

BAB III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi pada penelitian ini terkait dengan perlakuan yang diberikan terhadap ikan yaitu tentang perubahan struktur jaringan mata ikan karena pemaparan cahaya. Struktur jaringan mata yang dimaksud dalam penelitian ini dispesifikan pada sel kon mata setiap jenis ikan, karena sel tersebut yang paling peka terhadap rangsangan dari cahaya.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan 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.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam melakukan penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.3.1 Alat Penelitian

Adapun alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah :

a. Lampu

Lampu merupakan alat utama untuk menarik perhatian ikan agar mengumpul di sekitar cahaya lampu.



Gambar 10. Lampu

b. Generator Set Mitsubishi

Generator Set ini digunakan untuk mengganti sumber listrik. Dalam penelitian ini menggunakan Generator Set karena di lokasi penelitian tidak ada sumber listrik.



Gambar 11. Generator Set

c. Uninterruptible Power Supply (UPS)

UPS adalah singkatan dari *uninterruptible power supply* yang merupakan peralatan listrik yang fungsi utamanya adalah untuk menyediakan listrik

tambahan pada bagian instalasi listrik. UPS juga disebut sebagai *battery backup* atau *uninterruptible power source*.



Gambar 12. *Uninterruptible Power Supply (UPS)*

d. Refraktometer

Refraktometer digunakan untuk mengukur salinitas. Salinitas adalah jumlah berat total (gr) garam yang terkandung dalam 1000 gram air laut.

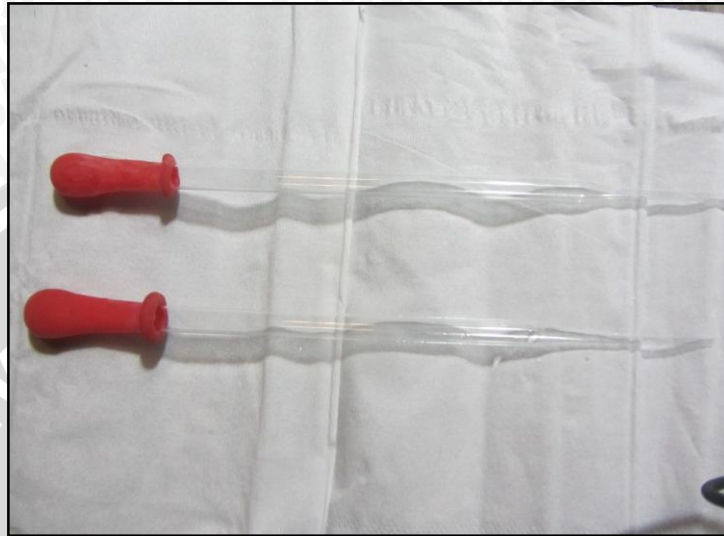


Gambar 13. Refraktometer

e. Pipet Tetes

Pipet tetes digunakan untuk mengambil larutan dalam jumlah yang sedikit.

Dalam penelitian ini, pipet tetes akan digunakan untuk mengambil larutan.



Gambar 14. Pipet Tetes

f. Termometer

Termometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur suhu. Suhu adalah suatu besaran yang menyatakan ukuran derajat panas atau dinginnya suatu benda ataupun zat.



Gambar 15. Termometer

g. Botol Avendof

Botol avendof adalah alat yang digunakan untuk menyimpan mata ikan yang didapat.



Gambar 16. Botol Avendof

h. Serbet Basah

Serbet basah digunakan untuk membantu memegang ikan pada saat pengambilan mata ikan.

i. *Dissecting set*

Dissecting set digunakan sebagai alat membedah ikan untuk menganbil mata ikan.



Gambar 17. *Dissecting set*

j. Mikroskop

Mikroskop digunakan pada saat pengamatan sampel hasil histologi.



Gambar 18. Mikroskop

k. Tali Tamar

Tali tamar digunakan untuk mengikat lampu. Tali yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tali tamar yang berukuran kecil.



Gambar 19. Tali Tamar

l. Penggaris

Penggaris digunakan untuk mengukur panjang ikan sampel.

m. Timbangan Digital

Timbangan digital digunakan untuk menimbang berat ikan sampel.



Gambar 20. Timbangan digital

n. Kamera

Kamera digunakan untuk mengambil gambar untuk data dokumentasi.

o. Kabel Ulur

Sebagai rangkaian listrik yang berfungsi untuk mengantarkan aliran listrik ke rangkaian lampu.



Gambar 21. Kabel ulur

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

a. Ikan Sampel

Ikan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan yang tertangkap pada bagan tancap.

b. Larutan Formalin 10%

Larutan formalin 10% digunakan sebagai bahan pengawet mata ikan.

c. Parafin

Parafin digunakan untuk menanam spesimen retina mata ikan.

d. Xylene

Xylene digunakan untuk mengeringkan spesimen retina

e. Aquades

Aquades digunakan sebagai bahan pelarut formalin

f. Haematoxylin dan Eosin

Haematoxylin dan Eosin digunakan untuk mewarnai specimen retina

g. Air Laut

Air laut digunakan sebagai sampel yang akan diamati salinitas dan suhunya.

h. Solar

Solar digunakan untuk bahan bakar *generator set* (genset). Solar yang digunakan merupakan jenis bahan bakar dengan harganya yang terjangkau.

3.4 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Tahap Pengenceran Bahan

Sebelum mengambil sampel mata ikan dilapang perlu membuat larutan formalin 10% sebagai larutan pengawet sampel, untuk itu perlu dilakukan pengenceran formalin 40% dengan aquades sampai membentuk formalin 10%.

3.4.2 Tahap Persiapan di Lapang

Yang perlu dilakukan dalam tahap persiapan di lapang adalah sebagai berikut :

1. Menyiapkan larutan formalin 10% yang digunakan untuk mengawetkan sample mata ikan, dan juga botol avendof sebagai wadah larutan pengawet tersebut yang nantinya juga akan digunakan sebagai tempat untuk menyimpan sampel mata ikan.
2. Menyiapkan alat pengumpul ikan agar mudah dipancing yaitu lampu celup bawah air, rangkaian dimer dan MCB, dan generator set.

3.4.3 Pengambilan Sampel Ikan

Ikan sampel percobaan diambil dari hasil tangkapan bagan, kemudian dalam keadaan hidup diambil mata ikan dan dimasukkan kedalam botol avendof yang telah diisi dengan pengawet yaitu larutan Formalin 10%. Mata ikan selanjutnya dibawa ke laboratorium kemudian dibuatlah preparat mata ikan tersebut untuk kemudian preparat tersebut diamati dibawah mikroskop dan diamati perubahan struktur jaringannya.

3.4.4 Pelaksanaan Penelitian

a. Pengambilan Sampel Ikan

Ikan untuk sampel percobaan diambil menggunakan serok setelah jaring pada bagan diangkat, kemudian dimasukkan kedalam bak agar mudah untuk

memilih ikan yang diinginkan. Diambil satu persatu ikan menggunakan serbet yang telah dibasahi, hal tersebut dilakukan agar ikan cukup tenang. Ikan kemudian dimatikan dengan cara memotong pada bagian kepala. Untuk memudahkan dalam mengambil mata ikan dilakukan dengan cara memasukkan jari kelingking pada mulut ikan, setelah itu jari kelingking sedikit menekan pada daerah mata agar mata ikan menonjol keluar lalu diambil. Mata ikan yang menonjol diambil menggunakan gunting kecil dengan cara dipotong dulu secara memutar mengikuti bentuk mata ikan yang bulat. Setelah didapat mata ikan dimasukkan ke avendof yang telah diisi juga dengan larutan formalin 10% sebanyak 1 ml. Mata ikan hasil tangkapan yang telah difiksasi selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk kemudian dilakukan proses histologi untuk dibuat preparat, kemudian preparat tersebut diamati dibawah mikroskop dan dilihat perubahan struktur jaringan sel kon.

b. Metode Histologi

Tahapan selanjutnya yaitu metode histologi. Metode histologi merupakan sebuah metode atau cara yang digunakan untuk dapat melihat atau mengamati jaringan tubuh makhluk hidup. Metode histologi terdiri dari beberapa tahap yakni fiksasi, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, penanaman jaringan dan pewarnaan yang selanjutnya diakhiri dengan pembuatan preparat agar dapat diobservasi dibawah mikroskop. Berikut adalah tahapan-tahap dalam metode histologi :

1) Fiksasi

Fiksasi dapat dilakukan sebelum atau sesudah penyayatan jaringan, jika penanam jaringan melalui metode parafin maka fiksasi dilakukan sebelum penyayatan jaringan. Pada penelitian ini proses fiksasi dilakukan pada saat pengambilan mata ikan di bagan. Adapun tujuan dari fiksasi adalah untuk : 1. Mempertahankan struktur sel seperti semula, 2. Mencegah terjadinya proses

otolisis oleh enzim dan 3. Mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur. Larutan fiksasi yang digunakan untuk penelitian ini adalah larutan formalin 10%.

2) Dehidrasi

Proses ini bertujuan untuk melakukan penarikan air dari dalam jaringan secara perlahan-lahan, sehingga tidak terjadi pengkerutan jaringan. Umumnya bahan yang digunakan untuk menarik air dari dalam jaringan adalah etanol. Prosentase etanol yang digunakan pada awal dehidrasi tergantung dari larutan fiksasi yang digunakan.

3) *Clearing* atau Penjernihan

Tahapan ini merupakan tahapan transisi, bahan yang digunakan pada tahap ini mempunyai dua sifat yaitu : 1. Dapat melarutkan atau dilarutkan oleh bahan untuk menarik air dari jaringan, 2. Dapat melarutkan atau dilarutkan oleh bahan yang digunakan untuk menanam jaringan. Bahan yang umumnya digunakan adalah xylol, karena bahan ini yang paling mudah untuk diperoleh.

4) *Impregnasi*

Tahapan ini bertujuan untuk mempersiapkan jaringan agar dapat dicetak (ditanam) dalam suatu bahan. Umumnya parafin adalah bahan yang digunakan untuk memncetak atau menanam jaringan, oleh karena itu bahan yang digunakan pada tahap *impregnasi* ini harus parafin juga. Parafin yang digunakan mempunyai titik beku pada suhu kamar dan mempunyai titik cair antara 55-60⁰C.

5) *Embedding* (penanaman jaringan)

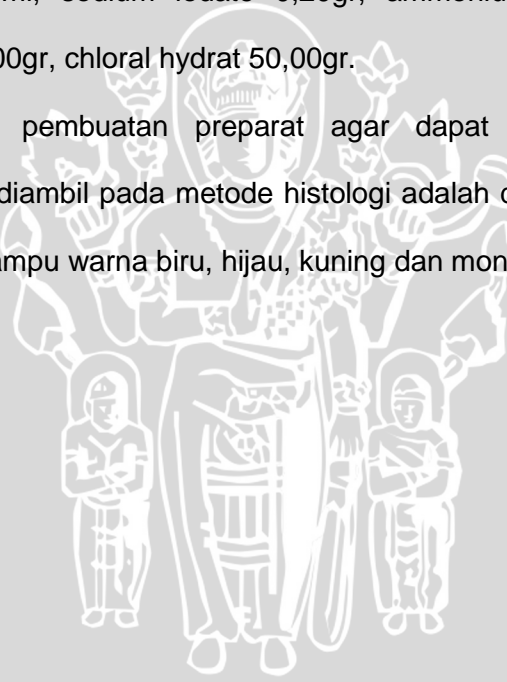
Pada tahapan ini, temperatur antara parafin dengan jaringan harus mendekati sama. Jika terjadi perbedaan temperatur yang mencolok antara parafin dengan jaringan yang akan ditanam maka akan nampak seperti gelembung udara disekitar jaringan. Jika hal itu terjadi jaringan yang berada di dalam parafin kurang menyatu dan akan sulit untuk memperoleh sayatan yang tipis.

Untuk menyayat jaringan digunakan alat yang bernama mikrotom. Bahan yang penting pada saat penyayatan dan digunakan untuk membantu pelekatan jaringan pada obyek glass adalah egg albumin dengan komposisi putih telur 50 cc dan glycerin 50 cc. ketebalan sayatan yang digunakan pada penelitian ini sekitar 3-5 mikro meter.

6) Pewarnaan

Pewarnaan yang digunakan untuk membuat preparat pada penelitian ini adalah pewarnaan rutin menggunakan haematoksilin eosin (HE). Komposisi dari larutan haematoksilin yang digunakan adalah : haematosilin Kristal 1,00gr, aquadestilata 100,00 ml, sodium iodate 0,20gr, ammonium/potassium alum 50,00gr, asam sitrat 1,00gr, chloral hydrat 50,00gr.

Terakhir adalah pembuatan preparat agar dapat diamati dibawah mikroskop. Data yang diambil pada metode histologi adalah data perubahan sel kon dan sel rod pada lampu warna biru, hijau, kuning dan monokromatik.



3.5 Analisa Data

Data yang diambil pada penelitian ini adalah data tentang adaptasi retina mata ikan yang dilihat dari pola pergerakan sel kon menuju ke *outer limiting memb'rane*. 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.

Rasio adaptasi retina diperoleh dengan *cone index* (C) yang didasarkan pada pola pergerakan dari sel kon pada *photomicrograph* dengan formula :

- *Cone Index* (C)

$$\text{Cone Index (C)} = C'/A \times 100\%$$

dimana,

A = jarak dari *Retinal Pigment Epithelium* (RPE) ke *outer limiting membrane*

C' = jarak dari *Retinal Pigment Epithelium* (RPE) ke bagian tengah sel kon.

- Menghitung kepadatan kon (n)

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

dinama,

n = jumlah sel kon terpadat per luasan $0,01 \text{ mm}^2$ yang merupakan hasil pengamatan di bawah mikroskop.

Cone dihitung berdasarkan *double cone* atau *single cone*

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

Sehingga didapatkan nilai *R square*. Setelah itu ditentukan hubungan koefisien determinasinya dalam bentuk persen.