

IV. METODA PENELITIAN

1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengembangbiakan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru selama 4 bulan terhitung dari bulan Juli sampai bulan Oktober 2004.

2 Materi Penelitian

2.1 Ikan Uji

Adapun ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan betutu (*Oxyeleotris marmorata* Blkr) jantan sebanyak 30 ekor dan betina sebanyak 20 ekor yang berumur lima bulan diperoleh dari hasil tangkapan para nelayan diperairan sungai Kampar, Riau. Ikan-ikan tersebut berada pada kisaran berat antara 500-600 gram/ekor dan panjang antara 20-25 cm. Ikan-ikan ini dipelihara dikolam percobaan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau Pekanbaru selama 6 bulan dengan tujuan untuk pematangan gonad ikan diberi pakan pellet dan ikan rucah. Selanjutnya ikan yang dijadikan sebagai ikan uji adalah ikan yang telah diseleksi dengan kriteria berbadan sehat dan tidak terdapat cacat tubuh, serta memiliki tingkat kematangan gonad yang sama.

2.3 Obat Perangsang

Dalam penelitian ini akan digunakan obat perangsang dengan merek dagang "Ovaprim" yaitu berupa larutan 10 ml produksi Syndel Laboratory Ltd. Canada yang

dalam setiap ml mengandung 20 µg sGnRH-a dan 10 mg anti Dopamin (Nandeesh *et al*, 1990a).

2.4 Larutan Pembuahan

Untuk meningkatkan derajat pembuahan digunakan larutan pembuahan (fertilisasi pada saat percampuran mani dengan telur. Larutan ini dibuat dengan melarutkan 4 gram NaCl + 3 gram urea kedalam 1 liter air suling (Woynarovich dan Horvath, 1981). Disamping larutan pembuahan digunakan pula eosin 2% yang berguna untuk menentukan viabilitas spermatozoa serta larutan alkohol 70% untuk mensterilkan alat-alat dan mencegah jamur setelah ikan disuntik.

2.5 Peralatan

Dalam pelaksanaan penelitian digunakan peralatan antara lain adalah 1) jarum suntik (sprit) berukuran 1 ml untuk menyuntikan obat perangsang ovaprim pada ikan uji, 2) spuit tanpa jarum sebanyak 30 buah berukuran 20 ml untuk mengukur volume semen, 3) timbangan untuk menimbang ikan untuk menentukan jumlah dosis obat perangsang ovaprim yang akan disuntikan, 4) haemositemeter untuk mengukur konsentrasi spermatozoa, 5) mikroskop, 6) selang haemositometer, 7) gelas objek, 8) lempeng kaca untuk tempat penebaran telur fertilisasi, 9) bulu ayam, 10) mangkok kecil, 11) kertas tissue dan beberapa peralatan lainnya.

2/6 Wadah

Wadah yang digunakan untuk induk ikan setelah disuntik dengan obat perangsang ovaprim adalah 5 buah bak fiber yang dilengkapi dengan aerasi untuk meningkatkan kadar oksigen terlarut. 4 buah bak fiber digunakan untuk tempat induk ikan jantan

sedangkan 1 buah bak fiber lainnya digunakan untuk tempat induk ikan betina. Selanjutnya wadah untuk tempat fertilisasi digunakan 30 buah akuarium yang berukuran 30 x 30 x 40 cm dan dilengkapi dengan aerasi serta sistem air mengalir.

3 Prosedur Penelitian

3.1 Persiapan Ikan Uji

Persiapan ikan uji dilakukan sebagai berikut : ikan yang diperoleh dari perairan sungai kampar, Riau dipelihara selama 6 bulan dikolam percontohan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau Pekanbaru dan selama pemeliharaan diberi pakan pellet dan ikan rucah dengan tujuan agar terjadi pematangan gonad yang seragam. Setelah pemeliharaan selama 6 bulan, dilakukan penyeleksian dimana ikan yang memiliki kematangan gonad yang sama serta ukuran panjang dan berat sama akan dijadikan sebagai ikan uji untuk diberi perlakuan. Sedangkan untuk ikan betina penyeleksiaan dilakukan dengan cara mengukur diameter telur yang diambil dengan menggunakan Cateter Canula Polyethalen. Ikan dianggap matang bila ukuran diameter telur telah mencapai 1 mm atau lebih (Rustidja dan Maheno, 1991). Ikan diberi perlakuan penyuntikan ovaprim dengan dosis yang berbeda dengan cara memberi tanda (tagging).

3.2 Penyuntikan

Penyuntikan dilakukan dua kali dengan waktu 6 jam secara intramuscular (Woynarovich. E and L. Horvath, 1981). Untuk penyuntikkan pertama dan kedua

diberikan setengah dosis, sedangkan pengamatan terhadap peubah yang diukur dilakukan 12 - 24 jam setelah penyuntikan kedua (Yurisman *et al*, 1995).

3.3 Pengambilan Semen dan Telur

Pengambilan semen dilakukan dengan cara membedah atau menyeksi induk ikan, kemudian gonad dikeluarkan selanjutnya dicacah dan distripping sehingga semen yang ada akan keluar. Semen yang keluar disedot dengan tabung spuit berukuran 20 ml yang selanjutnya diukur volume dan kualitasnya. Sedangkan pengambilan telur untuk pengujian fertilisasi dan daya tetas diperoleh dengan cara melakukan pengurutan dari induk ikan betina, yang selanjutnya ditampung dalam mangkok kecil yang telah disiapkan sebelumnya untuk segera dilakukan fertilisasi.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \sigma I + \Sigma_{ij}$$

Dimana : Y_{ij} = Hasil pengamatan individu yang Penelitian ini menggunakan metoda eksperimen dengan perlakuan menggunakan beberapa macam dosis Ovaprim yaitu :

- P. I = Penyuntikan Ovaprim dengan dosis 0,3ml/kg bobot badan
- P. II = Penyuntikan Ovaprim dengan dosis 0,5 ml/kg bobot badan
- P. III = Penyuntikan Ovaprim dengan dosis 0,7 ml/kg bobot badan
- P. IV = Penyuntikan Ovaprim dengan dosis 0,9 ml/kg bobot badan
- P. V = Penyuntikan Ovaprim dengan dosis 1,1 ml/kg bobot badan
- P. VI = Penyuntikan dengan NaCL fisiologis 2 ml/kg bobot badan (sebagai kontrol).

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam macam perlakuan dan lima kali ulangan. Model mendapat perlakuan ke - I dan ulangan ke - j

μ = Rata - rata umum

σ = pengamatan perlakuan ke - i

Σ = Pengaruh galat perlakuan ke - i dan ulangan ke - j

Sedangkan asumsi yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : 1) kematangan gonad induk ikan uji sama, 2) keterampilan peneliti dan pembantu peneliti pada setiap perlakuan sama dan 3) kondisi induk pada setiap perlakuan sama.

3.5 Peubah Yang Diukur

3.5.1 Volume Semen

Volume semen diukur dengan cara mengurut perlahan bagian tubuh dari ujung kearah pangkal genital, disedot dengan tabung spuit yang berukuran 20 ml, kemudian diukur volumenya. Pengambilan semen ini dilakukan 12 - 24 jam setelah penyuntikan kedua.

3.5.2 Konsentrasi Spermatozoa

Konsentrasi spermatozoa diukur dengan haemositometer (Toelihere, 1985) caranya adalah sebagai berikut : semen yang dihisap dengan pipet sampai angka 0,5 dan dihisap sedikit udara kedalam pipet. Kemudian dihisap air sampai angka 101 dan dikocok dengan hati-hati. Beberapa tetes larutan spermatozoa dibuang dari pipet tersebut, lalu ujung pipet dibersihkan dengan kertas tissue. Selanjutnya larutan spermatozoa diteteskan ke kamar

hitung Neubaer dan ditutup dengan kaca penutup. Sel-sel spermatozoa didalam 5 kamar dihitung menurut arah diagonal dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10. karena setiap kamar mempunyai 16 ruang kecil, maka didalam 5 kamar terdapat 80 ruang kecil. Seluruh gelas haemositometer memiliki 400 ruangan, dengan volume setiap ruangan kecil 0,1 mm. Pengenceran 200 kali dan bila dalam 5 kamar (80 ruangan kecil) terdapat spermatozoa.

3.5.3 Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa diukur bersamaan dengan penentuan konsentrasi spermatozoa. Setelah diketahui jumlah total spermatozoa dalam 5 kamar (80 ruangan kecil) pada gelas objek Neubaer kemudian dihitung jumlah spermatozoa yang immotil (pergerakan tidak progresif atau aktif maju kedepan). Pengamatan spermatozoa motil membutuhkan waktu antara 5 - 10 menit. Jumlah spermatozoa motil = total spermatozoa - spermatozoa immotil, sehingga didapatkan :

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

3.5.4 Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa diukur berdasarkan pewarnaan spermatozoa dengan eosin 2%. Pengamatan adalah dengan menghitung perbandingan spermatozoa tidak terwarnai (hidup) dengan terwarnai (mati) oleh eosin dan dinyatakan dalam persen. Untuk menentukan viabilitas, diamati sebanyak 200 sel spermatozoa dari masing-masing perlakuan sehingga viabilitas spermatozoa dapat ditentukan dengan formula sebagai berikut :

$$\text{Viabilitas spermatozoa} = \frac{\sum \text{Spermatozoahidup}}{\text{TotalSpermatozoa}} \times 100\%$$

3.5.5 Fertilitas Spermatozoa

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

$$\text{Fertilisasi Spermatozoa} = \frac{\sum \text{Teluryangdibuahi}}{\text{Jumlahtelursampel}} \times 100\%$$

3.5.6 Daya Tetas Spermatozoa

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

$$\text{Daya Tetas Spermatozoa} = \frac{\sum \text{Jumlahteluryangmenetas}}{\text{Jumlahtelursampel}} \times 100\%$$