

IV. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 21 Oktober - 6 Nopember 1996 di Laboratorium Pengembangan Wilayah Pantai (LPWP), Jepara.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Tabel 01. Alat yang dipergunakan dalam penelitian

No	Nama alat	Kegunaan
1.	DO meter	Mengukur DO
2.	Termometer air	Mengukur suhu air
3.	Salino refraktometer	Mengukur salinitas
4.	pH meter	Mengukur derajat asam
5.	Ember plastik	Tempat hewan uji
6.	Timbangan elektronik	Untuk menimbang
7.	Plastik ukuran 2 liter	Tempat inkubasi
8.	Jam (timer)	Untuk mencatat waktu
9.	Pipet tetes	Mengambil larutan
10.	Kertas tissue	Membersihkan alat
11.	Test kitt	Mengukur kadar amonia
12.	Aerator	Untuk aerasi
13.	Elemeyer (volume 50 ml)	Menampung larutan
14.	Buret (volume 50 ml)	Menampung larutan

2. Bahan

- teripang pasir (*Holothuria scabra*)
- air laut
- air tawar
- kristal garam tambak
- reagent Messler (HgCl_2 , KI, NaOH)
- reagent EDTA (*Etilen Diamin Tetra Acetat*)
- Phenoptalin (PP)
- Natrium Carbonat (Na_2CO_3) 0,0454 N
- aquades
- kotoran ayam (kering) dan dedak bekatul

C. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Alat

Dilakukan persiapan peralatan yang akan digunakan untuk mengukur kelarutan oksigen beserta peralatan untuk mengukur parameter-parameter lain seperti kandungan amonia, CO_2 bebas, pH, dan suhu seperti yang tertera pada Tabel 01.

2. Persiapan Air Media

Air media diperoleh dari sistem penyediaan air laut di LPWP yang telah mengalami filtrasi melalui *sand filter* (saringan pasir), *bio filter* dan *diatomaceous filter*. Sebelum digunakan, dilakukan sterilisasi dengan Hypoklorit 150 ml dalam bak penampungan berkapasitas 1 ton air. Diberi aerator untuk aerasi selama 24 jam, kemudian ditambahkan 36 gram thiosulfat sebagai pereduksi. Setelah didiamkan selama 6 jam air, bisa digunakan sebagai media uji.

3. Penyediaan dan Persiapan Hewan Uji

Teripang pasir yang digunakan berasal dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Jepara. Hewan uji yang digunakan dipilih dengan berat tubuh kira-kira 250 gram dan berumur 5 bulan. Sebelum dilakukan penelitian terlebih dahulu hewan tersebut diaklimatisasi secara bertingkat dalam bak atau ember plastik selama 3 kali 16 jam, seperti yang telah dijelaskan oleh Anggoro (1992). Selama aklimatisasi dalam bak diberi aerator untuk mensuplai oksigen. Dalam proses aklimatisasi juga diberi pakan tambahan berupa dedak bekatul yang dicampur dengan kotoran ayam, seperti yang telah dianjurkan oleh Sutaman (1993).

4. Pembuatan Media Uji

Disiapkan air yang telah mengalami proses filtrasi dan sterilisasi, disiapkan pula ember dan tempat inkubasi berupa kantong plastik. Kemudian ditentukan salinitas air yaitu 16 ppt, 23 ppt, 30 ppt, 37 ppt, dan 44 ppt dengan metode pengenceran dan pemekatan. Salinitas 30 ppt sebagai kontrol perlakuan. Dalam penentuan salinitas air media digunakan rumus Helland Hensen dalam Akhmad (1989) sebagai berikut:

$$S_t = \frac{S_1 V_1 + S_2 V_2}{V_1 + V_2}$$

S_t = salinitas air uji (ppt)

S_1 = salinitas air laut (ppt)

S_2 = salinitas air tawar (ppt)

V_1 = volume air laut (liter)

V_2 = volume air tawar (liter)

Dilakukan pengecekan terhadap air media untuk mengantisipasi salinitas yang tidak sesuai dengan menggunakan salino-refraktometer. Untuk membuat salinitas diatas 30 ppt dilakukan penambahan dengan kristal garam, dan untuk salinitas di bawah 30 ppt dengan pengenceran menggunakan air tawar.

5. Pelaksanaan Penelitian

- a. Disediakan air laut tersaring sama dengan kondisi parameter salinitas seperti saat aklimatisasi.
- b. Dilakukan pengisian kantong-kantong plastik dengan air media yang telah dipersiapkan masing-masing sebanyak 2 liter, selanjutnya digojok pelan-pelan selama beberapa menit untuk memaksimalkan konsentrasi oksigen terlarut.
- c. Teripang pasir dimasukkan ke dalam kantong plastik. Setiap unit perlakuan ditempatkan satu teripang pasir dengan 4 kali ulangan.
- d. Dilakukan pengukuran terhadap kandungan DO (*Dissolved Oxygen*) awal dengan DO meter untuk masing masing satuan percobaan.

- e. Kantong plastik yang berisi teripang pasir diinkubasi dengan cara diikat secara hati-hati dengan plaster atau tali karet agar tidak terjadi kontak langsung dengan udara bebas.
- f. Kantong plastik kemudian diletakkan dalam ember yang berisi air laut sebagai buffer perubahan suhu dan ditempatkan sesuai dengan pengacakan.
- g. Perlakuan yang sama dilakukan terhadap kontrol unit perlakuan, (tetapi tanpa hewan uji) sebagai kontrol terhadap kelarutan oksigen oleh faktor mikroorganisme.
- h. Dilakukan inkubasi selama 12 jam.
- i. Setelah inkubasi, dilakukan pengukuran DO akhir pada setiap satuan percobaan.
- j. Dilakukan perhitungan laju konsumsi oksigen dengan rumus Omori and Ikeda., (1984) sebagai berikut :

$$R = \frac{(E_{Ox1} - E_{Ox2}) - (C_{Ox1} - C_{Ox2}) V}{t \text{ (BT)}}$$

Keterangan :

R = laju konsumsi oksigen
(mg/kg/jam/individu)

E_{Ox1} = Oksigen terlarut awal medium uji (mg/l)

E_{Ox2} = Oksigen terlarut akhir medium uji (mg/l)

C_{Ox1} = Oksigen terlarut awal medium kontrol (mg/l)

C_{Ox2} = Oksigen terlarut akhir medium kontrol (mg/l)

V = Volume air media inkubasi (liter)

t = Periode inkubasi (12 jam)

BT = Berat tubuh hewan (kg)

Perhitungan tingkat error laju konsumsi oksigen secara matematis adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} = nilai laju konsumsi oksigen pada perlakuan salinitas yang ke-i dan ulangan yang ke-j.

μ = nilai tengah dari seluruh perlakuan

α_i = efek dari salinitas ke-i

ε_{ij} = error pada perlakuan salinitas yang ke-i dan ulangan ke-j.

(Srigandono, 1989).

k. Dilakukan pengukuran terhadap parameter fisika-kimia air seperti salinitas, pH, CO₂ bebas, suhu, dan amonia dengan alat seperti yang tertera dalam Tabel 01.

D. Parameter fisiko-kimia

- Oksigen terlarut awal
- Oksigen terlarut akhir
- CO₂ bebas
- suhu
- Derajat keasaman (pH)

E. Tata Letak Rancangan Percobaan

Percobaan ini terdiri dari 5 perlakuan dengan konsentrasi salinitas yang berbeda-beda yaitu sebesar 16

ppt, 23 ppt, 30 ppt, 37 ppt, dan 44 ppt yang masing-masing dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Untuk tiap-tiap perlakuan diberi bak kontrol pada setiap satuan percobaan dengan pengulangan yang sama. Tata letak Rancangan Percobaan adalah sebagai berikut :

A ₁ a ₁	D ₁ d ₁	E ₂ e ₂	C ₄ c ₄	D ₃ d ₃
C ₁ c ₁	B ₂ b ₂	D ₂ d ₂	E ₄ e ₄	B ₁ b ₁
E ₃ e ₃	B ₄ b ₄	A ₃ a ₃	A ₂ a ₂	C ₃ c ₃
C ₂ c ₂	D ₄ d ₄	E ₁ e ₁	A ₄ a ₄	B ₃ b ₃

Keterangan :

- Huruf besar menunjukkan tingkat salinitas dengan perlakuan hewan uji.
- Huruf kecil menunjukkan tingkat salinitas tanpa hewan uji (sebagai kontrol).

A (a) : Salinitas 16 ppt
 B (b) : Salinitas 23 ppt
 C (c) : Salinitas 30 ppt
 D (d) : Salinitas 37 ppt
 E (e) : Salinitas 44 ppt

F. Model Rancangan Percobaan

Rancangan Percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun penempatannya didasarkan pada tabel random (acak) dengan sistem undian dan semua satuan percobaan merupakan satu kesatuan. Semua satuan percobaan yang dikenai perlakuan diusahakan bersifat homogen.

Data oksigen terlarut awal dan oksigen terkonsumsi yang diperoleh diolah dengan Analisa of Varians. Data yang menunjukkan beda nyata selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil pada taraf perlakuan 5 % dan 1 %.