

III. METODE PENELITIAN

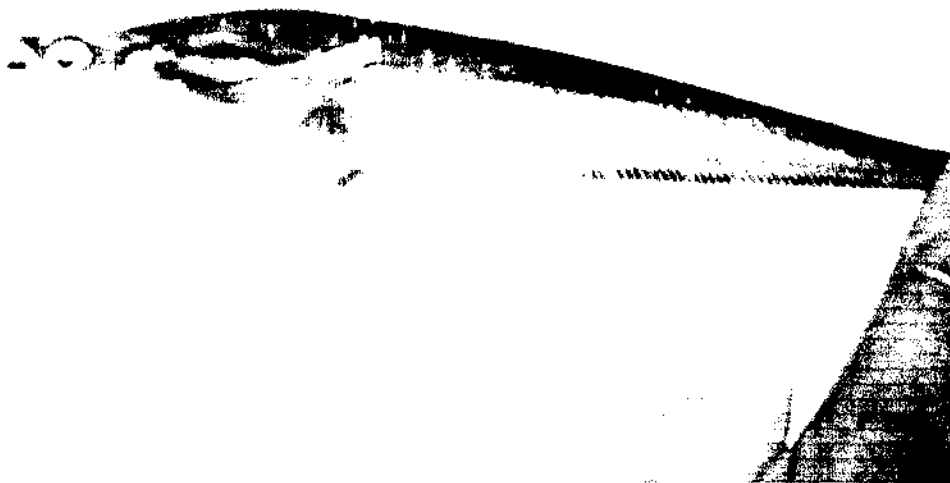
3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai dengan Oktober 2007 di Laboratorium Pengembangbiakan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan selais, *Ompok hypophthalmus* yang diperoleh dengan cara mengumpulkan dari nelayan di Danau Baru Desa Mentulik, Kampar Riau. Induk betina yang digunakan mempunyai ukuran berat 120 - 156 gram dan panjang sekitar 26,5 – 27,0 cm. Induk betina yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Induk ikan selais (*Ompok hypophthalmus*) yang digunakan

3.2.2. Zat perangsang

Sebagai zat perangsang ovulasi digunakan larutan kelenjar hipofisa ikan mas segar, yang telah digerus dan dilarutkan dengan aquabides. Sedangkan hormon HCG diproduksi oleh Intervet B.V, Boxmer, Holland) yang diberi nama dagang Chorulon, per ampul (5 ml) berisikan 1500 IU.

3.2.3. Wadah percobaan

Wadah tempat ikan yang telah disuntik digunakan akuarium sebanyak 8 buah dengan ukuran 4 x 2 x 1,5 m yang dilengkapi dengan aerasi dan ditutupi dengan plastik , bertujuan agar supaya ikan tidak melompat keluar. Sedangkan untuk penetasan telur digunakan akuarium sebanyak 12 buah yang berukuran 0,65 x 0,45 x 0,40 m juga dilengkapi dengan aerasi.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Persiapan ikan uji

Ikan yang akan disuntik terlebih dahulu dilakukan pengukuran diameter telurnya. Sampel telur diambil dengan menggunakan cateter canula polyethylen, kemudian diawetkan dan sekaligus mengamati inti telur dengan memberi beberapa tetes larutan transaran (85 cc alkohol 95%, 10 cc formaldehid 40 %, 5 cc asam acetat 100%, Woyanrovich dan Horvath, 1981) yang diletakkan di dalam cawan petridish. Ikan segera disuntik apabila diameter telurnya telah mencapai 1 mm atau lebih dan inti telurnya telah menepi 80% (Rustidja dan Maheno 1991). Karena ukuran diameter telur yang telah mencapai 1 mm atau lebih ini menunjukkan ikan berada pada tahap akhir proses vitellogenesis dan dapat diberi rangsangan hormonal (Lam, 1985).

3.3.2. Pengambilan Kelenjar Hipofisa

Langkah-langkah yang harus dilakukan dalam mengambil kelenjar hipofisa adalah : (a) Siapkan ikan mas jantan (sebaiknya matang gonad) yang akan diambil hipofisanya, kemudian letakan ikan tersebut diatas talenan (papan), (b) Potong kepala batasnya diujung tutup insang dengan pisau (golok) hingga putus, (c) Kepala yang sudah terpotong tadi dipisahkan dari bagian badannya, lalu kepala tersebut diletakan diatas papan / talenan dengan mulut mengarah keatas, (d) Potong bagian kepala dari

atas ke bawah mulai dari batas mata secara hati-hati hingga putus dengan pisau tajam, (e) Bersihkan darah pada bagian otak besar dengan tissue. (f) Angkat urat syaraf yang tampak dibagian caudal dengan pinset atau tusuk gigi secara hati-hati. (g) Bersihkan lagi bagian otak yang telah diangkat dengan tissue, sehingga kelihatan kelenjar hipofisa yang berwarna putih sebesar biji kacang hijau. (h) Kelenjar Hipofisa yang kelihatan sebesar biji kacang hijau terletak dalam lubang sella tursica diangkat dengan hati-hati agar tidak pecah dengan menggunakan pinset atau tusuk gigi (i) Setelah diperoleh kelenjar tersebut lalu dibersihkan dengan akuades dari darah-darah yang melekat Untuk lebih jelasnya cara pengambilan kelenjar hipofisa dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Cara pengambilan kelenjar hipofisa dan pembuatan ekstrak kelenjar Hipofisa ikan mas.

3.3.3. Membuat Larutan Kelenjar Hipofisa

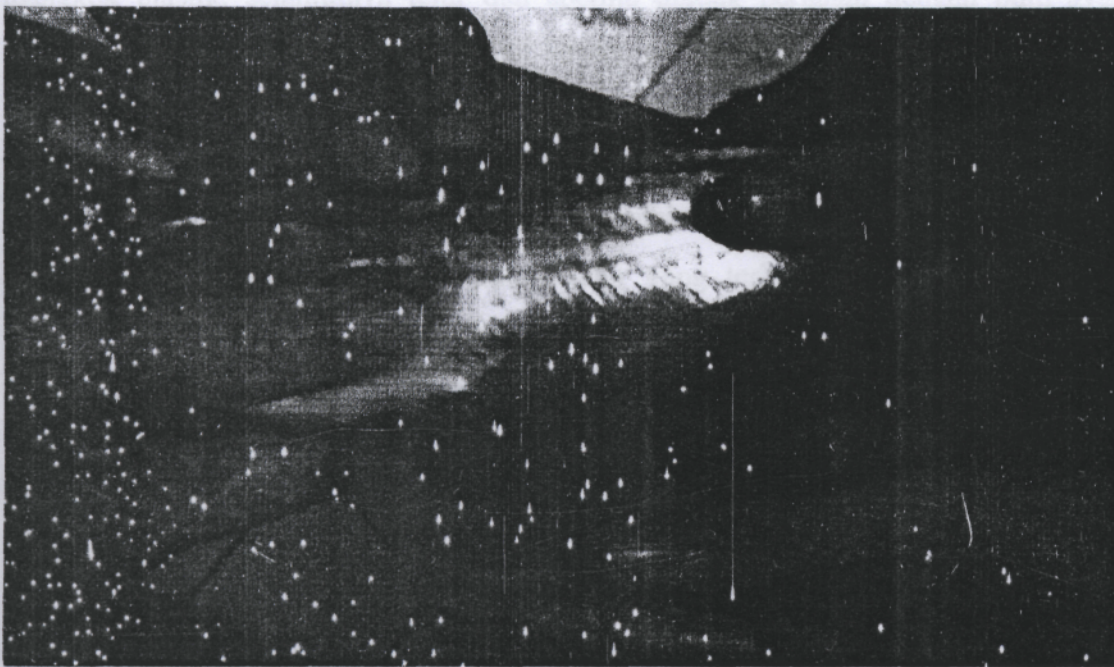
Adapun langkah-langkah yang dilakukan untuk membuat larutan kelenjar hipofisa adalah: (a) Kelenjar hipofisa yang sudah bersih tadi dimasukan ke dalam penggerus atau mortal (Gambar 4) dan kemudian digerus sampai halus, setelah halus tambahkan akuades atau larutan Natrium Clorida (Larutan fisiologis untuk hipofisa yang telah diawetkan) sebanyak 0,5 – 1 ml (b) Setelah akuades bercampur dengan kelenjar hipofisa yang ditandai oleh warna larutan yang putih susu (supernatan) kemudian larutan tersebut dimasukan ke dalam tabung (cuve) dan selanjutnya di

sentrifugal (dipusingkan) dengan sentrifus tangan atau listrik selama 5-10 menit.(c) Setelah selesai maka sentrifugal dimatikan dan tabung diangkat, larutan supernatan yang berada di dalam tabung disedot dengan menggunakan jarum suntik, sedangkan endapannya ditinggalkan.(d) Larutan yang telah terdapat dispoit tersebut siap disuntikan kepada induk yang akan dipijahkan.

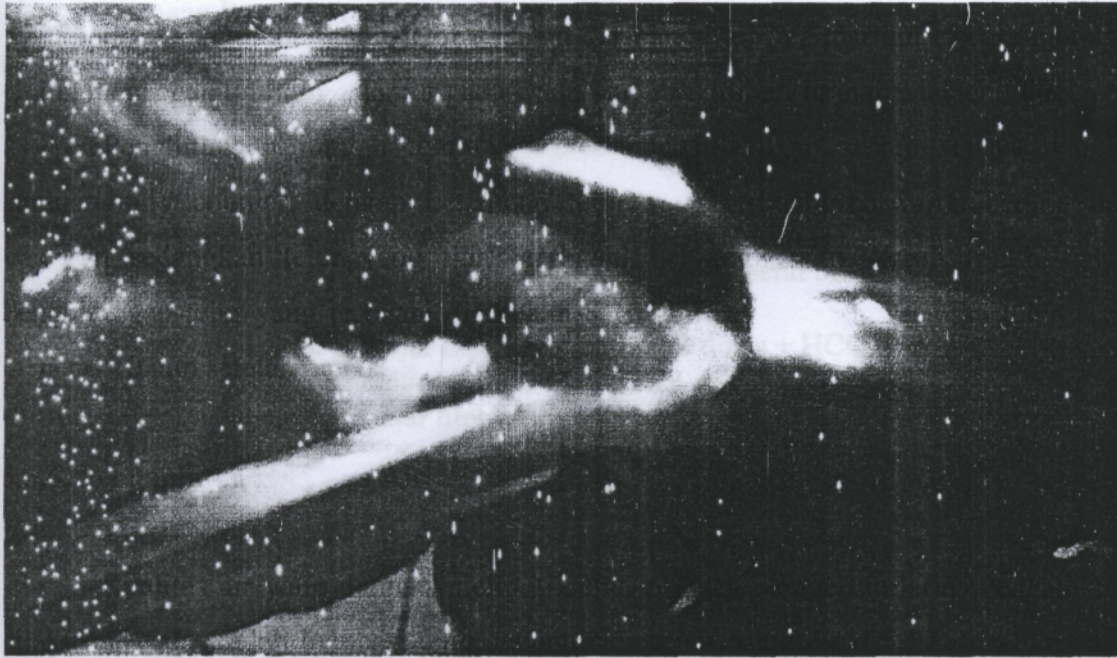
3.3.4. Penyuntikan , Pengurutan dan Pengambilan sperma

Penyuntikan dilakukan dua kali dengan selang waktu penyuntikan pertama dengan kedua berjarak 6 jam (Woyanrovich dan Horvath, 1981). Penyuntikan pertama diberikan larutan kelenjar hipofisa ikan mas segar, sedangkan penyuntikan kedua diberikan hormon HCG dengan dosis sesuai masing-masing perlakuan.

Pengurutan pertama kali terhadap ikan uji dilakukan 6 jam setelah penyuntikan ke dua, dengan cara memberi sedikit tekanan halus sepanjang abdomen ke arah genital. Telur hasil pengurutan dapat dilihat pada Gambar 5. Sedangkan pengambilan spermatozoa induk jantan dilakukan dengan cara membedah induk tersebut dan selanjutnya gonad dikeluarkan, kemudian dibersihkan dari darah-darah yang melekat selanjutnya gonad dimasukan dalam gelas beker lalu digunting-gunting sambil ditambahkan larutan NaCl 0,09%. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 5. Induk ikan selais yang sedang dilakukan pengurutan dan mengeluarkan telur.



Gambar 6. Pengambilan spermatozoa induk jantan dengan cara dibedah .

3.3.5. Pembuahan dan Penetasan Telur

Pembuahan telur dilakukan secara buatan dengan metode kering, yaitu mencampurkan telur dan sperma yang telah diencerkan dengan NaCl 0,09% didalam mangkok plastik, selanjutnya telur dan sperma diaduk perlahan dengan bulu ayam sambil ditambahkan sedikit demi sedikit larutan pembuahan. Setelah telur dan sperma tercampur rata kemudian telur-telur tersebut disebar pada aquarium secara merata . Untuk mencegah timbulnya jamur pada wadah incubasi diberi larutan Malachit Green.

Penghitungan jumlah telur yang terbuahi dilakukan secara sensus dengan bantuan tally counter, dengan ketentuan telur yang terbuahi berwarna bening dan trasfaran sedangkan telur yang tidak terbuahi berwarna putih keruh (putih susu). Penghitungan telur yang terbuahi dilakukan 8-10 jam setelah fertilisasi dan telur yang menetas 10 jam setelah menetas.

3.3.6. Pengamatan Kualitas Air

Kualitas air yang diamati meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut. Pengamatan dilakukan pada wadah incubasi telur selama penelitian, yang diukur 3 kali sehari pada pagi, siang dan sore hari.

3.4. Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini mencobakan perlakuan kombinasi Penyuntikan larutan kelenjar hipofisa segar ikan mas dan hormon HCG (Human Chorionic Gonadotropin).

Adapun perlakuan yang dimaksud adalah penyuntikan :

- A : Larutan faal (larutan NaCl 0,65%) sebanyak 1 ml/kg berat badan ikan uji (sebagai kontrol)
- B : Penyuntikan larutan kelenjar hipofisa ikan mas 3 dosis + HCG 200 IU/kg BB
- C : Penyuntikan larutan kelenjar hipofisa ikan mas 3 dosis + HCG 300 IU/kg BB
- D : Penyuntikan larutan kelenjar hipofisa ikan mas 3 dosis + HCG 400 IU/kg BB

3.5. Peubah Yang Diukur

Peubah yang diukur adalah:

1. Waktu Laten (jam)

Waktu laten ditentukan dengan menghitung selisih waktu antara suntikan kedua sampai terjadi ovulasi

2. Jumlah telur yang diovulasikan

Pengukuran jumlah telur yang diovulasikan dilakukan secara gravimetrik (Effendie, 1992), dengan menggunakan rumus :

$$F = a/b \times n$$

Dimana :

- F = Jumlah telur (butir) yang berhasil diovulasikan
- a = Bobot (gram) semua telur yang diovulasikan
- b = Bobot (gram) sub sampel telur
- n = Jumlah rata-rata telur (butir) sub sampel telur

3. Diameter telur

Pengukuran diameter telur dilakukan sebelum dan sesudah dilakukan penyuntikan, dengan cara mengambil sampel telur dengan cateter canula polyethylene, kemudian diawetkan dengan cara memberi sedikit larutan transfaran, kemudian diambil secara acak sebanyak 50 butir telur untuk diukur diameternya dengan menggunakan mikrometer okuler.

4. Kematangan telur

Kematangan telur diukur sebelum dan sesudah penyuntikan, dengan cara penilaian berdasarkan letak intinya. Sampel telur diambil sebanyak 50 – 100 butir

kemudian ditetesi beberapa tetes larutan transfaran (Woynarovich dan Horvath, 1981). Setelah 5 – 10 menit telur-telur tersebut kemudian dihitung berapa persen intinya telah berpindah ketepi.

5. Persentase Angka Pembuahan Telur

Nilai angka pembuahan ditentukan dengan menggunakan rumus menurut Suseno dan Cholik (1982), sebagai berikut :

$$\text{Angka pembuahan} = \frac{\text{Jumlah telur yang dibuahi}}{\text{Jumlah telur sampel}} \times 100\%$$

6. Persentase Angka Penetasan Telur

Untuk menghitung daya tetas telur digunakan rumus menurut Suseno dan Cholik (1982) sebagai berikut:

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

3.6. Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil percobaan ditabulasikan kedalam tabel-tabel kemudian data tersebut ditafsirkan dan dianalisa secara deskriptif dengan cara membandingkan dengan penelitian terdahulu yang ada kaitannya dengan penelitian ini dan literatur yang ada.