

Tetraploidisasi kejut suhu dingin pada ikan patin siam *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) dengan suhu dan umur zigot yang berbeda

[Cold temperature shock tetraploidization of striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) with different of temperature and age of zygote]

Alfis Syahril^{1✉}, Odang Carman², Dinar Tri Soelistyowati²

¹Program Studi Ilmu Akuakultur, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Budidaya Perairan, FPIK IPB

Kampus IPB Dramaga, Jalan Agatis 16680

alfissyahril16@gmail.com

odangoang.od@gmail.com

sdinarts@yahoo.com

Diterima: 03 April 2019; Disetujui: 31 Januari 2020.

Abstrak

Ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) memiliki pertumbuhan yang relatif lambat sehingga biaya operasional produksi tinggi tidak sebanding dengan rendahnya harga jual yang mengakibatkan budidaya ikan patin siam tidak efisien. Perbaikan mutu genetik melalui poliploidisasi yaitu untuk menghasilkan ikan triploid (3n) yang bersifat steril dapat mengatasi masalah tersebut. Penyediaan ikan triploid lebih efisien melalui tetraploidisasi. Tetraploidisasi pada ikan patin siam menggunakan perlakuan kejut dingin belum pernah dilakukan sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum tetraploidisasi menggunakan kejut dingin dengan suhu dan umur zigot berbeda pada ikan patin siam. Rancangan percobaan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap faktorial dengan dua faktor dan tiga ulangan, yaitu suhu 8°C, 12°C, 16°C dan umur zigot 29 dan 31 msf (menit setelah fertilisasi) dengan perendaman selama 30 menit dan satu perlakuan kontrol (tanpa pemberian kejut suhu). Identifikasi tetraploid dilakukan dengan menghitung jumlah maksimum nukleolus per sel yang dikonfirmasi dengan penghitungan jumlah kromosom. Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat penetasan dan abnormalitas berbeda nyata ($P < 0,05$). Hasil pengamatan pada ikan tetraploid diperoleh jumlah maksimum nukleoli adalah 4 per sel dan jumlah kromosom yaitu 112 ($4n=112$), sedangkan pada ikan diploid adalah 2 per sel dan jumlah kromosom yaitu 56 ($2n=56$). Persentase tetraploid tertinggi diperoleh pada perlakuan suhu 12°C umur zigot 29 msf. Disimpulkan bahwa kondisi optimum tetraploidisasi pada ikan patin siam menggunakan kejut dingin pada suhu 12°C dengan umur zigot 29 msf.

Kata penting: kejut dingin, nukleolus, *Pangasianodon hypophthalmus*, tetraploid

Abstract

Striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) has a relatively slow growth, so the operational cost of production is high and incomparable with the selling price, thus makes the cultivation of striped catfish is inefficient. Genetic quality improvement through polyploidization is to produce sterile triploid fish (3n) that can overcome this problem. The provision of triploid fish is more efficient through tetraploidization. Tetraploidization in striped catfish using cold shock treatment has never been done before. The purpose of this study was to determine the optimum tetraploidization condition using cold shock with temperature and different age of zygote in striped catfish. A completely randomized factorial design with two treatments i.e. three level of temperatures (8°C, 12°C, 16°C) and two different ages of zygote (29 and 31 minutes after fertilisation-maf) and three replications was used. In addition, a control without applying temperature shock treatment was performed, Soaking process was conducted for 30 minutes. Tetraploid identification was done by calculating the maximum total of nucleoli per cell that was confirmed by calculating the total of chromosome. The results showed that the degree of hatching rate and abnormalities has a significantly different effect ($P < 0.05$). Number of nucleoli per cell was 4 and chromosomes was 112 ($4n=112$) for tetraploid, whereas for diploid fish the maximum number of nucleoli per cell was 2 and the number of chromosomes was 56 ($2n=56$). The highest tetraploid percentage was obtained at a treatment of 12°C at age of zygote 29 maf. Thus, the optimum condition of tetraploidization in striped catfish is using cold shock treatment of 12°C with the age of zygote of 29 maf.

Keywords: cold shock, nucleolus, *Pangasianodon hypophthalmus*, tetraploid

Pendahuluan

Ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) merupakan salah satu komoditas

ikan air tawar yang memiliki nilai prospektif dari segi pembenihan, pembesaran, pengolahan serta luasnya wilayah produksi budidaya. Sentra

usaha ikan patin telah banyak dikembangkan pada beberapa daerah di Indonesia seperti di Sumatera Selatan, Kalimantan Tengah, dan Jawa Barat (KKP 2018).

Teknologi pengembangan budidaya ikan patin telah berhasil dilakukan, namun lambat pertumbuhannya mengakibatkan biaya operasional produksi menjadi tinggi. Menurut Solaiman & Sugihartono (2012), ikan patin pada kawasan budidaya di Jambi dalam beberapa tahun terakhir memiliki beberapa permasalahan diantaranya penurunan kualitas benih dan pertumbuhan yang lambat. Perbaikan mutu genetik diharapkan dapat mengatasi masalah tersebut. Salah satu upaya dalam perbaikan mutu genetik yaitu melalui rekayasa genetik (poliploidisasi).

Poliploidisasi dilakukan untuk mendapatkan jenis ikan yang mempunyai lebih dari 2 set kromosom ($2n$), seperti triploid dan tetraploid. Ikan triploid merupakan ikan yang bersifat steril ($3n$) yaitu ikan yang energi metabolismenya digunakan untuk perkembangan gonad akan dimanfaatkan untuk pertumbuhan somatik, sehingga menghasilkan individu yang pertumbuhannya lebih cepat dibanding individu normal. Menurut Sheehan *et al.* (1999), bobot ikan rainbow trout triploid lebih besar yaitu 470,3 g/individu dibandingkan dengan ikan diploid yaitu 431,9 g/individu, dan gonad ikan diploid berkembang normal dengan berat 10,6 g, sedangkan gonad ikan triploid menunjukkan perkembangan yang tidak normal dengan berat 2,4 g yang mengindikasikan sterilitas. Ikan triploid dapat diperoleh dengan induksi kejut atau dengan menyilangkan diploid dengan tetraploid. Prosedur alternatif untuk membuat triploid yang memiliki sedikit efek negatif pada perkembangan embrio dan

menghasilkan 100% ikan triploid ($3n$) yaitu melalui penyilangan induk tetraploid ($4n$) dengan induk diploid ($2n$) (Weber *et al.* 2014). Salah satu upaya yang efisien untuk menghasilkan ikan patin siam triploid secara massal yaitu melalui tetraploidisasi. Individu tetraploid lebih diarahkan untuk mencetak induk untuk menghasilkan induk untuk ikan triploid ($3n$) dengan cara menyilangkan antara diploid dengan tetraploid.

Tetraploidisasi dapat dilakukan dengan proses pencegahan pembelahan mitosis pertama pada telur yang telah terfertilisasi menggunakan perlakuan fisik maupun kimia, sehingga telur yang mempunyai $2n$ kromosom akan mengalami penggandaan menjadi $4n$ kromosom. Salah satu perlakuan fisik yang dapat dilakukan untuk menghasilkan ikan tetraploid yaitu melalui kejut suhu. Kejut suhu dapat dilakukan dengan dua cara kejut yaitu kejut suhu panas dan kejut suhu dingin. Kejut suhu dingin dinilai lebih baik untuk menghasilkan individu poliploid dibandingkan kejut suhu panas. Menurut Aloise *et al.* (2011) kejut suhu dingin merupakan metode yang menghasilkan individu poliploid lebih besar tingkat keberhasilannya dibandingkan metode kejut suhu panas.

Penelitian tetraploidisasi menggunakan teknik kejut suhu telah berhasil dilakukan pada beberapa jenis ikan di antaranya: ikan mas koki (*Carassius auratus*) (Rustidja 2004) dan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Gamal *et al.* 1999). Tetraploidisasi pada ikan patin siam telah dilakukan dengan menggunakan kejut suhu panas (Buulolo 2016). Berdasarkan uraian di atas bahwa kajian tetraploidisasi menggunakan kejut suhu dingin pada ikan patin siam belum pernah dilakukan, sehingga perlu dilakukan

penelitian untuk mengkaji kondisi optimal induksi tetraploid pada ikan patin siam.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum tetraploidisasi menggunakan kejutan dingin dengan suhu dan umur zigot berbeda pada ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*).

Bahan dan metode

Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai September 2018 di Cabang Dinas Kelautan dan Perikanan Wilayah Utara (CDKPWU), Instalasi Cijengkol, Kabupaten Subang, Jawa Barat.

Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap faktorial dengan satu perlakuan kontrol dan enam perlakuan kombinasi suhu dengan umur zigot yang dilakukan perendaman selama 30 menit. Perlakuan P0 merupakan perlakuan kontrol (tanpa pemberian perlakuan kejutan suhu), P1 suhu 8 °C umur zigot 29 msf, P2 suhu 8 °C umur zigot 31 msf, P3 suhu 12 °C umur zigot 29 msf, P4 suhu 12 °C umur zigot 31 msf, P5 suhu 16 °C umur zigot 29 msf, dan P6 suhu 16 °C umur zigot 31 msf. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Pemijahan

Pemijahan ikan dilakukan dengan perangsangan hormonal menggunakan induk betina dan induk jantan yang telah matang gonad, dengan berat 4-6 kg/ekor untuk induk betina dan 1,5-2,5 kg/ekor induk jantan. Penyuntikan dilakukan dua kali pada induk betina dan satu kali pada induk jantan. Penyuntikan pertama pada induk betina

menggunakan hormon *human chorionic gonadotropin* (hCG) dosis 500 IU/kg induk dan penyuntikan kedua dilakukan 24 jam setelah penyuntikan pertama dengan Ovaprim (sGnRH + Domperidone) dosis 0,6 mL/kg induk, sedangkan pada induk jantan penyuntikan menggunakan Ovaprim dosis 0,3 mL/kg induk yang waktunya bersamaan dengan penyuntikan kedua pada induk betina. Pengambilan telur dan sperma dilakukan pada 8-10 jam setelah penyuntikan kedua dengan cara pengurutan pada bagian perut hingga pada bagian lubang genital. Sperma dikumpulkan di dalam gelas plastik dan diencerkan dengan 50 mL larutan NaCl 0,9%, sedangkan telur ditampung dalam baskom. Fertilisasi buatan dilakukan dengan mencampur sperma dan telur kemudian diaduk menggunakan bulu ayam setelah itu diaktivasi dengan menambahkan 100 mL air mineral dan umur zigot mulai dihitung menggunakan *stopwatch*.

Kejutan suhu dan penetasan

Persiapan wadah dilakukan terlebih dahulu sebelum dilakukan kejutan suhu. Wadah perlakuan yang digunakan yaitu *styrofoam* berukuran 75 cm × 42 cm × 32 cm yang telah dicuci dan dimasukkan pompa akuarium, kemudian diisi dengan air sebanyak 31,5 L. Suhu dingin pada wadah perlakuan diatur dengan menggunakan es batu sebanyak 9,5 kg untuk perlakuan suhu 8 °C, 7,8 kg untuk perlakuan suhu 12 °C dan 6,1 kg untuk perlakuan suhu 16 °C. Telur terfertilisasi dicuci menggunakan suspensi tanah untuk menghilangkan daya rekat pada telur, kemudian dibilas dengan air mengalir. Telur dimasukkan dalam pipa PVC berukuran 2,5 inci yang telah dipotong dan ditutup pada bagian bawahnya

dengan menggunakan kain furing agar dapat menampung telur.

Prosedur kejutan suhu dingin mulai dilakukan dengan memasukkan pipa PVC yang berisi telur dengan umur zigot yang telah dihitung ke dalam wadah perlakuan yang suhunya telah diatur sesuai dengan masing-masing perlakuan dan wadah perlakuan ditutup. Setelah dilakukan perendaman selama 30 menit, telur diangkat dan diinkubasi dalam wadah penetasan yaitu akuarium berukuran 38 cm × 20 cm × 19,5 cm yang telah diisi air sebanyak 12,2 L dan dilengkapi sistem aerasi, dengan jumlah telur untuk setiap wadah penetasan sebanyak ±1500 butir. Pada perlakuan kontrol, telur yang telah terfertilisasi langsung diinkubasi dalam wadah penetasan yang suhunya 28-29 °C.

Pemeliharaan larva

Larva ikan hasil penetasan dipelihara selama 15 hari di dalam toples yang telah dicuci dan diisi air sebanyak 10 L serta dilengkapi sistem aerasi, dengan kepadatan 10 ekor/L. Pemberian pakan untuk larva diberikan pada umur 30-36 jam setelah menetas yang berupa *nauplii artemia* dengan interval waktu setiap 2 jam sekali, umur larva 5 hari diberi pakan cacing sutra (*Tubifex* sp) dengan interval waktu setiap 4 jam sekali. Pergantian air media pemeliharaan dilakukan saat larva umur 6 hari, sedangkan sisa-sisa pakan dibuang dengan cara penyifonan. Air yang berkurang ±20% karena penyifonan diganti. Pengamatan kualitas air dilakukan 2 kali sehari pada pagi dan sore hari dengan parameter suhu, pH dan oksigen terlarut. Suhu diukur dengan menggunakan termometer. pH diukur dengan menggunakan pH meter

digital dan oksigen terlarut diukur dengan DO meter.

Identifikasi tetraploid

Identifikasi tetraploid ditentukan dengan penghitungan jumlah maksimum nukleolus per sel yang dikonfirmasi oleh penghitungan jumlah kromosom. Preparasi nukleolus menggunakan metode Howell & Black (1980) yang dilakukan pada 30 sampel untuk setiap perlakuan, sedangkan preparasi kromosom menggunakan metode Kligerman & Bloom (1977) dengan menghitung jumlah kromosom berdasarkan jumlah yang sering muncul.

Pengamatan parameter uji

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah derajat penetasan, abnormalitas, sintasan dan persentase tetraploid.

Derajat penetasan adalah jumlah telur yang berhasil menetas menjadi larva dari jumlah telur yang ditetaskan (Hartono & Febriani 2013). Derajat penetasan dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Derajat Penetasan} = \frac{\sum \text{telur menetas}}{\sum \text{telur yang dibuahi}} \times 100$$

Abnormalitas larva ikan diamati dengan melihat morfologi larva yang bengkok dan juga pergerakan larva yang tidak normal seperti berputar-putar (Andriyanto *et al.* 2013). Abnormalitas dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Abnormalitas} = \frac{\sum \text{larva abnormal}}{\sum \text{larva seluruhnya}} \times 100$$

Sintasan adalah perbandingan jumlah ikan yang hidup pada akhir pemeliharaan dengan jumlah ikan pada awal pemeliharaan (Effendi *et*

al. 2006). Sintasan dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Sintasan} = \frac{\sum \text{ikan akhir penelitian}}{\sum \text{ikan awal penelitian}} \times 100$$

Tingkat persentase tetraploid merupakan persentase jumlah ikan yang tetraploid dari jumlah ikan yang diamati untuk masing-masing perlakuan (Buulolo 2016). Persentase tetraploid dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Persentase Tetraploid} = \frac{\sum \text{ikan tetraploid}}{\sum \text{ikan yang diamati}} \times 100$$

Analisis statistik

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji ANOVA (*analysis of variance*) menggunakan perangkat lunak SPSS 16.0 dengan taraf kepercayaan 95% dan hasil yang berbeda nyata diuji menggunakan uji Duncan. Parameter persentase tetraploid dianalisis secara deskriptif.

Hasil

Derajat penetasan dengan pemberian perlakuan kejutan suhu dingin berkisar antara 1,6-22,83%, sedangkan pada perlakuan kontrol

derajat penetasan sebesar 57,8%. Hasil uji lanjut menunjukkan derajat penetasan tertinggi pada perlakuan yang diberi kejutan suhu yaitu pada perlakuan P6 sebesar 22,83% berbeda nyata dengan seluruh perlakuan. Hasil derajat penetasan menunjukkan bahwa semakin tinggi intensitas suhu yang diberikan maka hasil yang diperoleh semakin rendah.

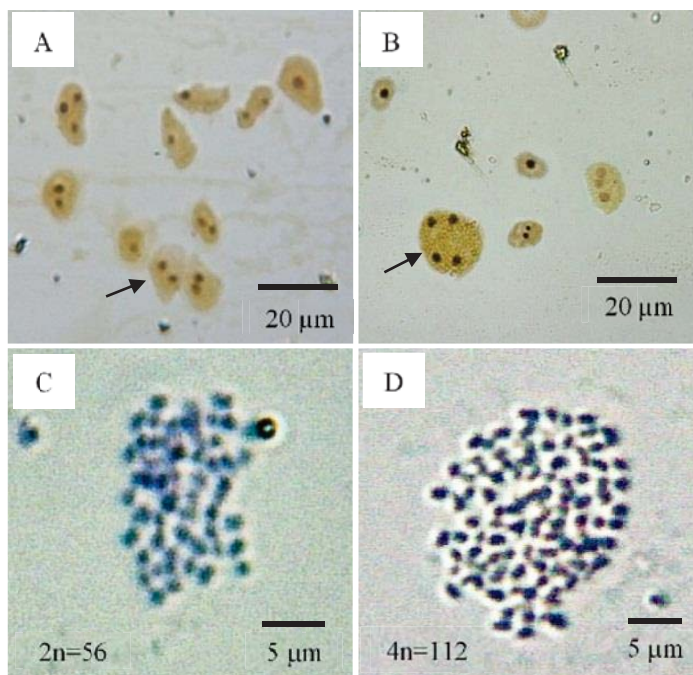
Abnormalitas pada perlakuan dengan pemberian kejutan suhu dingin berkisar antara 11,93-38,00%, sedangkan pada perlakuan kontrol abnormalitas sebesar 8,56%. Hasil uji lanjut menunjukkan abnormalitas tertinggi pada perlakuan yang diberi kejutan suhu yaitu perlakuan P1 sebesar 38% yang berbeda nyata dengan perlakuan P3, P4, P5 dan P6. Hasil abnormalitas menunjukkan bahwa semakin tinggi intensitas suhu yang diberikan maka persentase abnormalitas semakin tinggi.

Berdasarkan hasil uji statistik kejutan suhu dingin tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap sintasan. Derajat penetasan, abnormalitas dan sintasan larva ikan patin siam disajikan pada Tabel 1.

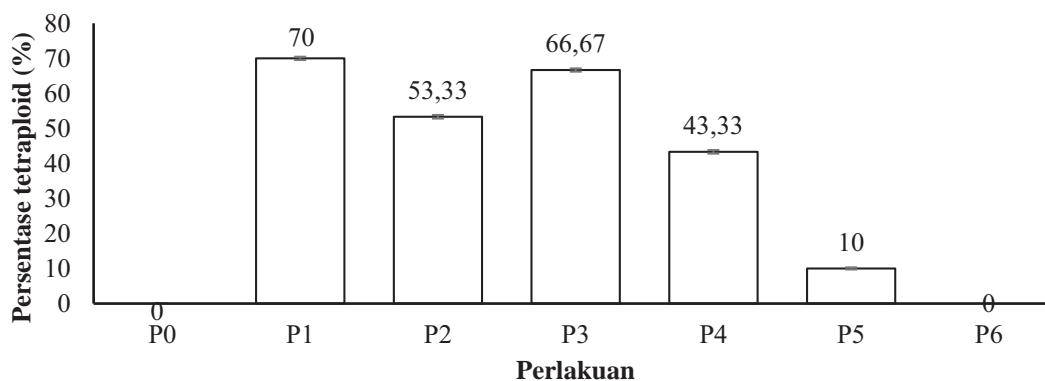
Tabel 1 Derajat penetasan, abnormalitas dan sintasan pada larva ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) menggunakan kejutan suhu dingin dengan suhu dan umur zigot yang berbeda.

Perlakuan	Parameter uji		
	Derajat penetasan (%)	Abnormalitas (%)	Sintasan (%)
P0	57,80±3,69 e	8,56±0,43 a	43,00±10,81 a
P1	1,60±0,51 a	38,00±8,61 c	30,33±8,02 a
P2	2,72±1,33 ab	31,51±6,04 bc	34,00±11,78 a
P3	3,78±0,30 ab	27,96±3,93 b	31,67±5,13 a
P4	5,38±1,02 b	16,74±2,26 a	32,00±8,88 a
P5	18,57±0,95 c	11,93±0,73 a	30,33±4,50 a
P6	22,83±0,46 d	12,55±1,14 a	34,00±5,00 a

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$). Kontrol (P0), suhu 8 °C umur zigot 29 msf (P1), suhu 8 °C umur zigot 31 msf (P2), suhu 12 °C umur zigot 29 msf (P3), suhu 12 °C umur zigot 31 msf (P4), suhu 16 °C umur zigot 29 msf (P5) dan suhu 16 °C umur zigot 31 msf (P6).



Gambar 1 Nukleolus dan kromosom ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) nukleolus diploid (A), nukleolus tetraploid (B), kromosom diploid (C) dan kromosom tetraploid (D). Tanda panah menunjukkan jumlah maksimum nukleolus.



Keterangan: Kontrol (P0), suhu 8 °C umur zigot 29 msf (P1), suhu 8 °C umur zigot 31 msf (P2), suhu 12 °C umur zigot 29 msf (P3), suhu 12 °C umur zigot 31 msf (P4), suhu 16 °C umur zigot 29 msf (P5) dan suhu 16 °C umur zigot 31 msf (P6).

Gambar 2 Persentase tetraploid pada ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) menggunakan kejutan suhu dingin dengan suhu dan umur zigot yang berbeda.

Gambar 1 menunjukkan variasi jumlah nukleolus dan jumlah kromosom pada ikan patin siam diploid dan tetraploid. Berdasarkan hasil pengamatan ikan diploid menunjukkan jumlah nukleolus maksimum yaitu 2 per sel, sedangkan pada ikan tetraploid jumlah nukleolus maksimum yaitu 4 per sel. Pada pengamatan

kromosom diperoleh jumlah kromosom diploid yaitu 56 ($2n=56$) dan jumlah kromosom tetraploid yaitu 112 ($4n=112$).

Hasil pengamatan persentase tetraploid dengan pemberian kejutan suhu dingin berkisar antara 0-70%, sedangkan pada perlakuan kontrol diperoleh sebesar 0%. Hasil pengamatan

persentase tetraploid menunjukkan bahwa semakin tinggi intensitas suhu yang diberikan maka persentase tetraploid yang diperoleh semakin tinggi, sedangkan semakin lama umur zigot maka persentase tetraploid yang diperoleh semakin rendah. Persentase tetraploidisasi ikan patin siam disajikan pada Gambar 2.

Pembahasan

Berdasarkan hasil pengamatan derajat penetasan, perlakuan (P0) merupakan perlakuan dengan derajat penetasan tertinggi dan perlakuan (P6) merupakan perlakuan dengan derajat penetasan terendah yang menunjukkan bahwa semakin tinggi intensitas suhu yang diberikan pada kejutan suhu dingin mengakibatkan penurunan persentase derajat penetasan. Derajat penetasan cenderung mengalami penurunan sejalan dengan semakin tinggi intensitas suhu yang diberikan (Nugraha *et al.* 2012). Menurut Gill *et al.* (2016) yang menyatakan rendahnya derajat penetasan disebabkan oleh pemberian kejutan suhu yang menyebabkan kerusakan pada fase embrio, sehingga mengalami kerusakan fisik, mengganggu proses pembelahan, merusak benang-benang spindel, mengganggu aktivitas enzim, pengerasan korion, dan hilangnya beberapa jumlah informasi genetik dalam kromosom.

Pengamatan abnormalitas dilakukan dengan melihat morfologi larva yang bengkok serta pergerakan larva yang tidak normal seperti berputar-putar. Abnormalitas tertinggi yaitu pada perlakuan (P1), sedangkan yang terendah pada perlakuan kontrol (P0). Hasil tersebut menjelaskan adanya pengaruh kejutan suhu dingin terhadap tingkat abnormalitas larva. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Campbell *et al.*

(2007) yang menyatakan bahwa abnormalitas terjadi sebagai akibat kejutan suhu yang diberikan, sehingga ada bagian dari sepasang kromosom homolog yang tidak dapat bergerak memisahkan diri pada waktu mitosis berlangsung. Hasil pengamatan abnormalitas menunjukkan bahwa semakin tinggi intensitas suhu yang diberikan maka persentase abnormalitas semakin tinggi. Menurut Mukti (2005), intensitas suhu yang tinggi dapat mengganggu aktivitas enzim penetasan yang mengakibatkan pengerasan pada korion, sehingga menghambat proses penetasan telur dan mengakibatkan terjadinya abnormalitas pada larva yang dihasilkan.

Hasil uji statistik menunjukkan kejutan suhu dingin dengan suhu dan umur zigot yang berbeda tidak berpengaruh terhadap sintasan larva. Hasil serupa juga diperoleh pada penelitian ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) (Nurasni 2012) dan pada ikan nilam (*Osteochilus vittatus*) (Eriani *et al.* 2017). Berdasarkan hasil sintasan yang diperoleh, sintasan termasuk dalam kategori sedang. Hal ini mengacu pada Effendie (1997) yang menyatakan bahwa kemampuan bertahan hidup di atas 50% digolongkan kategori baik, antara 30-50% digolongkan kategori sedang dan di bawah 30% termasuk jelek.

Sintasan tergolong dalam kategori sedang dikarenakan kualitas air selama masa pemeliharaan tidak optimal. Parameter kualitas air yang diukur yaitu suhu berkisar 26,5-29,2 oC termasuk dalam kisaran optimal. Menurut SNI:01-6483.4 (2000) suhu air optimal untuk pendederan ikan patin siam berkisar 27-30 oC. Pada parameter pH berkisar 8,46-8,65 dan parameter oksigen terlarut, 2-4,8 ppm tidak termasuk dalam kisaran optimal untuk

pendederan ikan patin siam. Menurut SNI:01-6483.4 (2000) oksigen terlarut air optimal untuk pendederan ikan patin siam berkisar >5 ppm, sedangkan pH optimal untuk pendederan ikan patin siam berkisar 6,5-8,5.

Pengamatan persentase tetraploid pada setiap perlakuan dilakukan dengan pengamatan nukleolus dan dikonfirmasi dengan pengamatan kromosom. Jumlah nukleolus pada ikan patin siam tetraploid maksimum 4, sedangkan pada ikan diploid berjumlah maksimum 2. Phillips *et al.* (1986) mengemukakan, individu haploid mempunyai maksimum 1 nukleolus per sel, diploid mempunyai maksimum 2 nukleolus per sel dan triploid mempunyai maksimum 3 nukleolus per sel, sedangkan individu tetraploid memiliki jumlah nukleolus maksimum 4 per sel (Buulolo 2016). Hasil pengamatan kromosom membuktikan bahwa pada ikan patin siam tetraploid terdapat 112 jumlah kromosom dan pada ikan patin siam diploid jumlah kromosom yang diperoleh yaitu 56.

Persentase tetraploid melalui penghitungan jumlah maksimum nukleolus menghasilkan persentase ikan tetraploid dengan kisaran 0-70%. Menurut Bidwell *et al.* (1985) persentase tetraploid dipengaruhi oleh waktu fertilisasi akhir, suhu kejutan, dan lama kejutan. Selain itu persentase tetraploid menunjukkan bahwa semakin tinggi intensitas suhu yang diberikan maka persentase tetraploid yang diperoleh semakin tinggi, sedangkan semakin lama umur zigot maka persentase tetraploid yang diperoleh semakin rendah. Hal ini diduga suhu 8 °C dan 12 °C termasuk suhu sub-lethal sehingga mampu menghambat pembentukan spindel (mikrotubulus) pada saat pembelahan inti sel (nukleus), sedangkan pada suhu 16 °C tidak dapat untuk menghambat pembentukan spindel

pada saat pembelahan inti sel. Menurut Nurasni (2012), suhu kejutan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap induksi poliploidisasi pada setiap perlakuannya. Selain itu perlakuan kejutan suhu pada umur zigot kurang dari 30 msf (29 msf), merupakan waktu yang tepat terjadinya pembelahan mitosis I, sedangkan perlakuan kejutan suhu pada umur zigot lebih dari 30 msf (31 msf) terlambat untuk menghambat pembelahan mitosis I. Menurut Hershberger & Hostuttler (2007) waktu kejutan yang terlalu awal dari 30 msf lebih baik untuk menghambat pembelahan mitosis I dibandingkan waktu kejutan lebih dari 30 msf.

Hasil penelitian tetraploidisasi menggunakan kejutan suhu panas pada ikan patin siam menghasilkan persentase ikan tetraploid tertinggi yaitu 27,67% (Buulolo 2016). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa perlakuan kejutan suhu dingin lebih efektif dibandingkan kejutan panas untuk menghasilkan persentase ikan patin siam tetraploid. Hasil penelitian kejutan suhu dingin dengan suhu dan umur zigot yang berbeda untuk menginduksi ikan patin siam tetraploid dengan derajat penetasan, abnormalitas dan sintasan yang optimum yaitu pada suhu 12 °C dengan umur zigot 29 msf durasi selama 30 menit.

Simpulan

Kondisi optimum tetraploidisasi pada ikan patin siam menggunakan kejutan dingin yaitu pada suhu 12 °C, umur zigot 29 msf dengan lama kejutan 30 menit.

Daftar pustaka

Aloise DA, Maia-Lima FA, Oliveira RM, Cabral TM, Molina WF. 2011. Ploidy manipulation and polyploid detection in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*

- (Boone 1931) (Decapoda, Penaeidae). *Marine Biotechnology*, 13(1): 41–47.
- Andriyanto W, Slamet B, Ariawan IMDJ. 2013. Perkembangan embrio dan rasio penetasan telur ikan kerapu raja sunu (*Plectropoma laevis*) pada suhu media berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 5(1):192-203.
- Bidwell CA, Chrisman CL, Libey G. 1985. Polyploidy induced by heat shock in channel catfish. *Aquaculture*, 51(1): 25–32.
- Buulolo A. 2016. Tetraploidisasi ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) dengan kejutan suhu panas. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Campbell NA, Reece JB, Mitchell LG. 2007. *Biologi*. Diterjemahkan oleh Lestari R, Adil Ellyzar IM, Anita N. Erlangga. Jakarta. 438 p.
- Effendi I, Bugri HJ, Widanarni. 2006. Pengaruh padat penebaran terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan benih ikan gurame (*Osporonemus gouramy* Lac.) ukuran 2 cm. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 5(2): 127-135.
- Effendie MI. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusatama. Yogyakarta. 155 hlm.
- Eriani K, Syahril A, Muchlisin ZA. 2017. Effect of temperature shock on the triploidization success of seurukan fish (*Osteochilus vittatus*). *Biosaintifika*, 9(2): 298-303.
- Gamal EL, Davis KB, Jenkins JA, Torrains EL. 1999. Induction of triploidy and tetraploidy in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of the World Aquaculture Society*, 30(2): 269-275.
- Gill HW, Kong HJ, An CN, Kim BS, Lim SG, Park IS. 2016. Cytogenetic study of diploid and induced tetraploid in Korean rose bitterling. *Rhodeus uyekii*. *Springer Plus*, 5(1): 186-195.
- Hartono DP, Febriani D. 2013. Pengaruh lama waktu pemberian kejutan dingin pada pembentukan individu triploid ikan patin (*Pangasius* sp.). *Aquasains*, 2(1): 61-68.
- Hershberger WK, Hostuttler MA. 2007. Protocols for more effective induction of tetraploid rainbow trout. *North American Journal of Aquaculture*, 69(4): 367–372.
- Howell WM, Black DA. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: A 1-step method. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 36(8): 1014-1015.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2018. Industri Patin Indonesia Rebut Pasar Global [internet]. [diunduh 11 April 2018]. Tersedia pada: <https://kkp.go.id/artikel/3163-industri-patin-indonesia-rebut-pasar-global>.
- Kligerman AD, Bloom SE. 1977. Rapid chromosome preparation from solid tissues of fish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 34(2): 266-269.
- Mukti AT. 2005. Perbedaan keberhasilan tingkat poliploidisasi ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn.) melalui kejutan panas. *Berkala Penelitian Hayati*, 10(2): 133-138.
- Nugraha D, Supardjo MN, Subiyanto. 2012. Pengaruh perbedaan suhu terhadap perkembangan embrio, daya tetas telur dan kecepatan penyerapan kuning telur ikan black ghost (*Apteronotus albifrons*) pada skala laboratorium. *Jurnal of Management of Aquatic Resources*, 1(1): 1-6.
- Nurasni A. 2012. Pengaruh suhu dan lama kejutan panas terhadap ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*). *Indonesian Journal of Applied Sciences*, 2(1): 19-26.
- Phillips RB, Zajicek KD, Ihssen PE, Johnson O. 1986. Application of silver staining to the identification of triploid fish cells. *Aquaculture*, 54(4): 313-319.
- Rustidja. 2004. Analisa jumlah kromosom ikan mas koki (*Carassius auratus*) tetraploid yang dihasilkan dengan metode kejutan panas. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 6(1): 1-8.
- Sheehan RJ, Shasteen SP, Suresh AV, Kapuscinski AR, Seeb JE. 1999. Better growth in all-female diploid and triploid rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 128(3): 491-498.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia 01-6483.4. 2000. *Produksi benih ikan patin siam Pangasius hypophthalmus kelas benih sebar*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta

Solaiman, Sugihartono M. 2012. Performance pertumbuhan beberapa populasi patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) di Indonesia. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, 12(3): 28-34.

Weber GM, Hostuttler MA, Cleveland BM, Leeds TD. 2014. Growth performance comparison of intercross-triploid, induced triploid, and diploid rainbow trout. *Aquaculture*, 433(1): 85-93.