

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat Waktu Penelitian

Pengambilan sampel mata Ikan gulamah (*Johnius belangerii*) dan Ikan Biji nangka (*Upeneus sulphureus*) dilakukan di Perairan Lamongan, dilaksanakan pada tanggal 28 Januari 2015. Sedangkan proses pengujian sampel mata ikan dilakukan pada tanggal 17 Februari hingga 14 Maret 2015 di Laboratorium RS. Saiful Anwar, Malang.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode penelitian eksperimen. Menurut Subagyo (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. Penerapannya dalam penelitian ini, akan digunakan ukuran dan umur yang berbeda - beda pada Ikan Gulamah (*Johnius belangerii*) dan ikan Biji nangka (*Upeneus sulphureus*).

3.2.1 Data Primer

Data primer adalah data yang diperoleh secara langsung dengan mengadakan langsung terhadap gejala obyek yang diselidiki, baik dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan yang khusus diadakan (Surakhmad, 1985).

Adapun data primer dalam penelitian ini yaitu struktur susunan sel-sel penglihatan, arah ketajaman penglihatan ikan, tingkat ketajaman penglihatan mata ikan, dan jarak maksimum penglihatan mata Ikan Gulamah (*Johnius*

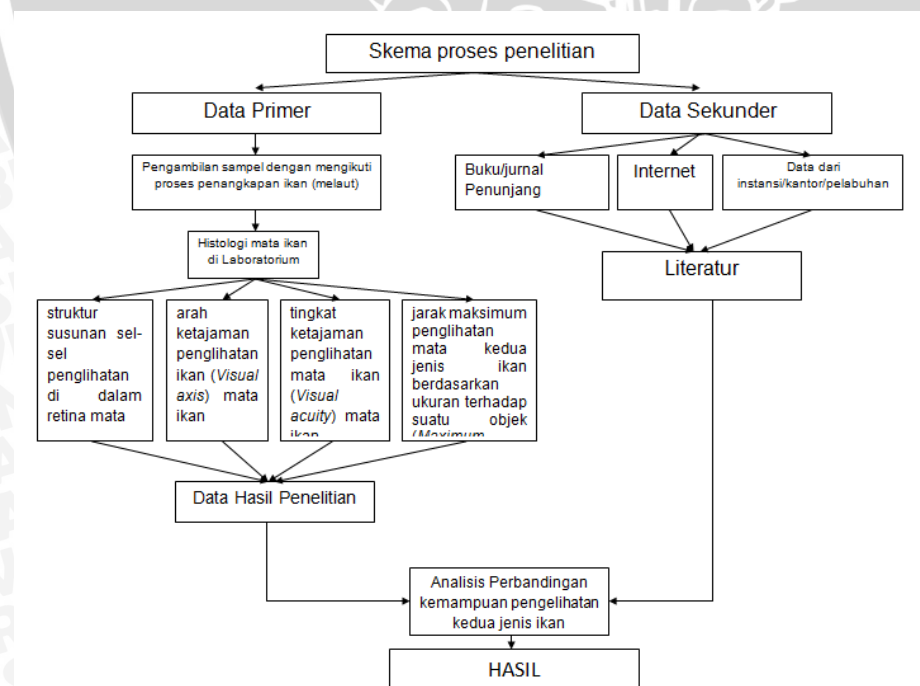
belangerii) dan ikan Biji nangka (*Upeneus sulphureus*) berdasarkan ukuran terhadap suatu objek (*Maximum sighting distance*). Data primer ini diperoleh dari proses histologi terhadap mata ikan Gulamah (*Johnius belangerii*) dan ikan Biji nangka (*Upeneus sulphureus*).

3.2.2 Data Sekunder

Data skunder adalah data yang telah lebih dahulu dikumpulkan dan dilaporkan oleh orang diluar dari penyelidik sendiri, walaupun yang dikumpulkan itu sesungguhnya adalah data asli. Sumber sekunder berisi data dari tangan ke dua atau dari tangan ke sekian, yang bagi penyelidik tidak mungkin berisi data yang seasli sumber data primer (Surakhmad, 1985).

Data sekunder dalam penelitian ini yaitu diperoleh dari Dinas Kelautan dan Perikanan Lamongan dan study literature mengenai lokasi penelitian dan kemampuan pengelihatn ikan pelagis maupun demersal.

Skema proses pelaksanaan penelitian



Gambar 4. Skema proses penelitian

3.3 Metode Pengumpulan Data

Untuk melakukan proses pengumpulan data, baik data sekunder maupun data primer, peneliti menggunakan beberapa metode pengumpulan data antara lain :

a. Observasi

Observasi pengumpulan data dengan observasi langsung atau dengan pengamatan langsung adalah dengan cara pengambilan data dengan menggunakan mata tanpa pertolongan alat standar lain untuk keperluan tersebut. Observasi menjadi salah satu teknik pengumpulan data apabila: (1) sesuai dengan tujuan penelitian, (2) direncanakan dan dicatat secara sistematis, dan (3) dapat dikontrol keadaannya (reliabilitasnya) dan kesahihannya validitasnya) (Usman dan Akbar, 2006). Observasi dilakukan yaitu pada saat proses pengambilan sampel mata ikan dengan cara mengikuti proses penangkapan ikan (melaut) dan pada saat melakukan proses histologi mata ikan di laboratorium.

b. *Study literature* (kajian pustaka)

Menurut Subagyo (2011), *study literature* (kajian pustaka) merupakan penelusuran literatur yang bersumber dari buku, media, pakar ataupun dari hasil penelitian orang lain.

Adapun tujuan *study literature* ini adalah untuk menyusun dasar teori yang digunakan dalam melakukan penelitian. Beberapa teori yang dikumpulkan peneliti terdahulu dapat beberapa jurnal penelitian mengenai kemampuan pengelihan mata ika, morfologi, kebiasaan hidup, habitat, klasifikasi ikan yang digunakan dalam proses penelitian, dalam hal ini yaitu Ikan Gulamah (*Johnius belangerii*) dan ikan Biji nangka (*Upeneus sulphureus*).

c. Dokumentasi

Menurut Subagyo (2011), metode pengumpulan data dokumentasi adalah sebuah pelengkap dari wawancara dan dokumentasi.

Dalam penelitian ini, peneliti mendokumentasikan beberapa perihal dalam bentuk gambar maupun video antara lain kondisi beberapa tempat *fishing ground* yang berada di Kabupaten Lamongan, proses pengambilan sampel mata ikan, kapal penangkapan ikan beserta alat tangkapnya.

3.4 Metode Pengambilan Sampel

Metode pengambilan sampel yang digunakan yaitu menggunakan rancangan percobaan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Adapun struktur data yang digunakan yaitu sebagai berikut :

Tabel 1. Struktur data rancangan acak lengkap

Ulangan Ke-	Perlakuan			
	t1	t2	t3	t4
1	t11	t21	t31	t41
2	t12	t22	t32	t42
3	t13	t23	t33	t43

Adapun perlakuan dalam rancangan acak lengkap ini yaitu t1, t2, t3, dan t4 sebagai umur ikan ke 1, 2, 3, dan 4. Jumlah pengulangan yaitu sebanyak 3 kali. Struktur data dan rancangan acak lengkap ini digunakan untuk proses pengambilan sampel untuk kedua jenis ikan sampel.

3.4.1 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Alat dan bahan penelitian

NO	Alat Dan Bahan	Kegunaan
	<u>Alat</u>	
1	<i>Mikroskop</i>	Untuk observasi sample
2	Timbangan	Untuk mengetahui bobot sampel
3	Jangka Sorong	Untuk mengukur diameter bola dan lensa mata sampel
4	Section set	Untuk mengambil bola mata ikan
5	Botol sample	Media penyimpanan sample
6	Spidol	Untuk pemberian label dan tanda
7	<i>Microtom</i>	Untuk pemotongan sampel
8	<i>Cassette</i>	Tempat penyimpanan retina untuk memasukkan paraffin ke dalam jaringan retina
9	<i>Slide glass</i>	Sebagai tempat hasil pemotongan jaringan
	<u>Bahan</u>	
1	Ikan Gulamah (<i>Johnius belangerii</i>) dan ikan Biji nangka (<i>Upeneus sulphureus</i>)	Sampel
2	Formalin 15%	Menjaga konsistensi jaringan mata
3	Alkohol	Untuk mengeluarkan air dari dalam jaringan
4	<i>Parrafin</i>	Untuk media tanam sample & penetrasi ke dalam jaringan.
5	<i>Xylen</i>	Untuk menghilangkan alkohol dalam

	<i>Eosin</i>	jaringan & mengeluarkan paraffin
6	<i>Haematoxylen</i>	Untuk pewarnaan
7	<i>Aquades</i>	Untuk penyempurnaan proses rehidrasi

3.4.2 Prosedur Penelitian

3.4.2.1 Identifikasi Ikan Gulamah (*Johnius belangerii*) dan Ikan Biji Nangka (*Upeneus sulphureus*)

Sebelum melakukan proses pengambilan sampel mata ikan, diperlukan melakukan identifikasi terlebih dahulu agar tidak terdapat kesalahan dalam proses penentuan jenis ikan. Proses identifikasi ini meliputi pengukuran panjang maksimal, panjang standar, tinggi badan, warna sisik, dan jenis gigi.

3.4.2.2 Proses Pengambilan Sampel Mata Ikan Berdasarkan Perhitungan Umur dan Pengukuran Panjang Total

Proses pengambilan sampel ini dilakukan di perairan Lamongan dengan bersama nelayan pancing ulur selama 1 hari. Sampel yang digunakan merupakan ikan hidup yang baru saja tertangkap dan tidak lebih dari 5 jam berada di atas air.

Kemudian ikan sampel yang telah didapat, diukur panjang total dan berat badannya. Menurut Juraida (2004) menyatakan L_{∞} (panjang pada t tak terhingga) dari ikan gulamah (*Johnius belangerii*) yaitu 23,2 cm, dengan koefisien pertumbuhan 0,81/tahun, dan t_0 (waktu pada saat L_0) adalah -0,22 tahun. Dan menurut Syamsyah (2010) mengatakan bahwa L_{∞} (panjang pada t tak terhingga) dari ikan biji nangka (*Upeneus sulphureus*) yaitu 31,1 cm, dengan koefisien pertumbuhan 0,28/tahun, dan t_0 (waktu pada saat L_0) adalah -0,55 tahun. Kemudian dilakukan perhitungan dengan formula Von Bertalanffy ($L(t) = L_{\infty}(1 - e^{-k(t-t_0)})$) agar dapat diketahui umur ikan gulamah (*Johnius*

belangerii) dan ikan biji nangka (*Upeneus sulphureus*). Adapun perhitungan umur ikan Biji Nangka (*Upeneus sulphureus*) dapat dilihat pada **Lampiran 3** dengan menggunakan persamaan $L(t) = 31,3(1 - \exp^{-0,28(t - (-0,55))})$. Sedangkan perhitungan umur ikan gulamah (*Johnius belangerii*) dapat dilihat pada **Lampiran 4** dengan menggunakan persamaan $L(t) = 23,2(1 - e^{-0,81(t - (-0,22))})$.

Hasil dari perhitungan umur ikan didapat panjang yang sesuai, yaitu sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil perhitungan umur ikan sampel

No.	Ikan Gulamah (<i>Johnius belangerii</i>)		Ikan Biji Nangka (<i>Upeneus sulphureus</i>)	
	Panjang Total (cm)	Hasil perhitungan umur (t) (tahun)	Panjang Total (cm)	Hasil perhitungan umur (t) (tahun)
1.	11	0,6	9	0,6
2.	13	0,9	10,5	0,9
3.	15	1	11	1
4.	17	1,5	13	1,5

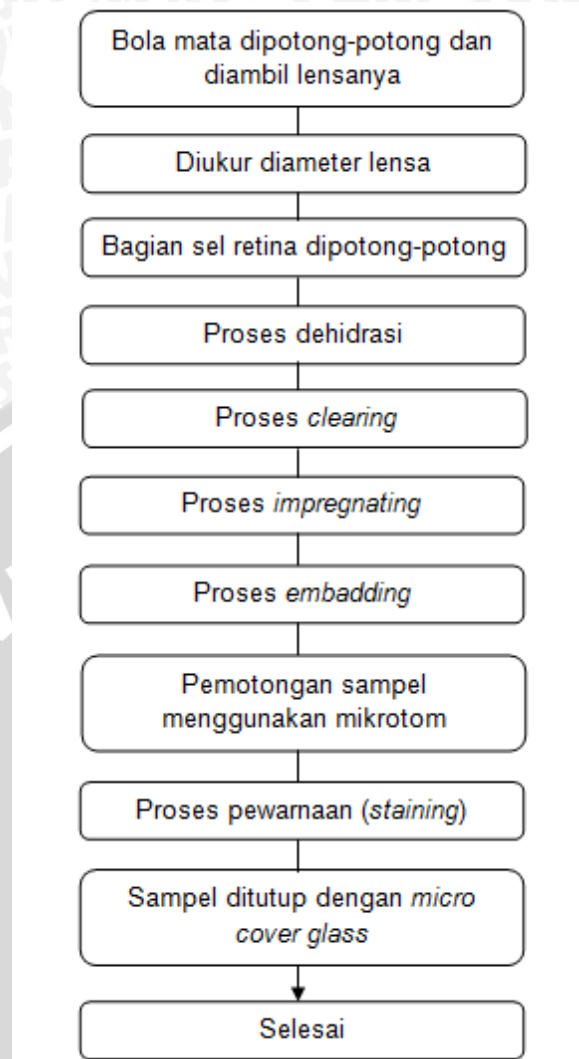
Dari tabel diatas dapat diketahui panjang ikan yang akan diambil pada saat proses pengambilan sampel mata ikan ini. Sampel mata ikan yang telah didapat dimasukkan ke dalam larutan formalin berkonsentrasi 15%. Dalam pengambilan sampel, dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Dalam setiap sesi pengambilan sampel diambil 4 ekor ikan gulamah dan 4 ekor ikan biji nangka dengan ukuran panjang total yang berbeda-beda seperti yang telah disebutkan diparagraf sebelumnya.

3.4.2.3 Proses Histologi Mata Ikan Guna Mendapatkan Deskripsi Sel Kon

Setelah diperoleh sampel Ikan Gulamah (*Johnius belangerii*) dan ikan Biji nangka (*Upeneus sulphureus*) dengan ukuran panjang total yang berbeda-beda, maka dilakukan pengukuran 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 Gulamah (*Johnius belangerii*) dan ikan Biji nangka (*Upeneus sulphureus*) 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%.

Kemudian dilanjutkan pada pembuatan preparat untuk diamati sel konnya dengan menggunakan mikroskop di Laboratorium Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan 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 5. 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 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.

3.5 Analisis Data

Adapun analisis data yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan penglihatan dari ikan gulamah (*Johnius belangerii*) dan ikan biji nangka (*Upeneus sulphureus*) ini adalah berdasarkan analisis yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya (Purbayanto, 2010) yaitu :

1. Mendeskripsikan struktur susunan kon (*Con mozaik*) sel-sel penglihatan didalam retina mata ikan gulamah dan ikan biji nangka. Dilakukan dengan cara melihat dari susunan kon jadi bentuk *mozaik* merupakan kon yang tersusun dalam bentuk barisan atau dalam bentuk pola bujur sangkar. Ikan yang memiliki struktur susunan kon berbentuk baris atau pola bujur sangkar menunjukkan bahwa ikan tersebut sangat intensif menggunakan indera penglihatannya.
2. Menentukan arah ketajaman penglihatan (*Visual Axis*) dilakukan dengan cara: dilihat dari jumlah kepadatan kon (n) pada setiap arah pandangan ikan. Jadi sistem penglihatan ikan untuk kasus ketajaman penglihatan berdasarkan kepadatan kon dan diameter lensa dapat di hubungkan dengan karakteristik hidupnya, dimana habitatnya berada sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan khususnya untuk kondisi penglihatannya.
3. 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) (cells/0,01 mm²)

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

- Menentukan *estimasi* sudut pandang minimum (α)

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

α rad : sudut pembeda terkecil (radian)

F : jarak fokus (berdasarkan formula Matthiesson's (F = 2,55r)

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.

- Penentuan tingkat ketajaman(VA)

$$VA = \left[\frac{\alpha \times 180 \times 60}{\pi} \right]^1$$

4. Mengetahui jarak maksimum penglihatan mata ikan berdasarkan ukuran suatu objek, dilakukan dengan cara menghitung;

- *Estimasi* jarak pandang maksimum (D)

$$D = \frac{t}{\alpha}$$

Keterangan : d = diameter obyek (mm)

a = sudut pembeda terkecil (menit)

5. Melakukan uji beda, yaitu menggunakan anova single factor karena rancangan penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dan uji t. Penggunaan uji t dilakukan untuk membandingkan ketajaman penglihatan kedua ikan sampel. Uji beda dilakukan untuk menguji perbedaan kemampuan penglihatan ikan gulamah dan ikan biji nangka. Selanjutnya jika terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan melakukan uji BNT (beda nyata terkecil) guna mengetahui perlakuan yang paling baik.

