

**PENGARUH LAMA WAKTU PEMBERIAN KEJUTAN DINGIN PADA
PEMBENTUKAN INDIVIDU TRIPLOID IKAN PATIN (*Pangasius* sp)**

Dwi Puji Hartono¹ · Dian Febriani¹

Ringkasan Tujuan kegiatan penelitian adalah mengetahui pengaruh lama waktu kejutan suhu terhadap pembentukan individu triploid pada ikan patin, tingkat derajat penetasan dan kelangsungan hidup larva ikan patin. Perlakuan lama waktu kejutan suhu dingin yang diberikan masing-masing 120 detik, 180 detik dan 240 detik pada suhu 4°C pada fase meiosis 1. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali. Penetasan dan pemeliharaan larva dilakukan pada akuarium serta hapa untuk kegiatan pendederan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan lama waktu kejutan suhu dingin memberikan hasil yang nyata terhadap pembentukan individu triploid pada ikan patin ($P < 0,05$). Persentase individu triploid tertinggi diperoleh pada lama waktu kejutan 78,33%. Selain itu tingkat pertumbuhan benih ikan patin hingga hari ke-28 menunjukkan peningkatan sejalan dengan peningkatan persentase individu triploid dari masing-masing perlakuan. Laju pertumbuhan tertinggi diperoleh dari perlakuan lama waktu kejutan suhu 4°C sebesar 10,40 %.

Keywords *ikan patin, triploid, lama waktu kejutan suhu dingin, rekayasa kromosom*

PENDAHULUAN

Dewasa ini, pengembangan rekayasa kromosom pada ikan patin telah mulai banyak dilakukan. Hal ini dilakukan selain untuk mencegah terjadinya perkawinan secara acak sehingga menyebabkan penurunan secara genetik yang ditandai dengan tingkat pertumbuhan yang semakin menurun, derajat penetasan yang rendah serta ketahanan tubuh yang rendah, juga dilakukan untuk mendapatkan individu yang mempunyai pertumbuhan yang cepat. Salah satu aplikasi yang telah dilakukan adalah pembentukan individu triploid atau yang mempunyai struktur kromosom 3n. Pembentukan individu triploid yang telah dilakukan adalah dengan cara menahan terlepasnya polar body II, atau dengan cara mengawinkan ikan tetraploid dengan ikan diploid normal [1]. 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 antara lain dengan menggunakan kejutan suhu panas dan suhu dingin. Permasalahan yang ditemukan adalah masih rendahnya persentase in-

¹) Staf Pengajar Program Studi Budidaya Perikanan Politeknik Negeri Lampung, Jl. Soekarno-Hatta Rajabasa, Bandar Lampung 35144,
Telp (0721)703995
Fax (0721)787309,
E-mail: dianfebriani@polinela.ac.id

dividu triploid yang terbentuk. Kondisi ini disebabkan lama waktu kejutan yang dilakukan masih belum sepenuhnya dapat menahan polar body II di dalam telur sehingga mengakibatkan individu yang terbentuk adalah individu diploid normal. Oleh karena itu dilakukan kajian dalam menentukan lama waktu kejutan suhu yang diberikan untuk meningkatkan persentase pembentukan individu triploid.

Tujuan kegiatan penelitian ini adalah untuk 1. mengetahui pengaruh lama waktu kejutan suhu terhadap pembentukan individu triploid pada ikan patin 2. mengetahui pengaruh lama waktu kejutan suhu terhadap tingkat derajat penetasan dan kelangsungan hidup larva ikan patin 3. mengetahui pengaruh individu triploid terhadap tingkat pertumbuhan ikan patin.

MATERI DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah induk ikan patin, larutan asetocarmine, asam asetat glacial, etanol absolut, alkohol, AgNO₃, metylene blue, gelatin, gliserin, asam formiat, artemia, garam dapur, ovaprim, pelet, cacing serta ragi roti sebagai bahan kultur pakan alami. Sedangkan alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian ini antara lain akuarium beserta sistem aerasinya sebagai media pemeliharaan dengan ukuran 40 x 60 x 50 cm sebanyak 12 buah, hapa berukuran 1,3 x 1 x 0,5 m sebanyak 12 buah, pompa air, aerator, mikroskop, syringe, timbangan analitik, box staining, gelas preparat, mangkok serta perlengkapan pemijahan lainnya.

Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga ulangan. Sebagai perlakuan adalah perbedaan lama waktu kejutan dingin serta satu buah kontrol tanpa perlakuan. Perlakuan lama waktu kejutan yang digunakan adalah 120 detik, 180 detik dan 240 detik pada suhu 4°C. Setiap perlakuan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Data dianalisis dengan sidik ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat

dan uji signifikansi untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

Pemijahan Ikan Patin

Penelitian diawali dengan persiapan media pemijahan serta seleksi terhadap 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 digunakan untuk penyuntikan pertama dan 2/3 dosis digunakan untuk penyuntikan kedua. Jarak antar penyuntikan adalah 10 jam. Pengeluaran telur dilakukan setelah 6-8 jam dari penyuntikan kedua dengan cara distripping. Induk betina yang telah mengalami ovulasi, distripping untuk mendapatkan telur. Telur hasil striping diletakkan di dalam mangkok yang telah dibersihkan. Pengambilan sperma dari jantan dilakukan dengan mengurut bagian urogenital untuk mengeluarkan sperma. Sperma dari induk jantan di tampung di dalam beaker glass yang telah diberi larutan NaCl 0,9 %. Pembuahan dilakukan secara buatan dengan cara mencampur telur dan sperma serta diberikan larutan pembuahan berupa larutan fisiologis. Telur yang telah dicampur dengan sperma kemudian ditebar pada media penetasan telur berupa akuarium yang telah diberi aerasi dan heater sebagai pengatur suhu pada media penetasan.

Perlakuan Kejutan Suhu

Aplikasi kejutan suhu dilakukan dengan menggunakan kejutan dingin untuk memperoleh ikan triploid (3n). Tiga menit setelah terjadi pembuahan diikuti dengan perlakuan kejutan dingin pada suhu 4°C selama 120

detik, 180 detik dan 240 detik Setelah dilakukan kejut 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 hingga terjadi penetasan telur.

Penetasan Telur

Telur yang telah ditebar pada media penetasan dibiarkan dan diamati perkembangannya untuk menentukan derajat pembuahan. 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 media akuarium. Pemberian pakan dilakukan saat larva berumur 3 hari. Pakan yang diberikan adalah naupli 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 hingga larva berumur 7 hari. Pakan yang diberikan pada larva yang berumur 7 hari adalah cacing sutera dengan frekuensi pemberian sebanyak 3 kali yaitu pagi, siang dan sore hari secara ad libitum. Pada media pemeliharaan larva dilakukan penyiponan dan pergantian air setiap 2 hari sekali untuk menjaga kondisi media tetap bersih. Pemeliharaan larva di akuarium dilakukan hingga larva berumur 28 hari.

Pengamatan Derajat Penetasan dan Kelangsungan Hidup

Perhitungan derajat penetasan dari masing-masing perlakuan dilakukan setelah telur menetas dengan mengitung jumlah telur yang menetas dan jumlah telur yang tidak

menetas pada tiap lempengan kaca di tiap persilangan. Perhitungan derajat penetasan telur dilakukan dengan menggunakan persamaan berikut :

$$HR = \frac{T_m}{T_m + T_{tm}} \quad (1)$$

dimana HR adalah derajat penetasan (%), T_m adalah jumlah telur yang menetas, T_{tm} adalah jumlah telur yang tidak menetas

Untuk melihat kelangsungan hidup selama pemeliharaan, dilakukan sampling tiap 7 hari sekali. Sampling dilakukan secara acak pada tiap media pemeliharaan. Perhitungan kelangsungan hidup larva dilakukan dengan menggunakan persamaan berikut:

$$SR = \frac{F_{st}}{F_{so}} \times 100\% \quad (2)$$

dimana SR adalah derajat kelangsungan hidup (%), F_{st} adalah jumlah ikan yang hidup pada T1 dan F_{so} adalah jumlah ikan yang hidup pada awal pemeliharaan

Pengamatan Persentase Individu Triploid (3n)

Keberhasilan triploidisasi merupakan persentase jumlah ikan uji yang triploid dari jumlah total ikan uji yang diamati untuk tiap perlakuan. Keberhasilan triploidisasi ini didasarkan pada hasil pengujian yang dilakukan dengan metode penghitungan jumlah nukleolus.

Pertumbuhan

Laju Pertumbuhan harian dihitung dengan menggunakan persamaan berikut :

$$\alpha = \left(\sqrt[t]{\frac{wt}{wo}} \right) - 1 \times 100\% \quad (3)$$

dimana α adalah pertumbuhan harian (%), wt adalah bobot akhir pengamatan (gr), wo adalah bobot awal pengamatan (gr) dan t adalah waktu pengamatan (hari)

Tabel 1 Derajat penetasan telur ikan patin hasil perlakuan kejutan suhu dengan lama waktu kejutan yang berbeda

Ulangan	Derajat Penetasan Telur (%)			
	Kontrol	120 Detik	180 detik	240 detik
1	72.28	66.58	63.58	40.46
2	76.12	60.55	50.92	63.25
3	86.93	67.85	64.05	61.72
Rerata	78.44	64.99	59.52	55.14

Tabel 2 Persentase individu ikan patin triploid hasil perlakuan kejutan suhu dengan lama waktu kejutan yang berbeda

Ulangan	Individu Triploid (%)			
	Kontrol	120 Detik	180 detik	240 detik
1	-	75.00	75.00	75.00
2	-	80.00	80.00	75.00
3	-	80.00	75.00	75.00
Rerata	-	78.33	76.67	75.00

HASIL DAN PEMBAHASAN

Derajat Penetasan Telur

Hasil pengamatan terhadap derajat penetasan telur ikan patin hasil perlakuan kejutan suhu seperti terlihat pada Tabel 1. Berdasarkan uji statistik dengan menggunakan sidik ragam ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan dengan kontrol ($P < 0,05$). Derajat penetasan tertinggi diperoleh pada perlakuan kontrol sebesar 78,44 % sedangkan terendah pada perlakuan lama waktu kejutan suhu 240 detik sebesar 55,14 %.

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa derajat penetasan cenderung mengalami penurunan sejalan dengan makin lamanya waktu kejutan suhu yang diberikan. 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 [2]. Derajat penetasan telur hasil perlakuan kejutan dingin dapat digolongkan masih lebih baik dari perlakuan dengan menggunakan kejutan panas. Menurut [3], derajat penetasan hasil perlakuan kejutan panas untuk menghasilkan individu triploid pada ikan lele dumbo berkisar antara 40 – 70 %. Persentase Individu Triploid.

Persentase Individu Triploid

Hasil pengamatan ikan perlakuan terhadap pembentukan individu triploid (3n) disajikan pada Tabel 2. 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 antar perlakuan yang diberikan.

Nilai persentase individu triploid tertinggi diperoleh pada perlakuan lama waktu kejutan 120 detik yaitu sebesar 78,33 % dan terkecil pada perlakuan lama waktu kejutan 240 detik sebesar 68,33%, sedangkan perlakuan tanpa diberi kejutan dingin diperoleh hasil 100 % diploid. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa perlakuan kejutan yang diberikan pada telur mampu mencegah terjadinya pelepasan polar body II dan tidak mengakibatkan kematian total pada zigot. Tingkat keberhasilan triploidisasi pada penelitian ini semakin menurun dengan semakin lamanya waktu kejutan. Menurut [4], 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. Terdapatnya penambahan satu set kromosom diduga sebagai akibat dari penahanan kutub II (polar body II) pada saat diberi kejutan suhu. [5] menyatakan bahwa terbentuknya ikan-ikan triploid diakibatkan oleh adanya penambahan satu set kromosom pada saat sel diploid sedangkan, sumber dari satu set kromosom dalam ikan triploid adalah badan kutub II yang terdapat dalam sel telur. Perlakuan kontrol yang dilakukan tanpa adanya kejutan dingin menunjukkan hasil 100 % individu

diploid. Selain itu, adanya perbedaan variasi pada individu triploid dapat disebabkan karena adanya variasi atau ketidakseragaman waktu fertilisasi pada saat pemberian kejutan suhu panas yang dilakukan. Tidak tercapainya prosentase maksimal keturunan triploid pada ikan Channel catfish disebabkan oleh adanya variasi dalam fertilisasi, dan pelepasan badan kutub II pada telur ikan salmon sangat ditentukan oleh mobilitas sperma, kecepatan sperma melewati saluran mikrofil dan kemampuan sperma untuk penetrasi ke dalam inti sel telur. Bagian tubuh ikan yang digunakan untuk pemeriksaan triploid adalah sirip ekor, dengan tujuan agar ikan hasil uji atau yang diambil bagian tubuhnya tidak mengalami kematian. Jaringan yang dibutuhkan dalam pembuatan preparat amat sedikit sehingga sampel dapat diperoleh tanpa membunuh ikan. Pemeriksaan triploid dengan perhitungan jumlah nukleolus pada setiap sel dapat dilakukan karena disamping murah biayanya juga peralatan yang digunakan relatif sederhana dan perhitungan nukleolus dapat diterapkan pada setiap spesies ikan. Dari pengamatan preparat nukleolus diperoleh 100 % ikan tanpa kejutan memiliki maksimal 3 nukleolus per sel, individu triploid memiliki maksimal 4 nukleolus per sel. Dengan pewarnaan perak nitrat, sel berwarna kuning-kecoklatan dan nukleolus nampak berwarna coklat-kehitaman. Menurut [2], pewarna perak hanya mampu mewarnai nukleolus pada NOR yang aktif, tidak semua NOR aktif pada saat pembuatan preparat dilakukan. Terjadinya peningkatan jumlah maksimal nukleolus sebagai indikasi peningkatan jumlah kromosom pada ikan triploid.

Kelangsungan Hidup

Hasil pengamatan kelangsungan hidup larva hingga hari ke-28 disajikan pada Tabel 3. Berdasarkan uji statistik yang dilakukan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa lama waktu kejutan dingin pada fase embrio tidak membe-

Tabel 3 Tingkat kelangsungan hidup larva ikan patin hasil perlakuan kejutan suhu dengan lama waktu kejutan yang berbeda

Ulangan	Derajat Kelangsungan Hidup (%)			
	Kontrol	120 Detik	180 detik	240 detik
1	72.94	76.25	73.95	67.30
2	83.33	74.84	75.06	62.21
3	60.59	52.61	61.73	70.28
Rerata	72.27	67.90	70.25	66.60

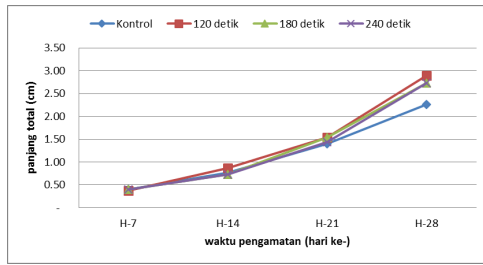
Tabel 4 Tingkat laju pertumbuhan ikan patin (%) hingga hari ke-28 hasil perlakuan kejutan dingin pada lama waktu kejutan yang berbeda

Ulangan	Derajat Kelangsungan Hidup (%)			
	Kontrol	120 Detik	180 detik	240 detik
1	7.31	11.41	9.52	9.71
2	9.19	10.07	9.71	9.52
3	8.69	9.71	9.52	9.52
Rerata	8.40	10.40	9.58	9.58

rikan pengaruh terhadap kelangsungan hidup larva.

Hasil perlakuan kejutan dingin menunjukkan tidak adanya pengaruh yang nyata terhadap kelangsungan hidup larva. Hal ini berbeda pada beberapa kegiatan pembentukan individu triploid dengan menggunakan kejutan panas. Menurut [3] pemberian kejutan panas akan dapat menurunkan derajat kelangsungan hidup larva pada ikan lele dumbo. Selanjutnya [2] menyatakan bahwa kejutan panas yang diberikan pada fase meiosis II dapat menyebabkan kerusakan membran embrio sehingga akan dapat menghasilkan individu abnormal. Hal ini dapat menyebabkan penurunan kelangsungan hidup pada fase awal pemeliharaan.

Berdasarkan Gambar 1 terlihat larva hasil perlakuan menunjukkan pertambahan panjang yang semakin besar. Pertambahan panjang mulai dari hari ke-7 hingga hari ke 28 terbesar diperoleh pada perlakuan dengan lama waktu kejutan 120 detik yaitu sebesar 2,53 cm sedangkan pertambahan terkecil pada kontrol dengan pertambahan sebesar 1,87 cm. Pada perlakuan lama waktu kejutan 180 detik dan 240 detik masing-masing diperoleh pertambahan panjang sebesar 2,33 cm. Hasil ini menun-



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

jukkan bahwa dengan semakin tingginya jumlah individu triploid pada populasi ikan patin akan meningkatkan pertumbuhan panjang rata-rata secara keseluruhan.

Tabel 4 menunjukkan tingkat laju pertumbuhan larva ikan patin hingga hari ke-28. Uji statistik yang dilakukan menunjukkan bahwa perlakuan tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap laju pertumbuhan ikan patin. [6] menemukan bahwa ikan tinca betina triploid tumbuh nyata lebih cepat dari pada betina diploid dan jantan diploid serta lebih cepat dari triploid jantan. Menurut [7], ikan lele betina triploid lebih kecil ovarinya, berlemak, dan Gonado Somatik Indeksnya rendah. Ratio lemak/protein lebih tinggi pada ikan triploid, sedangkan pada diploid lemaknya rendah tetapi proteinnya tinggi. Pada umur 109 hari gonad ikan lele secara normal mulai berkembang, sedang ikan lele dewasa dicapai pada umur 178 hari. Dengan masa pemeliharaan yang singkat, tahap perkembangan gonad ikan lele masih belum bisa diketahui. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa ikan lele triploid pertumbuhannya lebih tinggi dari ikan lele diploid sampai umur 60 hari. Perbedaan antara jantan dan betina ikan lele juga belum jelas sehingga tidak diketahui juga perbedaan pertumbuhannya. Sebaiknya kecepatan pertumbuhan ikan triploid steril dibuktikan setelah ikan diploid normal berkembang gonadnya dan mendekati musim pemijahan. Menurut [8], pengamatan yang dilakukan terhadap pertumbuhan ikan lidah dan *Channel Catfish* triploid dalam 1 tahun menunjukkan jika pada ikan diploid

belum berkembang gonadnya, maka ikan triploid lebih cepat tumbuhnya.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian perlakuan lama waktu kejutan pada suhu dingin 4°C pada fase meiosis I dapat menghasilkan pembentukan individu triploid pada ikan patin. persentase terbesar individu triploid diperoleh pada lama waktu kejutan 120 detik dan semakin lama waktu kejutan menunjukkan adanya kecenderungan penurunan persentase individu triploid yang terbentuk. Semakin lama waktu kejutan pada suhu dingin 4°C pada fase meiosis I menghasilkan derajat penetasan yang semakin rendah sedangkan tingkat kelangsungan hidup menunjukkan hasil yang relatif sama antar perlakuan yang diberikan. Tingkat laju pertumbuhan harian individu hingga hari ke 28 hasil perlakuan lama waktu kejutan dingin tertinggi diperoleh pada lama waktu kejutan 120 detik sebesar 10,40 %, 180 detik dan 240 detik sebesar 9,58.

Pustaka

1. Ihssen, 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.
2. Carman, O. 1992. Chromosome Set Manipulation in Some Warm-Water Fish. Doctoral Thesis. Tokyo University of Fisheries. Tokyo. 131 p.
3. Febriani, D. dan J. Nursandi, 2007. Rekayasa Set Kromosom Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Dalam Menghasilkan Individu Unggulan. Laporan Penelitian. Politeknik Negeri Lampung. Lampung
4. Johnstone, R.. 1985. Induction of Triploidy in Atlantic Salmon by Heat Shock. Aquaculture, 49 : 133 – 139.
5. Thorgaard, G.H. 1983. Chromosome Set Manipulation and Sex Control in Fish. In "Fish Physiology" (Editor : W.S.Hoar, D.J.Randall, and E.M.Donaldson). Volume IXB. Academic Press, Inc. London. p. 405 – 434.

6. 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.
7. Rustidja. 1989. Artificial Induced Breeding and Triploidy in the Asian Catfish (*Clarias batrachus* Linn.). Fakultas Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 80 hal
8. 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.

