

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan tempat

Pada penelitian ini sampel dibeli dari nelayan yang menangkap ikan di Waduk PLTA Koto Panjang yang terletak di Kabupaten Kampar Provinsi Riau. Sampel ikan dibawa ke Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNRI dan selanjutnya dianalisa di Laboratorium Unit Layanan Terpadu.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah:

- Cool box untuk menyimpan ikan selama transportasi
- Freezer untuk menyimpan sampel ikan
- Satu set alat bedah untuk membedah ikan
- Kantong plastik kecil untuk menyimpan otolith dan tulang belakang
- Kertas label
- Nampan plastik untuk tempat ikan selama dibedah
- Batu asah kasar
- Batu asah halus
- Object glass
- Hot plate
- Lampu bunsen
- Mikroskop binokuler
- Kamera digital untuk pengambilan gambar

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

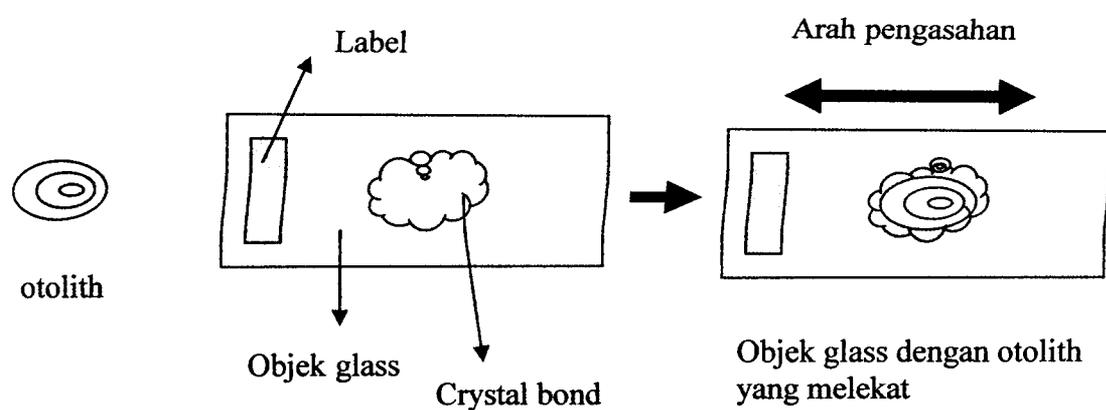
- Ikan tambakan dari berbagai ukuran sebanyak 45 ekor
- Crystal bond (1 batang) untuk melekatkan otolith/ tulang punggung pada object glass
- Es batu untuk mengawetkan ikan sampel
- Bleach (cairan pemutih) untuk membersihkan jaringan yang melekat pada tulang/ otolith
- Aquadest untuk mencuci sampel

- Kertas tissue
- Spiritus untuk bahan bakar lampu bunsen

3.3. Prosedur pengambilan dan pengasahan otolith dan tulang belakang

- Pengambilan otolith:** biasanya pengambilan otolith dilakukan dengan memotong bagian dorsal kepala ikan, kemudian otak disingkirkan dan setelah otolith nampak kemudian otolith tersebut diambil. Tetapi metode ini tidak praktis karena otolith yang berwarna putih dan kecil kadang-kadang sulit ditemukan bila jaringan tubuh ikan seperti otak dan otot serta darah bercampur di rongga kepala. Oleh karena itu pada penelitian ini otolith akan diambil dengan menggunakan metode yang berbeda. Adapun cara pengambilan otolith adalah sebagai berikut: Mula-mula otot yang terletak di bagian pertemuan antara kedua operculum di bagian ventral kepala ikan dipotong. Kemudian kepala ikan dibengkokkan ke arah dorsal sehingga ruas/sambungan antara kepala dan badan patah. Selanjutnya kepala ikan dipotong, insang dibuang dan jaringan yang ada pada langit-langit mulut ikan dibersihkan. Setelah jaringan ini bersih, akan nampak tonjolan tulang yang membungkus otolith. Tulang tersebut digunting dan otolith diambil.
- Pengambilan ruas tulang punggung.** Dalam penelitian ini, ruas tulang punggung yang akan dipakai adalah ruas tulang punggung ke 2. Cara pengambilan ruas tulang punggung ini adalah sebagai berikut: Bagian anterior dari badan ikan (bagian kepala ikan sudah diambil untuk pengambilan sample otolith) dipotong, sekitar 1-2 cm. Kemudian tulang belakang pada potongan badan ikan tersebut diambil dan ruas nomer 2 dipisahkan dari ruas-ruas lainnya. Selanjutnya ruas tulang punggung nomer 2 maupun otolith yang sudah diambil dicelupkan ke dalam cairan pemutih / bleach/ Bayclin selama sekitar 5 detik. Jaringan yang masih melekat pada ruas tulang punggung dan otolith dibersihkan secara manual. Kemudian otolith dan ruas tulang punggung yang sudah bersih dari jaringan dicuci dengan akuades, dikeringkan dengan kertas tissue dan disimpan di dalam kantong plastik yang sudah diberi label.

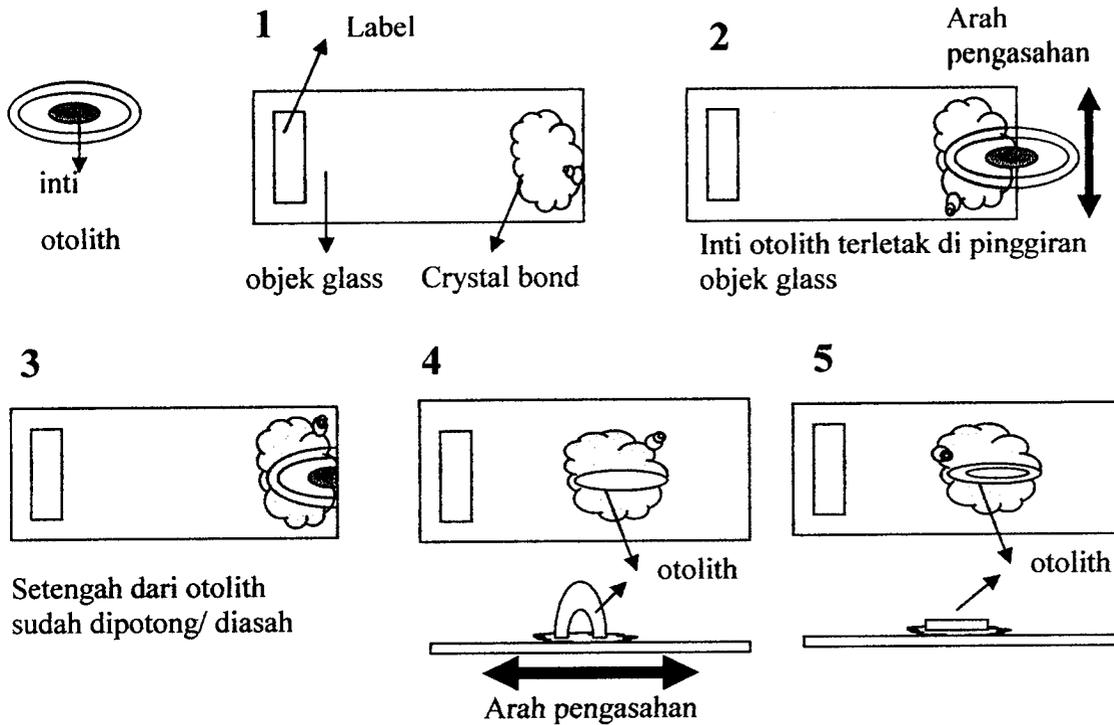
c. **Pemotongan dan pengasahan otolith berukuran kecil (panjang otolith kurang dari 2 mm):** untuk melihat lingkaran pertumbuhan pada otolith yang berukuran kecil, otolith ini harus diasah dan caranya adalah sebagai berikut: Mula-mula sepotong kecil Crystal bond diletakkan pada bagian tengah objek glass yang sudah diberi label. Objek glass ini dipanaskan dengan menggunakan hot plate dengan suhu sekitar 45°C sampai Crystal bond meleleh. Otolith diletakkan pada Crystal bond yang meleleh tersebut secara horizontal dan kemudian Crystal bond dibiarkan mendingin dan mengeras. Setelah itu otolith diasah secara horizontal menggunakan batu asah halus. Setelah lingkaran nampak jelas bila diamati di bawah mikroskop, objek glass dipanaskan kembali sampai Crystal bond meleleh lagi. Lelehan Crystal bond ini digunakan untuk menutupi otolith yang sudah diasah. Selanjutnya sampel diamati di bawah mikroskop (Lihat Gambar 2).



Gambar 2. Metoda pengasahan otolith yang berukuran kecil (Sumber: Windarti, 2007).

d. **Pemotongan dan pengasahan otolith yang berukuran relative besar (panjang otolith lebih dari 2 mm):** Untuk otolith yang berukuran relative besar, pengasahan seara horizontal tidak dapat dilakukan karena otolith ini relative tebal dan bentuknya cembung (*concave plate*). Bila pengasahan dilakukan secara horizontal, kemungkinan beberapa lngkaran pertumbuhan akan terasah dan hilang. Untuk menanggulangi permasalahan ini, pemotongan pdan pengasahan otolith dilakukan secara vertikal. Adapun cara pemotongan/ pengasahan otolith

secara vertical adalah sebagai berikut: Sepotong kecil Crystal bond diletakkan di ujung objek glass dan dipanaskan sampai meleleh. Otolith diletakkan pada Crystal bond yang sudah meleleh tersebut dengan posisi inti otolith tepat pada garis tepi objek glass (atau setengah dari otolith tidak menempel/ terletak pada objek glass). Kemudian objek glass diambil dari atas hot plate dan Crystal bond dibiarkan mengeras sehingga otolith melekat kuat. Sesudah itu bagian otolith yang tidak menempel pada objek glass diasah/ dipotong dengan menggunakan batu pengasah kasar. Setelah setengah dari otolith tersebut terasah/ terpotong, pinggiran otolith diasah dengan menggunakan batu pengasah halus sampai pinggiran otolith rata dengan pinggiran objek glass. Otolith yang masih melekat pada objek glass dipanaskan lagi sampai Crystal bond meleleh. Sementara itu pada objek glass lain, sepotong kecil Crystal bond diletakkan pada bagian tengah objek glass dan dipanaskan. Otolith yang tinggal setengah tersebut diambil dan dipindahkan ke objek glass baru dan diletakkan pada Crystal bond yang meleleh dengan posisi tegak, di mana bidang asahan pada posisi menempel pada objek glass. Selanjutnya otolith diasah lagi sampai didapatkan potongan melintang otolith yang tipis dan lingkaran pertumbuhan dapat dilihat dengan jelas. Bila lingkaran pertumbuhan sudah terlihat jelas, otolith dipanaskan kembali dan ditutup dengan Crystal bond leleh. Selanjutnya otolith diamati di bawah mikroskop (Lihat Gambar 3).

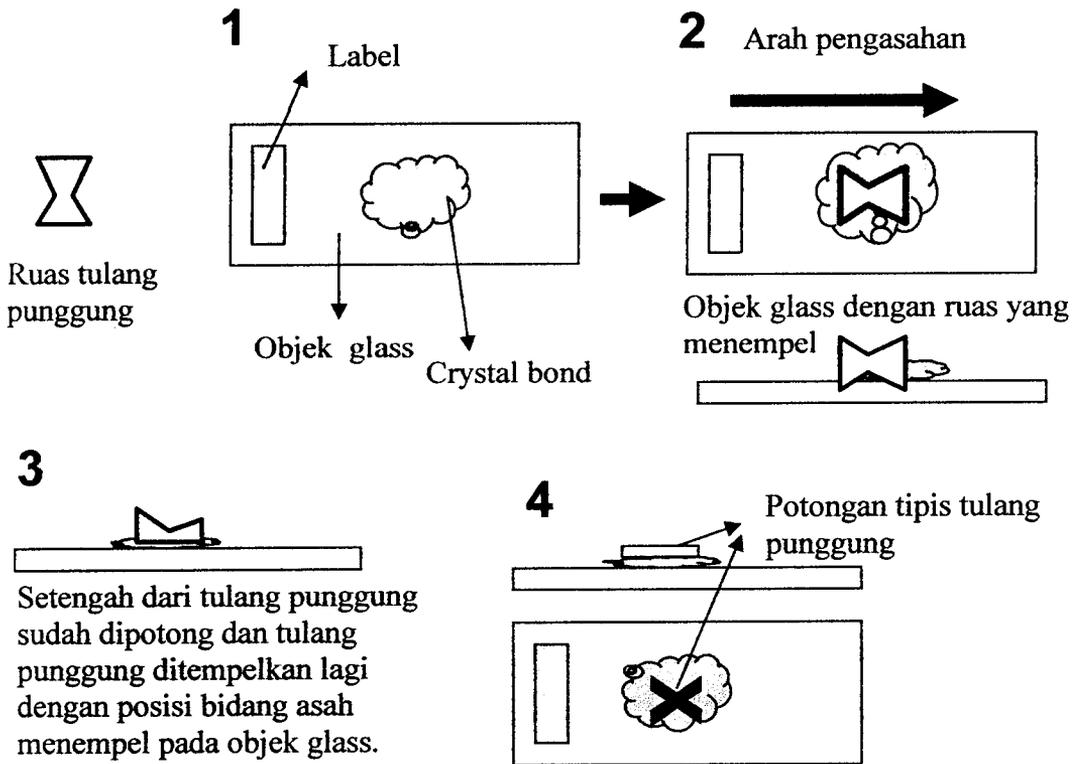


Gambar 3. Metoda pemotongan/ pengasahan otolith dengan ukuran yang relative besar (Sumber: Windarti, 2007).

3. Metoda pemotongan/ pengasahan ruas tulang belakang

Metoda yang digunakan untuk memotong dan mengasah otolith sebenarnya mirip dengan metode pemotongan/ pengasahan otolith. Adapun cara pemotongan/ pengasahan ruas tulang belakang adalah sebagai berikut: Mula-mula sepotong kecil Crystal bond diletakkan pada bagian tengah dari objek glass dan kemudian dipanaskan sampai meleleh. Ruas tulang punggung kemudian diletakkan pada Crystal bond tersebut dengan posisi "berbaring" (sumbu ruas sejajar dengan permukaan objek glass). Kemudian objek glass diambil dari hot plate dan dibiarkan mendingin sehingga Crystal bond mengeras dan ruas tulang punggung melekat erat. Selanjutnya tulang punggung diasah dengan arah horizontal sampai setengah bagian dari ruas tersebut terpotong. Objek glass dipanaskan lagi sampai Crystal bond meleleh dan potongan ruas tulang punggung dapat dibalikkan dengan posisi bidang asah menempel pada objek glass. Objek glass didinginkan lagi dan pengasahan dilanjutkan sehingga akhirnya didapatkan potongan tipis dari bagian tengah tulang punggung (lihat Gambar 4). Bila lingkaran pertumbuhan sudah dapat dilihat dengan jelas, objek glass dipanaskan lagi dan potongan tulang punggung ditutup dengan

Crystal bond leleh. Selanjutnya sampel diamati dengan menggunakan mikroskop dan dibuat fotonya.



Gambar 4. Metoda yang digunakan untuk memotong/ mengasah ruas tulang punggung ikan (Sumber: Windarti, 2007).

4. Cara mengamati hubungan antara pola lingkaran pertumbuhan pada otolith dan ruas tulang punggung

Pada penelitian ini, sampel akan diamati secara deskriptif. Pada otolith, jumlah lingkaran pertumbuhan yang ada dihitung jumlahnya. Selain itu jarak antar lingkaran pertumbuhan akan diukur dengan menggunakan micrometer dan tampilan dari garis pertumbuhan (tebal/ tipisnya serta gelap/ terangnya lingkaran pertumbuhan tersebut). Lingkaran pertumbuhan pada ruas tulang punggung juga akan diamati dengan ara yang sama. Mula-mula jumlah lingkaran pertumbuhan dihitung, kemudian jarak antar lingkaran pertumbuhan diukur dan tampilan dari lingkaran pertumbuhan tersebut diamati/ dideskripsikan. Selanjutnya data yang diperoleh dari pengamatan otolith dan tulang

punggung dibandingkan. Bila data lingkaran pertumbuhan pada otolith memiliki pola yang sama dengan data lingkaran pertumbuhan pada tulang punggung, maka di masa yang akan datang lingkaran pertumbuhan pada ruas tulang punggung akan dapat dijadikan sebagai acuan untuk menduga umur maupun sejarah kehidupan ikan. Sebaliknya bila data lingkaran pertumbuhan pada otolith dan tulang punggung tidak sesuai, maka tulang punggung tidak akan dapat dijadikan sebagai alat untuk menduga umur/ sejarah kehidupan ikan.

Catatan:

- *Selama proses pemotongan/ pengasahan otolith dan ruas tulang punggung dengan menggunakan batu asah, pada saat proses pengasahan batu asah harus diletakkan dalam nampan plastik dan nampan tersebut diisi air sehingga batu asah terendam. Jadi pengasahan dilakukan di dalam air. Proses ini dilakukan untuk menjaga agar goresan batu asah pada otolith/ ruas tulang punggung menjadi halus/ tidak terlihat. Bila batu asah tidak direndam maka permukaan otolith/ ruas tulang punggung yang diasah menjadi kasar dan lingkaran pertumbuhan tidak terlihat.*
- *Untuk mengatur posisi otolith/ ruas tulang punggung pada objek glass digunakan jarum jahit yang diberi tangkai. Pada saat digunakan jarum harus dalam kondisi panas (dipanaskan pada hot plate atau lampu bunsen), sehingga Crystal bond tidak lengket pada jarum tersebut.*