

Pengaruh Jarak Waktu Pemberian Kejutan Dingin pada Pembentukan Individu Triploid Ikan Patin (*Pangasius Sp*)

*Effect of Temperature Shock Gift Time Distance from Fertilization on The Triploidy Individual Process of Catfish (*Pangasius sp*)*

Dwi Puji Hartono dan Pindo Witoko

*Jurusan Peternakan Politeknik Negeri Lampung
Jln. Soekarno-Hatta No. 10 Rajabasa Bandar Lampung (0721-703995)*

ABSTRACT

The aim of this study was to know the effect of temperature shock gift time distance from fertilization on the triploidy individual process, percentage of hatching rate and survival rate of larva patin catfish. Temperature shock gift time distance treatment from fertilization process is given each 120 second, 180 second, 240 second and 300 second in temperature 4⁰C during 90 second. Each treatment is done as much as 3 times. Hatch and larva maintenance is done in aquarium and hapa for fingerling activity. The result shows that temperature shock gift time distance treatment from fertilization process gives real result on the triploidy individual proces in patin catfish ($p < 0,05$). Highest percentage triploidy individual is got in temperature shock gift time distance from fertilization process 180 second as big as 83,33 %. The growth level patin catfish day 28 show enhanced in line with individual percentage enhanced triploidy from each treatment. The highest growth rate is got from temperature shock gift time distance treatment from fertilization process as big as 11,13 %.

Keywords: catfish, triploidy, time distance, temperature shock

Diterima: 31-08-2012, disetujui: 07-09-2012

PENDAHULUAN

Pengembangan teknologi pengadaan bibit ikan unggul terus dikembangkan untuk memenuhi target pertumbuhan produksi perikanan. Hal ini sejalan dengan target peningkatan produksi perikanan yang telah dicanangkan oleh Kementrian Kelautan dan Perikanan pada tahun 2014 sebesar 16,89 juta ton atau meningkat sebesar 353 persen dibandingkan produksi tahun 2009 yang sebesar 4,78 juta ton (DKP, 2009). Ikan patin merupakan salah satu jenis ikan yang menjadi prioritas utama pengembangan ikan air tawar. Pengembangan teknologi pengadaan bibit unggul dapat dilakukan melalui seleksi atau pemuliaan dan rekayasa genetik (kromosom, gen, dan DNA).

Rekayasa kromosom merupakan salah satu inovasi teknologi dalam mengembangkan benih ikan unggulan. Pengembangan rekayasa kromosom pada ikan patin dilakukan untuk mencegah terjadinya perkawinan secara acak sehingga menyebabkan penurunan genetik yang ditandai dengan tingkat pertumbuhan yang semakin menurun, derajat penetasan serta ketahanan tubuh yang rendah. Selain itu,

rekayasa kromosom dilakukan untuk mendapatkan individu yang mempunyai pertumbuhan cepat. Salah satu aplikasi yang telah dilakukan pembentukan individu triploid atau yang mempunyai struktur kromosom 3n. Pembentukan individu triploid yang telah dilakukan yaitu dengan cara menahan terlepasnya polar body II (Thogaard dan Gall, 1979), atau mengawinkan ikan tetraploid dengan ikan diploid normal (Ihhsen *et al.*, 1990). Proses ini dilakukan melalui pemberian kejutan suhu pada saat pembelahan meiosis 1, sehingga polar body II tidak keluar dari sel telur.

Beberapa aplikasi pembentukan individu triploid dengan menggunakan kejutan suhu, yaitu dengan menggunakan kejutan suhu panas dan suhu dingin. Permasalahan yang ditemukan yaitu masih rendahnya persentase individu triploid yang terbentuk. Kondisi ini disebabkan oleh waktu pemberian kejutan atau *initial time* yang dilakukan masih belum sepenuhnya dapat menahan polar body II di dalam telur, sehingga individu yang terbentuk adalah individu diploid normal. Oleh karena itu, perlu dilakukan kajian untuk menentukan waktu yang tepat (jarak waktu antara proses pembuahan telur dengan pemberian kejutan) dalam memberikan kejutan suhu yang diberikan agar dapat meningkatkan persentase pembentukan individu triploid.

Tujuan kegiatan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jarak waktu perlakuan pemberian kejutan terhadap pembentukan individu triploid pada ikan patin dan menentukan jarak waktu atau *initial time* yang tepat dalam menghasilkan individu triploid.

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Perikanan Program Studi Budidaya Perikanan Politeknik Negeri Lampung selama 6 (enam) bulan, dimulai pada bulan Juni hingga Oktober 2010.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu adalah induk ikan patin, asam asetat glacial, etanol absolut, alkohol, larutan asetocarmin, AgNO₃, gliserin, asam formiat, metylene blue, gelatin, artemia, garam dapur, ovaprim, pelet, dan cacing sutera. Alat yang digunakan, antara lain akuarium ukuran 80 x 40 x 40 cm sebanyak 15 buah, hapa berukuran 1 x 1 x 0,5 m sebanyak 15 buah, blower, pompa air, mikroskop, syringe, timbangan analitik, box staining, gelas preparat mangkok, dan perlengkapan pemijahan lainnya.

Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 (empat) perlakuan dan satu buah kontrol. Perlakuan yang diamati perbedaan waktu awal kejutan (jarak waktu pemberian kejutan suhu dari pembuahan telur) serta satu buah kontrol tanpa perlakuan kejutan suhu. Perlakuan waktu awal kejutan yang digunakan yaitu 2 menit, 3 menit, 4 menit dan 5 menit setelah proses pembuahan dengan suhu kejutan 4 °C selama 90 detik. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali. Data dianalisis dengan sidik ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan uji signifikansi untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan.

Tabel 1. Skema rancangan kegiatan penelitian

Ulangan	Perlakuan waktu awal kejutan diberikan kejutan suhu pada 4°C				
	Kontrol	2 menit	3 menit	4 menit	5 menit
1	K1	B1	C1	D1	E1
2	K2	B2	C2	D2	E2
3	K3	B3	C3	D3	E3

Pemijahan Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Penelitian diawali dengan menyiapkan media pemijahan dan menyeleksi ikan patin yang akan digunakan sebagai induk. Induk ikan patin yang digunakan mempunyai berat 2-3 kg per ekor untuk betina dan 1,5-2,5 kg untuk jantan. Proses pemijahan dilakukan dengan menggunakan metode kawin suntik (induce breeding) dengan bantuan rangsangan hormon ovaprim. Dosis yang digunakan dalam penyuntikan adalah 0,9 ml/kg. Penyuntikan hanya dilakukan pada induk betina dan dilakukan sebanyak 2 kali, dengan perbandingan 1/3 dosis untuk penyuntikan pertama dan 2/3 dosis untuk penyuntikan kedua. Jarak antarpensuntikan adalah 10 jam. Pengeluaran telur dilakukan setelah 6-8 jam dari penyuntikan kedua, yaitu dengan cara distripping. Induk betina yang telah mengalami ovulasi, distripping untuk mendapatkan telur. Telur hasil stripping diletakkan di dalam mangkuk yang telah dibersihkan. Pengambilan sperma dari jantan dilakukan dengan cara mengurut bagian urogenital agar sperma keluar. Sperma dari induk jantan ditampung di dalam beaker glass yang telah diberi larutan NaCl 0,9 %.

Perlakuan

Perlakuan kejutan dilakukan dengan menggunakan kejutan dingin pada suhu 4⁰C selama 90 detik untuk memperoleh ikan triploid (3n) dengan perbedaan perlakuan jarak waktu pemberian kejutan dari proses pembuahan yang dilakukan. Jarak waktu pemberian kejutan yang diberikan adalah 2, 3, 4, dan 5 menit dan satu perlakuan tanpa kejutan. Setelah dilakukan kejutan suhu dari setiap perlakuan, telur dimasukkan ke dalam akuarium untuk proses inkubasi. Proses inkubasi telur dilakukan di dalam akuarium yang telah diberi air setinggi 25 cm sampai terjadi penetasan telur.

Telur yang telah ditebar pada media penetasan, dibiarkan dan diamati perkembangannya untuk menentukan derajat pembuahan. Pengamatan derajat pembuahan dilakukan dengan mengamati perkembangan telur yang dibuahi dan yang tidak dibuahi. Telur ikan patin akan menetas setelah 20-26 jam dari proses pembuahan. Setelah proses penetasan, dilakukan penyiponan pada media penetasan untuk membuang telur yang tidak menetas.

Pemeliharaan larva

Larva ikan patin hasil penetasan dipelihara pada akuarium. Pemberian pakan dilakukan setelah larva berumur 3 hari. Pakan yang diberikan berupa artemia dengan frekuensi pemberian sebanyak 6 kali yaitu pada pukul 06.00, 10.00, 14.00, 18.00, 22.00, dan 02.00 WIB. Pemberian artemia dilakukan sampai larva berumur 10 hari lalu dilanjutkan dengan cacing sutera sampai berumur 28 hari. Pada media pemeliharaan larva dilakukan penyiponan dan pergantian air setiap 2 hari sekali agar kondisi media tetap bersih.

Pengamatan

Pengamatan ikan uji hasil perlakuan dilakukan terhadap beberapa parameter, antara lain :

1. Persentase individu triploid (3n)

Keberhasilan triploidisasi ini berdasarkan pada hasil pengujian yang dilakukan dengan metode penghitungan jumlah nucleolus.

$$Kt = (\text{Jumlah individu yang triploid} / \text{ikan uji total}) \times 100\%$$

$$Kt = \text{persentase individu triploid}$$

2. Derajat Penetasan Telur (HR-%)

Derajat penetasan telur dihitung menggunakan persamaan

$$HR (\%) = (\text{jumlah telur yang menetas} / \text{jumlah embrio yang hidup}) \times 100\%$$

3. Kelangsungan hidup (SR)

Pengamatan kelangsungan hidup (SR) ini menggunakan persamaan sebagai berikut (Effendi, 1972):

$$SR = (Nt/No) \times 100 \%$$

Keterangan: Nt : jumlah ikan akhir penelitian (ekor)
 No : jumlah ikan awal penelitian (ekor)
 SR : tingkat kelangsungan hidup (%)

4. Pertumbuhan

Laju Pertumbuhan harian dihitung menggunakan persamaan berikut :

$$\alpha = (t\sqrt{(wt/wo)} - 1) \times 100\%$$

Keterangan α = pertumbuhan harian (%)
 wt = bobot akhir pengamatan (gr)
 wo = bobot awal pengamatan (gr)
 t = waktu pengamatan (hari)

Data kelangsungan hidup, pertumbuhan harian, derajat penetasan, serta persentase individu triploid dianalisis menggunakan statistik dan uji perbedaan nyata ($p < 0,05$) dengan menggunakan uji tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Derajat Penetasan Telur

Hasil pengamatan terhadap derajat penetasan telur ikan patin yang diberi perlakuan dengan perbedaan waktu pemberian kejutan suhu, terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Derajat penetasan telur ikan patin hasil perlakuan kejutan suhu dengan waktu pemberian kejutan yang berbeda

Ulangan	Perlakuan waktu awal kejutan pada suhu 4°C				
	Kontrol	120 detik	180 detik	240 detik	300 detik
1	91,94	61,90	69,04	62,53	62,39
2	83,56	59,13	54,17	56,05	67,32
3	79,20	69,04	57,09	62,17	47,69
Rata-rata	84,90	63,36	60,10	60,25	59,13

Berdasarkan uji statistik menggunakan sidik ragam ANOVA menunjukkan perbedaan yang nyata antarperlakuan dengan kontrol ($P < 0,05$). Derajat penetasan tertinggi diperoleh pada perlakuan kontrol, yaitu 84,90%. Sedangkan terendah diperoleh pada perlakuan jarak pemberian kejutan dengan pembuahan 300 detik, yaitu 59,13%.

Tabel 2 menunjukkan bahwa derajat penetasan cenderung mengalami penurunan sesuai dengan semakin lamanya *initial time* yang digunakan. Perlakuan yang diberikan menunjukkan adanya pengaruh terhadap derajat penetasan telur ikan patin. Hal ini dapat disebabkan oleh rusaknya membran telur dan sensitivitas embrio dari perlakuan yang diberikan, serta kerusakan fisik telur yang mengakibatkan proses meiosis II maupun pada saat mitosis terjadi mengalami gangguan (Carman, 1992). Derajat penetasan telur hasil perlakuan kejutan dingin lebih baik dari pada menggunakan perlakuan menggunakan kejutan panas. Menurut Febriani (2007), derajat penetasan hasil perlakuan kejutan panas dalam menghasilkan individu triploid pada ikan lele dumbo berkisar antara 40 – 70%.

Persentase Individu Triploid

Pengamatan terhadap pembentukan individu triploid ikan perlakuan disajikan pada Tabel 3. Berdasarkan uji statistik yang dilakukan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara perlakuan dengan kontrol ($P < 0,05$). Selanjutnya hasil uji lanjut yang dilakukan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antarperlakuan yang diberikan.

Tabel 3. Persentase individu ikan patin triploid hasil perlakuan kejutan suhu dengan waktu pemberian kejutan yang berbeda

Ulangan	Perlakuan waktu awal kejutan pada suhu 4°C				
	Kontrol	120 detik	180 detik	240 detik	300 detik
1	-	70,00	75,00	55,00	40,00
2	-	65,00	90,00	65,00	30,00
3	-	75,00	85,00	60,00	45,00
Rata-rata	-	70,00	83,33	60,00	38,33

Persentase individu triploid tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan waktu kejutan 180 detik saat pembuahan dilakukan yaitu 83,33% dan terkecil diperoleh pada perlakuan dengan waktu kejutan 300 detik saat pembuahan dilakukan yaitu 38,33%. Sedangkan pada kontrol, diperoleh hasil 100% individu diploid. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan kejutan yang diberikan pada telur mampu mencegah terjadinya pelepasan polar body II dan tidak mengakibatkan kematian total pada zigot. Pada penelitian ini, diperoleh tingkat keberhasilan triploidisasi yang semakin menurun sejalan dengan semakin lamanya jarak pemberian kejutan saat pembuahan terjadi. Hal ini disebabkan oleh pelepasan *polar bodi* II pada telur telah lepas sehingga telur dapat mengalami fase pembelahan yang normal. Kondisi ini mengindikasikan bahwa waktu optimal pelepasan polar bodi II pada telur ikan patin yaitu sejak 2-4 menit. Menurut Johnstone (1985), setelah batas tertentu, hasil triploid menurun karena polar body II telah lepas sehingga tidak dapat menyatu kembali ke dalam pronukleus embrio. Suhu kejutan dingin merupakan salah satu faktor utama dalam mengubah jumlah kromosom dari diploid (2n) menjadi triploid (3n), pada waktu awal setelah fertilisasi diketahui dan lama pemberian kejutan ditentukan. Penambahan satu set kromosom diduga sebagai akibat dari penahanan kutup II (polar bodi II) pada saat diberi kejutan suhu.

Kelangsungan Hidup

Pengamatan terhadap kelangsungan hidup larva hingga hari ke-28 disajikan pada Tabel 4. Berdasarkan uji statistik yang dilakukan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antarperlakuan ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa lama waktu kejutan dingin pada fase embrio tidak mempengaruhi kelangsungan hidup larva.

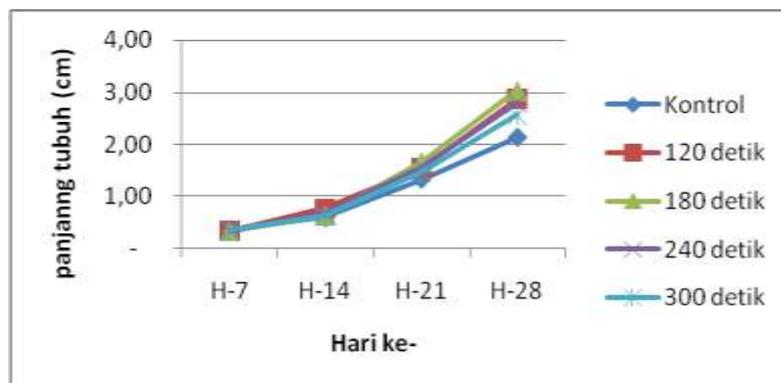
Tabel 4. Tingkat kelangsungan hidup larva ikan patin hasil perlakuan kejutan suhu dengan waktu pemberian kejutan yang berbeda

Ulangan	Perlakuan waktu awal kejutan pada suhu 4°C				
	Kontrol	120 detik	180 detik	240 detik	300 detik
1	77,58	88,92	84,54	85,28	84,87
2	89,10	88,60	86,75	83,01	82,77
3	84,85	69,07	81,54	76,36	80,23
Rata-rata	83,84	82,20	84,28	81,55	82,62

Hasil perlakuan kejutan dingin menunjukkan tidak adanya pengaruh yang nyata terhadap kelangsungan hidup larva. Pemberian kejutan suhu dingin dengan waktu pemberian kejutan yang berbeda, berpengaruh langsung terhadap larva ikan patin. Hal ini berbeda dengan beberapa kegiatan pembentukan individu triploid yang menggunakan kejutan panas. Menurut Febriani (2007) pemberian kejutan panas dapat menurunkan derajat kelangsungan hidup larva pada ikan lele dumbo. Selanjutnya, Carman (2002) menyatakan bahwa kejutan panas yang diberikan pada fase meiosis II dapat menyebabkan kerusakan membran embrio, sehingga dapat menghasilkan individu abnormal. Hal ini dapat menyebabkan penurunan kelangsungan hidup pada fase awal pemeliharaan.

Pertumbuhan

Hasil pengamatan pertumbuhan panjang individu ikan patin disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pertumbuhan panjang harian larva ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) hasil perlakuan kejutan dingin dengan waktu pemberian kejutan yang berbeda

Berdasarkan Gambar 1 terlihat larva hasil perlakuan menunjukkan pertambahan panjang yang semakin besar. Pertambahan panjang dari hari ke-7 hingga hari ke 28, diperoleh pada perlakuan dengan waktu pemberian kejutan saat pembuahan sebesar 180 detik, yaitu 2,70 cm. Sedangkan pertambahan terkecil pada kontrol dengan pertambahan sebesar 1,77 cm. Pada perlakuan dengan waktu pemberian kejutan saat pembuahan 180 detik, 240 detik, dan 300 detik masing-masing diperoleh pertambahan panjang sebesar 2,53 cm, 2,47 cm, dan 2,2 cm. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan semakin tinggi jumlah individu triploid pada populasi ikan patin, maka akan semakin meningkat rata-rata pertumbuhan panjang ikan patin secara keseluruhan.

Tabel 5. Tingkat laju pertumbuhan ikan patin hingga hari ke-28 hasil perlakuan kejutan dingin dengan waktu pemberian kejutan yang berbeda

Ulangan	Perlakuan waktu awal kejutan pada suhu 4°C				
	Kontrol	120 detik	180 detik	240 detik	300 detik
1	8,22	9,71	11,22	11,41	9,32
2	8,46	11,41	10,41	10,83	9,12
3	9,71	11,41	11,76	9,89	10,83
Rata-rata	8,79	10,84	11,13	10,71	9,76

Tabel 5 menunjukkan tingkat laju pertumbuhan larva ikan patin hingga hari ke-28. Berdasarkan uji statistik yang dilakukan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara perlakuan dengan kontrol ($P < 0,05$). Selanjutnya, hasil uji lanjut yang dilakukan menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang nyata antarperlakuan yang diberikan.

Flajshans *et al.* (1993) menemukan bahwa ikan tinca betina triploid tumbuh lebih cepat daripada betina diploid dan jantan diploid, serta lebih cepat daripada triploid jantan. Menurut Rustidja (1989), ikan lele betina triploid lebih kecil ovarinya, berlemak, dan Gonado Somatik Indeksnya rendah. Ratio lemak/protein lebih tinggi dari pada ikan triploid, sedangkan pada diploid lemaknya rendah, tetapi proteinnya tinggi. Menurut Zohar (1989), pengamatan yang dilakukan terhadap pertumbuhan ikan lidah dan Channel Catfish triploid dalam 1 tahun menunjukkan bahwa jika ikan diploid belum berkembang gonadnya, maka ikan triploid lebih cepat tumbuhnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian perlakuan dengan waktu pemberian kejutan yang berbeda pada suhu 4^o C dapat menghasilkan pembentukan individu triploid pada ikan patin. Persentase terbesar individu triploid diperoleh pada waktu pemberian kejutan 180 detik dari proses pembuahan. Semakin lama jarak pemberian waktu kejutan dengan proses pembuahan, maka semakin ada kecenderungan penurunan persentase individu triploid yang terbentuk. Tingkat laju tertinggi pertumbuhan harian individu hingga hari ke 28 dengan hasil perlakuan waktu pemberian kejutan yang berbeda, diperoleh pada waktu pemberian kejutan dari proses pembuahan sebesar 180 detik, yaitu 11,13%.

DAFTAR PUSTAKA

- Carman, O. 1992. Chromosome Set Manipulation in Some Warm-Water Fish. Doctoral Thesis. Tokyo University of Fisheries. Tokyo. 131 p.
- Departemen Kelautan dan Perikanan. 2009. Program prioritas pengembangan perikanan dan kelautan. Siaran Pers. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Febriani, D., D. P. Hartono dan E Marlina. 2008. Pengaruh pemberian kejutan dingin pada pembentukan individu triploid ikan patin (*Pangasius* sp). Laporan Penelitian. Politeknik Negeri Lampung. Lampung.
- Flajshans, M., O. Linhart, and P. Kvasnicka. 1993. Genetic Studies of Tench (*Tinca tinca* L.) : Induced Triploidy and Tetraploidy and First Performance Data. *Aquaculture*, 13 : 301 – 312.
- Ihsen, P. E., L. R. McKay, I. Mc Milan and R. B. Philips. 1990. Ploidy manipulations and gynogenesis in fishes: Cytogenetic and fisheries applications. *Transaction of the American Fisheries Society*, 199;689-717.
- Johnstone, R. 1985. Induction of Triploidy in Atlantic Salmon by Heat Shock. *Aquaculture*, 49 : 133 – 139.
- Rustidja. 1989. Artificial Induced Breeding and Triploidy in the Asian Catfish (*Clarias batrachus* Linn.). Fakultas Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 80 hal
- Thorgaard, G. H., and G.A.E. Gall. 1979. Adult triploid in rainbow trout family genetics. *Aquaculture*. 3;961-973.
- Thorgaard, G. H. 1983. Chromosome Set Manipulation and Sex Control in Fish. In “Fish Physiology” (Editor : W.S.Hoar, D.J.Randall, and .M.Donaldson). Volume IXB. Academic Press, Inc. London. p. 405 – 434.
- Thorgaard, G. H. 1992. Application of Genetic Technologies to Rainbow Trout. *Aquaculture*, 100: 85-97.
- Zohar, Y. 1989. Fish Reproduction : Its Physiology and Artificial Manipulation. In “Fish Culture in Warm Water Systems : Problems and Trends” (Editor : M. Shilo and S. Sarig). CRC Press, Inc. Boca Raton. Florida. p. 65 – 120.