

PENUNTUN PRAKTIKUM

GENETIKA IKAN



OLEH :
GANJAR ADHYWIRAWAN S, S.Pi, MP
SRI DWI HASTUTI, S.Pi., M.Aqua.

LABORATORIUM PERIKANAN
JURUSAN PERIKANAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG
2019

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. karena berkat rahmat-Nya diktat Pengantar Praktikum Genetika Ikan ini dapat diselesaikan.

Maksud dari penulisan ini adalah untuk membantu mahasiswa agar dalam mengikuti praktikum mata kuliah Genetika Ikan di Jurusan Perikanan Universitas Muhammadiyah Malang .

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu untuk penyusunan buku ini.

Penulis menyadari bahwa diktat ini masih jauh dari sempurna, baik penulisannya maupun penyajiannya. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan saran kritik demi kesempurnaan penulisan selanjutnya. Semoga diktat yang belum sempurna ini bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Malang, 21 Januari 2019

Penulis

TATA TERTIB PRAKTIKUM LABORATORIUM PERIKANAN

Tata Tertib

1. Peserta praktikum wajib mengikuti seluruh kegiatan praktikum
2. Praktikan yang berhalangan hadir wajib melapor kepada penanggung jawab praktikum (disertai dengan surat keterangan dari WD I Fakultas Pertanian Peternakan).
3. Praktikan harus berpakaian rapi (baju kain, bukan kaos oblong, memakai jas lab, bersepatu, tangging name) pada saat praktikum berlangsung.
4. Praktikan harus hadir 5 menit sebelum praktikum berlangsung.
5. Tidak ada praktikum susulan bagi praktikan yang berhalangan hadir tanpa keterangan dan nilai kuis nol
6. Praktikan harus menjaga kebersihan, ketenangan selama praktikum berlangsung
7. Praktikan tidak diperkenankan merokok pada saat praktikum berlangsung
8. Alat yang digunakan pada saat praktikum harus dibersihkan kembali
9. Peserta pengulang diwajibkan mengikuti seluruh rangkaian praktikum dan melaksanakan ketentuan yang berlaku.
10. Hal-hal yang belum dimengerti dapat ditanyakan kepada asisten pembimbing
11. Praktikan yang tidak memenuhi ketentuan tersebut tidak diperkenankan mengikuti praktikum.

Sanksi-sanksi

1. Terlambat dari waktu praktikum yang ditetapkan tidak diperbolehkan mengikuti kuis (Nilai nol)
2. Praktikan terlambat lebih dari 15 menit dengan alasan apapun tidak diperbolehkan mengikuti praktikum
3. Lembar Kerja Mahasiswa yang dikumpulkan terlambat tidak dinilai
4. Kelompok yang tidak membawa peralatan dan bahan secara lengkap sesuai dengan materi praktikum tidak diperkenankan mengikuti praktikum.
5. Praktikan yang merusakkan atau menghilangkan alat praktikum diwajibkan mengganti
6. Salah satu anggota kelompok merusakkan atau menghilangkan alat praktikum maka seluruh anggota kelompok bertanggung jawab untuk mengganti alat yang hilang atau rusak tersebut

Nilai-nilai

1. Nilai praktikum terdiri dari nilai Pre-lab, Pre-test, Pos-test, Laporan, Keaktifan dan ujian akhir praktikum.
2. Nilai Laporan adalah nilai yang berasal dari pembuatan laporan, presentasi laporan setelah kegiatan praktikum dilakukan didampingi oleh dosen atau asisten penguji
3. Nilai keaktifan adalah nilai keseriusan dan perilaku praktikan pada saat praktikum berlangsung dari pengantar sampai pembuatan laporan

SUBSTANSI WAJIB DARI PELAKSANAAN PRAKTIKUM JURUSAN PERIKANAN

1. Pre-Lab : Ringkasan rencana praktikum untuk setiap materi praktek
2. Pre-Test : Tes/pengujian yang berisikan sejumlah pertanyaan seputar materi praktikum
3. Post-Test : Evaluasi daya absorpsi materi dan kemampuan dari pelaksanaan praktikum
4. Laporan Sementara : Hasil praktikum sementara yang dibuat setelah selesai pelaksanaan praktikum
5. Laporan Praktikum : Hasil pelaksanaan praktikum dalam bentuk tulisan ilmiah yang berisikan materi-materi praktikum

DAFTAR ISI

| | |
|--|-----|
| Halaman Judul | i |
| Kata Pengantar | ii |
| Tata Tertib Praktikum | iii |
| Daftar Isi | vi |
| Praktikum 1 Pengantar genetika..... | 1 |
| Praktikum 2 Penentuan Seksual Primer dan Sekunder Ikan | 4 |
| Praktikum 3 Pewarisan Sifat..... | 18 |
| Praktikum 4 Sex Reversal Ikan..... | 25 |

PRAKTIKUM I
PENGANTAR GENETIKA IKAN

Waktu : 2 x 50 menit (1 pertemuan)
Tempat : Laboratorium Perikanan
Tujuan : Mahasiswa mampu memahami dasar-dasar Ilmu Genetika Ikan

Genetika adalah cabang ilmu biologi yang mempelajari masalah penurunan sifat dan juga mempelajari sifat-sifat yang menurun atau hereditas variansinya. Jadi unit-unit hereditas atau gen diturunkan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Gen terletak pada rangkaian DNA, dimana DNA membawa satu sifat tertentu. Pada suatu populasi sering didapati individu-individu yang mempunyai ciri-ciri yang berbeda antara satu dengan lainnya. Hal ini disebabkan karena perbedaan gen, sehingga walaupun berasal dari satu induk yang sama kemungkinan anak-anak yang dihasilkan akan berbeda.

Dalam upaya untuk memperbaiki kualitas ikan diperlukan program pemuliaan yang ditujukan untuk pemurnian jenis/strain maupun mencari jenis yang unggul yaitu yang pertumbuhannya cepat, warna bagus/disukai konsumen dan tahan terhadap penyakit dengan cara yang relatif murah, mudah dan cepat. Untuk itu ilmu genetika memegang peranan penting dalam bidang pemuliaan. Untuk meningkatkan kualitas ikan sebagaimana yang diharapkan dapat dilakukan program pemuliaan yang dapat ditempuh dengan beberapa cara yaitu melalui seleksi induk, hybridisasi, gynogenesis dan manipulasi kromosom.

Pada ikan, genetika ini dapat diterapkan dalam hal manipulasi kromosom untuk menghasilkan ikan dengan kromosom yang berbeda-beda sesuai keinginan, misalnya bisa membuat ikan dengan kromosom $2n$ (diploid), $3n$ (triploid), dan $4n$ (tetraploid). Penerapan manipulasi kromosom yang sering dilakukan adalah untuk membuat ikan yang steril dengan kromosom $3n$. Hal ini misalnya dilakukan terhadap ikan-ikan yang

cepat matang gonad seperti ikan nila yang dalam ukuran kecil sudah dapat memijah, sehingga dapat merugikan karena pertumbuhan badan ikan tidak bisa maksimal. Karena itu untuk ikan ini dilakukan manipulasi kromosom untuk menghasilkan ikan yang steril dengan kromosom $3n$, sehingga energi untuk pertumbuhan gonad dapat dialihkan untuk digunakan dalam pertumbuhan badan sehingga ikan dapat berukuran besar.

Penerapan genetika yang lain adalah melakukan persilangan antara strain ikan yang satu dengan strain yang lain melalui hibridisasi, sehingga dapat diperoleh strain baru yang mempunyai sifat-sifat yang unggul yang diwarisi dari kedua induknya. Metode hibridisasi merupakan kombinasi antara manipulasi kromosom dengan teknik hibridisasi. Tujuannya adalah untuk mendapatkan variasi yang lebih banyak dan induk yang baik serta unggul. metode ini dapat dilalui dalam 3 tahap :

- Tahap 1. Hibridisasi dilakukan (antar strain, antar spesies) untuk mendapatkan variasi yang lebih banyak dari spesies yang lain (biasanya unggul)
- Tahap 2. Gynogenesis mitosis dilakukan untuk memperbanyak variasi ikan hybrid tersebut. Setelah besar ikan tersebut dapat diseleksi lagi berdasarkan kriteria yang dipakai.
- Tahap 3. Gynogenesis mitosis kedua dilakukan untuk menstabilkan rekomendasi genotype homozygous. Hasilnya dipakai untuk memperoleh ikan unggul yang stabil.

Selain itu penerapan genetika juga dilakukan untuk membuat populasi ikan dengan jenis kelamin yang sama, yang biasa disebut dengan sex reversal. Hal ini dilakukan dengan perlakuan hormon yaitu dengan menggunakan hormon 17β -estradiol untuk membuat populasi betina semua dan hormon 17α - methyl testosteron untuk membuat populasi yang jantan seluruhnya.

PRAKTIKUM II
PENENTUAN SEKSUAL PRIMER DAN SEKUNDER IKAN

Waktu : 4 x 50 menit (2 pertemuan)
Tempat : Laboratorium Perikanan
Tujuan : Mahasiswa mampu mengetahui dan memahami ciri seksual atau reproduksi ikan primer dan sekunder

A. Pendahuluan

Akhir-akhir ini perkembangan budidaya ikan semakin pesat, seiring dengan meningkatnya permintaan komoditas ikan. Dalam menunjang perkembangan budidaya ini diperlukan adanya penyediaan benih ikan yang memadai. Untuk itu diperlukan adanya usaha pembenihan yang dapat menyediakan benih ikan dalam jumlah yang banyak sekaligus berkualitas tinggi.

Benih ikan merupakan salah satu sarana produksi yang dibutuhkan dalam budidaya ikan. Kebutuhan akan benih ini bukan saja dari jumlahnya tetapi juga dari kualitasnya. Selama ini kebutuhan akan benih relatif dapat terpenuhi, akan tetapi dari segi kualitasnya masih jauh dari yang diharapkan. Oleh karena itu perlu dikembangkan teknik-teknik reproduksi ikan yang dapat memenuhi harapan akan benih yang baik dilihat dari kuantitas maupun kualitasnya.

Untuk mendapatkan benih dengan kualitas yang baik dan juga jumlah yang dapat memenuhi permintaan konsumen, maka dibutuhkan suatu teknik reproduksi yang baik pula. Hal ini dapat dilakukan mulai tahap awal dari kegiatan pembenihan misalnya mulai dari pemilihan induk yang baik dan unggul sehingga nantinya akan dihasilkan benih yang baik pula. Ketersediaan stok induk yang bermutu sangat diperlukan dalam memproduksi benih ikan. Benih yang diproduksi diharapkan mempunyai pertumbuhan tinggi, mempunyai nilai ekonomis dan disenangi oleh konsumen. Budidaya ikan secara monosex (satu jenis kelamin jantan atau

betina) diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan ikan secara cepat. Upaya penyediaan benih unggul di Indonesia masih perlu terus dikembangkan agar hambatan produksi akibat kualitas benih yang kurang baik dapat teratasi. Pencarian induk unggul tersebut bisa dilakukan melalui seleksi berulang-ulang dengan perkawinan sekerabat (inbreeding) antara dua induk yang memiliki beberapa persyaratan mutu untuk induk unggul yaitu mampu tumbuh dengan cepat, daya reproduksi tinggi, tahan terhadap serangan hama penyakit dan memiliki daya toleransi tinggi terhadap berbagai kondisi lingkungan. Metode lain yang bisa dilakukan adalah dengan ginogenesis yang banyak dilakukan dengan tujuan untuk mencari galur murni. Faktor lain yang sangat menentukan didalam pemilihan induk ikan unggul adalah umur ikan sehingga nantinya didapatkan gonad dengan kualitas dan kuantitas yang bagus.

Ikan merupakan suatu populasi hewan yang melakukan kegiatan reproduksi secara temporal. Kebanyakan ikan memijah secara musiman sedang yang lainnya dapat memijah secara kontinyu. Pemijahan periodik setiap spesies diatur sedemikian rupa dan dinyatakan bahwa kelangsungan hidup ikan yang maksimal terjadi dalam suatu lingkungan yang ideal. Faktor-faktor yang mempengaruhi reproduksi ikan terbagi dua yaitu faktor-faktor eksternal yang meliputi suhu, sinar yang berpengaruh terhadap organ-organ syaraf dan kemudian mempengaruhi Central Nervous System, hypothalamus, pituitary serta akhirnya ke gonad. Dan yang kedua adalah faktor-faktor internal yang melalui perantaraan neuroendokrin, faktor ini merupakan rythme internal yang mengatur reproduksi musiman.

B. Pengenalan Alat Kelamin Jantan dan Betina

Ikan dikatakan berkelamin betina jika menghasilkan telur dan sebaliknya berkelamin jantan jika menghasilkan sperma. Untuk

menentukan jenis kelamin ikan dapat ditentukan dengan dua cara yaitu dengan melihat tand-tanda sex primer maupun sex sekunder.

Tanda-tanda sex primer dapat dilihat dengan cara membedah ikan. Gonad dari semua jenis vertebrata umumnya berjumlah sepasang. Pada ikan jantan mempunyai sepasang testes yang ditopang secara memanjang oleh mesorchia yang terdapat dalam bagian atas "*dorsolateral*" dari rongga tubuh, terdapat satu gonad pada setiap sisinya. Mereka terbentuk oleh tubula longitudinal. Cyste seminiferous terletak di dalam tubulus-tubulus tersebut. Sel penghasil sperma terkumpul di dalam cyste tersebut, dimana mereka berdiferensiasis secara sinkronis. Sel-sel sertoli yang mengelilingi sel-sel penghasil sperma mempunyai fungsi nutritif. Di luar tubulus terdapat sel interstitial atau sel Leydig yang mempunyai fungsi endrokrin. Cyste seminiferous atau spermatid atau spermatozoa. Spermatogonia masing-masing dikelilingi oleh sel sertoli dan tidak terkumpul di dalam cyste, mereka terdapat di dalam sepanjang tubulus.

Pada ikan betina mempunyai sepasang ovarium yang ditopang secara memanjang oleh mesovaria di bagian atas rongga tubuh, dan merupakan semacam kantong yang kosong yang dinding luarnya berlamella yang masuk ke dalam lumen sentral. Sel folikel terletak di dalam lamella yang akan berdiferensiasi menjadi oogonium. Selanjutnya oogonium akan mengalami proses ovogenesis menjadi ovum yang dibungkus folikel dan folikel ini terletak di dalam lamella yang memenuhi ruang ovarium.

Spermatozoa dan ovum (telur) yang telah dihasilkan akan dikeluarkan melalui saluran reproduksi pada saat ikan melakukan pemijahan (perkawinan) dan pembentukan spermatozoa dan telur akan berlangsung terus mulai saat ikan dewasa dan akan lebih aktif lagi setelah melaksanakan pemijahan.

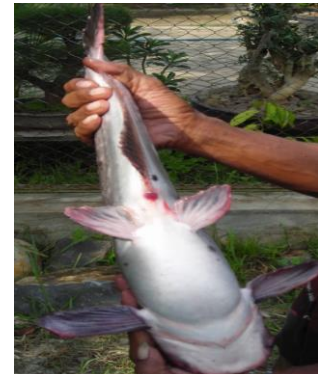
Pertumbuhan gonad kadang-kadang tergantung pada suhu yang sesuai dan makanan kaya protein, suatu lingkungan yang sesuai gonad yang matang serta adanya lawan jenis akan menyebabkan terjadinya pemijahan. Tanda-tanda sex sekunder dapat dilihat dari morfologi misalnya warna tubuh, bentuk tubuh maupun ciri yang lainnya. Biasanya ciri-ciri induk jantan adalah : alat kelamin nampak jelas, perut lebih langsing, kadang lebih agresif dalam mencari makan dan lubang genetal terlihat berjumlah dua buah. Sedangkan ciri-ciri induk betina adalah : alat kelamin bentuknya bulat dan kemerahan, gerakan relatif lamban dan lubang genetal terlihat berjumlah tiga.



Canulasi Telur



Ikan Patin Betina



Ikan Patin Jantan



Ikan Gurami Jantan



Ikan Gurami Betina

Gambar 1. Pengenalan Ciri Ikan Jantan dan Betina

C. Stripping

Jika proses hypofisasi telah berhasil maka setelah beberapa jam kemudian telur akan keluar dari genetal papilla, ini menandakan bahwa ikan siap untuk distripping, karena itu induk betina harus ditangkap dengan hati-hati dengan cara :

- Induk ditangkap kemudian ditimbang dalam bak, Menutup tubuh induk dengan handuk basah dan diusahakan induk tidak berontak
- Membersihkan bagian genetal yang basah dengan kertas tisu
- Stripping dilakukan dengan cara mengurut pada bagian perut induk hingga lubang genetal dengan ibu jari, Menampung telur yang keluar pada sebuah mangkok
- Stripping dihentikan jika sudah keluar sedikit darah ang menandakan bahwa ovarium sudah kosong dari telur



Stripping Telur



Stripping Sel Sperma



Fertilisasi

D. Penghitungan Jumlah Telur (FEKUNDITAS)

Fekunditas adalah jumlah semua telur yang dikeluarkan oleh satu ekor induk ikan pada saat terjadinya pemijahan. Fekunditas ikan telah dipelajari bukan saja merupakan salah satu aspek dari natural history, tetapi sebenarnya ada hubungannya dengan studi dinamika populasi, sifat-sifat rasial, produksi dan persoalan stok-rekrutment. Dari fekunditas secara tidak langsung akan dapat ditaksir jumlah anak yang akan dihasilkan dan akan menentukan pula jumlah ikan dalam kelas umur yang bersangkutan. Dalam hubungan ini tentu ada faktor-faktor lain yang memegang peranan penting dan sangat erat hubungannya dengan strategi reproduksi dalam rangka mempertahankan kehadiran spesies itu di alam.

Ukuran telur biasanya dipakai untuk menentukan kualitas yang berhubungan dengan kandungan kuning telur, dimana telur yang berukuran besar akan menghasilkan larva yang berukuran besar daripada yang berukuran kecil.

Cara menghitung telur dengan metode von Bayer

Dasar dari metode ini adalah menentukan jumlah telur setelah diketahui garis tengah rata-ratanya. Alat untuk menentukan garis tengah telur terdiri dari penggaris atau micrometer. Untuk mencari garis tengah rata-rata dari telur dengan cara menaruh sejumlah telur di atas penggaris pada suatu panjang tertentu, buatlah 3 kali ulangan sekurang-kurangnya. Apabila sudah mendapatkan garis tengah rata-rata dari telur selanjutnya bandingkan dengan tabel von Bayer.

E. Pemeriksaan dan Evaluasi Sperma

Secara morfologis spermatozoa terdiri dari dua bagian, yaitu kepala dan bagian ekor. Pada bagian kepala mengandung bahan genetik (inti sel) yang dilapisi oleh akrosom dan membran plasma, sedangkan bagian ekor terdiri dari bagian tengah yang mengandung mitokondria, bagian utama dan bagian ujung terdiri dari fibril-fibril.

Pemeriksaan sperma umumnya dilakukan di dalam laboratorium baik secara mikroskopis maupun makroskopis. Beberapa hal yang perlu diperhatikan pada saat koleksi/penampungan sperma adalah :

- ❖ Sperma yang diperoleh dari ikan jantan tidak boleh
 - ❑ Terkena sinar matahari secara langsung
 - ❑ Kontak langsung dengan barang dari logam
 - ❑ Bercampur dengan bahan kimia, urin, air dan sebagainya
 - ❑ Dikocok terlalu keras dan sering
- ❖ Setiap macam pemeriksaan harus dilakukan dengan cermat dan secepat mungkin tanpa mengurangi ketelitiannya
- ❖ Alat-alat yang dipakai untuk pemeriksaan harus dalam kondisi bersih dan pada temperatur yang sesuai

1. Pemeriksaan Makroskopis

a. Volume semen

Dengan melihat pada skala tabung yang digunakan untuk menampung sperma maka dapat ditentukan volumenya. Pada ikan jantan yang masih muda, terlalu tua dan gemuk, biasanya volume spermanya rendah. Volume sperma ikan tergantung juga pada frekwensi pengambilan, jumlah cairan yang dimakan dimana pada musim kering penguapan tinggi dan volume spermanyaupun akan berkurang jika dibandingkan pada musim penghujan.

b. Konsistensi semen

Untuk pemeriksaan konsistensi (kekentalan) sperma dilakukan di tempat terang (menggunakan sinar yang tidak langsung). Dengan tabung dimiringkan dan kembali ditegakkan maka ada cairan yang menempel pada dinding tabung. Bila terlihat bintik-bintik kecil yang banyak dan seolah-olah berdesakkan turun ke bawah perlahan-lahan maka sperma dikatakan pekat. Ini berarti konsentrasi sel spermatozoa di dalam semen tersebut tinggi. Sedang semen dikatakan encer atau konsentrasi sel spermatozoa rendah jika tidak meninggalkan cairan yang membekas pada dinding tabung.

c. Bau semen

Semen dari setiap jenis hewan yang normal mempunyai bau yang spesifik. Bau semen ikan Patin normal seperti air susu, sedang semen ikan Lele berbau merangsang. Bau semen yang tidak normal, misalnya busuk dan anyir (amis) dapat digunakan sebagai indikasi adanya radang dalam saluran reproduksi ikan jantan tersebut. Bila bau seperti urin, dapat diduga bahwa semen tersebut banyak campur dengan urin.

d. Warna semen

Semen dari setiap hewan normal mempunyai warna yang spesifik. Warna-warna ini dapat berubah bila ada kelainan pada alat kelaminnya. Bila berwarna kemerahan, berarti ada luka atau pendarahan di dalam saluran alat kelaminnya. Berwarna abu-abu kotor dapat diduga semen bercampur dengan nanah, sedangkan berwarna kuning menunjukkan bahwa semen bercampur dengan urin.

2. Pemeriksaan Mikroskopis

a. Gerakan massa

Gerakan massa adalah gerakan dari sel sperma yang secara bersama membentuk gelombang. Gerakan massa mencerminkan daya gerak dan konsentrasi sel spermatozoa. Pemeriksaan ini idelanya dilakukan pada suhu 37 °C agar diperoleh gerakan sel sperma yang optimal.

Cara pemeriksaan :

- ❖ Meletakkan satu tetes semen di atas gelas obyek
- ❖ Melakukan pengamatan gerakan massa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 X

Penilaian :

- Sangat baik (+++), merupakan gelombang kecil sampai besar yang tebal dan gelap dalam jumlah banyak serta bergerak cepat
- Baik (++), merupakan gelombang tipis, jarang dan gerakannya lamban
- Sedang (+), tidak terlihat gelombang gerakan spermatozoa sendiri-sendiri
- Buruk (0) atau N, hanya sedikit atau tidak ada sama sekali pergerakan sperma

Gerakan massa yang memenuhi syarat untuk pelaksanaan fertilisasi buatan dan diawetkan adalah yang bernilai (+++) dan (++).

b. Gerakan individu

Pemeriksaan dilakukan di dalam suhu kamar agar sel sperma mempunyai pergerakan yang optimal. Pergerakan yang baik memungkinkan sel spermatozoa dapat mencapai sel telur dalam waktu yang relatif singkat sehingga memungkinkan terjadinya pembuahan yang sempurna.

Cara pemeriksaan :

- Meletakkan satu tetes larutan NaCl fisiologis di atas gelas obyek
- Menambahkan satu tetes kecil semen dan diaduk hingga homogen
- Menutup gelas obyek dengan cover glass dan melakukan pemeriksaan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100 X atau 400 X.

Penilaian

- P gerakan progresif, merupakan gerakan aktif maju mundur
- O (V) gerakan oscilatoris atau vibratoris, merupakan gerakan ayun, berputar dan lamban
- C gerakan circular, merupakan gerakan melingkar
- R gerakan reverse, merupakan gerakan mundur
- N necrospermia, yaitu tidak gerakan sperma

c. Viabilitas

Penghitungan ini dilakukan dengan menggunakan pewarna eosin-negrosin yang diulas pada gelas obyek dan difiksasi kemudian dihitung jumlah sel spermatozoa yang hidup dan mati kemudian dibandingkan. Pengamatan dengan pewarna ini akan menghasilkan warna merah keunguan gelap untuk sel spermatozoa mati dan warna terang untuk sel spermatozoa yang hidup.

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Sperma hidup}}{\text{Sperma mati}} \times 100 \%$$

d. Penentuan Konsentrasi Sperma

1. Cara Rusia

Di atas gelas obyek diletakkan satu tetes sperma selanjutnya ditutup dengan gelas penutup kemudian dilihat di bawah

mikroskop. Dalam hal ini diperhatikan jarak antara satu kepala sel sperma dengan yang lainnya.

Beberapa kriteria yang membedakan konsentrasi sel sperma :

- a. Densum (D) : yaitu bila jarak antara satu kepala sel sperma dengan sperma yang lainnya kurang dari panjang satu kepala sperma. Berarti ada lebih dari satu juta sel sperma dalam setiap mililiter sperma tersebut
- b. Semi Densum (SD) : yaitu bila jarak antara satu kepala sel sperma yang satu dengan yang lainnya lebih dari panjang satu kepala sel sperma. Berarti dalam setiap ml sperma mengandung antara 500.000 – 1.000.000 sel sperma
- c. Rarum (R) : yaitu jika jarak antara satu kepala sel sperma yang satu dengan yang lainnya hampir sam dengan panjang satu sel sperma (kepala dan ekor). Berarti dalam setiap ml sperama mengandung kurang dari 500.000 sel sperma
- d. Azoospermia (A) : yaitu jika tidak ditemukan atau sedikit sel sperma di dalam semen

2. Cara Thoma

Cara ini menggunakan pengencer berupa larutan Methylen Blue atau Eosin di dalam NaCl 3 %. NaCl 3 % berfungsi untuk mematikan sel sperma, sedangkan Methylen Blue atau Eosin utuk memberikan warna larutan yang melatar belakangi pandangan menjadi kontras agar dapat menghitung sel sperma dengan mudah. Zat lain yang juga dapat dipakai sebagai bahan pengencer adalah larutan Karbonat 5 %, Formalin 1 % dan larutan Hayem yang terdiri dari Natrium sulfat 2,5 gr, Sublimat 0,05 gr dan Aquadest ad 100 ml.

Cara pemeriksaan :

- Dihisap semen memakai pipet Haemocitometer yang berisi butiran merah sampai tanda 0,5, kemudian tambahkan larutan eosin sampai tanda 101
- Tekuk ujung karet penghisap dan kocok pipet dengan gerakan membentuk angka delapan beberapa kali sampai larutan dalamnya homogen
- Buang larutan di dalam pipet 3 – 4 tetes
- Teteskan larutan di atas pada papan hitung Thoma melalui salah satu sisi gelas penutup
- Lakukan penghitungan sel sperma di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 x atau 400 x

Cara perhitungan :

Dalam papan hitung Thoma nampak 16 kotak besar yang masing-masing memiliki batas selebar satu kotak kecil antara satu dengan yang lain. Dalam satu kotak besar terdapat 16 kotak kecil, sehingga dalam papan hitung Thoma terdapat 400 kotak kecil (termasuk batas antara kotak besar). Hitung sel sperma di dalam lima kotak besar yang dapat mewakili seluruh perhitungan (5 x 16 = 80 kotak kecil)

Uraian perhitungan :

Pengenceran : $(101 - 1) / 0,5 = 200 X$

Volume cairan dalam perhitungan (di dalam papan hitung) :

(panjang x lebar x dalam) papan hitung

$= 1 \times 1 \times 0,1 \text{ mm}^3$

$= 0,1 \text{ mm}^3$

Bila pada perhitungan dalam 80 kotak kecil didapatkan Y sel sperma, maka jumlah seluruh sel sperma dalam $1 \text{ mm}^3 = (400/80) \times Y \times 200 \times 10 = 10.000 Y$

3. Cara Neubauer Improved

Cara ini menggunakan pengencer berupa larutan Methylen Blue atau Eosin di dalam NaCl 3 %. NaCl 3 % berfungsi untuk mematikan sel sperma, sedangkan Methylen Blue atau Eosin untuk memberikan warna larutan yang melatar belakangi pandangan menjadi kontras agar dapat menghitung sel sperma dengan mudah. Zat lain yang juga dapat dipakai sebagai bahan pengencer adalah larutan Karbonat 5 %, Formalin 1 % dan larutan Hayem yang terdiri dari Natrium sulfat 2,5 gr, Sublimat 0,05 gr dan Aquadest ad 100 ml.

Cara pemeriksaan :

- Dihisap semen memakai pipet Haemocitometer yang berisi butiran merah sampai tanda 0,5 kemudian tambahkan larutan eosin sampai tanda 101
- Tekuk ujung karet penghisap dan kocok pipet dengan gerakan membentuk angka delapan beberapa kali sampai larutan dalamnya homogen
- Buang larutan di dalam pipet 3 – 4 tetes
- Teteskan larutan di atas pada papan hitung Neubauer Improved melalui salah satu sisi gelas penutup
- Lakukan penghitungan sel sperma di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 x atau 400 x

Cara perhitungan :

Dalam papan hitung Neubauer Improved nampak 25 kotak besar yang masing-masing memiliki batas selebar satu kotak kecil antara satu dengan yang lain. Dalam satu kotak besar terdapat 16 kotak kecil, sehingga dalam papan hitung Neubauer Improved terdapat 400 kotak kecil (termasuk batas antara kotak besar). Hitung sel sperma di dalam enam kotak besar yang dapat mewakili seluruh perhitungan

Uraian perhitungan :

$$\text{Pengenceran : } (101 - 1) / 0,5 = 200 \times$$

Volume cairan dalam perhitungan (di dalam papan hitung) :

(panjang x lebar x dalam) papan hitung

$$= 1/20 \times 1/20 \times 1/10 \text{ mm}^3$$

$$= 1/4000 \text{ mm}^3$$

Bila pada perhitungan dalam 96 kotak kecil didapatkan rata-rata per kotak kecil Y sel sperma, maka jumlah seluruh sel sperma dalam 1 mm³

$$= 4000 \times Y \times 200$$

$$= 800.000 Y$$

(Diketahui 1 mm³ = 1/1000 ml atau 1 ml = 1000 mm³)

PRAKTIKUM III
PEWARISAN SIFAT

Waktu : 12 x 50 menit (6 Pertemuan)
Tempat : Laboratorium Perikanan
Tujuan : Mahasiswa mampu memahami prinsip dasar pewarisan sifat pada ikan

A. Pendahuluan

Mekanisme pewarisan sifat genetik dapat dilakukan dengan manipulasi kromosom melalui kombinasi antara teknik pemijahan yang dilakukan secara buatan (artificial). Induk jantan dan betina tidak dipertemukan dalam satu kolam tapi dari masing-masing induk tersebut diambil telur dan spermanya dengan cara stripping. Sperma diberi perlakuan dengan sinar ultraviolet dan setelah melakukan fertilisasi buatan dilakukan shocking dengan suhu tinggi, sehingga dari beberapa perlakuan yang berbeda dapat dihasilkan ikan dengan kromosom yang berbeda.

Metode manipulasi kromosom (gamet) pada ikan merupakan salah satu terobosan teknologi. Pada ikan teleostei manipulasi kromosom dapat digunakan untuk memproduksi ikan triploid dan *fully homozygous inbred lines*. Metode triploid sangat selektif untuk memproduksi ikan triploid yang umumnya steril, oleh karenanya dapat digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan dan mengatasi sifat atau kebiasaan ikan yang tidak diinginkan dalam budidaya. Sedangkan Metode gynogenesis adalah suatu tipe parthenogenesis yang menggunakan rangsangan spermatozoa yang dilemahkan secara genetik. Dengan metode ini pembuatan monoset betina dapat diproduksi dalam satu generasi dan populasi *homozygous inbred line* dapat diproduksi hanya dalam dua generasi. Dengan metode gynogenetic, maka keturunan ikan ini akan mempunyai banyak variasi dari nenek moyang pihak betina.

Hal yang penting dalam aplikasi manipulasi kromosom adalah penentuan :

1. Jenis ikan yang digunakan
2. Tujuan manipulasi (jenis populasi apa yang diinginkan)
3. Teknik manipulasi mana yang akan digunakan
4. Bagaimana cara menguji hasil produksi tersebut.

Metode manipulasi kromosom dapat menggunakan teknik yang relatif mudah, peralatan yang murah dan dapat digunakan dalam waktu yang relatif pendek. Untuk program pencarian jenis unggul maupun pemurnian strain dengan metode ini hanya membutuhkan 2 atau 3 generasi saja.

Prinsip dari gynogenesis adalah memberikan kejutan (panas/dingin) atau shocking pada telur yang dibuahi oleh sperma. Pada praktikum genetika ini yang akan dilakukan adalah gynogenesis mitosis dan gynogenesis meiosis, serta manipulasi kromosom untuk menghasilkan kromosom triploid, tetraploid, haploid, sebagai perbandingan dilakukan fertilisasi normal tanpa perlakuan. Kejutan suhu yang dilakukan dalam praktikum ini adalah kejutan panas dengan suhu 40 derajat celsius.

Tujuan praktikum ini adalah untuk mengetahui besarnya laju penetasan/hatching rate dalam gynogenesis dengan kejutan panas pada jangka waktu yang berbeda-beda.

B. Gynogenesis Meiosis

Gynogenesis Meiosis adalah apabila telur yang normal dibuahi oleh sperma yang telah diradiasi sehingga jumlah kromosom di dalam telur tetap 2N. Shocking atau kejutan dilakukan ketika sperma dalam proses meiosis.

C. Gynogenesis Mitosis

Gynogenesis Mitosis adalah apabila telur yang normal dibuahi oleh sperma yang telah diradiasi sehingga jumlah kromosom di dalam telur tetap 2N. Shocking atau kejutan dilakukan sperma dalam proses mitosis.

D. Triploid

Adalah apabila telur yang normal dibuahi oleh sperma yang normal (tanpa radiasi) sehingga di dalam telur terdapat 3N kromosom. Shocking atau kejutan dilakukan ketika sperma dalam proses meiosis.

E. Tetraploid

Adalah apabila telur yang normal dibuahi oleh sperma yang normal (tanpa diradiasi) sehingga di dalam telur terdapat 4N kromosom. Shocking atau kejutan dilakukan ketika sperma dalam proses mitosis.

F. Materi Pewarisan Sifat melalui Manipulasi Kromosom

1. Alat

- Stirer magnetic
- Lampu ultraviolet (TL) 15 watt
- Watch glass
- Petridisk
- Bak shocking
- Saringan the
- Termometer
- Bak penetasan
- Mikroskop
- Bulu ayam

2. Bahan

- Ikan mas
- Air NaCl fisiologis
- Es

G. Perlakuan Manipulasi Kromosom

1. Pengambilan Telur

- Induk diambil dari kolam, memegang bagian kepala dengan handuk basah
- Stripping dilakukan dengan cara mengurut pada bagian perut induk dengan ibu jari
- Dengan jari telunjuk dan jari tengah dari perut depan ke perut belakang (pengurutan pada bagian perut ke arah caudal)
- Memasukkan telur ke dalam petridisk
- Stripping dihentikan jika sudah keluar sedikit darah yang menandakan bahwa ovarium sudah kosong dari telur

2. Pengambilan Sperma

- Ambil induk ikan jantan matang gonad
- Ambil spermanya
- Tambahkan nacl fisiologis 1 : 10
- Dinginkan sperma
- Sebagian sperma diradiasi
- Sebagian sperma langsung digunakan (normal)

3. Radiasi Sperma

- Tuangkan lebih kurang 1 ml sperma ke dalam watch glass
- Letakkan watch glass tersebut di atas es
- Pasang stirer magnetic
- Pasang lampu ultraviolet (TL) 15 watt dengan jarak antara sperma dan lampu lebih kurang 15 cm
- Hidupkan magnetic stirer pada rpm 100
- Hidupkan lampu TL selama lebih kurang 10 menit
- Ambil sperma, siap untuk dibuahkan

4. Pembuahan

- Ambil telur dan leakkan pada petridisk sebanyak 100 – 200 butir
- Campurkan sperma
- Tambahkan air segar/normal, hitung menit mulai menuangkan air
- Goyang-goyangkan petridisk selama 1 menit
- Aduk rata dengan menggunakan bulu ayam

5. Shocking

- Siapkan wadah untuk shocking/air hangat dengan temperatur 40 °C (pertahankan)
- Telur yang telah dibuahi dimasukkan ke dalam air hangat, tunggu selama 2 menit
- Masukkan telur ke dalam bak inkubasi / penetasan

6. Inkubasi Telur

- Perhatikan kondisi telur, yang mati/putih diambil dan dicatat jumlahnya
- Telur diberi malachite fund untuk mencegah jamur
- Larva yang menetas dihitung

Gynogenesis Mitosis dengan cara :

1. Meradiasi sperma pada ultraviolet 15 watt, berjarak 15 cm selama 10 menit
2. Melakukan fertilisasi dengan initial time 2 – 5 menit
3. Melakukan shocking dengan suhu 40 °C selama 2 menit
4. Menginkubasi telur dalam incubator

Gynogenesis Meiosis dengan cara :

1. Meradiasi sperma pada ultraviolet 15 watt, berjarak 15 cm selama 10 menit

2. Melakukan fertilisasi dengan initial time 2 – 5 menit
3. Melakukan shocking dengan suhu 40 °C selama 2 menit
4. Menginkubasi telur dalam incubator

Metode Triploid dengan cara :

1. Melakukan fertilisasi dengan sperma normal (tanpa diradiasi) dengan initial time 5 menit
2. Melakukan shocking dengan suhu 40 °C selama 2 menit, sebelum terjadinya polar body ke II
3. Menginkubasi telur dalam incubator

Metode Tetraploid dengan cara :

1. Melakukan fertilisasi dengan sperma normal dengan initial time 5 menit
2. Melakukan shocking dengan suhu 40 °C selama 6 menit, sebelum terjadinya mitosis
3. Menginkubasi telur dalam inkubator

Metode Haploid dengan cara :

1. Melakukan fertilisasi dengan sperma yang telah diradiasi dengan sinar ultraviolet 15 watt, berjarak 25 cm selama 10 menit
2. Tanpa melakukan shocking, dibiarkan terjadi polar body II
3. Menginkubasi telur dalam inkubator

Metode Perkembangan Normal :

1. Melakukan fertilisasi dengan sperma normal
2. Tanpa melakukan shocking, dibiarkan terjadi polar body II
3. Menginkubasi telur dalam inkubator

Perhitungan Hatching Rate (HR) :

$$\text{HR} = \frac{a}{a + b + c} \times 100\%$$

Keterangan :

- a = larva normal
- b = larva cacat
- c = telur yang tidak menetas

PRAKTIKUM IV

SEX REVERSAL PADA IKAN

Waktu : 4 x 50 menit (2 pertemuan)
Tempat : Laboratorium Perikanan
Tujuan : Mahasiswa dapat melakukan dan memahami teknik sexreversal pada ikan

A. Pendahuluan

Pada beberapa jenis ikan misalnya ikan nila biasanya sudah dapat memijah pada ukuran yang kecil, hal ini menyebabkan ikan tersebut tidak dapat tumbuh besar sehingga dalam budidaya ikan untuk tujuan konsumsi ukurannya belum maksimal. Untuk itu perlu ada usaha untuk mengatasi permasalahan ini, salah satu caranya adalah dengan membuat populasi ikan yang mempunyai jenis kelamin sama, misalnya jantan semua atau betina semua sehingga tidak terjadi pemijahan pada ikan tersebut. Dengan demikian energi untuk pemijahan dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan sehingga dengan demikian diharapkan dapat menghasilkan ikan nila dengan ukuran yang besar.

Untuk mendapatkan ikan yang populasinya sama semua maka dapat dilakukan dengan teknik sex reversal (perubahan jenis kelamin). Teknik ini telah dikembangkan sejak lama, yaitu dengan cara mengubah gonad benih yang belum terdiferensiasi melalui pemberian hormon terhadap benih tersebut dengan cara perendaman atau pemberian secara oral. Suatu teknik terbaru untuk menghasilkan benih semua jantan adalah sex reversal dengan menggunakan hormon 17α methyl testosterone. Hormon ini merupakan salah satu jenis hormon androgen sintesis yang berdasarkan penelitian efektif untuk menghasilkan pembalikan jenis kelamin ikan dari genetik betina menjadi jantan untuk spesies *Tilapia nilotica*. Pemberian hormon steroid tersebut sebaiknya dimulai pada waktu yang tepat. Keberhasilan perubahan jenis kelamin dipengaruhi oleh jenis

dan dosis hormon yang digunakan, selain itu juga oleh lama pemberian hormon serta waktu pemberian hormon. Selain dapat merubah jenis kelamin hormon ini juga berpengaruh positif terhadap pertumbuhan ikan. Berdasarkan penelitian hormon ini dapat meningkatkan bobot benih ikan.

B. Materi Praktikum

Alat:

- Mikroskop
- Bak
- Aerator
- Obyek glass dan cover glass
- Sesar halus

Bahan:

- Benih nila umur 10-15 hari
- Benih nila umur 1-2 bulan
- Serbuk carmin dan asam asetat 45 % untuk membuat larutan acetokarmin (pewarna preparat gonad).
- Alkohol 96 % untuk pelarut hormon
- Tissue
- Pakan buatan jenis pellet, sebagai pakan benih selama praktikum.

C. Prosedur Kerja

1. Timbang hormon 17α methyl testosterone sebanyak 5 ppm
2. Larutkan dalam alkohol 96 % sampai larut
3. Masukkan dalam bak berisi air 3 – 5 liter
4. Diamkan selama 30 menit dan berikan aerasi
5. Masukkan benih nila umur 10 – 15 hari dengan kepadatan 50 – 70 ekor per liter
6. Rendam selama lebih kurang 6 jam

7. Pindahkan larva ke kolam pemeliharaan, dan kontrol sampai umur 1 – 2 bulan
8. Setelah 1 – 2 bulan lakukan analisa mengenai Kelulushidupan (SR), Pertumbuhannya, dan persentase keberhasilan sex reversal (berapa persen yang jantan).
9. Pengamatan gonad dilakukan dengan cara membedah ikan uji, dengan cara menggunting bagian perut ikan mulai dari anus hingga operculum, membersihkan semua organ-organ dalam ikan di bawah jaringan gonad, mengambil gonad ikan kemudian meletakkan di atas obyek glass, meneteskan gonad dengan larutan acetokarmin sebanyak 1 – 2 tetes, membiarkan selama 5 – 10 menit agar larutan acetokarmin meresap ke dalam jaringan gonad ikan. Kemudian menutup gonad dengan cover glass dan memencet jaringan gonad secara perlahan-lahan sampai terbentuk preparat gonad tipis. Mengamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 25 – 100 x , menentukan jenis gonad atau kelamin dari ikan tersebut dan mencatat persentase jenis kelamin jantan.

D. Perhitungan

1. Keberhasilan Sex Reversal (Persentase Jantan) = J

$$J = \frac{\text{Jumlah ikan yang diperoleh}}{\text{Jumlah ikan sample}} \times 100 \%$$

2. Persentase Kelamin Betina = B

$$B (\%) = \frac{\text{Jumlah ikan betina yang diperoleh}}{\text{Jumlah ikan sample}} \times 100 \%$$

3. Persentase Kelamin Intersex = H

$$H (\%) = \frac{\text{Jumlah ikan intersex yang diperoleh}}{\text{Jumlah ikan sample}} \times 100 \%$$

4. Persentase Kelangsungan Hidup = SR

$$SR (\%) = \frac{\text{Jumlah ikan yang hidup pada akhir pemeliharaan}}{\text{Jumlah ikan pada awal pemeliharaan}} \times 100 \%$$