

3. METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

Penelitian pengaruh panjang tubuh terhadap kemampuan penglihatan mata ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) membutuhkan peralatan dan bahan tertentu pada saat pengambilan sampel dan pembuatan preparat. Berikut alat yang digunakan dalam penelitian. (tabel. 1)

Tabel 1. Alat – alat yang digunakan dalam penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1	meteran	untuk mengukur panjang total ikan
2	timbangan	untuk menimbang berat ikan
3	sectio set	untuk mengambil mata ikan
4	botol film	untuk menyimpan mata ikan
5	pipet tetes	untuk mengambil atau memindahkan larutan dalam jumlah kecil
6	keranjang	untuk meletakkan ikan hasil tangkapan
7	kamera	untuk dokumentasi dalam proses penelitian
8	Mikrotom	untuk menyayat spesimen retina mata ikan
9	Obyek glass	untuk melekatkan spesimen dalam proses penyiapan preparat
10	Cover glass	untuk menutup kaca preparat
11	Mikroskop	untuk mengamati preparat spesimen mata ikan

Bahan penelitian lebih banyak digunakan untuk menyiapkan preparat sebelum dilakukan pengamatan dilaboratorium. Berikut bahan yang dibutuhkan dalam penelitian. (tabel. 2)

Tabel 2. Bahan - bahan yang digunakan dalam penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1	Formalin	untuk mengawetkan spesimen
2	Parafin	untuk menanam spesimen mata ikan
3	Alkohol	untuk mengeringkan spesimen retina
4	Xylene	untuk mengeringkan spesimen retina
5	Aquades	sebagai bahan pelarut
6	Haematoxylin dan Eosin	untuk mewarnai spesimen retina
7	Ikan tongkol (<i>Euthynnus affinis</i>)	sebagai bahan yang akan diamati retinanya

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode penelitian eksperimen. Menurut Sugiyono (2011), penelitian eksperimen ada perlakuan (treatment), sedangkan dalam penelitian naturalistik tidak ada perlakuan. Dengan demikian metode penelitian eksperimen dapat diartikan sebagai metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalikan. Dalam penerapannya di dalam penelitian, akan digunakan mata pancing dengan ukuran yang berbeda - beda agar mendapatkan hasil tangkapan ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan ukuran yang berbeda - beda. Sehingga dengan ukuran ikan yang berbeda tersebut dapat diteliti kemampuan penglihatan mata masing – masing ikan tersebut.

3.3 Teknik Pengumpulan Data

3.3.1 Pengumpulan Data Sekunder

Data sekunder didapatkan dari pihak kedua atau dari tangan kesekian yang secara tidak langsung memberikan data kepada pengumpul data, misalnya melalui orang lain maupun data yang tersedia dalam dokumen. Dalam penelitian ini data sekunder didapatkan dari literatur-literatur yang menunjang dalam penelitian yang akan dilakukan.

3.3.2 Pengumpulan Data Primer

Data primer merupakan sumber data yang didapatkan langsung dari hasil wawancara, partisipasi aktif, dokumentasi dan observasi. Dalam penelitian ini, data primer didapatkan dari hasil wawancara dengan nelayan di Pulau Bawean dengan membaca kuesioner yang telah dibuat sebelumnya serta melalui kegiatan observasi tentang pengaruh ukuran panjang tubuh terhadap kemampuan penglihatan mata ikan yang dilaksanakan di Laboratorium.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Metode Pengambilan Sampel

Sampel yang diambil berasal dari hasil tangkapan nelayan dengan menggunakan alat tangkap pancing ulur. Dimana ukuran ikan sampel yang diambil berdasarkan panjang total dimulai dari yang terbesar, sedang, sampai yang terkecil.

Tabel 3. Design metode pengambilan sampel

Tahap	A	B	C	D
1	A1	B1	C1	D1
2	A2	B2	C2	D2
3	A3	B3	C3	D3

Dalam pengambilan sampel, dilakukan sebanyak tiga tahap. Dalam setiap sesi pengambilan sampel diambil 4 ekor ikan tongkol dengan ukuran panjang total yang berbeda-beda yaitu dimulai dengan ukuran 30 cm sampai dengan 55 cm.

3.4.2 Proses Histologi Mata Ikan

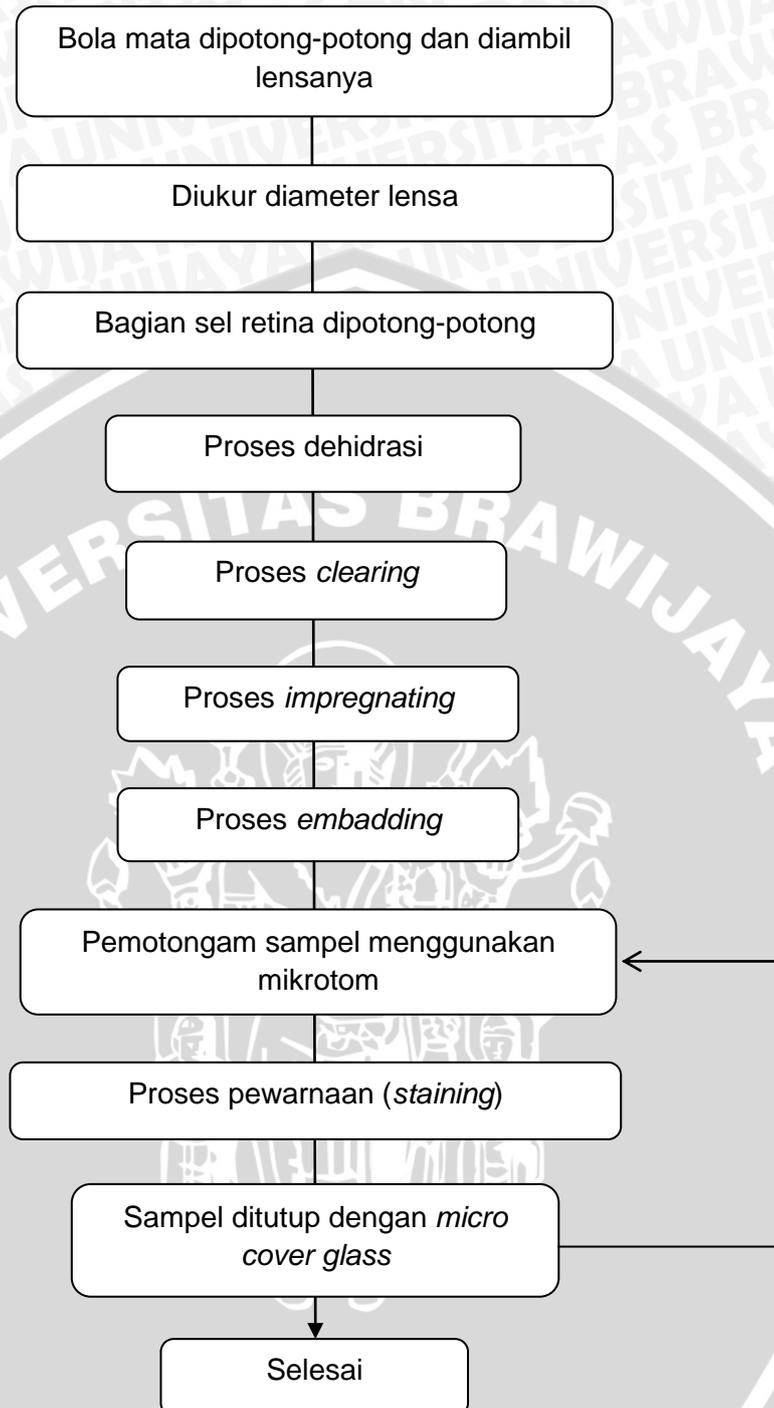
Setelah diperoleh sampel ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan ukuran panjang total yang berbeda-beda, maka dilakukan pengukuran lingkar tubuh dan berat ikan tersebut. Kemudian dilakukan pembedahan dengan mengambil mata ikan tersebut. Pengambilan spesimen mata ikan dari ikan segar tidak boleh lebih dari 5 jam setelah ditangkap dalam kondisi baru mati. Setelah mata ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) tersebut diambil, proses selanjutnya yaitu fiksasi. Proses fiksasi diperlukan agar elemen-elemen jaringan terutama inti sel atau nukleus dapat diawetkan dalam kondisi yang sedikit banyak mendekati keadaan aslinya. Mata ikan tersebut dimasukkan kedalam botol sampel yang telah berisi larutan formalin berkonsentrasi 15%.



Gambar 5. Prosedur fiksasi spesimen mata ikan

Kemudian dilanjutkan pada pembuatan preparat untuk diamati sel konnya dengan menggunakan mikroskop di Laboratorium Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Bola mata yang sudah difiksasi dipotong – potong dan diambil lensanya. Kemudian diameter lensanya diukur. Setelah itu dilakukan proses dehidrasi.

Proses dehidrasi merupakan proses untuk mengeluarkan air dari dalam jaringan dengan cara memasukkan sampel kedalam alkohol secara bertingkat yaitu 75%, 80%, 90%, 96% I, dan 96% II selama masing – masing 30 menit. Setelah didehidrasi, kemudian dilakukan proses penjernihan (*clearing*) yaitu memasukkan sampel ke dalam larutan *xylene*. Hal ini bertujuan untuk menggantikan tempat alkohol dalam jaringan setelah proses dehidrasi, melarutkan lemak serta mengantarkan *paraffin* kedalam jaringan.



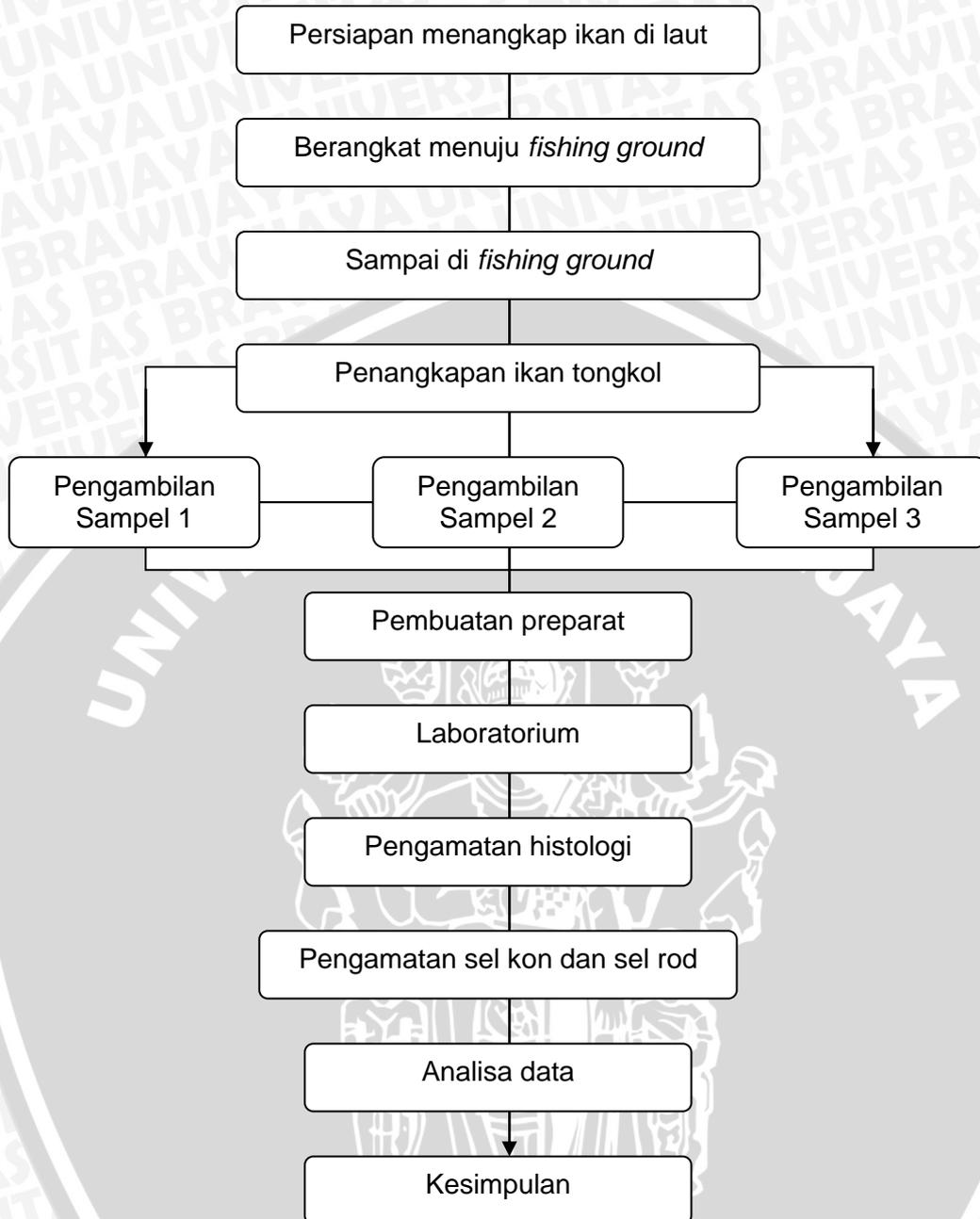
Gambar 6. Proses pembuatan preparat

Setelah proses *clearing* selesai, dilanjutkan pada proses *impregnating*, yaitu memasukkan sampel kedalam *xylene + paraffin*, dan *paraffin*. Yang bertujuan untuk memasukkan *paraffin* cair kedalam jaringan. Kemudian dimulai proses *embedding*. *Embedding* merupakan proses penanaman spesimen kedalam blok - blok *paraffin* yang kemudian sampel dicairkan salam oven

dengan suhu 60°C lalu dipadatkan dalam *frezeer* dan kemudian diletakkan pada katu penahan. nantinya akan disayat menggunakan mikrotom.

Proses pemotongan sampel retina mata ikan menggunakan mikrotom. Kemudian diletakkan pada *micro slide glass* dan dipanaskan dalam suhu 60°C. Setelah itu dilakukan proses pewarnaan (*staining*) yang berguna untuk mempertajam atau memperjelas berbagai elemen jaringan menggunakan zat pewarna *hematoxylene – eosin*, terutama pada sel – selnya sehingga dapat dibedakan dan diamati menggunakan mikroskop. Setelah proses pewarnaan selesai sampel ditutup dengan *micro cover glass* dan proses pembuatan preparat sampel mata ikan telah selesai.





Gambar 7. Prosedur penelitian

3.5 Analisis Data

Mendeskripsikan struktur susunan sel kon didalam retina mata ikan tongkol (*Euthynnus affinis*). Bentuk sel kon tersusun dalam bentuk barisan atau dalam bentuk pola bujur sangkar. Ikan yang memiliki struktur susunan sel kon berbentuk baris atau pola bujur sangkar menunjukkan bahwa ikan tersebut sangat intensif menggunakan indera penglihatannya.

Menurut Purbayanto et al. (2010), untuk dapat menganalisis kemampuan melihat ikan yang meliputi sumbu penglihatan, ketajaman penglihatan, diameter lensa, kepadatan sel kon, sudut pandang minimum, serta jarak pandang maksimum dapat digunakan persamaan seperti dibawah ini :

1. Menentukan sumbu penglihatan (*Visual Axis*) dilakukan dengan cara dilihat dari jumlah kepadatan sel kon (n) pada setiap arah pandangan ikan. Kepadatan sel kon dan diameter lensa pada mata ikan dapat dihubungkan dengan karakteristik hidupnya, sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan khususnya untuk kondisi penglihatannya.
2. Menentukan tingkat ketajaman mata ikan (*Visual Acuity*) di lakukan dengan cara :
 - Menghitung diameter lensa (F)

$$F = (\text{lens } \varnothing / 2) \times 2,55$$
 - Menghitung kepadatan kon (n)

$$N = (\text{cells}/0,01 \text{ mm}^2)$$

Cone dihitung berdasarkan *double cone* atau *single cone*
3. Menentukan estimasi sudut pandang minimum (α_{rad}) menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\alpha_{\text{rad}} = \frac{1}{F} \times \left[\frac{2 \times 0,1 \times (1 + 0,25)}{\sqrt{n}} \right]$$

Keterangan :

α_{rad} = sudut pembeda terkecil (dalam radian)

F = jarak fokus (berdasarkan formula Matthienson's ($F = 2,55.r$))

0,25 = nilai penyusutan spesimen mata akibat proses histologi

n = jumlah sel kon terpadat per luasan 0,01 mm² yang merupakan hasil pengamatan di bawah mikroskop.

4. Ketajaman penglihatan (visual acuity = VA) merupakan kebalikan dari nilai sudut pembeda terkecil yang dikonversi dengan rumus sebagai berikut:

$$\alpha \text{ min} = \alpha \text{ (rad)} \times \frac{180}{\pi} \times 60$$

$$VA = \frac{1}{\alpha \text{ min}}$$

5. Perhitungan jarak pandang maksimum (D) dengan menggunakan rumus pythagoras adalah sebagai berikut :

$$D = \frac{d(0,5)}{\tan(0,5)\alpha}$$

Keterangan :

d = diameter obyek (mm)

a = sudut pembeda terkecil (menit)

Setelah dilakukan analisis dengan rumus, kemudian dilakukan analisis menggunakan korelasi untuk mencari hubungan antar variabel yang ada.

