

RASIO SPERMATOZOA DENGAN TELUR PADA PEMBUAHAN BUATAN *Pangasius djambal* (PANGASIIDAE) SETELAH DI SUNTIK DENGAN GONADOTROPIN RELEASING HORMON-ANALOG (GnRH-a) DAN DOMPERIDON

Milt-Egg Ratio in Artificial Fertilization of Pangasiid Catfish Injected by Gonadotropin Releasing Hormone-Analog (GnRH-a) and Domperidone Mixture

J. Subagja¹⁾, Sularto²⁾ & J. Slembrouck³⁾

¹⁾ Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor, Indonesia

²⁾ Loka Riset Pemuliaan & Teknologi Budidaya Perikanan Air Tawar, Sukamandi, Indonesia

³⁾ Institute Recherche pour Development (IRD), Francis

ABSTRACT

Study on the level of gonadotropin hormone treatments combined with latency time to induce ovulation in *Pangasius djambal* was conducted in the Research Instalation of Germ Plasm, Cijeruk, Bogor. This study was carried out to investigate the effect of GnRH-a and domperidone mixture on the milt production and fertilization rates of *Pangasius djambal*, and to determine the optimal milt-egg ratio required for artificial fertilization. Different doses of hormone i.e: 0,3; 0,5 and 0,7 ml kg⁻¹ body weight combined with latency time of 12, 24 and 48 h after inducing hormone were applied to increase milt-production. Milt dilution was 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ and 10⁻⁷ and evaluated for hatching rate and normality of larvae. The results showed that mean milt production was 4,3 ml/kg body weight, and there was interaction between hormone dose of 0,5 ml/kg of body weight and latency time 12 and 24 h that giving hatching rate of 77 to 83% (p<0,05). The effective gamete insemination ratio was 3,5 10⁴ spermatozoa per egg, and the average hatching rate was 84%.

Key words : Fertilization, milt production, domperidone, *Pangasius djambal*

ABSTRAK

Suatu studi penyuntikan hormon gonadotropin dengan perbedaan dosis dan waktu laten terhadap spesies *Pangasius djambal* telah dilakukan di Instalasi Riset Plasma Nutfah Air Tawar, Cijeruk, Bogor. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh hormon GnRH-a dan domperidon terhadap produktivitas semen ikan jantan dan viabilitasnya pada pembuahan buatan. Tujuan lainnya untuk menentukan perbandingan optimal antara jumlah spermatozoa dengan telur dalam fertilisasi buatan. Dosis hormon perlakuan untuk peningkatan produksi semen yaitu 0,3; 0,5 dan 0,7 ml.kg⁻¹ bobot badan yang di kombinasikan dengan waktu inkubasi jantan 12, 24 dan 24 jam setelah penyuntikan hormon. Semen diencerkan mulai dari 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ dan 10⁻⁷, dan dilakukan pembuahan terhadap telur. Daya tetas dan abnormalitas larva dievaluasi. Hasil analisis menunjukkan produksi semen rata-rata 4,3 ml/kg bobot badan, ada interaksi antara dosis hormon 0,5 ml/kg bobot badan dan waktu laten 12 dan 24 jam terhadap daya tetas (p<0,05). Daya tetas telur berkisar antara 77 - 83%. Rasio spermatozoa dengan telur diperoleh perbandingan efektif yaitu 35.000 :1 butir telur, dengan daya tetas rata-rata 84%.

Kata kunci : Fertilisasi, produksi sperma, domperidon, *Pangasius djambal*

PENDAHULUAN

Pembuahan buatan dengan rangsangan pemijahan menggunakan hormon pada kelompok "catfish" atau lele sudah banyak dilaporkan (Legendre 1986; Legendre & Oteme 1995; Legendre *et al.* 1998a; Legendre *et al.* 1998b; Legendre *et al.* 2000; Mollah & Tan 1983; Cacot 1998). Namun demikian studi tentang pemakaian hormon untuk ikan jantan guna meningkatkan produksi spermatozoa dan efektifitas fertilisasi telur pada ikan *Pangasius djambal* belum dilakukan. Pada ikan lele atau baung untuk memperoleh spermatozoa maka ikan jantan harus dibunuh, karena semen susah untuk dikeluarkan dengan jalan striping (Victoria *et al.* 1995). Bila hal ini dilakukan terus menerus (setiap melakukan pemijahan) dikhawatirkan akan mengancam populasi ikan jantan yang dipelihara ataupun stok alam.

Pangasius djambal jantan hampir dapat matang gonad sepanjang tahun (Legendre *et al.* 2000). Namun demikian dalam pengelolaan operasional produksi

benih, efisiensi penggunaan ikan jantan dapat dioptimalkan dengan jalan mengurangi pemeliharaan ikan jantan tersebut, namun standar maksimum dari segi keragaman genetik dapat terpenuhi.

Anti dopamin seperti pimozide (PIM) dan domperidon (DOM) berfungsi sebagai penghambat kerja hormon gonadotropin releasing inhibitor factor (GnRIF), prinsip kerja PIM dan DOM pada ikan koki "goldfish" telah diketahui (Chang & Peter 1983). Kombinasi DOM dengan analog gonadotropin releasing hormon ikan salmon (sGnRH-a), sekarang tersedia dalam satu kemasan (dengan nama dagang ovaprim, Syndel Laboratories, Canada) dan sudah populer dipergunakan untuk merangsang ovulasi dan pemijahan ikan air tawar (Peter *et al.* 1988; Nandeesh *et al.* 1990). Peningkatan produktivitas semen terjadi setelah perlakuan hormon tersebut pada ikan mas (Billard *et al.* 1983); pada *Clarias macrocephalus* Victoria *et al.* 1995 serta pada *Heterobranchus longifilis* (Subagja 1999).

Waktu laten setelah injeksi hormon sampai saat striping ikan jantan sangat berpengaruh terhadap produktivitas semen dan kualitas spermatozoa, seperti dilaporkan Victoria *et al.* (1995); serta Saad & Billard (1987) pada ikan *C. Macrocephalus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan perbandingan optimal antara jumlah spermatozoa dengan ovum dalam pembuahan buatan ikan *Pangasius djambal* setelah disuntik dengan Gn-RH-a dan domperidon.

BAHAN DAN METODE

Pemeliharaan Induk

Pangasius djambal yang dipergunakan, berumur 3,5 tahun berasal dari hasil pemijahan (F1) induk betina asal stok alam (Sungai Indragiri, Kabupaten Rengat) dengan bobot antara 2-3 kg. Ikan tersebut dipelihara di kolam 250 m². Selama pemeliharaan, ikan diberi pakan komersial berkadar protein 37% diberikan 6 hari dalam seminggu sebanyak 1,5% dari bobot biomasa per hari.

Penyuntikan Hormon

Hormon yang digunakan dalam penelitian ini adalah ovaprim (Syndel Laboratories, Canada). Hormon ini merupakan kombinasi antara domperidon dengan gonadotropin releasing hormon analog ikan salmon.

Pada penelitian ini telah dilakukan pengujian dosis ovaprim dalam meningkatkan volume semen (ml.kg⁻¹ bobot badan). Ikan jantan sebanyak 12 ekor disuntik intramuskuler sekali dengan beberapa level dosis yaitu kontrol, 0,3; 0,5 dan 0,7 ml kg⁻¹ bobot badan. Perlakuan demikian dikombinasikan dengan waktu laten injeksi yaitu masing-masing 12, 24 dan 48 jam. Dosis optimal hasil percobaan pendahuluan selanjutnya dipergunakan untuk injeksi jantan pada percobaan pengenceran semen. Setiap 1 ml ovaprim mengandung 0,02 mg salmon gonadotropin releasing hormone-analog dan 10 mg DOM (domperidon).

Ikan betina yang telah matang gonad (ditentukan berdasarkan modul diameter telur >1,6 mm) diinjeksi dengan HCG 500 IU kg⁻¹ bobot badan untuk menyeragamkan telur (*final maturation*), setelah 24 jam diinjeksi dengan ovaprim 0,6 ml kg⁻¹ bobot badan (Legendre *et al.* 1986; Legendre *et al.* 1999; Legendre *et al.* 2000; Cacot 1998).

Preservasi Semen Segar

Ikan jantan distriping dan semua semen dikeluarkan serta diukur volumenya. Untuk keperluan uji fertilisasi dan penghitungan jumlah spermatozoa per ml, semen dari setiap individu ditambah dengan larutan fisiologis (NaCl 0,9%) dengan perbandingan 1:4, kemudian campuran tersebut disimpan dalam refrigerator bersuhu 4-6°C (Legendre *et al.* 2000).

Perhitungan Kepadatan Spermatozoa

Semen murni diencerkan dengan larutan fisiologis dengan perbandingan 1:50.000. Jumlah spermatozoa dalam semen dihitung di bawah mikroskop pada pembesaran 400x, dengan bantuan hemasitometer.

Pembuahan Buatan

Metode pembuahan buatan, inkubasi telur serta pengamatan fertilisasi mengikuti prosedur yang dilakukan Legendre *et al.* (1986). Pembuahan buatan dilakukan terhadap semua induk betina dan jantan yang telah disuntik ovaprim, termasuk induk jantan yang semennya diencerkan tujuh tingkat.

Pengenceran Semen

Semen dari stok awal (pada perbandingan 1 : 4) diambil 1 ml dan diencerkan dengan penambahan larutan fisiologis sebanyak 9 ml (1 :10). Hal seperti ini dilakukan hingga tujuh kali (7x pengenceran), sehingga konsentrasi spermatozoa dari masing-masing pengenceran adalah: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ dan 10⁻⁷ dari konsentrasi awal. Dari setiap semen yang diencerkan dilakukan pengujian pembuahan terhadap telur (setiap 100-200 butir telur dibuahi dengan 100 ul semen hasil pengenceran).

Analisis Data

Data produktivitas semen, daya tetas telur dan abnormalitas larva dianalisis menggunakan ANOVA dan regresi sederhana.

HASIL DAN PEMBAHASAN

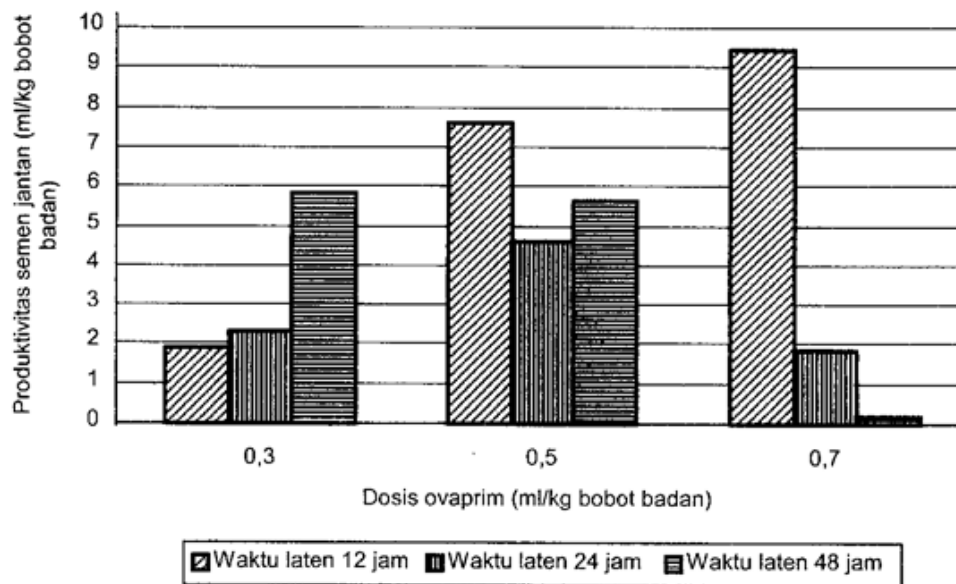
Produksi Semen Ikan Jantan

Hasil pengukuran volume semen ikan jantan pada waktu laten penyuntikan 12 jam memperlihatkan hasil yang meningkat mulai dari dosis ovaprim 0,3; 0,5 dan 0,7 ml kg⁻¹ bobot badan dengan nilai berturut-turut 1,9; 7,6 dan 9,4 ml (Tabel 1). Sebaliknya pada waktu laten 48 jam, produktivitas semen memperlihatkan hasil yang semakin menurun sejalan dengan semakin meningkatnya dosis ovaprim (0,3; 0,5 dan 0,7 ml) dengan nilai masing-masing 5,9; 5,6 dan 0,2 ml. Waktu laten 24 jam dari penyuntikan dosis 0,5 ml.kg⁻¹ memperlihatkan hasil yang maksimal diantara dosis ovaprim 0,3 dan 0,7 ml.kg⁻¹ dengan nilai masing-masing 4,6; 2,3 dan 1,8 ml (Gambar 1).

Pada penelitian ini, volume semen ikan *Pangasius djambal* setelah diinjeksi ovaprim yang dapat distriping (dikeluarkan dengan jalan pemilinan) meningkat menjadi rata-rata 4,4 ml kg⁻¹ bobot badan dibandingkan kontrol yang hanya menghasilkan sekitar 0,05-0,5 ml kg⁻¹ bobot badan. Pada ikan lele, *Heterobranchus longifilis*, penyuntikan ovaprim menghasilkan 2 ml kg⁻¹ bobot badan, serta dari testis yang dikeluarkan (intra testis) dapat diperoleh semen jantan sekitar 5,8 ml kg⁻¹ (Tambasen-Cheong *et al.* 1995).

Tabel 1. Produksi semen jantan (ml/kg bobot badan) ikan *Pangasius djambal* pada setiap waktu laten dan dosis ovaprim

Waktu Laten (jam)	Dosis Ovaprim (ml/kg Bobot Badan)	Bobot Jantan (kg)	Produksi Semen Jantan (ml/kg Bobot Badan)
12	0,3	1,85	1,89
12	0,5	1,0	7,6
12	0,7	0,9	9,4
24	0,3	2,4	2,29
24	0,5	2,3	4,61
24	0,7	1,1	1,8
48	0,3	1,8	5,83
48	0,5	2,3	5,65
48	0,7	2,4	0,2
Kontrol	0	2,3	0,5
Kontrol	0	2,2	0,1



Gambar 1. Produksi semen *Pangasius djambal* (ml/kg BB) pada beberapa waktu laten (jam) dan dosis ovaprim (ml/kg BB).

Daya Tetas Telur

Daya tetas telur *Pangasius djambal* pada berbagai waktu laten dan level dosis penyuntikan ovaprim telah diuji pada pembuahan buatan yang berasal dari dua ekor betina terpilih. Dari hasil pengamatan ternyata hampir tidak ada perbedaan yang signifikan diantara perlakuan, daya tetas hampir homogen yaitu rata-rata 83,9 % pada induk betina pertama dan rata-rata 66,5 % pada induk betina kedua (Gambar 2 dan 3). Perbedaan diantara kedua induk betina ini adalah karena variasi dari individu itu dan bukan karena perbedaan perlakuan.

Pada penelitian ini pengenceran semen sampai 10^{-2} masih menghasilkan daya tetas yang tinggi dan menurun pada pengenceran 10^{-3} . Pada setiap ml semen

mengandung sekitar 13 milyar spermatozoa. Pada konsentrasi 10^{-2} berdasarkan perhitungan setiap ml mengandung 26 juta spermatozoa. Jumlah semen yang digunakan pada pembuahan sebanyak 200 ul difertilisasi pada sejumlah telur (± 150 butir), sehingga ratio fertilisasi 1 : 35.000 (sebutir telur dibuahi oleh 35.000 spermatozoa).

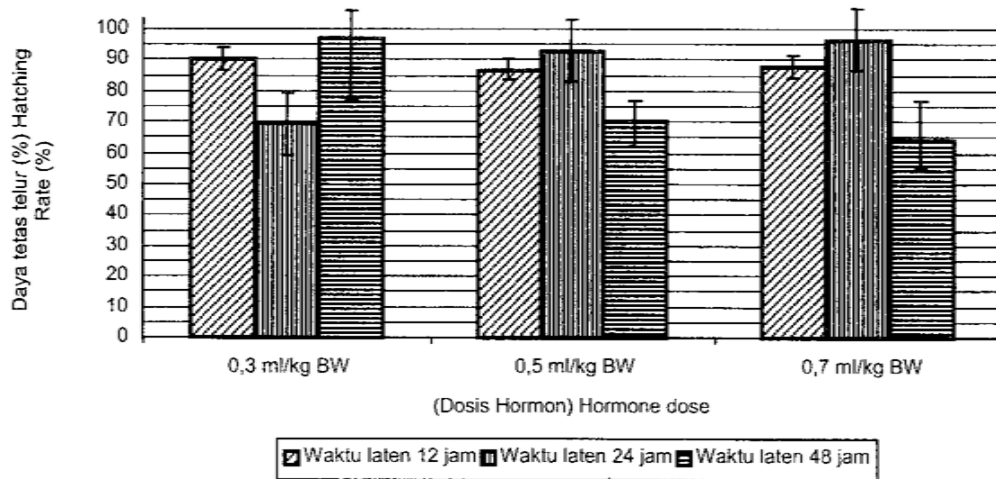
Rasio semen dengan telur optimum dapat dijadikan dasar perhitungan dalam menentukan *sex ratio* dalam fertilisasi buatan. Produksi semen adalah 4,36 ml/kg bobot induk jantan. Satu ml semen mengandung $1,3 \times 10^{10}$ (13 milyar) spermatozoa, sehingga 1 kg induk jantan dapat menghasilkan $5,7 \times 10^{10}$ spermatozoa. Untuk membuahi 7 butir telur ikan jambul dibutuhkan 35.000 spermatozoa. Dengan

demikian setiap 1 kg induk jantan (yang mampu memproduksi $5,7 \times 10^6$ spermatozoa) dapat membuahi $1,62 \times 10^6$ butir telur atau sebanyak 130 kg induk betina (yang memiliki fekunditas 12.500 butir telur, kg induk). *Sex ratio* jantan-betina dalam pemijahan bulan ikan jambal adalah 1:130.

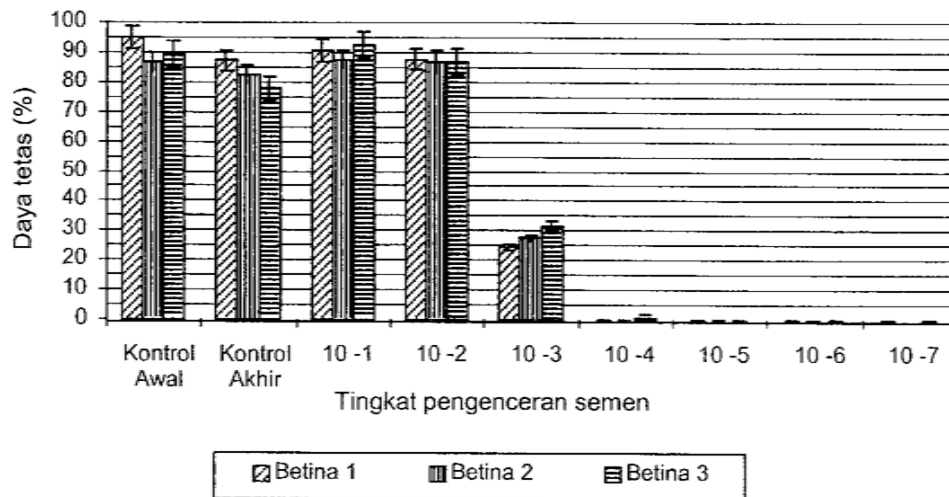
Melihat hasil perhitungan secara teoritik tentang rasio jantan:betina ini maka dapat dilakukan efisiensi dalam pemeliharaan induk ikan. Jumlah induk ikan jantan dapat dikurangi, mengingat induk tersebut

hampir matang gonad sepanjang tahun, sementara induk ikan betina bersifat musiman.

Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa dosis hormon 0,5 ml/kg bobot badan dengan waktu laten 12 dan 24 jam dapat dijadikan pedoman dalam meningkatkan produktivitas semen *Pangasius djambal* jantan. Daya tetas rata-rata mencapai $83,87 \pm 11,4\%$. Rasio jumlah spermatozoa dengan telur 35.000:1 menghasilkan daya tetas optimum.



Gambar 2. Daya tetas telur pada waktu laten dan dosis berbeda pada *Pangasius djambal* setelah perlakuan hormon.



Gambar 3. Daya tetas telur rata-rata (%) pada tiap pengenceran semen.

DAFTAR PUSTAKA

- Billard, R., J.P. Choisis & P. Reinaud. 1983. Stimulating of spermatation in carp in response to LH-RH and D-Ala6 LH-RH ethylamide. *Aquaculture*, 35: 173 - 176.
- Chang, J.P. & R. E. Peter. 1983. Effect of dopamine on gonadotropin release in female goldfish, *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology*, 36: 351-357.
- Cacot, P. 1998. Description of the sexual cycle related to the environment and set up of the artificial propagation in *Pangasius bocourti* and *Pangasius hypophthalmus* reared in floating cages and in ponds in the Mekong Delta, Proc. Mid-term Catfish Asia Project, Canto, Vietnam, p. 71 - 89.
- Legendre, M. 1986. Seasonal changes in sexual maturity and fecundity, and HCG-induced breeding of catfish, *Heterobranchus multifilis* Val. (Clariidae), Reared in Ebrie Lagoon (Ivory Coast). *Aquaculture*, 55: 201 - 213.
- Legendre, M., J. Subagja & J. Slembrouck. 1998 (a). Absence of marked seasonal variations in sexual maturity of *Pangasius hypophthalmus* brooders held in ponds at the Sukamandi Station (Java, Indonesia), Proc. Mid-term Catfish Asia Project, Canto, Vietnam, p. 91 - 96.
- Legendre, M., J. Subagja & J. Slembrouck. 1998 (b). First results on growth and artificial propagation of *Pangasius djambal* in Indonesia. The Biological diversity and aquaculture of clariid and pangasiid catfishes in South-East Asia, Proc. of the mid-term workshop of the "Catfish Asia Project", Cantho, Vietnam, p. 97-102.
- Legendre, M. & Z. Oteme. 1995. Effect of varying latency period on the quantity and quality of ova after hCG-induced ovulation in the African catfish, *Heterobranchus longifilis* (Teleostei, Clariidae), *Aquat. Living Resource*, 8: 309 - 16
- Legendre, M., Slembrouck, J. Subagja, J. & Komarudin, O. 1999. Success of artificial propagation of the fast growing local "Patin", *Pangasius djambal*. *Warta Penelitian Perikanan Indonesia*, 5: 24.
- Legendre, M., J. Subagja, J. Slembrouck, L. Pouyaud, R. Gustiano, A. H. Kristanto, O. Komarudin, Sudarto & Maskur. 2000. *Pangasius djambal*: A New Candidate Species for Fish Culture in Indonesia, *Indonesian AARD Journal*, 22: 1 - 14.
- Mollah, M.F.A. & E.P. Tan. 1983. HCG-induced spawning of the catfish, *Clarias macrocephalus* (Gunther). *Aquaculture*, 35: 239-247.
- Nandeesh, M.C., K.G. Rao, R.N. Jayanna & N.C. Shetty. 1990. Induced spawning of Indian major carps through single application of ovaprim-C. The Second Asian Fisheries Forum, Tokyo, Japan, p: 581-586.
- Peter, R.F., H.R. Lin & G. Van Der Kraak. 1988. Induced ovulation and spawning of cultured freshwater fish in China; advances in application of GnRH analogues and dopamine antagonists. *Aquaculture*, 74: 1 - 10.
- Saad, A. & R. Billard. 1987. Spermatozoa production and volume of semen collected after hormonal stimulation in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 65: 67-77.
- Subagja, J. 1999. Reproductive Characteristics and Induced Breeding in *Heterobranchus longifilis*, Report to IRD, Short Term Training at the IRD-Gamet (Montpellier, France).
- Tambasen-Cheong, M.V.P., J.D. Tan-Fermin, L.M.B. Garcia & R.B. Baldevarona. 1995. Milt-eggs ratio in artificial fertilization of the Asian freshwater catfish, *Clarias macrocephalus*, injected salmon gonadotropin releasing hormone analogue and domperidone. *Aquatic Living Resource*, 8: 303 -307.
- Victoria, M.P., T. Cheong, J.D. Tan-Fermin, L.M.B. Garcia & R.B. Baldevarona. 1995. Milt-eggs ratio in artificial fertilization of the Asian freshwater catfish, *Clarias macrocephalus*, injected salmon gonadotropin releasing hormone analogue and domperidone. *Aquatic Living Resource*, 8: 303 -307.