

BAB IV

METODOLOGI

4.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 6-26 Agustus 2001 di Laboratorium PT. Budidaya Mutiaratama Indonesia, Desa Tekalok, Kecamatan Sambelia, Kabupaten Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat.

4.2. Alat dan Bahan

4.2.1. Bahan

- Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva tiram *Pinctada maxima*.
- Air laut terfilter
- Akuades
- Formalin 4 %

4.2.2. Alat

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat dan Bahan Penelitian

NO	PERALATAN	KETELITIAN	KEGUNAAN
1.	Refraktometer	1 ppt	Mengukur salinitas
2.	Termometer	0,1 ⁰ C	Mengukur suhu
3.	pH-meter	0,01	Mengukur pH
4.	DO-meter	0,01 ppm	Mengukur O ₂ terlarut
5.	Gelas beker	-	Wadah uji
6.	Mikroskop binokuler	-	Mengamati sampel
7.	Mikroskop dan kamera	-	Memotret sampel
8.	Gelas ukur 500 ml	-	Mengukur volume air

NO	PERALATAN	KETELITIAN	KEGUNAAN
10.	Saringan	80 μm , 20 μm	Menyaring telur dan sperma
11.	Jangka sorong	0,1 mm	Mengukur cangkang induk
12.	Obyek glass dan cover glass	-	Mengamati sampel
13.	Bak fiberglass	-	Wadah pemijahan
14.	Sadgewick rafter counter	-	Menghitung kepadatan larva.
15.	Pipet	-	Mengambil larva
16.	Hand counter	-	Menghitung larva
17.	Panci + kompor	-	Memasak air

4.3. Cara Kerja

4.3.1. Persiapan Alat dan Media

Persiapan alat yaitu penyiapan 12 buah beker glass (1 liter) yang bersih. Kemudian diisi dengan media berupa air laut yang telah terfilter dengan salinitas sesuai perlakuan. Masing-masing perlakuan dengan 3 x ulangan, dan volume untuk tiap-tiap wadah uji sebanyak 1 liter. Sebagai salinitas kontrol adalah 33 ‰.

Untuk mendapatkan media dengan salinitas tersebut, dilakukan dengan pengenceran dan pemekatan filtrat air laut dengan air tawar. Teknik pengenceran dilakukan menurut Sverdrup *dkk* (1942) yaitu sebagai berikut:

$$S_3 = \frac{M_1 S_1 + M_2 S_2}{M_1 + M_2}$$

Keterangan:

S_3 = tingkat salinitas yang dibutuhkan

M_1 = volume air laut (ml)

S_1 = salinitas filtrat air laut (‰)

M_2 = volume air tawar (ml)

S_2 = salinitas air tawar (0 ‰)

Untuk menaikkan salinitas, dilakukan dengan memanaskan air laut hingga salinitasnya naik dan apabila terlalu pekat maka dapat diencerkan lagi.

4.3.2. Pengambilan dan Seleksi Induk *Pinctada maxima*

Induk *Pinctada maxima* diambil dari rakit apung, induk-induk tersebut diperoleh dari alam yang kemudian dipelihara dalam rakit apung sampai waktu bertelur. Kemudian induk tersebut diseleksi kenormalan cangkang dan ukurannya serta tingkat kematangan gonadnya (Dhoe *dkk.*, 2000). Induk yang baik mempunyai cangkang yang tidak cacat, gonadnya dalam keadaan TKG IV (matang penuh) dan warna cangkangnya kuning kecoklatan (terang) dengan ukuran antara 17 sampai 20 cm. Induk-induk yang telah didapat segera dibersihkan dan diaklimatisasi. Aklimatisasi bertujuan agar tiram dapat menyesuaikan diri dengan kondisi laboratorium. Menurut Tun dan Winanto (1988) bahwa aklimatisasi diperlukan untuk adaptasi tiram dari shock akibat koleksi dan pembersihan. Aklimatisasi dilakukan dalam sebuah bak fiberglass yang berisi air yang disinari UV lalu diberi aerasi, suhu air laut dalam bak 28⁰C dan salinitas kontrol yang sering digunakan 33 ‰. Aklimatisasi dilakukan selama ± 24 jam, setelah aklimatisasi induk-induk tiram tersebut sudah dapat dipijahkan.

4.3.3. Pemijahan Induk *Pinctada maxima*

Induk yang telah diseleksi, dibersihkan dan diaklimatisasi diambil untuk dipijahkan. Induk *Pinctada maxima* dipijahkan pada salinitas 33 ‰ dengan metoda "thermal shock" yaitu fluktuasi suhu. Menurut Anonim (1992) perlakuan

yang dapat merangsang pemijahan tiram mutiara adalah "thermal shock" (penaikan dan penurunan suhu) dan perlakuan pengeluaran tiram dari air (ekspose). Caranya yaitu menyiapkan dua buah bak fiberglass (volume 30 l) yang berisi air laut terfilter, bak fiberglass pertama bersuhu 35 °C sedangkan bak fiberglass kedua bersuhu 28 °C. Induk tiram mutiara yang telah diseleksi dimasukkan dalam bak fiberglass pertama selama 1 jam kemudian induk tersebut dipindahkan ke dalam bak fiberglass kedua. Jika sampai 2 jam belum memijah maka induk-induk tersebut dikembalikan lagi ke bak fiberglass pertama. Begitu seterusnya sampai induk tiram memijah. Menurut Anonim (1993) fluktuasi suhu dengan kisaran antara 28 °C dan 35 °C mengakibatkan tiram cepat memijah.

Jika tiram telah memijah maka ditunggu beberapa saat (\pm 10 menit) sambil diaduk pelan-pelan agar terjadi pembuahan antara sel telur dan sperma. Kemudian diambil 1 liter air tersebut untuk disaring, sel telurnya dengan plankton net. Saringan pertama berukuran 80 mikron, untuk menyaring kotoran sedang saringan kedua berukuran 20 mikron, untuk menyaring telur karena diameter telur fertil antara 50-60 mikron (Sopacua, 1992). Sel telur yang telah tersaring segera ditempatkan ke dalam beker glass uji. Demikian seterusnya sampai kedua belas wadah uji terisi oleh sel telur semua.

4.4. Parameter

Parameter yang diamati terdiri dari parameter utama dan parameter pendukung, yaitu:

- Parameter utama: waktu perkembangan awal larva.
- Parameter pendukung: DO, pH, dan suhu

4.5. Rancangan Penelitian

Faktor percobaan yang akan diperlakukan adalah pengaruh salinitas dengan 4 taraf yaitu salinitas 27 ‰, 30 ‰, 33 ‰ dan 36 ‰ terhadap perkembangan awal larva. Empat taraf percobaan tersebut terdiri dari 3 perlakuan dan 1 kontrol dengan 3 ulangan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan faktor tunggal.

Gambar rancangan penelitian:

1	2	3	4
C ₁	B ₃	D ₂	D ₃
5	6	7	8
A ₁	C ₃	A ₂	A ₃
9	10	11	12
B ₁	C ₂	B ₂	D ₁

Keterangan:

A₁, A₂, A₃ = media perlakuan dengan salinitas 27 ‰

B₁, B₂, B₃ = media perlakuan dengan salinitas 30 ‰

C₁, C₂, C₃ = media perlakuan dengan salinitas 33 ‰

D₁, D₂, D₃ = media perlakuan dengan salinitas 36 ‰

4.6. Pengumpulan Data

Data yang diambil pada penelitian ini adalah lama waktu yang dibutuhkan pada perkembangan awal larva dari pemijahan sampai stadia D-type pada tiap perlakuan, sedangkan data pendukungnya adalah data kualitas media perlakuan yang meliputi: suhu, pH dan kandungan oksigen terlarut.

Pengamatan terhadap perkembangan larva dari telur sampai D-type tersebut dilakukan dibawah mikroskop, yaitu dengan mencatat waktu dan memotret setiap perubahan fase-fase. Pengamatan dilakukan tiap 5 menit sampai mencapai fase trokofor setelah itu pengamatan dilakukan tiap 10 menit sampai mencapai fase D-type. Untuk memudahkan pemotretan sampel bisa ditetesi formalin 4 % (Quayle, 1980). Perubahan larva dari fase sebelumnya ke fase berikutnya (berdasarkan staff ahli PT BUMI, 2001), terjadi apabila > 50 % larva yang diamati sudah berubah.

4.6. Analisa Data

Data waktu perkembangan awal larva baik selisih waktu antar stadia maupun total waktu perkembangan larva ditabulasikan untuk dianalisa. Data-data tersebut diuji sifat normalitasnya dengan uji Liliefors dan dilanjutkan homogenitas ragamnya dengan uji Barlett. Kemudian dilanjutkan dengan Anova (Srigandono, 1987). Apabila didapat pengaruh perlakuan nyata, maka untuk mengetahui perlakuan mana yang memberi pengaruh nyata dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).