudkan untuk mengetahui aktivitas biologis senyawa yang terkandung dalam bahan pakan sebagai perlakuan yang diberikan. Selain pemberian perlakuan dengan bentuk pakan, identifikasi dan pengukuran morfologi ikan serta profil darah atau hematologi juga dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang diberikan selama penelitian.

### 3.4 Prosedur penelitian

#### 3.4.1 Preparasi Penelitian

##### a. Preparasi Pembuatan Kolam Pemeliharaan Ikan Nila

Pelaksanaan uji pakan buatan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan penambahan tepung buah Ciplukan (*Physalis angulata*) dan buah Simpurn (*Dillenia philippinensis*) memerlukan tempat pemeliharaan ikan uji dengan kualitas

Muhammad Bagja Alviansyah, 2023

**PENGARUH PEMBERIAN PAKAN BUATAN DENGAN PENAMBAHAN TEPUNG BUAH CIPLUKAN (*Physalis angulata*) DAN BUAH SIMPUR (*Dillenia philippinensis*) TERHADAP PERTUMBUHAN DAN HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | Perpustakaan.upi.edu

lingkungan yang baik untuk dapat menunjang pertumbuhan yang maksimal. Tata letak kolam pemeliharaan (Gambar 3.1) didesain secara berdekatan agar kondisi lingkungan tidak berbeda secara signifikan karena merupakan faktor yang harus terkontrol. Sehingga dibutuhkan alat-alat untuk mengetahui keadaan lingkungan kolam dan mempertahankan keadaan lingkungan kolam. Alat-alat yang dibutuhkan dalam persiapan kolam adalah pH meter, termometer, pompa air akuarium, TDS, DO meter, dan selang.

K+		S75:C25
K-	S100	S50:C50
C100		S25:C75

Gambar 3. 1 Rancangan Tata Letak Kolam Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

**Keterangan:** K+: Kontrol Positif (Perlakuan dengan pakan komersial), K-: Kontrol Negatif (Pakan tanpa campuran buah ciplukan dan buah simpur), C100: Pakan dengan tambahan tepung buah ciplukan 10/100 g, S100: Pakan dengan tambahan tepung buah simpur 10/100g, S25:C75: Pakan dengan tambahan tepung buah simpur dan buah ciplukan (2,5 g: 7,5 g)/ 100 g, S50:C50: Pakan dengan tambahan tepung buah simpur dan buah ciplukan (5 g: 5 g)/ 100 g S75:C25: Pakan dengan tambahan tepung buah simpur dan buah ciplukan (7,5 g: 2,5 g)/ 100 g pakan campuran

Air yang digunakan untuk pemeliharaan ikan uji berasal dari sumber air yang ada pada Kebun Botani Universitas Pendidikan Indonesia. Setelah dilakukan pengukuran kualitas air, maka hal selanjutnya adalah menjaga kondisi air agar kualitasnya tetap terjaga sehingga pengaruh perlakuan pemberian pakan dapat dengan baik dianalisis karena faktor lingkungan terkontrol dengan baik walaupun dapat terjadi perbedaan kondisi air, seperti yang ditunjukkan pada data kualitas air selama 2 minggu pemeliharaan ikan (Tabel 3.1), namun dipastikan tidak terlalu berdampak pada kondisi ikan.

### 3.5.2 Pembuatan Pakan Buatan Alternatif

Pada pelaksanaan pembuatan pakan buatan, kedua buah yang digunakan nantinya akan digabungkan dan dikeringkan menjadi tepung sebagai bahan tambahan pada pakan buatan. Tahap awal yang dilakukan adalah pencucian sampel buah dan dikeringkan, kemudian dipotong dengan ukuran 1-3 cm. Tahap selanjutnya ialah pengeringan bahan baik dengan cara dijemur atau dengan oven

pada suhu tertentu sebelum nantinya dihaluskan untuk mendapat bubuk tepung buah untuk bahan campuran pakan. Pakan dibuat dalam 5 formulasi sesuai dengan formulasi dan 2 formulasi sebagai kontrol positif (**K+** = diberikan pakan ikan komersial) dan kontrol negatif (**K-** = pakan yang dibuat tanpa diberi tambahan campuran tepung buah), sementara kelima formulasi yang lain yakni pakan dengan tambahan tepung buah Ciplukan formulasi 10 g/100 g (**C100**), tepung buah Simpurn 10 g/100 g (**S100**), campuran tepung buah ciplukan 2,5 g dan simpurn 7,5 g /100 g (**S75:C25**), campuran buah tepung buah ciplukan 5 g dan simpurn 5 g / 100 g (**S50:C50**), serta campuran tepung buah ciplukan 7,5 g dan simpurn 2,5 gr 100 g (**S25:C75**). Formulasi pakan (Tabel 3.1) yang dijadikan acuan perbandingan rasio bahan sebagaimana pada penelitian (Juniati, 2022)

Tabel 3. 1 Formulasi Campuran Bahan Pakan Buatan

Bahan Baku	Formulasi Pakan Buatan (gr)					
	S75:C25 (gram)	S50:C50 (gram)	S25:C75 (gram)	S100 (gram)	C100 (gram)	K- (Kontrol -)
Tepung ikan	17	17	17	17	17	17
Tepung kedelai	25	25	25	35	35	35
Dedak	30	30	30	30	30	30
Bungkil kelapa	5	5	5	5	5	5
Tepung terigu	10	10	10	10	10	10
Vitamin dan mineral mix	3	3	3	3	3	3
Tepung buah Ciplukan	2.5	5	7.5	0	10	0
Tepung buah Simpurn	7.5	5	2.5	10	0	0
<b>Jumlah</b>	100	100	100	100	100	100

**Keterangan:** K+: Kontrol Positif (Perlakuan dengan pakan komersial), K-: Kontrol Negatif (Pakan tanpa campuran buah ciplukan dan buah simpurn), C100: Pakan dengan tambahan tepung buah ciplukan 10/100 g, S100: Pakan dengan tambahan tepung buah simpurn 10/100g, S25:C75: Pakan dengan tambahan tepung buah simpurn dan buah ciplukan (2,5 g: 7,5 g)/ 100 g, S50:C50: Pakan dengan tambahan tepung buah simpurn dan buah ciplukan (5 g: 5 g)/ 100 g S75:C25: Pakan dengan tambahan tepung buah simpurn dan buah ciplukan (7,5 g: 2,5 g)/ 100 g pakan campuran.

Tahapan pembuatan pakan buatan dengan penambahan campuran buah simpurn dan buah ciplukan dimulai dengan proses seleksi bahan baku utama yaitu buah ciplukan dan buah simpurn yang kemudian dibersihkan dan dilakukan pemotongan sebesar 1-2 cm agar memudahkan dalam proses pengeringan serta

Muhammad Bagja Alviansyah, 2023

**PENGARUH PEMBERIAN PAKAN BUATAN DENGAN PENAMBAHAN TEPUNG BUAH CIPLUKAN (*Physalis angulata*) DAN BUAH SIMPUR (*Dillenia philippinensis*) TERHADAP PERTUMBUHAN DAN HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | Perpustakaan.upi.edu

proses pembuatan tepung. Setelah didapatkan buah kering dan sudah digiling, tepung buah ciplukan dan buah simpur kemudian dicampurkan dengan bahan lain yakni tepung ikan, tepung kedelai, tepung terigu, dedak, vitamin dan mineral mix sesuai formulasi yang telah ditentukan (Tabel 3.1). Ditambahkan juga air dan putih telur yang digunakan sebagai katalis. Selanjutnya setelah adonan campuran bahan siap dan telah digiling berbentuk pelet, kemudian dikeringkan selama 1-2 hari dengan cara dijemur atau menggunakan oven untuk mempercepat waktu pengeringan. Pelet yang sudah kering kemudian disimpan pada wadah tertutup dan tempat kering untuk menghindari jamur.

### 3.5.3 Uji Kimia Pakan Buatan

Pelaksanaan uji kimia pakan buatan baik uji proksimat dan uji antioksidan pakan dilakukan di Laboratorium Analisis Kimia dan Biologi CV. Cendekia Nanotech Utama (CNH) Jl. Madusari I, Plamongansari, Pedurungan, Semarang. Pengujian kualitas pakan secara kimia untuk mengetahui kandungan pakan melalui uji proksimat adalah pengujian yang bertujuan mengetahui kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar karbohidrat yang terkandung dalam pakan yang didalamnya terdapat campuran tepung buah ciplukan dan buah simpur. Pengujian ini dapat menjadi gambaran apakah pakan yang dibuat sudah cukup baik atau masih kurang baik untuk diberikan kepada objek penelitian. Tahapan uji Proksimat pakan dilakukan bersarkan *Standard Operating Procedures Proximat (AOAC)* Laboratorium Analisis Kimia dan Biologi CV. Cendekia Nanotech Utama (CNH) Jl. Madusari I, Plamongansari, Pedurungan, Semarang.

#### a. Uji Proksimat

Uji Proksimat merupakan suatu metode analisis secara kimia yang bertujuan untuk dapat mengetahui kandungan nutrisi yang ada pada bahan pangan (Mukti, 2021). Pengujian proksimat digunakan untuk dapat mengetahui apakah zat yang terkandung pada bahan pangan telah atau belum memenuhi standar kandungan yang seharusnya ada pada suatu bahan pangan. Umumnya kandungan yang dianalisa pada uji proksimat bahan pangan adalah kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar karbohidrat. Analisis kandungan bahan pada pangan atau pun pakan dengan uji proksimat dapat membantu mengetahui

kandungan gizi pada bahan yang diuji atau dianalisis, dimana kandungan gizi ini yang dapat menentukan apakah bahan pangan dianalisis merupakan pakan yang berkualitas atau tidak (Ensminger, 1993). Meskipun hasil analisa uji proksimat. Kelebihan uji proksimat adalah dapat menunjukkan secara garis besar komposisi atau kandungan kimia dari bahan pakan yang diujikan serta dapat memberikan gambaran bagaimana pemanfaatan bahan pakan yang dibuat untuk efek optimal penggunaannya (Suparjo, 2010).

### 1. Kadar Air

Kandungan air pada pakan diuji dengan metode Oven (SNI 01-2891-1992). Prosedur yang dilakukan adalah menghitung selisih berat setelah dilakukan pemanasan dalam oven sampai beratnya tetap. Sampel ditimbang kurang lebih 1-2 gram dan diletakkan dalam cawan yang telah diketahui bobotnya, cawan berisi pakan kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam, cawan didinginkan dalam eksikator selama 30 menit. setelah dingin cawan ditimbang *Badan Standarisasi Nasional (BSN, 1992)*

### 2. Kadar Abu

Kadar abu dianalisa dengan metode menurut (SNI 01-2891-1992). Sebanyak 2-3 g sampel dimasukkan ke dalam cawan porselen yang telah diketahui beratnya, cawan dimasukkan ke dalam tanur bersuhu 550°C selama 12 jam atau hingga bahan berubah warna menjadi putih, kemudian cawan diambil dan dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit, selanjutnya ditimbang (BSN, 1992).

### 3. Kadar Protein

Kadar protein dianalisis dengan metode Kjeldahl (SNI 01-2891-1992). Sampel 0,1 gram dimasukkan pada tabung mikro Kjeldahl 30 ml, kemudian ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2,5 mL) dan tablet Kjeldahl, sampel dididihkan selama 1 - 1,5 jam sampai jernih dan dinginkan. Isi labu dituangkan ke dalam alat destilasi, labu dibilas 5-6 kali dengan aquades 20 ml, air bilasan juga dimasukkan ke dalam alat destilasi, ditambahkan larutan NaOH 4% sebanyak 20 ml. Cairan ujung kondensor ditampung dalam Erlenmeyer 125 ml berisi larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> dan 3 tetes indikator (cairan metil merah dan metilen biru) di bawah kondensor. Destilasi

dilakukan hingga diperoleh 200 ml destilat yang bercampur dengan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> dan indikator dalam Erlenmeyer. Destilat dititrasikan dengan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah. Hal yang sama juga dilakukan terhadap blanko (BSN, 1992).

#### 4. Kadar Lemak

Kadar lemak dianalisis dengan metode Hidrolisis Weibull (SNI 01-2891-1992). Penentuan kadar lemak dilakukan dengan mengambil sampel yang telah dihancurkan sebanyak 3 g (C), kemudian dilakukan hidrolisis dengan menggunakan 30 ml HCl 25% dan akuades sebanyak 20 ml, dipanaskan selama 15 menit. Selanjutnya sampel disaring sampai HCl hilang dari sampel, sampel dibungkus dengan kertas saring, kertas saring yang berisi sampel diletakkan ke dalam alat ekstraksi Soxhlet, labu kosong ditimbang. Ekstraksi dilakukan dengan hexane selama 3 jam. Minyak atau lemak yang terapan di dalam ekstraksi Soxhlet dikeringkan dalam oven 105°C sampai berat konstan kemudian ditimbang.

#### 5. Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat Penentuan dianalisis menggunakan perhitungan *Carbohidrat by Difference* (Winarno, 1997). Perhitungan ini bukan berdasarkan analisis tetapi berdasarkan perhitungan sebagai berikut:

$$\% \text{ Karbohidrat} = 100\% - \% (\text{air} + \text{abu} + \text{lemak} + \text{protein})$$

#### b. Uji Antioksidan DPPH-RSA

Uji Antioksidan dilakukan dengan *Radical Scavenging Activity* (RSA) (DPPH). Tahapan pelaksanaan uji antioksidan dimulai dari mempersiapkan ekstrak sampel sebanyak 0,1 g, ditambahkan pelarut sampai 5ml lalu dihomogenkan. Untuk penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,6 ml, ditambahkan 3 mL larutan DPPH 0,1 mM. Campuran dihomogenkan, dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh

besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH (Marjoni & Novita, 2015), dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{serapan kontrol} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan kontrol}} \times 100\%$$

#### 3.5.4 Pemberian Pakan

Frekuensi pemberian pakan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti ketersediaan pakan, luas lahan budidaya ikan, keadaan lingkungan, tingkat makan ikan, jumlah ikan dalam kolam dan ukuran serta jenis ikan. Pemberian pakan ikan pada umumnya diberikan sebanyak dua kali sehari namun untuk memaksimalkan kecepatan pertumbuhan ikan pemberian pakan dapat diberikan sebanyak lima hari sekali dengan dukungan faktor lingkungan (suhu, DO, pH) yang optimal (Craig & Kuhn, 2017). Setiap fase pertumbuhan dan ukuran ikan juga mempengaruhi frekuensi pemberian pakan. Pada fase ikan kecil pemberian pakan perlu ditingkatkan dan komposisi perlu diperhatikan, hal ini didasarkan kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan oleh ikan dalam memaksimalkan pertumbuhannya mendukung kecepatan tumbuh dan berkembang ikan (Craig & Kuhn, 2017).

Frekuensi pemberian pakan pada Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) untuk setiap perlakuan akan diberikan sebanyak tiga kali sehari yakni pagi pukul 08,00 WIB, siang pukul 12.00 WIB, dan sore pukul 16.00 WIB dengan *feeding rate* sekitar 3% dari rata-rata biomassa ikan (Prajayati *et al.*, 2020).

#### 3.5.5 Pengukuran Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Pertumbuhan ikan dilihat dari uji morfometrik atau pengukuran morfologi ikan yakni bobot tubuh ikan dan panjang tubuh ikan sebelum dan setelah diberikan perlakuan pemberian pakan buatan dengan formulasi berbeda. Dilakukan sebanyak tiga kali pengukuran yakni pada saat ikan belum diberi perlakuan, satu minggu setelah perlakuan dan pada minggu terakhir perlakuan diberikan untuk melihat adakah perubahan yang terjadi pada pertumbuhan ikan.

Perhitungan laju pertumbuhan bobot ikan dilakukan untuk mengetahui perbedaan penambahan panjang tubuh ikan selama masa pemberian perlakuan penelitian (Arief *et al.*, 2009). Formulasi perhitungannya menggunakan rumus



*Specific Growth Rate* menurut (Hariati, 1989) dalam (Jaya *et al.*, 2013) sebagai berikut:

$$SGR = \frac{W_t - W_o}{t} \times 100\%$$

Keterangan:

SGR = Laju pertumbuhan (%)

$W_t$  = Bobot tubuh ikan pada akhir penelitian (gram)

$W_o$  = Bobot tubuh ikan waktu minggu ke-t (gram)

t = Waktu pemeliharaan (hari)

Perhitungan panjang tubuh mutlak dilakukan untuk mengetahui perbedaan penambahan panjang tubuh ikan selama masa pemberian perlakuan penelitian (Perdana *et al.*, 2016). Formulasi perhitungan pertumbuhan panjang mutlak ( $\Delta L$ ) adalah sebagai berikut:

$$\Delta L = L_t - L_o$$

Keterangan:

$\Delta L$  = Selisih pertumbuhan panjang

$L_t$  = Panjang akhir sampel ikan penelitian (cm)

$L_o$  = Panjang awal sampel ikan penelitian (cm)

Tingkat Ketahanan Hidup atau *Survival Rate* (SR) ikan dilihat melalui perhitungan jumlah sampel ikan yang masih hidup pada akhir pemberian perlakuan terhadap sampel. Formulasi perhitungan yang digunakan untuk mengetahui SR mengacu pada (Perdana *et al.*, 2016)

$$SR = \frac{N^t}{N^0} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Tingkat kelangsungan hidup (%)

$N^t$  = Jumlah ikan hidup pada akhir pemeliharaan

$N^0$  = Jumlah ikan hidup pada awal pemeliharaan

### 3.5.6 Pengukuran Profil Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Profil darah ikan untuk mengidentifikasi pengaruh pemberian pakan diawali dengan pengambilan sampel darah pada tiap ikan. Sama halnya seperti pengukuran morfometrik, uji hematologi ikan juga dilakukan sebanyak 3 kali yakni sebelum, selama dan setelah proses pemberian perlakuan selesai dilakukan. Sampel darah ikan diambil menggunakan jarum suntik pada bagian belakang tubuh ikan tepatnya pada linea lateralis dekat sirip bagian belakang atau sirip caudal ikan. Sampel darah yang dikumpulkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang telah diberi Na-Sitrat agar darah tidak cepat mengental dan rusak, kemudian dimasukkan ke dalam kotak es (Feliatra, 2018).

Sampel darah yang didapat kemudian dilakukan identifikasi untuk profil hematologi yakni jumlah eritrosit, jumlah leukosit, dan uji hematokrit darah. Pengujian kadar leukosit dalam darah dimaksudkan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas senyawa antioksidan yang merupakan pengaruh dari pemberian pakan buatan dengan penambahan campuran tepung buah ciplukan dan simpur pada tiap formulasi berbeda dimana aktivitas antioksidan ini merupakan gambaran dari imunitas ikan yang menjadi sampel uji. Tahapan pengukuran kadar leukosit ini diawali dengan pengambilan darah dari tabung eppendorf dengan menggunakan pipet thoma leukosit pada skala 0,5 yang kemudian ditambahi dengan larutan Turk hingga pada skala 11 kemudian pipet digoyangkan selama 2-5 menit agar larutan yang terdapat pada pipet menjadi homogen menurut Klontz, 1994 pada (Yanto *et al.*, 1995). Prosedur dilanjutkan dengan penuangan cairan darah pada pipet thoma ke dalam preparat nabauer pada kamar hitung haemocytometer. Penghitungan jumlah leukosit dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 10x4, leukosit yang diamati hanya pada empat bidang besar haemocytometer dengan menggunakan formula menurut Blaxhall & Daisley, 1973 pada (Dianti *et al.*, 2013).

$$\sum \text{leukosit} = \text{jumlah leukosit terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}$$

Keterangan: 50 = faktor pengenceran

Pengukuran jumlah eritrosit hampir sama dengan tahapan pada pengukuran jumlah leukosit. Prosedur awal yakni dengan mengambil darah menggunakan pipet thoma khusus eritrosit hingga skala 0,5 dan ditambahkan larutan hayem hingga

Muhammad Bagja Alviansyah, 2023

**PENGARUH PEMBERIAN PAKAN BUATAN DENGAN PENAMBAHAN TEPUNG BUAH CIPLUKAN (*Physalis angulata*) DAN BUAH SIMPUR (*Dillenia philippinensis*) TERHADAP PERTUMBUHAN DAN HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | Perpustakaan.upi.edu

skala 11 dan dihomogenkan. Setelah homogen, perhitungan jumlah eritrosit dilakukan pada preparat nabauer dalam lima kotak kecil dengan formulasi hitung sebagai berikut menurut (Insivitawati *et al.*, 2015).

$$\sum \text{eritrosit} = \text{jumlah eritrosit terhitung} \times 10^4 \text{ sel/mm}$$

Terlepas dari perhitungan kadar eritrosit dan leukosit, data lain yang juga dikumpulkan adalah data hematokrit. Prosedur penghimpunan data hematokrit diawali dengan mengambil sampel darah pada tabung eppendorf yang kemudian dimasukkan ke dalam kapiler hematokrit yang selanjutnya ditutup menggunakan malam agar menjaga darah dalam kapiler hematokrit tidak keluar. Dilanjutkan dengan mesentrifus darah yang ada pada tabung kapiler hematokrit pada kecepatan 11.000 rpm dalam waktu 3 menit. Kemudian panjang endapan eritrosit dan hemoglobin pada kapiler diukur menggunakan mistar/penggaris untuk dihitung volume persentasenya. Formulasi perhitungan hematokrit adalah menggunakan rumus yang diacu dari (Anderson & Siwicki, 1995), yakni sebagai berikut:

$$\text{Hematokrit} = \frac{\text{Panjang endapan eritrosit pada pipa kapiler}}{\text{Panjang total}} \times 100 \%$$

### 3.6 Analisis Data

Analisis data yang dilakukan yakni sebagai berikut: Uji Proximat pakan buatan, Uji Antioksidan pakan buatan, pengukuran morfometrik ikan uji yang terdiri dari bobot tubuh dan panjang tubuh ikan, dan pengukuran profil hematologi ikan uji yang terdiri dari jumlah eritrosit, jumlah leukosit dan persentase hematokrit pada darah ikan uji. Hasil data uji proximat yang didapat setelah dilakukan uji di laboratorium CNH disajikan dalam bentuk tabel dan gambar untuk memaparkan informasi terkait kandungan nutrisi dalam pakan.

Analisis statistika dilakukan pada data morfometrik bobot tubuh ikan dan panjang tubuh ikan sedangkan pada profil darah, ketiga data mulai dari jumlah leukosit, jumlah eritrosit dan persentase hematokrit dilakukan uji analisis statistika menggunakan aplikasi *IBM SPSS 25* untuk melihat respons yang paling signifikan dari pemberian perlakuan dengan pakan buatan yang diberikan campuran dua tepung buah dengan formulasi yang berbeda terhadap pertumbuhan dan respon

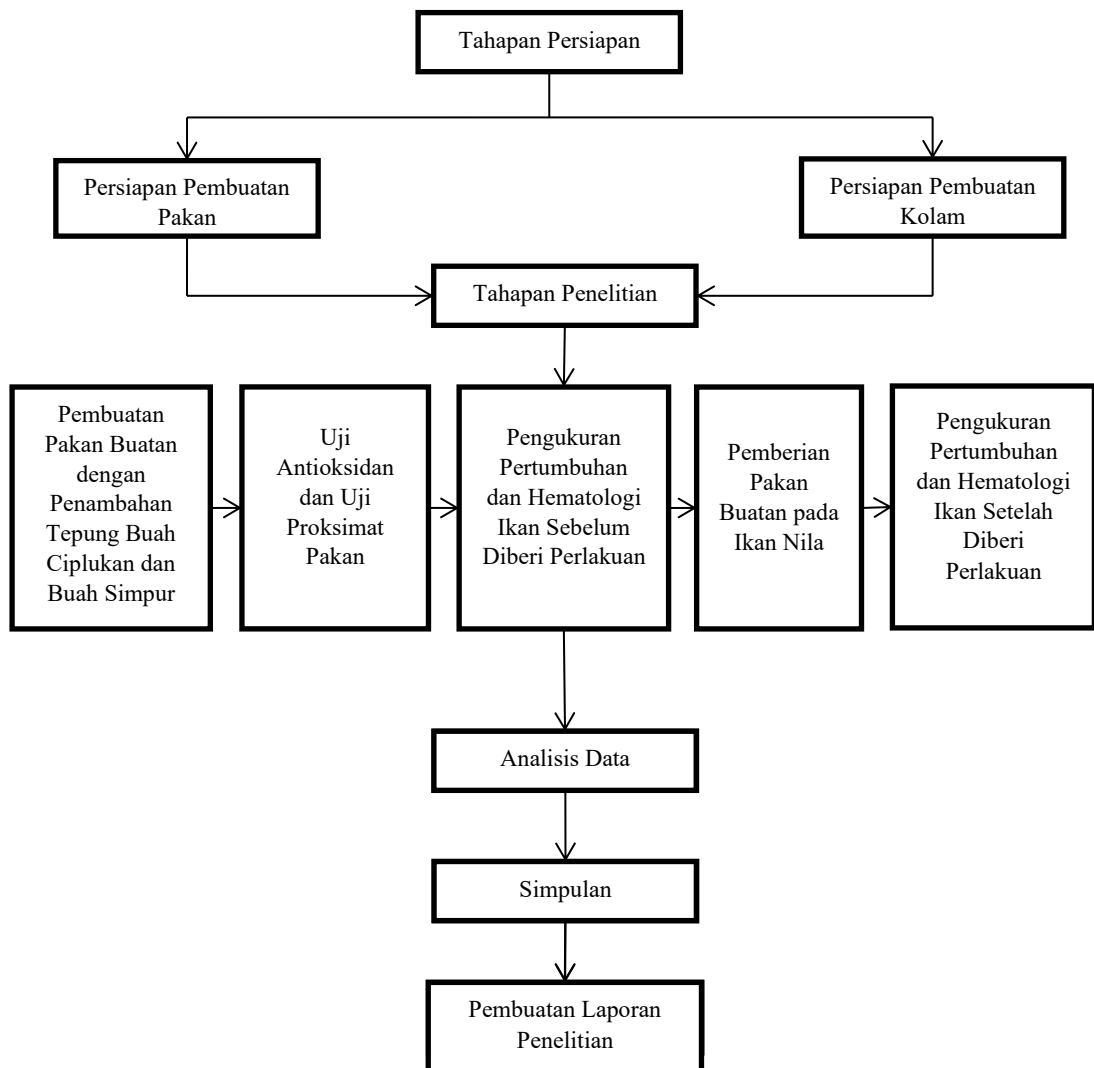
hematologi ikan nila. Data yang didapatkan setelah dilakukan pengukuran dalam rentang waktu dua minggu kemudian dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variance (ANOVA)* dengan taraf kepercayaan 95% atau taraf signifikansi ( $P \geq 0,05$ ). Sedangkan jika ada data yang menunjukkan perbedaan nyata ( $P \leq 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Tukey* dengan taraf kepercayaan 95% yang dimaksudkan untuk mengetahui nilai signifikansi dari pakan buatan dengan penambahan campuran tepung buah mana yang dapat memberikan hasil berupa respon terbaik kepada parameter yang diukur selama penelitian dilakukan (Arsyadana *et al.*, 2017).

Data hematologi yang dihimpun adalah jumlah eritrosit, jumlah leukosit, dan persentase hematokrit yang ketiganya dilakukan analisa secara statistik menggunakan aplikasi *IBM SPSS 25* untuk mengetahui dampak atau pengaruh yang diberikan oleh pakan buatan dengan penambahan campuran tepung buah terhadap ketiga parameter hematologi tersebut. Hasil dari analisis tersebut digunakan untuk dapat menjabarkan penjelasan atau penarikan kesimpulan terhadap penelitian yang dilakukan terkait pemberian pakan buatan dengan bahan alternatif terhadap respon pertumbuhan dan hematologi ikan nila.

### **3.7 Alur Penelitian**

Tahapan penelitian (Gambar 3.2.) dimulai dari mempersiapkan pra-penelitian hingga penyelesaian laporan penelitian dimulai dari pembuatan pakan dan kolam pemeliharaan bagi sampel uji yang dilanjutkan dengan uji kandungan pakan serta pengukuran morfologi dan profil darah ikan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan untuk kemudian dilanjutkan dengan analisa secara statistik.

Berikut rancangan alur penelitian yang dimulai dari preparasi hingga pembuatan laporan penelitian:



Gambar 3. 2 Diagram Alur Penelitian