

BAB IV

METODA PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengembangbiakan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru yang berlangsung selama enam bulan, dimulai semenjak turunnya dana.

3.2 Materi Penelitian

1. Hormon

Hormon sebagai obat perangsang yang digunakan untuk percobaan pemijahan buatan adalah ovaprim berupa kemasan 10 ml yang setiap ml mengandung 20 µg sGnRH-a (D-Arg⁶, Trp⁷, Leu⁸, Pro⁹-NET) – LHRH dan 10 mg anti dopamin (Nandeeshu et al, 1990). Selain itu digunakan pula Prostaglandin F_{2α}, berupa kemasan 2 ml yang setiap ml mengandung 7,5 mg Prostaglandin.

2. Mami dan Telur Ikan Uji

Mami dan telur ikan baung untuk percobaan penelitian ini diperoleh dari induk ikan yang telah dimatangkan di Kolam Percobaan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Induk ikan baung jantan dan betina memiliki kisaran panjang antara 31 – 36 cm dan kisaran berat antara 450 – 550 gram serta memiliki tingkat kematangan gonad yang sama (TKG IV). Selanjutnya mami dan telur dari induk ikan uji diperoleh melalui pengurutan/penyetrippingan yang sebelumnya telah disuntik dengan kombinasi Ovaprim dan PG F_{2α}.

3. Larutan Pengencer

Larutan pengencer yang digunakan adalah Ringer yang mengandung konsentrasi garam 8 gram atau 0,8 dan mengandung pH 7, seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Larutan Ringer (hasil konversi dari OXOII) dalam (Hermiah, 1983).

| No. | Jenis Bahan | Konsentrasi (g/l) |
|-----|--------------------|-------------------|
| 1. | Natrium Chlorida | 7,200 |
| 2. | Kalium Chlorida | 0,336 |
| 3. | Kalsium Chlorida | 0,384 |
| 4. | Natrium Bikarbonat | 0,160 |
| | Jumlah | 8,080 |

4. Larutan Pembuahan

Larutan pembuahan yang digunakan terdiri dari 4 gram NaCl + 3 gram urea kedalam 1 liter air suling (Woynarovich dan Horvath, 1980) yang berguna untuk meningkatkan fertilisasi (derajat pembuahan).

5. Zat Pelindung Spermatozoa

Sebagai zat pelindung spermatozoa dalam penyimpanan semen pada penelitian ini digunakan methanol 99,8 % dalam bentuk larutan dengan konsentrasi berbeda, yaitu 5, 10, 15 % dari larutan pengencer.

6. Peralatan

Untuk pengambilan dan penyimpana semen digunakan peralatan antara lain spuit (alat suntik tanpa jarum), 2 ml sebanyak 36 buah dan 3 ml sebanyak 6 buah, botol kecil sebanyak 36 buah, termometer, termos es, kertas tissue, kertas aluminium foil dan lemari es. Sedangkan pengukuran kualitas spermatozoa

digunakan peralatan antara lain : 1 buah mikroskop dengan pembesaran 10 x 40 dan 10 x 10, cover glass, object glass, mangkok plastik kecil sebanyak 36 buah, akuarium yang berukuran 30 x 30 x 25 cm yang telah dilengkapi dengan aerasi sebanyak 36 buah.

3.3 Prosedur Penelitian

1. Persiapan Ikan Uji

Induk jambal siam ; digunakan dalam penelitian ini berasal dari perairan Sungai Kampar yang memiliki tingkat kematangan gonad (TKG) II dan III, yang selanjutnya dimatangkan di Kolam Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau selama 3 bulan. Selama pematangan induk ikan uji diberi pakan ikan rucah sebanyak 2 % bobot tubuh/hari (Sukendi, 2001). Pada saat penyuntikan induk ikan uji telah memiliki TKG IV sehingga volume semen dari induk ikan jantan dan jumlah telur dari induk ikan betina dapat diperoleh secara maksimal.

2. Pengambilan Semen dan Telur Ikan Uji

Untuk pengambilan semen dan telur dari ikan uji dilakukan dengan penyitrippingan/pengurutan, yang sebelumnya ikan uji telah disuntik dengan kombinasi Ovaprim dan PG $F_{2\alpha}$. Suntikan terhadap ikan uji dilakukan sebanyak dua kali, dengan selang waktu 6 jam (Woynarovich dan Horvath, 1980). Suntikan pertama menggunakan Ovaprim dan suntikan kedua menggunakan PG $F_{2\alpha}$. Selanjutnya pengurutan dilakukan enam jam setelah suntikan kedua, bila belum

terjadi ovulasi pengurutan berikutnya dilakukan setiap satu jam sekali (Sukendi, 2001).

3. Penyimpanan Semen

Dalam penyimpanan semen terlebih dahulu disiapkan larutan pengencer (Ringer) sebanyak 5 ml masing-masing perlakuan. Larutan Ringer dari masing-masing perlakuan tersebut ditambahkan methanol dengan komposisi ;

1. 5 % (0,25 ml methanol + 4,75 ringer)
2. 10 % (0,50 ml methanol + 4,50 ml ringer)
3. 15 % (0,75 ml methanol + 4,25 ml ringer)

Semen dari induk ikan uji diambil sebanyak empat kali, dengan pengambilan secara mundur yaitu dimulai dari waktu penyimpanan (3 x 24 jam), (2 x 24 jam), (1 x 24 jam) dan (0 x 24 jam) dengan jarak pengambilan 24 jam sehingga fertilisasi dapat segera dilakukan secara bersamaan. Percampuran semen dengan larutan pengencer dilakukan di dalam botol kecil, dengan cara mengambil 0,1 ml semen lalu diencerkan dengan larutan pengencer yang telah disiapkan dengan perbandingan 1 : 50 (0,1 ml semen : 5 ml pengencer) sesuai dengan perlakuan dan diaduk secara perlahan. Selanjutnya semen yang telah diencerkan tersebut masing-masing perlakuan disedot ke dalam 3 alat suntik (3 kali ulangan). Tiap kali pengambilan terdiri dari 9 contoh, masing-masing sebanyak 4 ml untuk fertilisasi dan 1 ml disimpan dalam botol kecil (ditutup dengan kertas aluminium foil) untuk pengamatan konsentrasi dan motilitas spermatozoa. Setiap perlakuan dan ulangan yang secara acak dialokasikan sebagai berikut ; 1) tiga alat suntik

pertama diisi semen dengan penambahan methanol 5 % ; 2) tiga alat suntik kedua diisi semen dengan penambahan methanol 10 % ; 3) tiga alat suntik ketiga diisi semen dengan penambahan methanol 15 %. Selanjutnya semua alat suntik dan botol kecil disimpan dalam lemari es pada temperatur 5 – 10⁰ C.

3.4 Hipotesis dan Asumsi

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah ;

- Ada pengaruh perbedaan lama penyimpanan semen terhadap kualitas spermatozoa ikan jambal siam
- Ada pengaruh konsentrasi methanol yang berbeda terhadap kualitas spermatozoa ikan jambal siam
- Ada interaksi antara lama penyimpanan semen dengan konsentrasi methanol terhadap kualitas spermatozoa ikan jambal siam

3.5 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial yang terdiri atas dua faktor, yaitu ;

1. Faktor A adalah lama penyimpanan semen yang terdiri atas empat taraf perlakuan masing-masing 0 x 24 jam (tanpa disimpan) : 1 x 24 jam ; 2 x 24 jam dan 3 x 24 jam.
2. Faktor B adalah konsentrasi methanol dalam pengencer yang terdiri atas 3 taraf perlakuan, yaitu 5 ; 10 dan 15 %.

Model umum rancangan pola faktorial yang digunakan menurut Sudjana (1984) sebagai berikut ;

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{k(ij)}$$

Dimana ; Y_{ijk} = hasil pengamatan lama penyimpanan ke- i , konsentrasi Methanol ke- j dan ulangan ke- k

μ = efek nilai tengah atau rata-rata

A_i = efek lama penyimpanan ke- i

B_j = efek interaksi antara lama penyimpanan ke- i dan konsentrasi methanol ke- j

$E_{k(ij)}$ = kesalahan percobaan pada lama penyimpanan ke- i , konsentrasi methanol ke- j dan ulangan ke- k

Tabel 2. Kombinasi perlakuan lama penyimpanan pada konsentrasi methanol yang berbeda

| Perlakuan Kombinasi | Lama penyimpanan (jam) | | | | Konsentrasi methanol (%) | | |
|---------------------|------------------------|--------|--------|--------|--------------------------|----|----|
| | A0 | A1 | A2 | A3 | B1 | B2 | B3 |
| A0B1 | 0 x 24 | | | | 5 | | |
| A0B2 | 0 x 24 | | | | | 10 | |
| A0B3 | 0 x 24 | | | | | | 15 |
| A1B1 | | 1 x 24 | | | 5 | | |
| A1B2 | | 1 x 24 | | | | 10 | |
| A1B3 | | 1 x 24 | | | | | 15 |
| A2B1 | | | 2 x 24 | | 5 | | |
| A2B2 | | | 2 x 24 | | | 10 | |
| A2B3 | | | 2 x 24 | | | | 15 |
| A3B1 | | | | 3 x 24 | 5 | | |
| A3B2 | | | | 3 x 24 | | 10 | |
| A3B3 | | | | 3 x 24 | | | 15 |

Keterangan : A0 = Lama penyimpanan 0 x 24 jam

A1 = Lama penyimpanan 1 x 24 jam

A2 = Lama penyimpanan 2 x 24 jam

A3 = Lama penyimpanan 3 x 24 jam

B1 = Konsentrasi methanol 5 % pengencer

B2 = Konsentrasi methanol 10 % pengencer

B3 = Konsentrasi methanol 15 % pengencer

3.6 Peubah yang Diukur

1. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa diukur bersamaan dengan penentuan konsentrasi spermatozoa. Setelah diketahui jumlah total spermatozoa dalam 5 kamar (80 ruangan kecil) pada gelas objek Neubauer kemudian dihitung jumlah spermatozoa yang immotil (pergerakan tidak progresif seperti melingkar, mundur atau diam), sehingga didapatkan jumlah spermatozoa yang motil (pergerakan progresif atau aktif maju kedepan). Pengamatan spermatozoa motil membutuhkan waktu 5 - 10 menit. Jumlah spermatozoa motil = total spermatozoa - spermatozoa immotil, sehingga diperoleh nilai motilitas spermatozoa sebagai berikut ;

$$\text{Motilitas spermatozoa} = \frac{\sum \text{spermatozoa motil}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100 \%$$

2. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa dihitung berdasarkan pewarnaan spermatozoa dengan eosin 2 %. Pengamatan adalah dengan menghitung perbandingan spermatozoa yang tidak terwarnai (hidup) dengan yang berwarna (mati) oleh eosin dan dinyatakan dalam persen. Untuk menentukan viabilitas, diamati sebanyak 200 sel spermatozoa dari masing-masing perlakuan sehingga diperoleh nilai viabilitas spermatozoa sebagai berikut ;

$$\text{Viabilitas spermatozoa} = \frac{\sum \text{spermatozoa hidup}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100 \%$$

3. Fertilitas Spermatozoa

Fertilitas spermatozoa diukur dengan memakai metode sensus (seluruh telur yang dibuahi dan tidak dibuahi dihitung secara mikroskopis). Kemudian dinyatakan dalam persen (Suseno dan Cholik, 1982 dan Suseno, 1983) yaitu ;

$$\text{Fertilitas spermatozoa} = \frac{\sum \text{telur yang dibuahi}}{\text{Jumlah telur sampel}} \times 100 \%$$

4. Daya Tetas Spermatozoa

Daya tetas spermatozoa diukur dengan memakai metode sensus (seluruh telur yang menetas dan tidak menetas dihitung seluruhnya), kemudian dinyatakan dalam persen (Suseno dan Cholik, 1982 dan Suseno, 1983), yaitu ;

$$\text{Daya tetas spermatozoa} = \frac{\sum \text{telur yang menetas}}{\text{Jumlah telur sampel}} \times 100 \%$$