

BIOLOGI REPRODUKSI SPESIES TIMUN LAUT

***Stichopus quadrifasciatus* MASSIN, 1999**

(ASPIDOCHIROTIDA: STICHOPODIDAE)

DI PERAIRAN PULAU SONGSONG,

KEDAH DARUL AMAN

SIM YEE KWANG

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

2005

BIOLOGI REPRODUKSI SPESIES TIMUN LAUT

***Stichopus quadrifasciatus* MASSIN, 1999**

(ASPIDOCHIROTIDA: STICHOPODIDAE)

DI PERAIRAN PULAU SONGSONG,

KEDAH DARUL AMAN

Oleh:

SIM YEE KWANG

Tesis yang diserahkan untuk memenuhi

keperluan bagi Ijazah Sarjana Sains

OGOS 2005

PENGHARGAAN

Saya ingin mengucapkan jutaan terima kasih kepada penyelia saya, Profesor Dr. Zulfigar Bin Haji Yasin; ke atas nasihat, dorongan dan tunjuk ajar yang diberikan oleh beliau. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada beliau ke atas perancangan dan bantuan semasa menjalankan aktiviti penyelaman bagi tujuan persampelan sepanjang penyelidikan.

Saya juga ingin merakamkan penghargaan dan jutaan terima kasih kepada Dr. Aileen Tan Shau Hwai, yang telah banyak memberi bimbingan dan nasihat dalam membantu saya semasa penulisan tesis ini. Kepada rakan-rakan di CEMACS; Mahadi, Sazlina, Wai Sin, Izwandy, Cheah Wee dan Farizan; terima kasih ke atas bantuan dan dorongan anda semua. Terutamanya Mahadi yang banyak memberi bantuan dalam aktiviti penyelaman semasa persampelan di lokasi kajian.

Ucapan setinggi-tinggi terima kasih kepada keluarga saya kerana memberi semangat sepanjang pengajian saya di sini. Tidak lupa juga kepada Sui Ching, yang telah banyak bersabar dan memberi semangat sepanjang tempoh pengajian saya; terima kasih yang tidak terhingga.

To Professor Claude Massin from Malacology Section, Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Brussels, Belgium; thank you very much for your taxonomy references and useful advices through emails. To Professor Chantal Conand from Université de La Réunion, Laboratoire de biologie marine, 97715 Saint-Denis Cede, La Réunion, France; thank you very much for your reference materials and useful advices on the reproduction biology and gonadal cycle of sea cucumbers during the CITES International Technical

Workshop on The Conservation of Sea Cucumbers in the families Holothuridae and Stichopodiidae in Kuala Lumpur, Malaysia (1th - 3th March 2004).

Ucapan terima kasih kepada Prof. Madya Dr. Chan Lai Keng, pensyarah Pusat Pengajian Sains Kajihayat, Universiti Sains Malaysia atas nasihat dan tunjuk ajar beliau ke atas bahagian statistik dalam tesis ini serta Encik Alui Bahari, Pengarah Bahagian Lautan, Perkhidmatan Kajiucaca Malaysia atas maklumat dan data kajiucaca di bahagian utara Selat Melaka (Lat.: U 2.5° - 7.5°; Long.: T 97.0° - 102.0°) tahun 2002 dan 2003 yang disumbangkan sebagai rujukan dalam penyelidikan ini.

Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Encik Abu Bakar dari Unit Histologi, Universiti Sains Malaysia atas nasihat dan bantuan beliau sepanjang kerja histologi dilakukan serta Encik Johari dan Encik Muthu dari Unit Mikroskop Elektron, Universiti Sains Malaysia yang telah banyak membantu semasa kerja analisis mikroskopik dijalankan.

Jutaan terima kasih kepada Abang Anuar dan Encik Rozmi dari Stesen Penyelidikan Marin Muka Head, Universiti Sains Malaysia di atas pertolongan dan kerjasama semasa menjalankan aktiviti persampelan di perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman. Akhir sekali, ucapan terima kasih juga ditujukan kepada pihak-pihak yang terlibat dalam menjayakan kajian ini secara langsung atau tidak langsung.

KANDUNGAN

	Mukasurat
TAJUK TESIS	I
PENGHARGAAN	II
KANDUNGAN	IV
SENARAI JADUAL	X
SENARAI RAJAH	XII
SENARAI PLAT	XV
SENARAI LAMPIRAN	XVIII
SENARAI SINGKATAN	XIX
ABSTRAK	XX
ABSTRACT	XXII
BAB 1 PENGENALAN	
1.1 Timun laut – Ciri-ciri khas dalam kelas Holothuroidea	1
1.2 Pengkelasan taksonomi timun laut	5
1.3 Ciri-ciri umum morfolgi dan anatomi timun laut	
1.3.1 Eksternal badan	12
1.3.2 Internal badan	14
1.4 Pembiakan timun laut	16
BAB 2 OBJEKTIF KAJIAN	22
BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH	

3.1	Lokasi persampelan	25
3.2	Pengutipan sampel	27
3.3	Organisma kajian dari perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman	30
3.3.1	Pemerhatian morfologi luar sampel timun laut	30
3.3.2	Kajian anatomi sampel timun laut	32
3.3.3	Analisis bentuk spikul sampel timun laut	33
3.4	Parameter biometrik	
3.4.1	Panjang dan berat jasad	35
3.4.2	Berat gonad	36
3.4.3	Berat dinding jasad	36
3.5	Perkembangan gonad	
3.5.1	Morfologi gonad	37
3.5.2	Model Pembaharuan Tubul (TRM)	39
3.5.3	Bilangan dan panjang gugusan tubul gonad bulanan	42
3.5.4	Indeks Gonad (GI)	43
3.5.5	Saiz oosit (analisis histologi)	44
3.5.6	Kaedah histologi	45
3.5.7	Indeks Berat Kematangan Individu (IWMI)	48
3.5.8	Perbandingan di antara pemerhatian visual dan histologi	52
3.6	Parameter kualiti air persekitaran lokasi persampelan	
3.6.1	Parameter fizikal	
a	Suhu (°C), saliniti (ppt), oksigen terlarut, DO (mg/L) dan pH	56
b	Jumlah pepejal terampai, TSS (mg/L)	58

c	Indeks kekeruhan, FTU	59
3.6.2	Parameter kimia	
a	Kandungan klorofil-a ($\mu\text{g/L}$)	60
b	Fosfat, PO_4^{3-} (mg/L), nitrat, NO_3^- (mg/L) dan ammonia, NH_3 (mg/L)	62
3.6.3	Bacaan parameter kualiti air melalui Hydrolab Data Sonde 4a	63
3.7	Analisis Statistik	64
3.7.1	Ujian Taburan Normal dan Transformasi Box-Cox	64
3.7.2	Kaedah Kruskal-Wallis	65
3.7.3	Ujian ANOVA satu hala	66
3.7.4	Kolerasi Pearson	68
3.7.5	Ujian statistik T	70

BAB 4 KEPUTUSAN

4.1	Organisma kajian dari perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman	
4.1.1	Ciri-ciri morfologi luar <i>Stichopus quadrifasciatus</i> Massin, 1999	73
4.1.2	Anatomi <i>Stichopus quadrifasciatus</i>	76
4.1.3	Analisis bentuk, jenis dan saiz spikul <i>Stichopus quadrifasciatus</i>	79
4.1.4	Ciri-ciri jantung dan morfologi gonad <i>Stichopus quadrifasciatus</i>	85
4.1.5	Nisbah jantung bulanan <i>Stichopus quadrifasciatus</i>	89

4.2	Parameter biometrik jasad	91
4.3	Perkembangan gonad	
4.3.1	Morfologi dan pertumbuhan tubul gonad pada setiap peringkat perkembangan	94
4.3.2	Perbandingan perkembangan tubul gonad <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dengan Model Pembaharuan Tubul (TRM)	97
4.3.3	Bilangan dan panjang gugusan tubul gonad bulanan	101
4.3.4	Indeks Gonad (GI)	104
4.3.5	Peringkat perkembangan gonad jantan dan betina melalui kaedah histologi	108
4.3.6	Indeks Berat Kematangan Individu (IWMI)	112
4.3.7	Perbandingan di antara pemerhatian visual dan histologi ke atas peringkat perkembangan gonad	114
4.3.8	Corak perkembangan dan saiz oosit <i>Stichopus quadrifasciatus</i> di perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman	116
4.4	Parameter kualiti air persekitaran lokasi persampelan	
4.4.1	Parameter fizikal	
	Suhu (°C)	120
	Saliniti (ppt)	120
	Oksigen terlarut, DO (mg/L)	120
	pH	121
	Jumlah pepejal terampai, TSS (mg/L)	121
	Indeks Kekeruhan, FTU	122

4.4.2	Parameter kimia	
	Kandungan klorofil-a ($\mu\text{g/L}$)	124
	Fosfat, PO_4^{3-} (mg/L)	124
	Nitrat, NO_3^- (mg/L)	124
	Ammonia, NH_3 (mg/L)	125
4.4.3	Bacaan parameter kualiti air melalui Hydrolab Data Sonde 4a	127

BAB 5 PERBINCANGAN

5.1	Aplikasi Model Pembaharuan Tubul (TRM) dalam perkembangan gonad <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dan spesies timun laut yang lain	128
5.2	Perhubungan di antara berat gonad, berat dinding jasad dan Indeks Gonad (GI)	
5.2.1	Kolerasi di antara berat gonad dengan berat dinding jasad	134
5.2.2	Kolerasi di antara Indeks Gonad (GI) dengan berat gonad dan berat dinding jasad	138
5.3	Perhubungan di antara Indeks Gonad (GI), saiz oosit dan peringkat perkembangan gonad (analisis histologi)	
5.3.1	Kolerasi di antara Indeks Gonad (GI) dengan saiz oosit	142
5.3.2	Kolerasi di antara Indeks Gonad (GI) dengan peringkat perkembangan gonad	144
5.3.3	Kolerasi di antara saiz oosit dengan peringkat perkembangan gonad	147

5.4	Perhubungan di antara Indeks Gonad (GI) dan Indeks Berat Kematangan Individu (IWMI)	149
5.5	Perhubungan di antara pemerhatian visual dan kaedah histologi ke atas pengecaman peringkat perkembangan gonad	154
5.6	Pengaruh kualiti air (faktor-faktor fizikal dan kimia) di sekitar lokasi persampelan	158
5.7	Perbandingan data dengan kajian-kajian lepas	
5.7.1	Musim pembiakan	161
5.7.2	Diameter oosit dalam peringkat matang	166
5.7.3	Pengaruh faktor luaran ke atas musim pembiakan	168
5.8	Gametogenesis dalam testis dan ovari gonad	174
5.9	Keunikan dan nisbah jantina <i>Stichopus quadrifasciatus</i> di perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman	179
BAB 6	KESIMPULAN	181
6.1	Cadangan kajian lanjutan	184
BAB 7	RUJUKAN	189
LAMPIRAN		
SENARAI PENERBITAN DAN PENYAMPAIAN		
BUTIRAN PERIBADI		

SENARAI JADUAL

Jadual		Muka surat
1.1	Laporan pembiakan aseksual yang berlaku pada spesies timun laut.	20
3.1	Deskripsi peringkat perkembangan gonad <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang dikategorikan melalui pemerhatian visual ke atas morfologi gonad.	38
3.2	Pengkelasan, penerangan ringkas dan contoh pengumpulan data untuk pengiraan Indeks Berat Kematangan Individu (IWMI).	51
3.3	Deskripsi peringkat perkembangan gonad <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang dibezakan secara pemerhatian visual (diubahsuai daripada Hoareau & Conand, 2001).	53
3.4	Deskripsi peringkat perkembangan gonad <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang dibezakan secara histologi (diubahsuai daripada Foglietta <i>et al.</i> , 2004).	54
3.5	Parameter air laut menggunakan peralatan saintifik tertentu dengan unit dan bilangan replikatnya.	56
3.6	Reagen dan jarak gelombang untuk menganalisis nutrien-nutrien dengan menggunakan Spektrofotometer HACH Kit Model DR/2000 (Hach Company, 1988).	62
4.1	Perbezaan peratusan peringkat perkembangan gonad spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman dari akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September 2003 melalui kaedah keadaan histologi dengan pemerhatian visual.	115
5.1	Keputusan kolerasi Pearson bagi pertalian di antara Indeks Gonad (GI) jantan dan betina terhadap Indeks Berat Kematangan Individu (IWMI) jantan dan betina spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> di perairan Pulau Songsong.	150
5.2	Data analisis ujian statistik kolerasi Pearson di antara Indeks Gonad (GI) secara purata, jantan dan betina bagi spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> terhadap parameter fizikal dan kimia air persekitaran lokasi persampelan.	160
5.3	Musim pembiakan bagi spesies-spesies timun laut di negara Malaysia dan negara luar.	162

5.4	Perbandingan diameter oosit matang spesies-spesies timun laut dalam genus <i>Stichopus</i> serta genus-genus yang lain.	167
5.5	Pengaruh faktor luaran terhadap musim pembiakan spesies-spesies timun laut di Malaysia dan di luar negara.	173

SENARAI RAJAH

Rajah		Muka surat
1.1	Taksonomi pengkelasan timun laut (Hyman, 1955; Rowe & Dotty, 1977; Arnold & Birtles, 1989).	6
1.2	Kekunci taksonomi ringkas untuk membahagikan kelas timun laut kepada order-order berdasarkan morfologi dan anatomi timun laut (diubahsuai daripada Forbes <i>et al.</i> , 1999).	7
1.3	Bentuk tentakel yang terdapat pada order timun laut yang berlainan (diubahsuai daripada Cannon & Silver, 1986).	9
1.4	Jenis cecincin berkapur (Calcareous) yang terdapat pada genus timun laut yang berlainan dalam famili Holothuriidae (diubahsuai daripada Cannon & Silver, 1986).	9
1.5	Morfologi luar contoh spesies timun laut <i>Thelenota ananas</i> (A) Pandangan ventral (B) Pandangan dorsal (diubahsuai daripada Dharmananda, 1998).	13
1.6	Anatomi dalaman am timun laut (rajah diubahsuai daripada Morin & Houseman, 2002 dari <u>BIODIDAC</u>).	15
3.1	Peta menunjukkan lokasi Pulau Songsong, Kedah Darul Aman yang menjadi tumpuan kawasan persampelan. Kawasan persampelan terletak di arah utara dan selatan Pulau Songsong seperti yang ditunjukkan oleh tanda X.	26
3.2	Peta Pulau Pinang yang menunjukkan lokasi Stesen Penyelidikan Marin Muka Head, Universiti Sains Malaysia di Teluk Aling yang terletak pada bahagian utara pulau mutiara ini.	28
3.3	Carta aliran peringkat kajian awal corak reproduksi spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> di Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	29
3.4	Carta aliran menunjukkan proses pengecaman spesies timun laut berdasarkan morfologi luar, anatomi dalaman dan spikul.	31
3.5	Cara pergerakan pipet semasa proses membilas larutan kloroks untuk menyediakan slaid spikul bagi timun laut dari famili Stichopodidae.	33

3.6	Struktur ovari timun laut yang dicadangkan oleh Model Pembaharuan Tubul (TRM). Bahagian ovari sebelah kiri menunjukkan keadaan sebelum pembiakan dan sebelah kanan menggambarkan keadaan ovari selepas pembiakan (diubahsuai daripada Smiley & Cloney, 1985).	41
3.7	Diagram menunjukkan perkembangan tubul gonad atau ovari timun laut mengikut Model Pembaharuan Tubul (TRM). YGM ialah morfologi gonad dalam unit masa tahun (model diagram diubahsuai daripada Sewell <i>et al.</i> , 1997).	41
3.8	Proses pendehidratan sampel gonad <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dalam siri larutan alkohol dan proses penyerapan lilin sampel gonad dalam empat peringkat larutan lilin paraplas.	46
3.9	Langkah dan kaedah pewarnaan Haematoxilin dan Eosin untuk sampel gonad <i>Stichopus quadrifasciatus</i> .	47
3.10	Carta aliran bagi proses lanjutan persampelan spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> di Pulau Songsong, Kedah Darul Aman dan analisis corak reproduksi sampel di dalam makmal.	72
4.1	Anatomi dalaman <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	78
4.2	Graf bar menunjukkan nisbah perbezaan peratusan jantina sampel <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman dari bulan Mei tahun 2002 sehingga September tahun 2003.	90
4.3	Graf garis yang menunjukkan data biometrik spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> (panjang jasad, berat jasad, berat gonad dan berat dinding jasad) yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman pada akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	93
4.4	Graf garis yang menunjukkan bilangan gugusan tubul gonad yang diperolehi dari spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman pada akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	102
4.5	Graf garis yang menunjukkan min panjang tubul gonad bulanan yang diperolehi dari spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman pada akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	102
4.6	Graf garis yang menunjukkan data bacaan Indeks Gonad (GI) <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman pada akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	105

4.7	Histogram yang menunjukkan data keadaan histologi gonad <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman pada akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	111
4.8	Graf garis yang menunjukkan data bacaan Indeks Berat Kematangan Individu (IWMI) jantan dan betina <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman pada akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	113
4.9	Graf garis yang menunjukkan min saiz oosit bulanan (μm) spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman pada akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	117
4.10	Graf bar yang menunjukkan kelas saiz oosit bulanan (μm) spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman pada akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	118
4.11	Graf garis yang menunjukkan data bacaan parameter-parameter fizikal yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah pada bulan akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	123
4.12	Graf garis yang menunjukkan data bacaan parameter kimia yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman pada akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	126
5.1	Graf garis yang menunjukkan corak perhubungan di antara Indeks Gonad (GI), berat gonad dengan berat dinding jasad bagi sampel timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	139
5.2	Corak perhubungan di antara keadaan histologi bulanan dengan Indeks Gonad (GI) spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman dalam 14 kali persampelan.	146
5.3	Corak perhubungan di antara keadaan histologi bulanan bagi gonad betina dengan saiz oosit bulanan (μm) spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah pada 14 kali persampelan.	148
5.4	Corak perhubungan di antara Indeks Gonad (GI) dengan Indeks Berat Kematangan Individu (IWMI) jantan dan betina <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang diperolehi dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman pada akhir bulan Mei 2002 sehingga akhir bulan September tahun 2003.	151

SENARAI PLAT

Plat		Muka surat
1.1	Tentakel timun laut jingga, <i>Cucumaria miniata</i> yang boleh dijumpai pada kawasan pasang surut sehingga kedalaman 225 meter di Kepulauan Aleutin sehingga California (gambar digital oleh Haaga (2002) daripada <i>Alaska Fisheries Science Center, National Marine Fisheries Service</i> dari laman web http://www.afsc.noaa.gov/Kodiak/facilities/misinvert.htm).	3
1.2	Cara timun laut melepaskan sperma dan ovum ke dalam kolum air. Jantan dan betina akan melepaskan gamet bergantung kepada perubahan persekitaran. Telur akan disenyawakan secara luaran dan berkembang menjadi larva planktonik (gambar oleh Leslie Chan dari Pulau Shelter (2002) dari laman web http://www.marinelife.com.hk/Behavior/Reproduction.htm).	18
3.1	Rupa bentuk Pulau Songsong yang terletak di perairan Selat Melaka yang dipilih sebagai lokasi persampelan.	25
3.2	Pemandangan dan keadaan Stesen Penyelidikan Marin Muka Head yang terletak di Teluk Aling, Pulau Pinang.	28
3.3	Cara pengukuran panjang gugusan tubul gonad dengan penggunaan pembaris panjang dan forsep bermula dari bahagian duktus gonad sehingga bahagian gonoliang.	42
3.4	Cara pengukuran diameter oosit dengan bantuan program komputer yang ditunjukkan pada garisan berwarna merah di atas.	44
3.5	Keratan rentas gugusan tubul gonad jantan <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang menunjukkan peringkat perkembangan yang berlainan dalam sampel yang sama.	50
3.6	Keratan rentas gugusan tubul gonad betina <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang menunjukkan peringkat perkembangan yang berlainan dalam sampel yang sama.	50
3.7	Cara pembahagian imej digital slaid sampel histologi kepada kuadrat 10 x 10 untuk tujuan pengiraan Indeks Berat Kematangan Individu (IWMI).	51
4.1	Pandangan dorsal morfologi luar <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	74
4.2	Pandangan ventral morfologi luar <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	74

4.3	Morfologi luar <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari habitat asal dasar lautan perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	75
4.4	Anatomi dalaman <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	77
4.5	Sistem anatomi dalaman sampel <i>Stichopus quadrifasciatus</i> yang dikeluarkan daripada badannya yang dikutip dari perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	78
4.6	Jenis dan bentuk spikul-spikul yang terdapat dalam bahagian dinding badan dorsal dan ventral timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> .	80
4.7	Jenis dan bentuk spikul-spikul yang terdapat dalam bahagian papila pada dinding dorsal timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> .	82
4.8	Jenis dan bentuk spikul-spikul yang terdapat dalam bahagian kaki bertiub timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> .	83
4.9	Jenis dan bentuk spikul-spikul yang terdapat dalam bahagian tentakel timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> .	84
4.10	Struktur keseluruhan (morfologi) gugusan tubul gonad yang dikeluarkan dari <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	86
4.11	Struktur duktus gonad pada gugusan gonad betina sampel timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	87
4.12	Struktur duktus gonad pada gugusan gonad jantan sampel timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	87
4.13	Struktur gonoliang pada hujung gugusan gonad betina sampel timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> peringkat perkembangan akhir dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	88
4.14	Struktur tapak gonadal pada gugusan gonad betina sampel timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> peringkat perkembangan akhir dari Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	88
4.15	Morfologi gonad betina dan jantan <i>Stichopus quadrifasciatus</i> pada peringkat perkembangan yang berbeza dari perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	96
4.16	Keratan rentas gugusan tubul gonad betina <i>Stichopus quadrifasciatus</i> pada peringkat perkembangan awal yang mempunyai gabungan oosit previtellogenik dan oosit selepas pembiakan yang berlainan dalam sampel yang sama.	99

4.17	Keratan rentas gugusan tubul gonad betina <i>Stichopus quadrifasciatus</i> pada peringkat perkembangan akhir yang mempunyai gabungan oosit previtellogenik dan oosit vitellogenik yang berlainan dalam sampel yang sama.	99
4.18	Keratan rentas gugusan tubul gonad betina <i>Stichopus quadrifasciatus</i> pada peringkat perkembangan matang yang mempunyai gabungan oosit previtellogenik, oosit vitellogenik dan oosit vitellogenik akhir yang berlainan dalam sampel yang sama.	100
4.19	Keratan rentas histologi gonad betina dan jantan <i>Stichopus quadrifasciatus</i> pada peringkat perkembangan yang berbeza dari perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	110
5.1	Fagosit yang penuh dengan nutrien yang diselaputi oleh sel folikular dalam keratan rentas histologi tubul gonad pada peringkat perkembangan awal spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> di perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.	177
5.2	Bentuk oosit peringkat matang spesies timun laut <i>Stichopus quadrifasciatus</i> di perairan Pulau Songsong yang bertukar kepada bentuk lain disebabkan daya tolakan yang kuat dalam ruang epitelium germinal yang sempit.	177

SENARAI LAMPIRAN

Lampiran

- 1 Penyediaan 1.0 L larutan formalin tapan 10%.
- 2 Penyediaan 100 mL larutan Bouin.
- 3 Penyediaan 1.0 L larutan alkohol bersiri.
- 4 Penyediaan larutan pewarna Haematoxilen dan Eosin.
- 5 Langkah, reagen dan jarak gelombang untuk analisis Indeks kekeruhan (FTU) (Kaedah pengukuran penyerapan dengan Spektrofotometer HACH Kit DR/2000).
- 6 Langkah, reagen dan jarak gelombang untuk analisis fosfat (PO_4^{3-}), mg/L (Kaedah Asid askorbik dengan Spektrofotometer HACH Kit DR/2000).
Langkah, reagen dan jarak gelombang untuk analisis nitrat (NO_3^-), mg/L (Kaedah Penurunan Kadmium dengan Spektrofotometer HACH Kit DR/2000)
Langkah, reagen dan jarak gelombang untuk analisis ammonia (NH_3), mg/L (Kaedah Salisilat dengan Spektrofotometer HACH Kit DR/2000)

SENARAI SINGKATAN

Singkatan

°C	: darjah celsius
ppt	: bahagian per ribu
%	: peratus
m ²	: meter persegi
m	: meter
sm	: sentimeter
mm	: milimeter
µm	: mikrometer
nm	: nanometer
L	: liter
mL	: mililiter
kg	: kilogram
g	: gram
mg	: miligram
µg/L	: mikrogram per liter
mg/L	: miligram per liter
°	: darjah
'	: minit
>	: besar daripada
<	: kecil daripada
=	: bersamaan dengan
~	: lebih kurang
U	: utara
T	: timur
Lat.	: latitud
Long.	: longitud
<i>P</i>	: paras keertian
<i>K</i>	: pekali Kruskal-Wallis
<i>F</i>	: pekali ANOVA satu hala
<i>r</i>	: pekali kolerasi Pearson
<i>r_s</i>	: pekali kolerasi pangkat Spearman
SCUBA	: 'Self-Contained Underwater Breathing Apparatus'

**BIOLOGI REPRODUKSI SPESIES TIMUN LAUT *Stichopus quadrifasciatus*
MASSIN, 1999 (ASPIDOCHIROTIDA: STICHOPODIDAE) DI PERAIRAN PULAU
SONGSONG, KEDAH DARUL AMAN**

ABSTRAK

Stichopus quadrifasciatus Massin, 1999 merupakan spesies timun laut bersifat nokturnal yang biasanya hidup di kawasan lautan cetek. Kajian reproduksi *S. quadrifasciatus* di Pulau Songsong telah dijalankan selama 1½ tahun bermula dari bulan Mei 2002 sehingga bulan September 2003 dengan kaedah pemerhatian makroskopik dan mikroskopik ke atas tubul gonad, kajian corak perubahan oosit bulanan, kaedah Indeks Gonad (GI), kaedah Indeks Kematangan Berat Individu (IWMI) dan juga kajian histologi ke atas proses gametogenesis spesies timun laut tersebut. Parameter fizikal dan kimia air di persekitaran lokasi turut dikaji untuk menentukan pengaruh faktor eksogen ke atas kitar reproduksi *S. quadrifasciatus*. Kedua-dua jantina *S. quadrifasciatus* yang diperolehi semasa persampelan ini menunjukkan nisbah jantan dan betina yang sama iaitu nisbah 1 : 1. Ujian statistik ANOVA satu hala membuktikan bahawa corak bilangan dan panjang gugusan tubul gonad yang didapati setiap bulan mempunyai perbezaan yang signifikan ($P < 0.05$). Tubul gonad yang baru akan wujud pada bulan Jun 2002 dan bulan Mei 2003 serta bertumbuh dari segi saiz dan percabangan sehingga mencapai saiz maksimum dan matang pada bulan November 2002 dan Ogos 2003. Pemiakan atau perlepasan gamet bermula dari bulan Disember 2002 sehingga bulan Mei 2003 tetapi majoriti akan dilepaskan dalam tempoh bulan Mac 2003. Empat peringkat perkembangan gonad berdasarkan pemerhatian makroskopik dan pengecaman secara kaedah histologi telah dicadangkan. Kitar gametogenesis spesies timun laut ini bermula

pada bulan Jun 2002 serta Jun 2003 dengan kedua-dua proses spermatogenesis dan oogenesis berkembang secara serentak. Proses ini kemudiannya diikuti oleh peringkat perkembangan pada Julai 2002 sehingga Oktober 2002 serta Julai 2003 sehingga Ogos 2003 dengan perkembangan gamet yang aktif. GI jantan dan betina masing-masing menunjukkan corak perubahan yang sama membuktikan musim pembiakan timun laut jantan dan betina jatuh pada masa yang sama. Kaedah IWMI juga menunjukkan corak perubahan yang sama. Min saiz oosit yang diperolehi pada akhir bulan Mei 2002 yang bernilai $21.74 \pm 8.42 \mu\text{m}$ menunjukkan peningkatan sehingga mencapai puncak pada akhir bulan Ogos 2002 yang bernilai $90.53 \pm 12.85 \mu\text{m}$. Nilai min saiz oosit bulanan yang paling rendah bernilai $21.49 \pm 3.20 \mu\text{m}$ jatuh pada awal bulan April 2003. Parameter GI mempunyai pertalian positif yang kuat terhadap parameter berat gonad dengan pekali kolerasi bernilai 0.960 serta saiz oosit bulanan pada paras keertian 99%. Keadaan histologi yang dianalisis secara bulanan pula tidak menunjukkan corak perhubungan yang jelas terhadap corak GI bulanan. Saiz oosit bulanan juga tidak mempunyai pertalian atau perhubungan yang jelas dengan corak perkembangan gonad. Pekali Pearson membuktikan kesemua parameter fizikal dan kimia air di sekitar Pulau Songsong tidak mempengaruhi proses perkembangan gonad spesies timun laut *S. quadrifasciatus* di situ secara signifikan ($P > 0.05$). Walaupun begitu, parameter kimia nitrat mempunyai pertalian yang kuat ($r = 0.484$) terhadap corak perkembangan gonad berbanding dengan parameter yang lain. Selain itu, parameter kandungan klorofil-a yang dianalisis secara bulanan juga menunjukkan pertalian yang lemah terhadap corak perubahan GI bulanan ($r = 0.358$).

**REPRODUCTIVE BIOLOGY OF SEA CUCUMBER SPECIES *Stichopus*
quadrifasciatus MASSIN, 1999 (ASPIDOCHIROTIDA: STICHOPODIDAE) IN
PULAU SONGSONG, KEDAH DARUL AMAN**

ABSTRACT

Stichopus quadrifasciatus Massin, 1999 is a nocturnal sea cucumber species that inhabits shallow water areas. The reproduction of *S. quadrifasciatus* in Pulau Songsong was investigated over a 1½-year period from May 2002 to September 2003 by using the examination of macroscopic and microscopic appearances of gonad tubules, the monthly observations in the changing patterns of oocytes, the Gonad Index (GI) method, the Individual Weighted Maturity Index (IWMI) method, and the histological examination of gametogenesis. Physical and chemical parameters of sea water around the sampling site were obtained each month during the sampling of sea cucumber to determine the effects of exogenous environmental factors on the reproductive cycle of *S. quadrifasciatus*. The *S. quadrifasciatus* collected showed that the number of males and females were the same, indicating a balanced sex ratio of 1 : 1. The one-way ANOVA test conducted revealed that the monthly changing patterns in the number and length of gonad tubules were significant during the duration of the study ($P < 0.05$). New tubules appeared in June 2002 and May 2003, growing in size and in their extent of branching until finally reaching their maximum size and maturity in November 2002 and August 2003. Spawning occurred from December 2002 to May 2003, with the majority of the gametes released during March 2003. A four-stage gonad maturity scale based on the macroscopic appearance of the gonad tubules corresponded with the discrete stages of gametogenesis identified using histological methods. Gametogenesis was initiated in June 2002 and June 2003, with both

oogenesis and spermatogenesis occurring simultaneously. This was then followed by the growing stage (July 2002 to October 2002 and July 2003 to August 2003), marked by active gamete development. GI and IMWI for male and female *S. quadrifasciatus* each showed parallel seasonal cycles and synchronous development pattern, indicating the same spawning period between the male and female sea cucumber. The oocytes measured a mean size of $21.74 \pm 8.42 \mu\text{m}$ during late May 2002 and increased gradually until reaching a peak of $90.53 \pm 12.85 \mu\text{m}$ in late August 2002. The lowest value of mean size for the oocytes was reported in early April 2003 at $21.49 \pm 3.20 \mu\text{m}$. The Pearson Correlation test was applied to the monthly GI with monthly mean gonad values and monthly oocytes size. The result showed that monthly GI and monthly mean gonad values have a strong co-relationship with the Pearson value of 0.960 ($P < 0.01$). The monthly histological conditions however did not show any significant relationship to the monthly GI values. The same result was also showed in the relationship between the monthly oocytes size and monthly GI values. The Pearson values proved that the physical and chemical parameters of sea water in Pulau Songsong did not have any influence on the gonad development of *S. quadrifasciatus* ($P > 0.05$). However, the monthly nitrate values showed a relatively stronger Pearson relationship with the gonad development ($r = 0.484$) compared with the other parameters while the monthly chlorophyll-a values showed a relatively weaker relationship with the gonad development of *S. quadrifasciatus* ($r = 0.358$).

BAB 1 PENGENALAN

1.1 Timun laut – Ciri-ciri khas dalam kelas Holothuroidea

Timun laut merupakan kumpulan haiwan ekinodermata yang bertaburan luas di seluruh dunia dan berbentuk cacing yang berbadan lembut. Timun laut hampir ditemui pada semua habitat dalam persekitaran laut tetapi lebih tertabur dan mempunyai diversiti yang besar pada terumbu karang yang cetek. Timun laut boleh dijumpai pada kawasan pasang surut di mana kebanyakan timun laut akan ditemui pada masa air surut sehingga dasar lautan yang dalam. Fosil tertua timun laut yang ditemui adalah dalam bentuk spikul terencil dari Silurian pada masa 400 million tahun dahulu (Gilliland, 1993). Diversiti timun laut yang terdiri daripada 1200 spesies pada masa sekarang mempunyai variasi yang tinggi di antara spesies; sesetengah spesies mempunyai kepanjangan 20 sm manakala sebahagian spesies yang kecil memiliki kepanjangan yang tidak lebih daripada satu sentimeter. Terdapat juga spesies timun laut yang boleh mencecah kepanjangan lima meter (*Synapta maculata*). Sebahagian spesies timun laut dapat berenang dan mendapatkan sumber makanan daripada fitoplankton yang bergerak mengikut arus lautan.

Secara amnya, kumpulan haiwan dalam kelas Holothuroidea memiliki bentuk badan yang lembut, bersimetri dwisisi dan mempunyai bahagian mulut, anus serta podia (kaki bertiub). Osikel berkalkerous atau spikul merupakan endoskeleton mikroskopik yang terbenam dalam bahagian dinding badan timun laut dan spikul ini menyerupai struktur eksoskeleton pada haiwan ekinodermata yang lain (Pechenik, 2000). Spikul ini terdiri daripada pelbagai bentuk yang berbeza dan mempunyai berat sebanyak 80% daripada berat kering dinding badan bagi sesetengah spesies timun laut (Pechenik, 2000). Morfologi luar am biasanya tidak rata dan berwarna gelap. Sesetengah spesies pula

memiliki bentuk badan yang menyerupai sayuran timun di mana gelaran timun laut ini diperolehi dari situ. Timun laut yang dewasa terdapat dalam pelbagai saiz dari beberapa sentimeter sehingga melebihi satu meter.

Ciri khas pertama dalam haiwan kelas Holothuroidea ini ialah kaki bertiub pada bahagian hujung anterior yang diubahsuaikan kepada bahagian yang dikenali sebagai tentakel yang mengelilingi bahagian mulut berfungsi untuk menangkap makanan dan menghantarnya ke arah mulut (Plat 1.1). Setiap tentakel dioperasikan oleh ampula yang besar dan tersendiri. Tentakel yang terdapat dalam beberapa spesies timun laut seperti *Cucumaria miniata* diselaputi oleh mukus yang melekit untuk memerangkap partikel makanan yang terdapat dalam kolum air. Akan tetapi kebanyakan timun laut merupakan pemakan endapan yang akan menelan sedimen dan mengekstrak komponen organik dalam sedimen. Sesetengah spesies timun laut telah dijangka akan menapis dan mengekstrak lebih kurang 130 kg substrat melalui sistem penghadamannya setiap tahun (Pechenik, 2000). Sifat pemakan endapan atau penapis deposit ini membolehkan kumpulan haiwan ini beradaptasi dalam habitat dasar lautan yang dalam dan sebahagiannya telah menduduki lebih daripada 90% daripada jumlah biojisim habitat tersebut. Spesies timun laut yang hidup pada habitat pasang surut atau terumbu karang biasanya mempunyai kaki bertiub yang bersifat melekat untuk tujuan pergerakan serta perlekatan seperti dalam kumpulan haiwan landak laut dan bintang laut.

Sistem penghadaman timun laut ini menyerupai sistem dalam kumpulan landak laut tetapi mempunyai sistem yang lebih panjang. Cecincin berkapur yang terdiri daripada 5 - 10 plat berkapur melindungi bahagian cecincin saraf dan sistem vaskular air serta berfungsi menyokong farinks serta esofagus. Bahagian ruang selom yang luas membolehkan usus yang panjang dan berbelit-belit mengikut arah putaran jam ke arah

bahagian dorsal dalam ruang selom dan merupakan tempat penghadaman dan penyerapan nutrien dengan lebih berkesan. Usus berakhir di kloaka dan membuka ke persekitaran di bahagian aboral atau anus untuk membuang keluar sedimen yang telah diekstrak.



Plat 1.1: Tentakel timun laut jingga, *Cucumaria miniata* yang boleh dijumpai pada kawasan pasang surut sehingga kedalaman 225 meter di Kepulauan Aleutin sehingga California (gambar digital oleh Haaga (2002) daripada 'Alaska Fisheries Science Center, National Marine Fisheries Service' dari laman web <http://www.afsc.noaa.gov/Kodiak/facilities/misinvert.htm>).

Ciri khas ketiga yang dimiliki oleh haiwan dalam kumpulan ini ialah bentuk dinding badan yang berkembang kepada lapisan-lapisan iaitu epidermis, dermis dan otot dan rangka hidrostatik yang dipenuhi oleh air yang tahan terhadap tekanan yang tinggi. Ciri khas ini telah menyebabkan sesetengah spesies dapat menggali dan menyembunyikan diri dalam lubang pada dasar laut yang dalam. Kumpulan timun laut ini juga memiliki sistem respirasi yang khas yang dikenali sebagai pokok respirasi. Pokok pernafasan yang boleh dijumpai di bahagian anterior kloaka di dalam ruang selom merupakan tempat pertukaran gas (Lawrence, 1987). Pokok pernafasan ini terdiri daripada dua bahagian

utama cabang-cabang vesikel kecil dan nipis (Russel, 1979) yang berhubung dengan bahagian kloaka yang akan mengepam air akan masuk. Kloaka seterusnya akan berkontraksi dan air didesak ke arah pokok pernafasan untuk proses pertukaran gas berlaku (Hyman, 1955; Binyon, 1972).

Ciri khas yang kelima pula merupakan sistem interaksi kepada tekanan fizikal serta persekitaran yang khas dengan membebaskan organ dalamnya. Sesetengah genus timun laut seperti *Holothuria*, *Actinopyga* dan *Bohadschia* mempunyai organ aksesori iaitu tubul 'curvier' yang berwarna putih untuk bertindak balas terhadap perubahan tekanan fizikal atau persekitaran (Chan & Liew, 1985; Ridzwan, 1993). Akan tetapi, kebanyakan timun laut akan melakukan proses eviserasi iaitu satu fenomena pembebasan organ visera yang menyebabkan pembebasan sistem penghadaman, pokok respirasi dan gonad. Proses ini melibatkan mekanisma perubahan keanjalan lapisan tisu perantara di dinding tubuh yang menyebabkan pemecahan bahagian integumen dan juga kloaka. Bahagian organ visera yang mengalami eviseratan ini akan diregenerasi semula (Engelmann & Hagner, 1981; Northwest Indian Fisheries Commission, 2000). Tempoh regenerasi ini akan mengambil masa di antara 25 hari hingga empat bulan (Hyman, 1955; Pawson, 1966).

1.2 Pengkelasan taksonomi timun laut

Timun laut merupakan haiwan invertebrata yang tergolong di bawah kelas Holothuroidea dalam filum Ekinodermata. Menurut taksonomi pengkelasan timun laut (Hyman, 1955; Rowe & Dotty, 1977; Arnold & Birtles, 1989), kelas Holothuroidea dibahagikan kepada enam order iaitu order Aspidokirotida, order Apodida, order Daktilokirotida, order Dendrokirotida, order Elasipodida dan order Molpadida (Arbain, 1990; Morgan & Archer, 1999; Forbes *et al.*, 1999) (Rajah 1.1 dan Rajah 1.2).

Pengecaman timun laut pada peringkat order adalah berdasarkan bilangan dan bentuk tentakel. Tentakel merupakan struktur yang berkembang atau diubahsuai daripada kaki bertiub yang terdapat pada bahagian oral timun laut dan berfungsi sebagai mulut timun laut untuk pengumpulan makanan atau menyerap makanan (Rajah 1.3). Pengubahsuaian dan variasi pada tentakel telah wujud di antara timun laut yang berlainan order yang memiliki cara pemakanan dan makanan yang berlainan jenis (Forbes *et al.*, 1999). Order Daktilokirotida dan Molpadida memiliki bentuk tentakel digitat; order Aspidokirotida dan Elasipodida mempunyai jenis tentakel peltat manakala bentuk tentakel pinat biasa terdapat pada timun laut dalam order Apodida (Arnold & Birtles, 1989). Order Dendrokirotida pula merupakan kumpulan timun laut yang biasanya menggali lubang; menyembunyikan badan di dalam sendimen dan mengeluarkan tentakel bercabang di dalam turus air untuk mengumpul makanan (Forbes *et al.*, 1999).

Selain bilangan dan bentuk tentakel, jenis bentuk tubuh sama ada silinder atau berbentuk ulat, taburan kaki bertiub, jenis gonad dan bentuk cabang pokok pernafasan juga telah digunakan sebagai kekunci untuk pengecaman timun laut sehingga peringkat order (Hyman, 1955; Clark & Rowe, 1971; Cannon & Silver, 1986). Struktur kaki bertiub atau podia tidak hadir pada order Apodida dan juga tidak hadir atau hanya terdapat dalam

kuantiti yang sangat kecil pada order Molpadida. Taburan kaki bertiub adalah sangat jelas didapati pada keempat-empat order yang selainnya (Forbes *et al.*, 1999). Taburan kaki bertiub tersebut telah berkembang kepada struktur yang dikenali sebagai papila yang tertabur pada permukaan dorsal timun laut dan merupakan organ yang sensitif atau peka terhadap rangsangan persekitarannya. Taburan kaki bertiub yang terdapat di bahagian ventral yang dikhususkan untuk lokomotif pula dikenali sebagai pedisel atau kaki bertiub. Pedisel ini mungkin lebih besar dan terdapat dalam bilangan yang banyak serta mempunyai pelekak yang jelas dan disebar di seluruh permukaan ventral yang lebar (Arnold & Birtles, 1989).

Dinding badan timun laut adalah elastik atau anjal tetapi akan menjadi keras dan kasar serta pigmen warna pada dinding timun laut akan luntur apabila sampel diawetkan. Maka, huraian yang terperinci bagi morfologi luaran yang dilakukan ke atas spesimen yang diawetkan untuk tujuan pengecaman atau pengkelasan akan menimbulkan persoalan. Walau bagaimanapun, pemerhatian teliti dan pengukuran ke atas sampel timun laut hidup adalah sangat berguna dalam kerja pengecaman spesies timun laut.

Terdapat satu struktur cecincin mulut berkapur (calcareous) yang merupakan kolar dalaman atau plat-plat yang wujud dalam bilangan sepuluh dan mengelilingi farinks timun laut (Zaama, 1999). Plat-plat ini selalunya berselang-seli dari segi saiz dan akan membentuk struktur seperti sarung apabila dipisahkan kepada kepingan yang lebih kecil (Clark & Rowe, 1971) (Rajah 1.4). Cecincin ini berfungsi untuk melindungi cecincin tisu penting dalam timun laut. Bentuk plat-plat yang istimewa dan berbeza yang wujud dalam timun laut ini telah digunakan sebagai kekunci taksonomi membezakan genus dalam famili Holothuriidae (Forbes *et al.*, 1999).

Pengecaman timun laut pada peringkat spesies pula bergantung kepada bentuk spikul atau osikel yang dijumpai dalam lapisan dermis dinding tubuh timun laut dan sesetengah organ visera seperti gonad dan pokok pernafasan. Bentuk spikul dan jenis gabungannya yang terdapat dalam bahagian-bahagian badan timun laut tertentu dianalisis untuk tujuan pengecaman sehingga peringkat spesies (Clark & Rowe, 1971; Cannon & Silver, 1986). Pelbagai bentuk spikul yang boleh didapati dalam timun laut ialah bentuk meja, bentuk-S, bentuk-C, roset, sauh, roda, butang, bercabang dan lain-lain (Hyman, 1955; Clark & Rowe, 1971). Bentuk spikul di bahagian bivium (tonjolan dorsal), trivium (podia ventral) dan tentakel timun laut yang diperhatikan melalui proses penyediaan di bawah mikroskop cahaya dan mikroskopi elektron penskrinan telah digunakan untuk membezakan spesies-spesies timun laut dalam genusnya (Massin & Lane, 1991).

Beberapa kajian dijalankan telah mendapati bahawa bentuk spikul berubah berkolerasi langsung dengan proses tumbesaran timun laut (Cutress, 1996; Levin & Gudimova, 1997). Maka pengecaman spesies berdasarkan spikul telah diragui dan ini mula membawa implikasi penyusunan semula taksonomi pengkelasan haiwan invertebrata ini. Kaedah yang sesuai bagi pengecaman spesies timun laut masih belum dapat dipastikan sehingga masa kini (Nadirah, 2001). Perkembangan dalam bidang teknik rekombinan DNA (asid deoksiribonukleik) semenjak 25 tahun yang lalu telah merangsang kajian molekular pada peringkat gen dan kaedah ini telah diaplikasikan dalam bidang kajian populasi dan evolusi organisma. Antaranya ialah kaedah pengecaman spesies timun laut yang diperkenalkan oleh Norazila *et al.* (1999) di Malaysia dengan menggunakan penanda genetik. Kajian oleh Kaswandi *et al.* (1999a; 1999b) pula mendapati spesies timun laut mungkin dapat dibezakan berdasarkan bentuk hablur saponin. Kristal saponin yang menyerupai rod kecil telah ditemui semasa ekstrak saponin spesies timun laut *Stichopus variegatus hermanii* (20 - 40 μm) dan *Bohadschia marmorata*

(diameter 2 - 3 μm). Kristal berbentuk amorfus pula diperhatikan pada ekstrak *S. badionotus* dan kristal berbentuk bunga dengan saiz 2 - 4 μm ditemui pada ekstrak *Holothuria edulis*.

Walau bagaimanapun, taksonomi pengkelasan timun laut berdasarkan susunan oleh Hyman (1955), Rowe & Dotty (1977) dan Arnold & Birtles (1989) yang masih digunakan secara meluas sehingga masa sekarang.

Filum Ekinodermata

Kelas Holothuroidea

1. Order Aspidokirotida

Famili Holothuriidae

Genus *Holothuria*

Genus *Bohadschia*

Famili Stichopodidae

Genus *Stichopus*

Genus *Theleonata*

Famili Synallactidae

2. Order Apodida

Famili Synaptidae

Genus *Leptosynapta*

Genus *Labidoplax*

Genus *Rhabdomolgus*

Famili Chiridotidae

Genus *Chiridota*

Famili Myriotrochidae

Genus *Myriotrochus*

3. Order Daktilokirotida

Famili Ypsilothuriidae

Genus *Ypsilothuria*

Famili Vaneyellidae

Famili Rhopalodinidae

4. Order Dendrokirotida

Famili Psolidae

Genus *Psolus*

Famili Placothuriidae

Famili Heterothyonidae

Famili Cucumaridae

Famili Phyllophoridae

Famili Sclerodactylidae

5. Order Elasipodida

Famili Deimatidae

Famili Pelagothuriidae

Famili Elapidiidae

Famili Psychropotidae

Famili Laetmogonidae

6. Order Molpadida

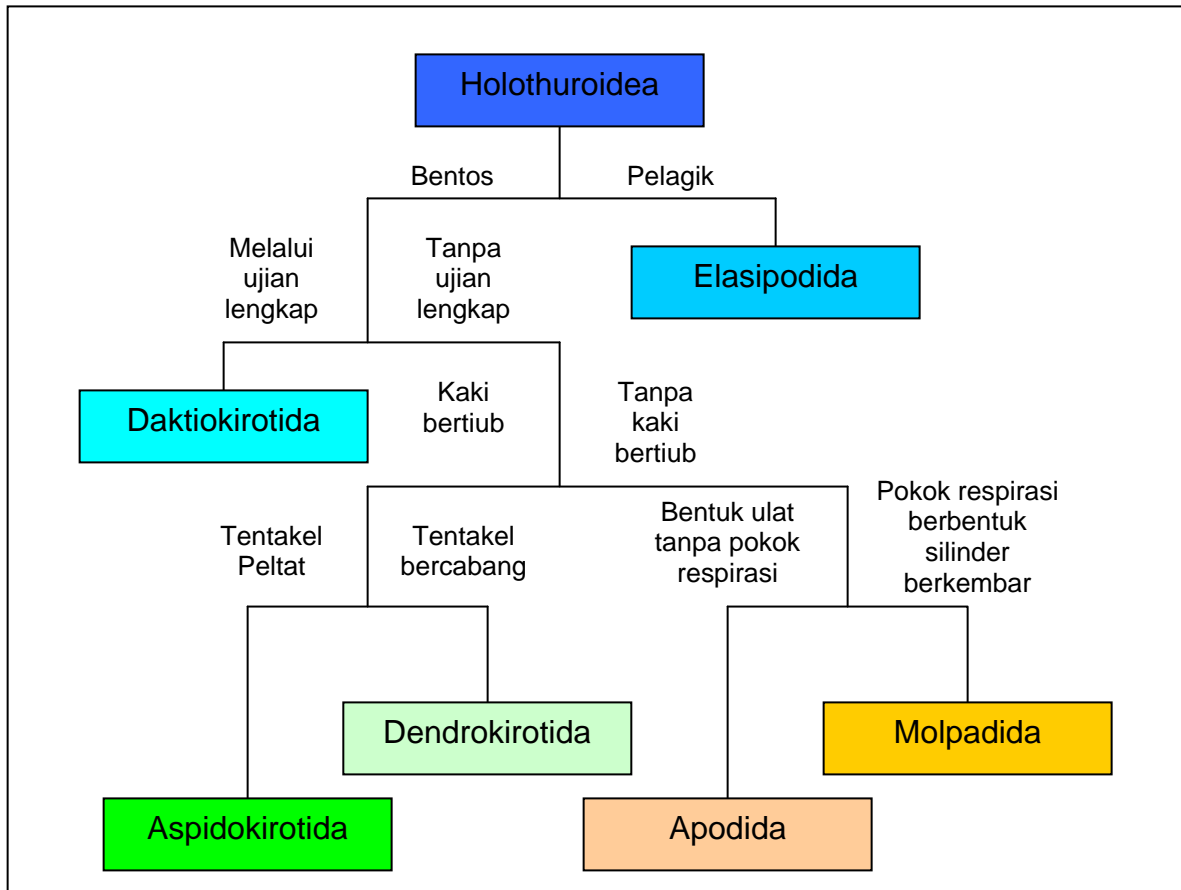
Famili Molpadiidae

Famili Caudinidae

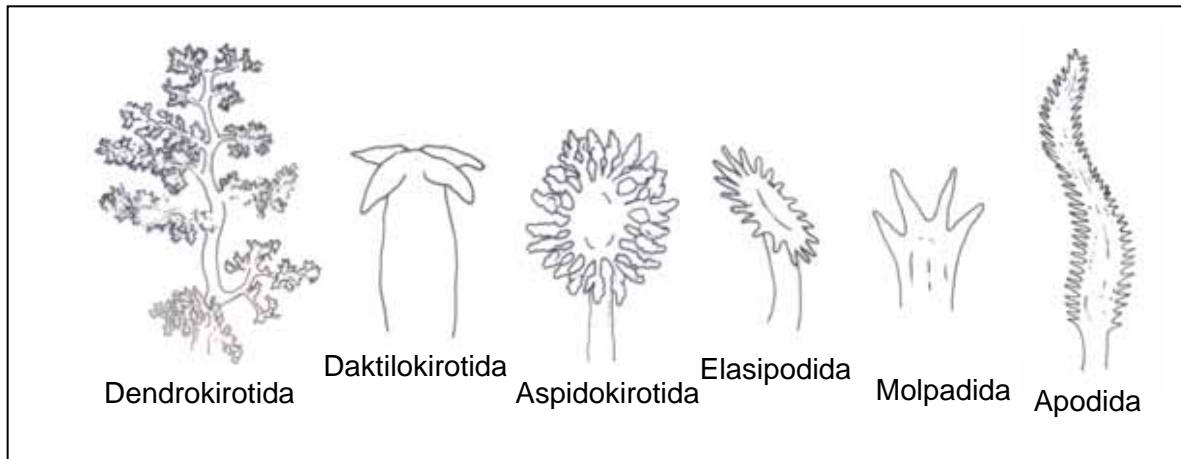
Famili Gephyrothuriidae

Famili Eupyrgidae

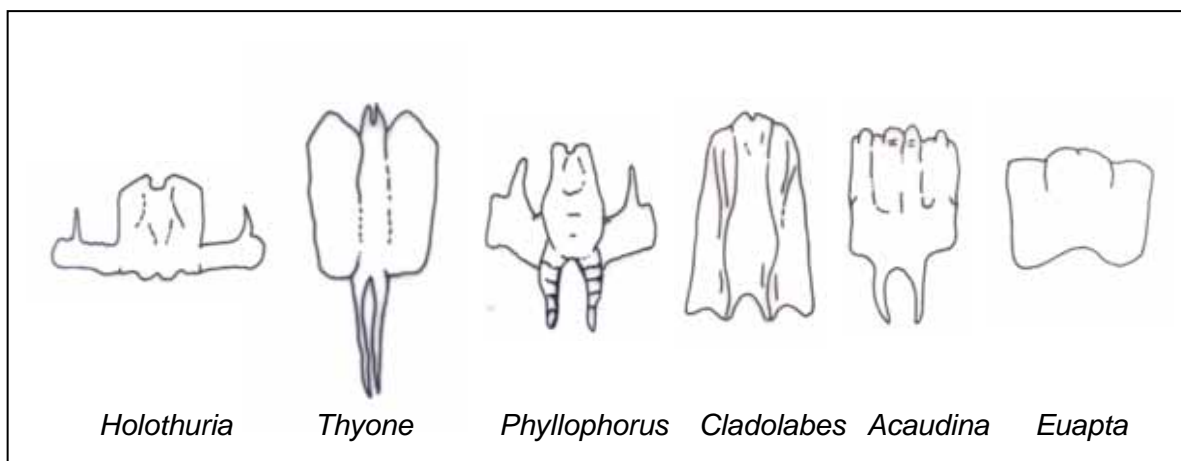
Rajah 1.1: Taksonomi pengkelasan timun laut (Hyman, 1955; Rowe & Dotty, 1977; Arnold & Birtles, 1989).



Rajah 1.2: Kekunci taksonomi ringkas untuk membahagikan kelas timun laut kepada order-order berdasarkan morfologi dan anatomi timun laut (diubahsuai daripada Forbes *et al.*, 1999).



Rajah 1.3: Bentuk tentakel yang terdapat pada order timun laut yang berlainan (diubahsuai daripada Cannon & Silver, 1986).



Rajah 1.4: Jenis cecincin berkapur (Calcareous) yang terdapat pada genus timun laut yang berlainan dalam famili Holothuriidae (diubahsuai daripada Cannon & Silver, 1986).

1.3 Ciri-ciri umum morfologi dan anatomi timun laut

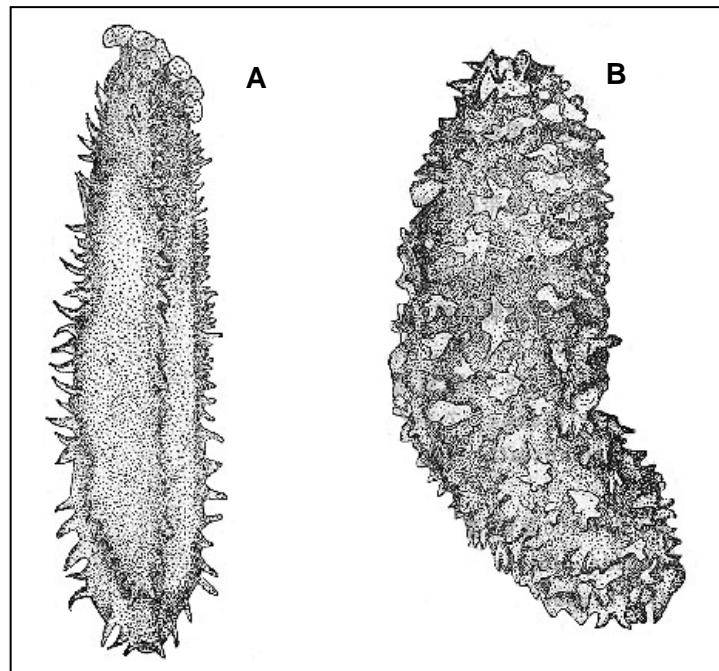
1.3.1 Eksternal badan

Timun laut merupakan sejenis haiwan invertebrata dalam filum Ekinodermata (Hyman, 1955; Arbain, 1990; Ridzwan, 1993). Gelaran timun laut diberikan disebabkan oleh badan haiwan tersebut yang berbentuk silinder seperti sayuran timun dengan bukaan pada bahagian hujung berkutub yang dikenali sebagai oral dan aboral dengan bahagian tubuh yang dipanggil selom (Reseck, 1979) (Rajah 1.5). Timun laut meliputi 90% biojisim dasar laut dan merupakan komponen penting dalam ekosistem marin (Higgins, 2000). Kebanyakan haiwan invertebrata ini berwarna gelap seperti hitam, perang dan hijau (Ridzwan, 1993). Walau bagaimanapun, terdapat juga timun laut yang berlainan warna seperti *Parastichopus californicus*, *Cucumaria japonica* dan *Psolus chitinoides* yang berwarna merah. Majoriti timun laut mempunyai permukaan badan yang licin dan berlendir (Arbain, 1990). Namun terdapat juga beberapa genus timun laut seperti *Psolus* dan *Ceto* yang mempunyai duri-duri di permukaan badan yang dibentuk daripada plat berkalkerous (Hyman, 1955).

Spesies timun laut paling kecil yang ditemui bersaiz kurang daripada tiga sentimeter panjang manakala genus *Stichopus* yang dijumpai di Filipina mencapai panjang satu meter (Ruppert & Barnes, 1994). Saiz timun laut dalam order Apodida dijangka boleh menjangkau satu hingga dua meter (Hyman, 1955; Fell, 1972; Ridzwan, 1993).

Bahagian oral timun laut dicamkan melalui kehadiran tentakel manakala di bahagian anus atau aboral timun laut terdapat salur kloaka (Fell, 1972; Lawrence, 1987; Ridzwan, 1993). Kebanyakan timun laut yang ditemui berada dalam kedudukan terbaring sisi di dasar laut pada bahagian ventral yang leper. Bahagian ventral ini mempunyai kaki

bertub iaitu podium yang terubahsuai dengan ciri penghisap bagi perlekatan dengan substrat untuk tujuan pergerakan (Borradaile & Potts, 1961). Biasanya bahagian ventral timun laut berwarna lebih cerah berbanding dengan bahagian dorsal. Bahagian dorsal timun laut pula diliputi oleh ketuat yang dikenali sebagai papila yang merupakan sebahagian daripada podium yang memanjang tanpa menunjukkan ciri penghisap. Contohnya papila yang terdapat pada genus *Stichopus*, *Holothuria* dan *Actinopyga* berfungsi sebagai organ sensori. Bahagian distal papila timun laut pula mengecil membentuk filamen yang boleh berkontraksi (Hyman, 1955; Ruppert & Barnes, 1994).



Rajah 1.5: Morfologi luar contoh spesies timun laut *Thelenota ananas*
(A) Pandangan ventral
(B) Pandangan dorsal
(diubahsuai daripada Dharmananda, 1998).

1.3.2 Internal badan

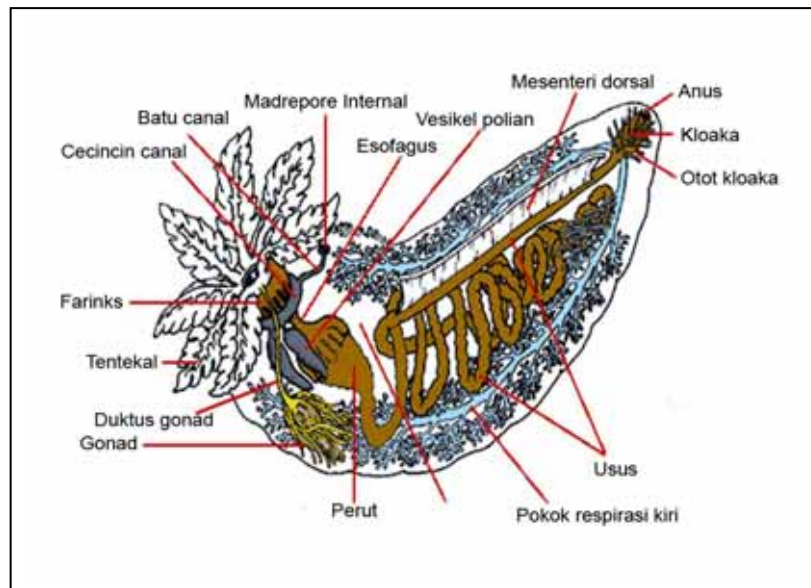
Struktur am anatomi badan timun laut ditunjukkan pada Rajah 1.6. Bahagian oral atau mulut timun laut dikelilingi oleh tentakel retraktil dan membuka ke farinks. Cecincin berkapur (kalkerous) yang terdiri daripada 5 - 10 plat berkapur melindungi bahagian cecincin saraf dan sistem vaskular air serta berfungsi menyokong farinks serta esofagus. Cecincin berkapur ini juga merupakan tempat perlekatan otot retraktor dan otot memanjang (Sherman & Sherman, 1976; Arnold & Birtles, 1989). Farinks membuka ke bahagian esofagus dan seterusnya ke perut. Usus yang panjang dan berbelit-belit mengikut arah putaran jam ke arah bahagian dorsal dalam ruang selom merupakan tempat penghadaman dan penyerapan nutrien (Fell, 1972). Usus berakhir di kloaka dan membuka ke sekitaran oleh bahagian aboral atau anus (Hyman, 1955; Pawson, 1966; Binyon, 1972). Ruang selom mengandungi cecair atau bendalir selom yang kaya dengan sel-sel selom iaitu selomosit seperti amebosit dan korpusel bernukleus (Hyman, 1955; Hawa *et al.*, 1999).

Cecincin saraf, sistem vaskular air dan sistem hemal dalam timun laut terbentuk selari dengan panjang tubuh badan. Pada bahagian ventral terdapat trek tiub kaki yang merupakan sebahagian daripada sistem vaskular air (Forbes & Baine, 1998). Sistem hemal timun laut berada pada kedudukan selari dengan usus dan membentuk sistem membran 'rete mirabile' untuk tujuan penyerapan nutrien dan pembuangan bahan metabolit (Hyman, 1955; Pawson, 1966).

Pokok pernafasan yang boleh dijumpai di bahagian anterior kloaka di dalam ruang selom merupakan tempat pertukaran gas (Lawrence, 1987). Pokok pernafasan ini terdiri daripada dua bahagian utama cabang-cabang vesikel kecil dan nipis (Russel, 1979). Air akan bergerak masuk ke dalam pokok pernafasan apabila kloaka mengembang. Bila

bahagian 'sfinkter' tertutup, kloaka berkontraksi dan air didesak ke pokok pernafasan. Dengan itu, pertukaran gas berlaku (Hyman, 1955; Binyon, 1972).

Secara histologi, dinding tubuh timun laut boleh dibahagikan kepada tiga lapisan iaitu epidermis, dermis dan otot. Lapisan epidermis tidak bersilium dan nipis. Lapisan dermis pula lebih tebal dan terdapat osikel-osikel mikroskopik yang pelbagai bentuk seperti rod, butang, meja dan kail. Osikel atau spikul ini menyerupai struktur eksoskeleton pada haiwan ekinoderma yang lain. Terdapat otot bulat dan lapisan otot memanjang di bawah lapisan dermis.



Rajah 1.6: Anatomi dalaman am timun laut (rajab diubahsuai daripada Morin & Houseman, 2002 dari [BIODIDAC](#)).

1.4 Pembiakan timun laut

Dalam dunia haiwan marin invertebrata, proses pembiakan boleh berlaku secara seksual atau aseksual. Walau bagaimanapun, proses seksual lebih sering berlaku menghasilkan gamet jantan iaitu sperma dan gamet betina iaitu ovum. Hasil persenyawaan sperma dan ovum akan membentuk zigot yang akhirnya membentuk individu baru. Penghasilan gamet jantan dan betina berlaku melalui proses gametogenesis di dalam sistem reproduksi. Reproduksi berlaku pada musim pembiakan yang melibatkan pelbagai faktor eksogenus dan endogenus.

Walaupun kebanyakan timun laut bersifat dieosious atau gonokoristik iaitu individu jantan dan betina yang terpisah, namun jantina timun laut tidak dapat dibezakan secara morfologi luaran. Pada beberapa spesies timun laut, jantina boleh dikenalpasti melalui pemerhatian pada warna gonad. Contohnya gonad jantan pada *Holothuria atra* berwarna kuning manakala betina berwarna merah jambu (Sallehuddin & Zulfigar, 1992). Justeru pengenalpastian jantina timun laut hanya dapat dilakukan melalui pemerhatian gonad di bawah mikroskop dan kaedah histologi.

Gonad timun laut terdapat pada bahagian anterior dorsal dalam ruang selom. Di dalam ruang selom, gonad disokong oleh mesenteri di bahagian dorsal timun laut (Hyman, 1955; Nayar, 1977; Cameron & Fankboner, 1986; Conand, 1993a). Gonad akan membuka ke persekitaran luar melalui bahagian gonoliang. Gonad bagi timun laut dari famili Holothuriidae terdiri daripada satu gugusan tubul dengan saiz yang agak besar manakala dua gugusan tubul gonad dengan saiz yang lebih kecil dapat diperhatikan dalam timun laut dalam famili Stichopodidae (Conand, 1993b). Bagi timun laut famili Stichopodidae spesies temperat, tubul gonad adalah lebih panjang berbanding dengan spesies daripada kawasan tropika yang menunjukkan kehadiran kantung atau sakul pada

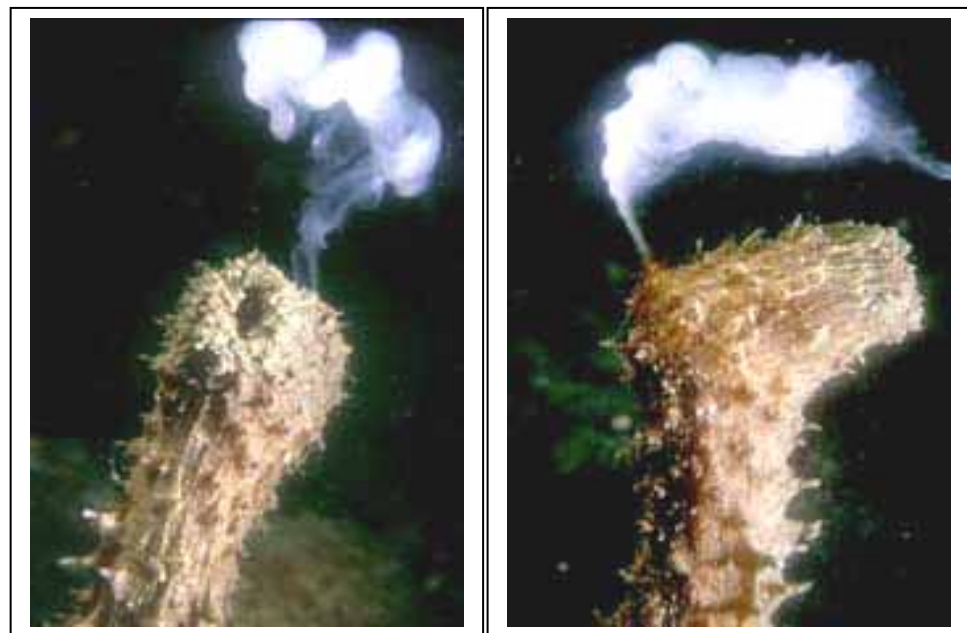
tubul. Tubul gonad timun laut dilapisi oleh lapisan epitelium yang berbentuk leper sehingga berlipat-lipat di bahagian luar dan diikuti oleh lapisan otot yang nipis dan lapisan tisu perantara. Lapisan tisu epitelium germinal di mana sel-sel germa seks terhasil boleh didapati pada bahagian lumen timun laut. Pada peringkat kematangan seks, perubahan ketebalan lapisan selom dan germinal berlaku (Costelloe, 1985).

Beberapa peringkat perkembangan gonad telah dikenal pasti dan peringkat-peringkat ini ditentukan melalui pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik ke atas bentuk dan warna gonad, berat gonad, diameter tubul gonad serta ciri dan saiz oosit (Conand, 1993a). Peringkat perkembangan gonad ini boleh dibahagikan kepada 5 kategori iaitu peringkat muda, rehat, perkembangan, matang dan selepas pembiakan (Conand, 1981). Pada peringkat muda dan rehat, jantina timun laut tidak dapat dibezakan. Dalam kedua-dua peringkat ini, saiz gonad adalah kecil dan lapisan epitelium germinal menunjukkan ketebalan yang maksimum.

Pada peringkat perkembangan, bilangan tubul bertambah dan menjadi semakin panjang. Sel oosit mula terbentuk dalam gonad betina dan saiz menjadi semakin besar (Conand, 1981; Costelloe, 1985; Cameron & Fankboner, 1986). Pada gonad jantan pula terdapat lapisan spermatosit primer pada bahagian lapisan germinal yang berkembang sehingga ke bahagian lumen dan luas permukaan gonad menjadi semakin luas untuk tujuan pembentukan spermatosit (Costelloe, 1985).

Pada peringkat kematangan, bilangan tubul gonad dan saiz gonad bertambah sehingga maksimum (Conand, 1981; Cameron & Fankboner, 1986). Sakul gonad betina akan lebih pendek dan lebar serta menunjukkan saiz yang lebih besar berbanding gonad jantan (Conand, 1993a; Nihayah *et al.*, 1999). Secara histologi, lapisan epitelium germinal

kelihatan makin menipis (Costelloe, 1985; Cameron & Fankboner, 1986; Nihayah *et al.*,1999). Pada peringkat selepas pembiakan, oosit akan terbebas daripada membran folikel dan berada bebas dalam lumen tubul (Costelloe, 1985). Namun begitu tidak semua oosit akan dilepaskan serentak (Conand, 1981). Membran folikel yang kosong dan rosak dapat diperhatikan dalam keadaan ini. Selepas perlepasan benih, tubul akan mengalami atrofi. Telur dan sperma yang dibebaskan oleh induk timun laut (Plat 1.2) akan melalui proses persenyawaan eksterna. Larva aurikularia merupakan larva pertama yang terbentuk dan memakan alga serta fitoplankton untuk terus berkembang kepada bentuk atau peringkat seterusnya. Larva doliolaria akan terbentuk selepas 65 hari persenyawaan sebelum berubah kepada larva pentaktula yang mempunyai lima tentakel dan mula menjadi bentik (Cameron & Fankboner, 1986).



Plat 1.2: Cara timun laut melepaskan sperma dan ovum ke dalam kolum air. Jantan dan betina akan melepaskan gamet bergantung kepada perubahan persekitaran. Telur akan disenyawakan secara luaran dan berkembang menjadi larva planktonik (gambar oleh Leslie Chan dari Pulau Shelter (2002) dari laman web <http://www.marinelife.com.hk/Behavior/Reproduction/htm>).

Suhu, cahaya, pergerakan arus dan kemasinan atau saliniti telah dikenal pasti sebagai faktor persekitaran yang dapat mempengaruhi seksual dan aseksual timun laut (Costelloe, 1985; Cameron & Frankboner, 1986). Peningkatan suhu akan memberi kesan yang positif terhadap pertumbuhan fitoplankton yang merupakan sumber makanan utama bagi sesetengah spesies timun laut (Starr *et al.*, 1990). Kebanyakan timun laut akan menjalankan proses pembersihan pada musim panas (Conand, 1981; Costelloe, 1985) dan musim bunga (Hyman, 1955; Binyon, 1972) kecuali spesies vivipariti seperti *Synapta hydroformis* yang membiak sepanjang tahun (Pawson, 1966). Suhu air laut telah memainkan peranan penting dalam proses pembiakan *Holothuria scabra* di bahagian barat daya Sulawesi, Indonesia yang mengeluarkan benih pada musim kering (bulan Mac sehingga Julai) dan juga musim hujan (bulan November sehingga Januari) (Tuwo, 1999). Kitar reproduksi atau kitar pembiakan spesies timun laut *Stichopus chloronotus* (Brandt, 1835) di selat Melaka, Malaysia telah dikenal pasti dipengaruhi besar oleh faktor kandungan klorofil-a di dalam air laut (Tan & Zulfigar, 2001).

Selain pembiakan seksual, timun laut juga membiak secara aseksual iaitu secara pembelahan dedua. Beberapa kajian mengenai pembiakan secara pembelahan dedua telah dijalankan ke atas beberapa spesies timun laut (Chao *et al.*, 1993; Reichenbach & Holloway, 1995; Reichenbach *et al.*, 1996). Namun setakat ini, masih tiada kajian mengenai pembiakan timun laut secara pembelahan dedua yang dijalankan di Malaysia (Nadirah, 2001).

Timun laut dibuktikan mempunyai keupayaan regenerasi atau pertumbuhan semula (Smiley *et al.*, 1991) dan dengan keupayaan ini kumpulan ini turut mempunyai abiliti untuk menjalankan pembiakan secara aseksual dengan kaedah belahan dedua. Cara pembiakan secara belahan dedua pertama kali dijelaskan oleh Dalyell (1851) melalui

pemerhatian dalam makmal ke atas spesies *H. badotrylae* (sekarang dikenali sebagai *Cucumaria planci*; Deichmann, 1922). Sebelum analisis oleh Dalyell (1851), belahan dedua dalam kumpulan timun adalah tidak dijangkakan kerana setiap spesies yang diperhatikan pada masa itu tidak menunjukkan sebarang bukti yang menyokong mekanisma belahan dedua ini. Sehingga masa kini, sekurang-kurangnya sebelas spesies timun laut telah menunjukkan proses belahan dedua sama ada melalui kajian dalam makmal atau melalui pemerhatian di kawasan persampelan (Jadual 1.1). Kebanyakan pembiakan aseksual melalui kaedah belahan dedua yang menghasilkan individu timun laut yang baru berlaku pada timun laut dalam order Aspidokirotida dan Dendrokirotida. Dalam kumpulan Famili Synaptidae, proses belahan dedua berlaku dengan lengkap dan membahagikan badan menjadi dua tetapi bahagian posterior gagal diregenerasi semula menjadikannya lebih kepada proses autotomi daripada belahan dedua.

Jadual 1.1: Laporan pembiakan aseksual yang berlaku pada spesies timun laut.

Order	Spesies	Rujukkan
Dendrokirotida	<i>Cucumaria lactea</i>	Dalyell, 1851
	<i>Cucumaria planci</i>	Dalyell, 1851 Chadwick, 1891 Monticelli, 1896
Aspidokirotida	<i>Holothuria atra</i>	Bonham & Held, 1963 Pearse, 1968 Doty, 1977 Harriott, 1980, 1982, 1985
	<i>Holothuria difficilis</i>	Deichmann, 1922 Harriott, 1985
	<i>Holothuria edulis</i>	Harriott, 1985
	<i>Holothuria leucospilota</i>	Purwati, 2004
	<i>Holothuria parvula</i>	Crozier, 1917 Deichmann, 1922 Emson & Mladenov, 1987
	<i>Holothuria surinamensis</i>	Crozier, 1917
	<i>Stichopus chloronotus</i>	Harriott, 1980
	<i>Stichopus herrmanni</i>	
	<i>Stichopus variegatus</i>	
	<i>Stichopus horrens</i>	Harriott, 1980

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses belahan dedua masih tidak jelas tetapi eksperimen dalam makmal menunjukkan bahawa kesan tekanan mempunyai pengaruh yang besar terhadap proses tersebut. Bonham & Held (1963) menyatakan bahawa suhu air persekitaran 37 °C merupakan faktor yang menyebabkan *H. atra* menjalankan proses belahan dedua di Rongelap Atoll, Pulau Marshall. Proses pembiakan aseksual bagi sesetengah spesies timun laut pula dikatakan dipengaruhi oleh kombinasi di antara faktor persekitaran seperti peningkatan suhu dan gangguan fizikal semasa air laut surut seperti radiasi solar yang memberi kesan ke atas suhu, saliniti, kandungan oksigen, pH dan pengionan air laut (Chao *et al.*,1993).

BAB 2

OBJEKTIF KAJIAN

Objektif dalam kajian ini boleh dibahagikan kepada tiga bahagian utama yang berlainan. Objektif bahagian pertama melibatkan proses perkembangan gonad yang berlaku secara dalaman bagi spesies timun laut di perairan Pulau Songsong serta aspek biologi ke atas spesies timun laut ini dari pelbagai sudut yang berlainan seperti:

- Menjalankan kajian ke atas pemerhatian morfologi luar, anatomi serta analisis bentuk spikul sampel timun laut untuk memastikan spesies timun laut yang dikaji. Objektif ini merupakan langkah penting yang seharusnya dicapai sebelum kajian yang seterusnya dilakukan.
- Mengkaji parameter biometrik spesies timun laut yang diperolehi dari segi panjang dan berat jasad; berat gonad serta berat dinding jasad untuk memahami struktur populasi spesies timun laut ini di lokasi kajian setiap bulan. Objektif ini juga penting untuk mengkaji perubahan parameter biometrik terhadap proses perkembangan gonad bulanan.
- Memahami proses dan corak perkembangan gonad spesies timun laut di perairan Pulau Songsong dari pelbagai aspek seperti mengkaji perubahan morfologi gonad setiap bulan; membandingkan proses perkembangan gonad sampel betina dengan Model Pembaharuan Tubul (TRM); mengukur bilangan dan panjang gugusan tubul gonad bulanan; mengkaji Indeks Gonad (GI) dan Indeks Berat Kematangan Individu (IWMI); mengukur saiz oosit bulanan; menjalankan kajian histologi serta membuat perbandingan di antara pemerhatian visual dan histologi ke atas perkembangan gonad timun laut yang diperolehi.

Objektif kajian bahagian kedua ini pula melingkungi parameter kualiti air di persekitaran lokasi persampelan dari segi parameter fizikal dan parameter kimia untuk mengkaji corak perubahan kualiti air di perairan Pulau Songsong yang dikelilingi oleh Selat Melaka serta dijadikan sebagai data bandingan faktor eksogen dalam bahagian objektif yang ketiga. Parameter-parameter ini melibatkan:

- Parameter fizikal [suhu ($^{\circ}\text{C}$), saliniti (ppt), oksigen terlarut, DO (mg/L), pH, jumlah pepejal terampai TSS (mg/L) dan Indeks Kekeruhan FTU].
- Parameter kimia [kandungan klorofil-a ($\mu\text{g/L}$), fosfat PO_4^{3-} (mg/L), nitrat NO_3^- (mg/L) dan ammonia NH_3 (mg/L)].

Selain ini, bacaan parameter kualiti air pada kedalaman yang berbeza juga akan diambil melalui peralatan Hydrolab Data Sonde 4a untuk mengkaji kesan kedalaman terhadap perubahan parameter kualiti air di sekitar kawasan persampelan. Parameter fizikal yang akan diperolehi ialah kedalaman (meter), suhu ($^{\circ}\text{C}$), pH, saliniti (ppt) dan DO (mg/L) manakala parameter kimia yang hanya boleh direkodkan ialah kandungan klorofil-a ($\mu\text{g/L}$).

Objektif ketiga dalam kajian ini pula bertujuan untuk mengaitkan atau mencari perhubungan di antara parameter endogen dan parameter eksogen masing-masing serta perkaitan di antara parameter endogen dengan parameter eksogen melalui ujian statistik atau perbandingan data serta graf. Matlamat perhubungan yang akan dicapai pada akhir kajian melibatkan:

- Perhubungan di antara berat gonad, berat dinding jasad dengan GI.

- Perhubungan di antara GI, saiz oosit dengan peringkat perkembangan gonad (analisis histologi).
- Perhubungan di antara GI dengan IWMI.
- Perhubungan di antara pemerhatian visual dengan kaedah histologi ke atas pengecaman peringkat perkembangan gonad.
- Pengaruh kualiti air (faktor-faktor fizikal dan kimia) di sekitar lokasi persampelan.
- Pengaruh faktor luaran ke atas musim pembiakan spesies timun laut di perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman

Selain tiga kumpulan objektif utama ini, aplikasi TRM ke atas perkembangan gonad sampel timun laut betina di lokasi kajian serta spesies yang lain dan perbandingan data kajian ini dengan kajian-kajian lepas dari aspek musim pembiakan, diameter oosit dalam peringkat matang dan pengaruh faktor luaran ke atas musim pembiakan turut dirancang untuk tujuan mengetahui dengan lebih mendalam proses perkembangan gonad ke atas spesies timun laut yang disampelkan di perairan Pulau Songsong, Kedah Darul Aman.