

Bab IV

Pemijahan buatan

Slembrouck J.^(a), J. Subagja^(b), D. Day^(c) dan M. Legendre^(d)

- (a) *IRD (Lembaga Penelitian Perancis untuk Pembangunan), Wisma Anugraha, Jl. Taman Kemang Selatan No. 32B, 12730 Jakarta, Indonesia.*
- (b) *BRPBAT (Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar), Jl. Sempur No. 1, PO. Box 150 Bogor, Indonesia.*
- (c) *BBAT (Balai Budidaya Air Tawar), Jl. Jenderal Sudirman No. 16C, The Hok, Jambi Selatan, Jambi, Sumatera, Indonesia.*
- (d) *IRD/GAMET (Groupe aquaculture continentale méditerranéenne et tropicale) BP 5095, 34033 Montpellier cedex 1, France.*

Metode pembudidayaan yang dijelaskan di dalam bab ini disajikan secara lengkap guna lebih memudahkan pengidentifikasian serta tatacara budidaya. Melakukan pembudidayaan memerlukan ketepatan dan kecermatan untuk keberhasilan dalam pemijahan. Hal ini sangat penting karena induk ikan harus ditangani beberapa kali untuk diseleksi, injeksi, pemeriksaan ovulasi dan *stripping*.

SELEKSI INDUK IKAN

Tahap pertama adalah menyeleksi induk ikan dengan kondisi yang terbaik dari induk yang dipelihara agar memperoleh mutu pemijahan yang terbaik.

Persiapan dan rekomendasi

Berdasarkan pengalaman pada waktu pemilihan induk ikan, sebaiknya ditangkap beberapa ekor induk sekaligus guna mengurangi penanganan dan stres. Penggunaan kartu-kartu indeks sangat diperlukan untuk mencatat bio-data setiap induk ikan, dengan demikian akan menambah wawasan tentang biologi ikan dan aspek teknis.

Bahan-bahan untuk keperluan seleksi haruslah tersedia sebelum memulai menangkap ikan (perlengkapan dan peralatan, Bab III). Penanganan secara umum serta tindakan pencegahan harus diperhatikan (lihat Bab III). Setelah penangkapan, agar memudahkan dalam penyeleksian, setiap ikan haruslah :

- dibius dengan dosis ringan;
- ditimbang;
- dievaluasi tingkat kematangan seksualnya (kanulasi pada ikan betina atau *stripping* pada ikan jantan).

Perkiraan tingkat kematangan seksual pada ikan jantan dapat dilakukan dengan cepat (Bab III) setelah pembiusan dan penimbangan. Setelah itu, ikan jantan yang sudah matang secara seksual bisa langsung diisolasi untuk reproduksi, sementara ikan lainnya dikembalikan ke tempat pemeliharannya.

Pengukuran dan pengamatan oosit memerlukan sedikit waktu setelah kanulasi (Bab III, Lembaran III.2). Ikan betina yang sudah matang harus ditempatkan dalam keramba, kemudian ditangkap kembali hanya untuk diinjeksi. Ikan yang tidak terpilih dilepaskan dalam tempat pemeliharaan sampai pemeriksaan berikutnya.

Catatan mengenai kesiapan *P. djambal* (detail dalam Bab III)

- **Kesiapan ikan jantan** ditentukan oleh produksi sperma pada *stripping* dengan menggunakan tekanan tangan secara ringan pada daerah perut (skala 3).
- **Kesiapan ikan betina** ditentukan setelah kanulasi, oleh penyebaran diameter yang seragam dari oosit-ooisit yang diambil sebagai sampel dan nilai tengah diameter >1,7 mm. Oosit yang lebih besar harus berwarna kuning gading dan mudah dipisahkan satu sama lain. Keberadaan sejumlah cairan ovari yang bisa terlihat dalam kanulasi umumnya mengindikasikan proses penyerapan kembali (*atresia*) yang sedang berlangsung. Penampakan luar (abdomen yang lembut, alat kelamin yang membesar, dst.) tidak cukup memadai untuk menilai kesiapan pada betina *P. djambal*.

Berapa banyak ikan jantan per ikan betina?

Secara praktis, kuantitas sperma yang dikumpulkan dari satu induk jantan umumnya cukup untuk membuahi seluruh sel telur yang dikumpulkan dari satu atau dua ekor induk betina. Namun demikian, membudidayakan hanya dari satu pasangan induk ikan akan menyebabkan berkurangnya variabilitas genetik keturunan (*consanguinity*). Hal ini bisa mengakibatkan penurunan pembudidayaannya secara teknis setelah beberapa generasi yang sudah diamati pada beberapa spesies ikan termasuk ikan lele-lelean (Agnese dkk., 1995).

P. djambal merupakan ikan yang baru dibudidayakan dengan memiliki banyak keunggulan dan berpotensi sangat menjanjikan bagi budidaya ikan di Indonesia. Jika pembudidaya tidak bisa memelihara serta memijahkannya, maka produksi ikan ini dimasa datang akan terancam.

Sebenarnya, ada dua target untuk pemijahan ikan, yang pertama adalah menghasilkan generasi baru dari induk ikan dan yang kedua adalah menghasilkan benih ikan untuk dibesarkan guna memenuhi kebutuhan manusia. Bahkan meski target ini berbeda, para pembudidaya berharap agar pemijahan secara buatan ini setidaknya sama baiknya dengan induknya.

Idealnya, untuk mempertahankan variabilitas genetika secara maksimal dari induk ikan serta pencegahannya, disarankan untuk menggunakan sedikitnya 10 ekor induk jantan untuk 10 ekor induk betina, di mana sperma setiap induk jantan digunakan untuk membuahi secara terpisah sel telur dari setiap induk betina (Gilles dkk., 2001). Setelah penetasan, jumlah yang sama dari setiap turunan campuran atau hibrida harus

dibesarkan secara bersama-sama untuk menghasilkan calon induk ikan selanjutnya. Akan tetapi, jika pola pengembangbiakan ini diikuti, variabilitas genetik secara keseluruhan dari turunan tersebut akan menurun secara perlahan (sekitar 5%) pada setiap persilangan (Chevassus, 1989). Ini berarti harus dilakukan penambahan induk dari alam pada setiap 3 generasi untuk menjamin variabilitas genetik yang besar dari *strain* yang dipelihara.

Pada setiap siklus reproduksi ikan yang dibesarkan, disarankan untuk menggunakan sperma yang dikumpulkan dari 6 sampai 10 ekor induk jantan guna membuahi sel telur yang dikumpulkan dari semua induk betina yang dipijahkan (biasanya 2 sampai 4 ekor induk betina).

PROSEDUR PEMBERIAN HORMON

Begitu ikan yang terbaik diseleksi, diisolasi di tempat penyimpanannya dan induk ikan lainnya dilepaskan kembali tempat pemeliharannya, proses kawin suntik bisa dimulai.

Istilah ikan betina yang “matang” berarti bahwa pertumbuhan oosit telah tercapai dan pematangan akhir oosit serta ovulasi bisa dilakukan melalui stimulasi hormon yang memadai. Berbagai cara pemberian hormon sudah dilakukan untuk memicu ovulasi *P. djambal* (Legendre dkk., 2000a). Sampai sejauh ini mutu terbaik gamet diperoleh dengan perlakuan hormon (Legendre dkk., 2002).

Ikan Betina

Pemberian hormon berkaitan dengan dua penyuntikan yang berurutan:

- injeksi pertama dengan pemberian hCG (*human chorionic gonadotropin*) dengan dosis 500 IU (*international unit*) per kg bobot tubuh ikan betina. Untuk mempersiapkan terjadinya ovulasi pada injeksi berikutnya. Pemberian pada injeksi pertama belum memicu ke arah terjadinya ovulasi;
- injeksi kedua dengan Ovaprim (campuran GnRh dan Domperidone)¹ yang diberikan 24 jam setelah pemberian hCG, dengan dosis 0,6 mL.kg⁻¹, untuk memicu ovulasi.

¹) 1 mL dari Ovaprim® (Syndel Laboratories, Canada) mengandung 20 µg dari GnRha dan 10 mg Domperidone.

Ikan Jantan

Untuk meningkatkan kuantitas sperma yang dikumpulkan dan mengurangi sifat kekentalannya, pada ikan jantan diberikan injeksi tunggal Ovaprim dengan dosis $0,4 \text{ mL.kg}^{-1}$ dan sekaligus memberikan injeksi Ovaprim pada ikan betina.

Prosedur kawin suntik

Jika rekomendasi terdahulu sudah diterapkan, ikan sudah harus ditimbang dan diisolasi dalam tempat yang aman. Ini akan memberikan waktu untuk menghitung kuantitas hormon yang tepat sesuai dengan dosis yang disarankan, kemudian baru melakukan penyuntikan hormon pertama.

Penghitungan jumlah hCG

Kemasan produk

hCG tersedia dalam bentuk bubuk kering dalam ampul steril ukuran 1500 dan 5000 IU. Ampul-ampul ini disajikan dalam kotak kemasan bersamaan dengan ampul yang berisi larutan fisiologis (*saline solution*) kemasan 1 mL (0,9% NaCl) (Lembaran IV.1). Harganya tergantung pada nilai tukar mata uang USD. Pada bulan Maret 2003, satu ampul ukuran 1500 IU senilai Rp76.400 dan 1 ampul ukuran 5000 IU adalah Rp144.567.

Contoh penghitungan

Dalam contoh berikut (Tabel IV.1), Dua ekor ikan betina yang siap untuk dipijahkan, masing-masing memiliki bobot 4,5 dan 6,5 kg. Langkah pertama dalam prosedur kawin suntik adalah menghitung jumlah hCG (dalam satuan IU) untuk diinjeksikan ke setiap ikan betina.

	Bobot tubuh kg	Dosis hCG IU.kg⁻¹ setiap ikan	hCG yang dibutuhkan dalam satuan IU
Ikan Betina 1	4.5	500	$4.5 \times 500 = 2250$
Ikan Betina 2	6.5	500	$6.5 \times 500 = 3250$
Total	11	500	$11 \times 500 = 5500$

Tabel IV.1.

Perhitungan kuantitas hCG yang akan diinjeksikan.

Evaluasi jumlah hormon yang optimal

Untuk menyuntik kedua ikan betina ini harus dengan cara sehemat mungkin, maka harus memperhitungkan jumlah ampul hCG yang dibutuhkan, sebab begitu sebuah ampul dibuka hormon hanya bisa disimpan untuk beberapa jam saja. Penggunaan hormon yang tepat bisa

menghemat biaya operasional, perbandingan beberapa kemungkinan kombinasi ampul guna memperoleh rasio optimal biaya terhadap dosis (Tabel IV.2).

Tabel IV.2.

Optimisasi antara kuantitas dan biaya injeksi hCG.

	Pilihan pertama	Pilihan kedua	Pilihan ketiga	Pilihan keempat
Ampul 1500 IU	3	0	4	1
Ampul 5000 IU	0	1	0	1
Total hCG yang diperoleh (IU)	4500	5000	6000	6500
Kesesuaian IU.Kg ⁻¹ setiap ikan	409.1	454.6	545.5	590.9
	Jauh dari dosis yang diharapkan	Dekat dengan dosis yang diinginkan	Dekat dengan dosis yang diinginkan	Jauh dengan dosis yang diinginkan
Jumlah biaya hormon* (Rp)	229,200	144,567	305,600	220,967

* dalam bulan Maret 2003.

Penghitungan kuantitas yang akan diinjeksikan

Dari perhitungan (dalam Tabel IV.2), terlihat bahwa pilihan terbaik adalah menggunakan satu ampul hCG ukuran 5000 IU untuk diinjeksikan kepada kedua ikan. Ini sesuai dengan biaya yang lebih rendah untuk dosis 450 IU.kg⁻¹, masih mendekati dosis yang direkomendasikan bagi injeksi pertama. 5000 IU hCG bisa dilarutkan dalam 1mL larutan fisiologis (0,9% NaCl)

Perhitungan berikut memperlihatkan volume hCG untuk disuntikkan ke setiap ikan betina:

Tabel IV.3.

Perhitungan volume larutan hCG untuk disuntikkan ke setiap ikan betina.

	Bobot tubuh kg	Proporsi larutan untuk setiap ikan betina	Kesesuaian volume mL	Pembulatan angka
Ikan betina 1	4,5	40,9% (4,5 / 11)	0,409	0,4
Ikan betina 2	6,5	59,1% (6,5 / 11)	0,591	0,6
jumlah	11	100%	1	1

Sesuai ketentuan, jumlah hCG untuk dilarutkan dalam 1 mL larutan fisiologis tidak boleh lebih dari 5000 – 6000 IU. Jika jumlah hormon yang disyaratkan melebihi jumlah tersebut, maka volume pelarut juga harus ditambah.

Penghitungan jumlah Ovaprim

Penyajian produk

Ovaprim tersedia dalam bentuk cairan yang dikemas dalam botol steril ukuran 10 mL. Biayanya tergantung pada nilai tukar mata uang USD. Pada bulan Maret 2003, satu botol produk impor ini senilai Rp210.000.-

Contoh penghitungan

Dalam contoh berikut, persiapan pemberian suntikan kedua pada ikan betina yang sudah memperoleh suntikan hCG:

	Bobot tubuh (kg)	Dosis Ovaprim mL.kg⁻¹ tiap ikan	Ovaprim yang diperlukan (mL)
Ikan induk 1	4,5	0,6	$4,5 \times 0,6 = 2,7$
Ikan induk 2	6,5	0,6	$6,5 \times 0,6 = 3,9$
Jumlah	11	0,6	$11 \times 0,6 = 6,6$

Table IV.4.

Perhitungan volume Ovaprim untuk disuntikkan.

Volume ovaprim yang dibutuhkan bisa langsung disedot dengan spuit yang steril (Lembaran IV.2) dan sisanya disimpan di lemari pendingin (*refrigerator*) selama beberapa minggu.

Persiapan injeksi

Karena hCG tersedia dalam bentuk bubuk untuk dilarutkan dalam larutan fisiologis 0,9% dan ovaprim tersedia dalam bentuk cairan. Jelas bahwa proses persiapan injeksi kedua hormon ini tidak sama. Detail persiapan spesifik dari setiap hormon tersebut disajikan dalam Lembaran IV.1 dan IV.2.

Namun, ketentuan ini juga harus diperhatikan:

- Untuk memberikan dosis hormon yang akurat kepada ikan, ukuran spuit yang digunakan haruslah sesuai dengan volume cairan yang akan diinjeksikan. Misalnya, persiapan hormon 0,9 mL harus diinjeksikan dengan spuit ukuran 1 mL dan bukan dengan spuit ukuran 10 mL;
- Untuk mencegah agar larutan tidak keluar dari tubuh ikan setelah injeksi, disarankan:

- menggunakan jarum yang sehalus mungkin dan cukup panjang untuk memungkinkan injeksi intramuskular yang cukup “dalam”. Disarankan untuk menggunakan jarum ukuran 0,70 x 38 mm.
- untuk membagi injeksi pada lokasi sistem otot punggung apabila volume melebihi 1 mL untuk ikan betina ukuran sedang (kurang dari 4 – 5 kg bobot tubuh) atau 2 mL untuk ikan yang lebih besar. Dalam praktek, lebih baik mempersiapkan terlebih dulu jumlah spuit yang dibutuhkan sesuai dengan volume cairan yang akan diinjeksikan.
- Beberapa hari setelah kawin suntik, nekrosis (kematian jaringan dalam daerah terbatas) kulit dan otot kadangkala terlihat pada bekas suntikan. Ini dapat mengakibatkan infeksi yang disebabkan dari peralatan suntik yang terkontaminasi, atau oleh produk yang sudah kadaluarsa. Untuk mencegah hal ini, sangat disarankan mensterilkan peralatan suntik dengan alkohol sebelum digunakan atau menggunakan peralatan baru untuk setiap proses pemijahan buatan. Juga disarankan untuk menggunakan botol atau ampul hormon yang baru untuk setiap kegiatan.

Prosedur injeksi

Sejauh ini, belum ada perbandingan ilmiah yang memperlihatkan ovulasi atau peneluran yang lebih baik ketika ikan diinjeksi secara intramuskular atau antara rongga peritoneum. Penggunaan peralatan injeksi apapun bisa dipilih, masing-masing dengan kelebihan dan kekurangannya (Harvey dan Carolsfeld, 1993). Yang terpenting adalah bahwa jumlah hormon yang diinjeksikan mencapai gonad, melalui aliran darah, untuk memacu proses ovulasi.

Untuk *P. djambal*, memberikan hormon secara intramuskular di bawah sirip punggung (Gambar IV.1). Di bagian ini, massa otot cukup tebal dan injeksi cukup dalam bisa dilakukan, guna mencegah resiko dari cairan hormon yang bisa keluar melalui lubang injeksi.

Penanganan injeksi tanpa pembiusan bisa dibenarkan sejauh ikan tetap aman dalam tempat penyimpanannya. Untuk mencegah stres (lihat Bab III), perlakukan ikan dengan hati-hati,



Gambar IV.1.

Injeksi hormon pada *P. djambal*.

kemudian bungkus secara perlahan dengan handuk dan usahakan tetap di dalam air. Hanya pada bagian punggung ikan yang dapat terlihat dari permukaan air untuk memudahkan pemberian injeksi hormon (Gambar IV.1).

Injeksi harus dilakukan secara bertahap. Untuk lebih memudahkan agar cairan bisa masuk ke dalam jaringan otot, tunggu beberapa saat dan kemudian tarik jarum injeksi secara perlahan.

Setelah memastikan tidak ada cairan hormon yang keluar dari lubang injeksi, ikan bisa dilepas kembali ke dalam tempat pemeliharaannya, lalu kemudian diamati selama beberapa saat untuk memastikan bahwa tingkah laku ikan terlihat normal.

Untuk ikan betina, tindakan ini harus diulangi untuk injeksi kedua.

PEMATANGAN AKHIR DAN WAKTU LATEN

Selang waktu antara injeksi hormon dan pengambilan sel telur merupakan faktor kunci dalam keberhasilan teknik reproduksi yang melibatkan dorongan hormonal untuk memicu ovulasi dan pembuahan buatan pada ikan. Pada kelompok ikan patin, periode laten ini dirumuskan secara lebih tepat seperti jarak waktu antara injeksi kedua (terakhir) dengan pengurutan perut ikan untuk memperoleh sel telur.

Tujuan injeksi pertama (hCG) adalah untuk mempersiapkan gonad, meningkatkan kepekaan oosit pada tahap kedua pemberian hormon (Waynarovich dan Horvath, 1980, Cacot dkk., 2002). Injeksi pertama ini biasanya mengakibatkan sedikit peningkatan pada diameter oosit sementara inti sel telur dari oosit tetap dalam posisi tengah. Proses pematangan akhir oosit dan kemudian ovulasi dipicu secara keseluruhan oleh injeksi kedua (Ovaprim).

Setelah injeksi Ovaprim, proses pematangan oosit mencakup migrasi inti sel telur ke ujung atau tepi oosit dan pecahnya inti sel telur (GVBD)². Setelah GVBD, oosit menjadi matang dan siap untuk keluar dari folikel (ovulasi); kemudian oosit tersebut menjadi sel telur (*ovum*), siap untuk pembuahan. Ketika proses pematangan tidak lengkap, biasanya tidak mungkin untuk mengambil sel telur; kadangkala beberapa folikel bisa diperoleh melalui *stripping* dengan tangan tapi tidak bisa untuk dibuahi. Bagi para pembudidaya, pengamatan keadaan inti sel dan berbagai tahapan migrasinya memungkinkan adanya pemahaman yang lebih baik mengenai mengapa peneluran kadangkala tidak terjadi.

²) *Germinal Vesicle Breakdown*.

Untuk mengamati posisi inti, beberapa lusin oosit yang diambil sebagai contoh melalui kanulasi bisa dimasukkan ke dalam cairan Serra (30% formalin, 60% etanol dan 10% asam cuka) selama 5 sampai 15 menit. Setelah jangka waktu ini, oosit menjadi tembus cahaya dan inti bisa terlihat. Bahkan jika inti bisa dilihat melalui kaca pembesar, penggunaan mikroskop berdaya rendah (pembesaran 25 kali) disarankan untuk memperoleh pengamatan yang akurat. Berbagai tahap migrasi inti sampai ke tahap ovulasi disajikan dalam Lembaran IV.3.

Waktu laten untuk *P. djambal*

Pada ikan, pengambilan gamet³ yang tertunda setelah ovulasi akan membuat sel telur menjadi terlalu matang yang bisa menyebabkan derajat atau tingkat pemuahan rendah, meningkatkan jumlah embrio yang rusak serta menurunkan kelangsungan hidup embrio dan larva. Jangka waktu kelangsungan hidup sel telur bervariasi sesuai dengan spesies.

Proses menjadi terlalu matang terjadi secara cepat pada *P. hypophthalmus* (Legendre dkk., 2000b). Untuk memperoleh mutu telur yang paling baik dari spesies ini, masa yang paling baik untuk mengambil sel telur adalah dalam waktu yang singkat (tidak lebih dari 2 jam) dan dilakukan persis setelah selesainya ovulasi.

Pada *P. djambal*, pengamatan menunjukkan bahwa jangka waktu 1 atau 2 jam setelah terjadinya ovulasi pertama (lihat di bawah) perlu untuk mengambil telur yang bermutu terbaik, guna memperoleh pemuahan dan daya tetas yang tinggi.

Periode latensi antara injeksi hormon terakhir dan ovulasi berkorelasi secara negatif dengan suhu air (Legendre dkk., 2002). Makin tinggi suhu air, makin pendek periode latensi. Waktu latensi untuk mengambil sel telur pada *P. djambal* bervariasi dari 13 sampai 17 jam untuk suhu air dari 27 sampai 30°C (Tabel IV.5). Waktu laten ini bisa diperkirakan dengan bantuan persamaan berikut:

$LT = 20279 WT^{-2.15}$ dimana LT adalah waktu laten dan WT adalah suhu air.

	Temperature air (°C)	Waktu laten (jam)
Waktu laten antara injeksi kedua dan pengambilan sel telur sebagai fungsi suhu air pada <i>P. djambal</i> .	27	17
	28	15
	29	14
	30	13

³) Sel reproduksi yang matang yang memiliki sekumpulan tunggal dari sepasang kromosom.

PENGUMPULAN DAN PENYIMPANAN GAMET

Untuk memeriksa ovulasi dan mengambil sel telur dalam kondisi baik, sarana untuk pembuahan dan inkubasi harus tersedia. Semuanya harus dibersihkan dan dipersiapkan terlebih dahulu.

Para pembudidaya biasanya menggunakan pembuahan langsung, yang terdiri dari *stripping* perut ikan jantan dan menyebarkan spermatozoa (*milt*) secara langsung pada sel telur yang diambil. Teknik ini mengandung sejumlah resiko pengaktifan spermatozoa melalui air seni. Pada testis, spermatozoa bersifat menetap atau tidak bergerak. Pergerakan spermatozoa ini akan dipicu begitu sperma dikeluarkan dan larut dalam air. Akan tetapi pada *P. djambal*, kelangsungan hidup sperma hanya dalam waktu sangat singkat (sekitar 30 detik) dan begitu spermatozoa berhenti bergerak mereka akan kehilangan kemampuan membuahi. Untuk mencegah masalah ini, spermatozoa harus diambil dan disimpan secara benar.

Pengambilan dan penyimpanan sperma

Jangka waktu sekitar 10 jam dari pemberian hormonal cukup untuk mempertinggi pelepasan sperma pada *P. djambal*. Dalam praktek, untuk memberikan cukup waktu bagi pengambilan sperma dari 10 ikan jantan sebelum memulai mengamati ikan betina, pengambilan sperma harus dimulai 9 sampai 10 jam setelah injeksi hormon, atau dengan kata lain minimum 2 jam sebelum pemeriksaan ovulasi ikan betina untuk pertama kali.

Sebelum memulai pengambilan sperma, sebagian besar air seni (*urine*) harus dikeluarkan dari kandung kemih dengan menekan secara lembut dan perlahan daerah perut persis di depan papila alat kelamin. Kemudian daerah papila ikan dan tangan pelaksana harus dikeringkan (Gambar IV.2) untuk mencegah kemungkinan bercampurnya sperma dengan air.

Sperma diambil dengan tekanan halus pada perut sebagaimana dilakukan untuk penilaian kematangan (Bab III). Untuk mencegah pengaktifan spermatozoa dalam hal tercampurnya dengan



Figure IV.2.

Daerah papila dikeringkan dengan kertas penyerap sebelum pengambilan sperma.

urine, sperma dilarutkan segera dalam larutan penghalang gerak (Cacot dkk., 2003). Cara yang paling efektif untuk memperpendek jarak waktu antara pengurutan sperma dan pelarutan adalah dengan menghisap sperma secara langsung ke dalam spuit yang mengandung larutan fisiologis (0,9% NaCl; Gambar IV.3 dan IV.4). Biasanya digunakan 1 volume sperma dicampur dengan 4 volume larutan fisiologis. Jika campuran ini disimpan pada suhu 4 – 5°C (lemari pendingin atau termos es) paling sedikit selama 24 jam maka akan menghasilkan awetan yang baik untuk kualitas sperma (kemampuan pembuahan). Kualitas sperma yang baik dalam waktu 2 – 6 jam setelah pengawetan digunakan untuk pembuahan.

Setelah mengambil sperma, setiap jantan bisa dilepaskan ke dalam tempat pemeliharannya sampai siklus reproduksi berikutnya. Sperma yang dilarutkan dari semua ikan jantan disimpan pada tempat pendingin sampai digunakan untuk pembuahan.



Gambar IV.3.

Pengukuran akurat larutan saline 0.9%.



Gambar IV.4.

Sperma disedot langsung ke dalam alat suntik yang berisi larutan fisiologis.

Berapa banyak sperma perlu diambil?

Total sperma yang dibutuhkan untuk pembuahan bervariasi sesuai dengan jumlah berat sel telur yang dikumpulkan, yang berkaitan dengan bobot tubuh betina yang digunakan untuk pemijahan. Sekitar 1 mL sperma murni (5 mL jika dilarutkan) biasanya digunakan untuk membuahi 100 g sel telur. Sejauh ini, jumlah sel telur yang diambil dari betina *P. djambal* setelah ovulasi buatan tidak melebihi 10% dari bobot tubuhnya. Pengamatan ini dapat dipakai untuk memperkirakan volume maksimal sperma yang dibutuhkan dalam suatu percobaan reproduksi tertentu, seperti dilakukan dalam contoh berikut ini. Jika bobot tubuh ikan betina yang digunakan untuk pemijahan adalah 14 kg, berat maksimal sel telur yang diharapkan bisa dikumpulkan adalah 1400 g (10% dari bobot tubuh betina). Untuk memperoleh cukup sperma, disarankan untuk membuahi sel telur ini

dengan 70 mL larutan sperma (5 mL per 100 g sel telur), setara dengan 14 mL sperma murni yang diambil.

Waktu *stripping*, pengambilan dan penyimpanan sel telur

Pengecekan ovulasi tergantung pada suhu air (lihat Tabel IV.5), dan harus dimulai 11 sampai 12 jam setelah injeksi Ovaprim untuk mengambil sel telur pada waktu yang tepat. Pengecekan harus diulangi satu sampai tiga kali dengan selang waktu 2 jam apabila betina belum berovulasi.

Sebagaimana telah dicatat sebelumnya, ikan betina harus diperlakukan dengan hati-hati, kemudian dibalut secara perlahan dan lembut dengan handuk basah, dengan menutup matanya serta membiarkan ikan tetap dalam air. Perut ikan harus berada diluar air untuk bisa mencapai secara langsung daerah papila atau alat kelamin.



Gambar IV.5.

Ikan betina memerlukan perlakuan hati-hati ketika pengecekan ovulasi.



Untuk memeriksa ovulasi, tekanan halus pada perut ke arah papila alat kelamin harus dilakukan secara hati-hati dan penilaian waktu *stripping* ditentukan sesuai dengan prosedur berikut:

- Jika hanya cairan ovarium atau cairan ovarium dengan sekitar selusin oosit yang dikeluarkan dengan tekanan lembut gonad yang mengindikasikan bahwa ikan belum siap untuk *stripping*. Ikan betina dilepaskan kembali ke tempat penyimpanannya untuk waktu tambahan selama 2 jam berikutnya, sampai pengecekan kedua.
- Jika lebih dari 10 – 20 sel telur tanpa atau dengan cairan ovarium yang sangat sedikit yang dikeluarkan (Gambar IV.6); ikan betina dilepaskan selama 1 jam dan ditangkap kembali untuk *stripping* langsung. Ini akan merupakan **waktu *stripping* yang tepat**;
- Jika pengeluaran sel telur dalam jaring tanpa tekanan tangan mengindikasikan bahwa ikan betina tersebut harus langsung dilakukan *stripping*. Waktu *stripping* optimal mungkin sudah terlewatkan.

Gambar IV.6.

Waktu *stripping* yang menentukan.

Pengambilan sel telur (*ova*)

Ikan betina harus dikeluarkan dari dalam air dengan hati-hati dan perlu diperhatikan langkah-langkah pencegahan serta penanganannya (Bab III).

Begitu induk betina siap untuk *stripping*, daerah papila dan tangan pelaksana harus dikeringkan. Jika terjadi kontak antara sel telur dengan air untuk beberapa waktu, kanal mikropilar akan menutup dan spermatozoa tidak akan mampu membuahi sel telur.

Setelah melakukan langkah-langkah pencegahan, *stripping* bisa dimulai dan sel telur dikumpulkan dalam wadah plastik kering. Tekanan tangan yang lembut dan perlahan dilakukan pada bagian perut ke arah papila atau alat kelamin. Waktu yang tepat untuk melakukan *stripping* dicirikan oleh perut yang lunak dan pancaran sel telur pada setiap tekanan tangan (Gambar IV.7). Umumnya, *stripping* yang mudah akan mencirikan mutu sel telur yang bagus.

Apabila sel telur sulit untuk dikeluarkan dari gonad dan perut induk betina agak keras, sebaiknya ikan dilepaskan kembali ke dalam tempat pemeliharannya.

Stripping yang sulit biasanya menghasilkan kumpulan sel telur yang kering yang tercampur dengan darah (Gambar IV.8); derajat penetasannya biasanya sangat rendah.

Pengalaman menunjukkan bahwa tekanan yang berlebihan pada perut ikan bisa menyebabkan luka dalam pada ikan dan bisa mati.

Namun demikian, jika waktu *stripping* dinilai tepat dan semua petunjuk yang diterangkan di atas sudah diikuti, biasanya kegagalan jarang terjadi. Sebelum pembuahan, sel telur yang dikumpulkan bisa disimpan lebih dari 1 jam apabila ditempatkan dalam wadah plastik tertutup, diletakkan di tempat yang terlindung dari cipratan air. Pembudidaya sering merendam sel telur *P. hypophthalmus* dalam larutan fisiologis (0,9% NaCl) untuk diawetkan sebelum pembuahan. Akan tetapi cara-cara



Gambar IV.7.

Stripping yang mudah.



Gambar IV.8.

Stripping yang sulit.

seperti itu tidak boleh diterapkan pada sel telur *P. djambal*. Sebenarnya, apabila direndam dalam larutan NaCl 0,9% selama beberapa menit, sel telur *P. djambal* tidak bisa dibuahi lagi, seperti halnya jika diberi air tawar. Kesimpulannya, sel telur yang dikumpulkan harus disimpan pada tempat terlindung tanpa tambahan larutan NaCl 0,9% serta ditempatkan jauh dari sumber air.

PERLENGKAPAN DAN PERALATAN

Seleksi ikan matang kelamin

- 1 Semua perlengkapan dan peralatan yang dikemukakan dalam Bab III harus tersedia.
- 2 Tersedianya keramba yang diperlukan untuk mengisolasi ikan matang kelamin.

Pemberian hormon

- 1 Kalkulator untuk menghitung dosis hormon.
- 2 Jam untuk mencatat waktu injeksi.
- 3 Termometer untuk mengukur suhu air selama waktu laten.
- 4 Jumlah ampul hCG atau botol Ovaprim yang diperlukan.
- 5 Ampul atau botol yang steril untuk larutan fisiologis (*saline*) 0,9% NaCl.
- 6 Jarum steril (ukuran 0,70 x 38 mm).
- 7 Spuit steril ukuran 1 sampai 5 mL.
- 8 Alkohol untuk membersihkan kuman pada jarum atau spuit yang akan digunakan kembali.

Pengambilan dan penyimpanan gamet

Jantan

- 1 Kertas penyerap untuk mengeringkan daerah papila.
- 2 Botol larutan fisiologis (*saline* 0,9%) yang steril.
- 3 Spuit yang bersih dan kering ukuran 10 – 30 mL yang terisi sebagian dengan larutan fisiologis untuk pengenceran langsung sperma selama pengambilan.
- 4 Toples plastik untuk penyimpanan sperma.
- 5 Thermos es atau lemari pendingin untuk persiapan penyimpanan sperma.

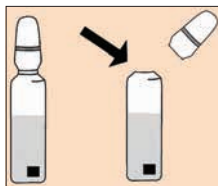
Betina

- 1 Kertas penyerap untuk mengeringkan daerah papila.
- 2 Wadah plastik bersih dan kering untuk pengumpulan sel telur.

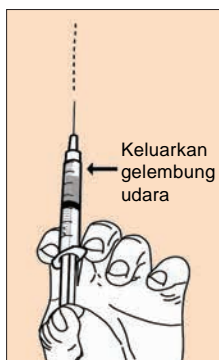
PUSTAKA

- Agnese, J. F., Z. J. Oteme dan S. Gilles, 1995. Effects of domestication on genetic variability, survival and growth rate in a tropical siluriform: *Heterobranchus longifilis* Valenciennes 1840. *Aquaculture*, 131: 197-204.
- Cacot, P., M. Legendre, T. Q. Dan, L. T. Hung, P. T. Liem, C. Mariojouis dan J. Lazard, 2002. Induced ovulation of *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880) with a progressive hCG treatment. *Aquaculture*, 213: 199-206.
- Cacot, P., P. Eeckhoutte, D. T. Muon, N. V. Trieu, M. Legendre, C. Mariojouis dan J. Lazard, 2003. Induced spermiation and milt management in *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880). *Aquaculture*, 215: 67-77.
- Chevassus, B., 1989. Aspects génétiques de la constitution de populations d'élevage destinées au repeuplement. *Bull. Fr. Pêche Piscic.* 314: 146-168.
- Gilles, S., R. Dugué dan J. Slembrouck, 2001. Manuel de production d'alevins du silure africain, *Heterobranchus longifilis*. *Le technicien d'agriculture tropicale*, ed. IRD, Maisonneuve et Larose, Paris. 128 p.
- Harvey, B. dan J. Carolsfeld, 1993. Induced breeding in tropical fish culture. Ottawa, Canada, IDCR. 144 p.
- Legendre, M., L. Pouyaud, J. Slembrouck, R. Gustiano, A. H. Kristanto, J. Subagja, O. Komarudin dan Maskur, 2000a. *Pangasius djambal*: A new candidate species for fish culture in Indonesia. *IARD journal*, 22: 1-14.
- Legendre, M., J. Slembrouck, J. Subagja dan A. H. Kristanto, 2000b. Ovulation rate, latency time and ova viability after GnRh-or hCG-induced breeding in the Asian catfish *Pangasius hypophthalmus* (Siluriformes, Pangasiidae). *Aquat. Living Resour.* 13: 145-151.
- Legendre, M., J. Subagja, D. Day, Sularto dan J. Slembrouck, 2002. Evolution saisonnière de la maturité sexuelle et reproduction induite de *Pangasius djambal* et de *Pangasius nasutus*. Rapport au MAE sur le programme de recherche pour le développement de la pisciculture des poissons chats (Siluriformes, Pangasiidae) à Sumatra et Java (Indonésie), p. 6-33.

Woynarovich, E. dan L. Horvath, 1980. The artificial propagation of warm-water fin fishes – a manual for extension. *FAO Fish. Tech. Pap.*, 201: 183 p.

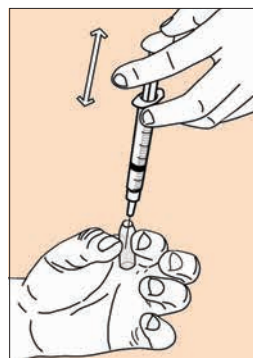
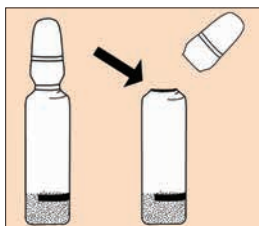


Buka 1 ampul larutan fisiologis (*saline*) dan sedot cairannya ke dalam spuit ukuran 1 mL.



Gelembung udara harus dikeluarkan dari dalam cairan yang berisi larutan fisiologis, kemudian harus disesuaikan kembali ke dalam spuit 1 mL dengan menggunakan ampul lain larutan fisiologis.

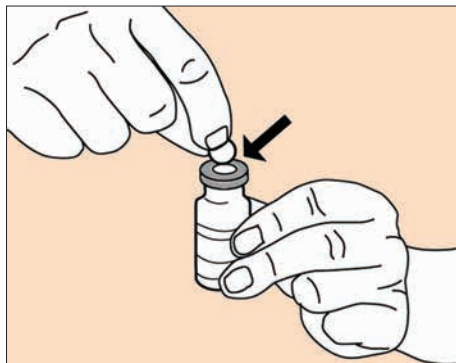
Buka ampul hCG sesuai dengan kuantitas yang dibutuhkan (lihat Tabel IV.2), kemudian campurkan larutan fisiologis dengan bubuk hCG yang bersifat mudah larut.



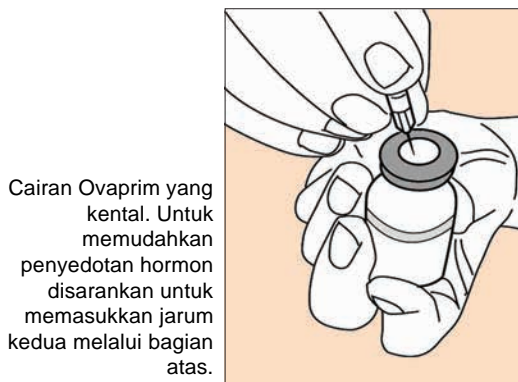
Campurkan 1 mL dari hCG dan larutan fisiologis, kemudian disedot ke dalam spuit 1 mL. Larutan hormon ini siap untuk digunakan, jika tidak terdapat gelembung udara. Apabila masih terdapat gelembung udara harus dikeluarkan dengan meminimalkan kehilangan hormon.

Lembaran IV. 1.

Prosedur mempersiapkan hCG.

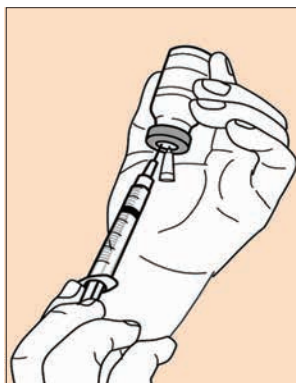


Buka 1 ampul
Ovaprim ukuran 10 mL.



Cairan Ovaprim yang kental. Untuk memudahkan penyedotan hormon disarankan untuk memasukkan jarum kedua melalui bagian atas.

Untuk satu ekor ikan betina, sedot hormon yang diperlukan secara perlahan ke dalam spuit ukuran 5 mL. Persiapan hormon ini siap untuk digunakan, jika tidak lagi terdapat gelembung udara yang tersisa. Jika masih terdapat gelembung udara tersebut harus dikeluarkan lagi dengan meminimalkan kehilangan hormon.



Lembaran IV. 2.

Prosedur mempersiapkan Ovaprim.



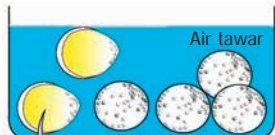
Setelah 5 sampai 10 menit dalam cairan Serra inti sel telur bisa terlihat. Kemudian, ada kemungkinan untuk mengamati tahap-tahap berbeda dari migrasi inti yang dipicu oleh pemberian hormon. Pematangan akhir oosit dideskripsikan di bawah ini.

	Pertengahan	Subperiferal	Periferal	Permulaan GVBD	GVBD
Tampak depan					
Tampak samping					

Pematangan akhir oosit diikuti oleh ovulasi. Setelah terlepas dari folikelnya, sel telur siap untuk diambil dan dibuahi.

GVBD Penuh	Ovulasi	Sel telur

Menentukan perbedaan antara oosit dalam folikelnya dan sel telur dengan mata telanjang tidaklah mudah.



Sebelum ovulasi:
Oosit menjadi putih dalam beberapa menit.

Saran praktis:
Setelah pencelupan dalam air tawar perbedaan menjadi jelas.



Setelah ovulasi:
Sel telur membesar dan tetap tembus cahaya (tahap dehidrasi).

Lembaran IV. 3.

Saran praktis untuk mengamati pematangan akhir oosit dan penentuan perbedaan antara oosit dalam folikel dan sel telur.

Petunjuk Teknis Pembenihan Ikan Patin Indonesia, *Pangasius djambal*



Oleh:
JACQUES SLEMBROUCK
OMAN KOMARUDIN
MASKUR
MARC LEGENDRE



Petunjuk Teknis Pembenihan Ikan Patin Indonesia, *Pangasius djambal*

JACQUES SLEMBROUCK^(a)

OMAN KOMARUDIN^(b)

MASKUR^(c)

MARC LEGENDRE^(d)

- (a) *IRD (Lembaga Penelitian Perancis untuk Pembangunan), Wisma Anugraha, Jl. Taman Kemang Selatan No. 32B, 12730 Jakarta, Indonesia.*
- (b) *BRPBAT (Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar), Jl. Sempur No. 1, PO. Box 150 Bogor, Indonesia.*
- (c) *BBAT - Sukabumi (Balai Budidaya Air Tawar), Jl. Selabintana No. 17, 43114 Sukabumi, Jawa Barat, Indonesia.*
- (d) *IRD/GAMET (Groupe aquaculture continentale méditerranéenne et tropicale) BP 5095, 34033 Montpellier cedex 1, France.*



Jakarta, 2005



**Petunjuk Teknis
Pembenihan Ikan Patin
Indonesia,
*Pangasius djambal***

Judul asli:

Technical Manual
For Artificial
Propagation Of
The Indonesian Catfish,
Pangasius djambal

Penyusun:

JACQUES SLEMBROUCK
OMAN KOMARUDIN
MASKUR
MARC LEGENDRE

Penerjemah:

ANDY SUBANDI
ZAFRULLAH KHAN

Penyunting:

SUDARTO
RUDY GUSTIANO
JOJO SUBAGJA

Foto:

JACQUES SLEMBROUCK

**Sampul, tataletak dan
ilustrasi:**

BAMBANG DWISUSILO

Penerbit:

IRD, BRPBAT, BRPB, BRKP

© IRD-BRKP Edisi 2005

ISBN:

Percetakan: