

Fertilisasi dan Perkembangan Embrio Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) Pada pH yang Berbeda

Gratiana E. Wijayanti dan Aulidya N. Habibah

Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan,
Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto



Abstrak

Toleransi ikan terhadap pH perairan bervariasi menurut spesies dan tahapan perkembangan. Untuk mengetahui pengaruh pH terhadap keberhasilan fertilisasi dan perkembangan embrio ikan nilem, telah dilakukan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap. Perlakuan yang diuji adalah pH media fertilisasi dan pH inkubasi embrio terdiri atas pH 4, 6,5 dan 9. Variabel yang diamati meliputi keberhasilan fertilisasi dengan parameter persentase pembuahan (*fertilization rate* = FR) dan perkembangan embrio dengan parameter persentase larva normal dan persentase penetasan (*hatching rate* = HR). Data dianalisis menggunakan ANOVA satu arah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa FR pada medium dengan pH 4, 6,5 dan 9 berturut-turut 0%, 100% dan 100%. Proporsi embrio abnormal pada medium dengan pH 4, 6,5 dan 9 berturut-turut sebesar 99%, 0,5% dan 0,6%. HR dari embrio hasil fertilisasi pada pH 6,5 kemudian diinkubasi pada pH 4, 6,5 dan 9 berturut-turut 0%, $93,87 \pm 6,06\%$, dan $94,28 \pm 4,78\%$. HR embrio dari hasil fertilisasi dan diinkubasi basa sebesar $96,68 \pm 2,47\%$. Embrio yang diinkubasi pada medium dengan pH 9 cenderung memiliki perkembangan yang lebih cepat dibandingkan embrio yang diinkubasi pada pH 6,5. Embrio pada pH 4 memiliki blastomere lebih kecil dibandingkan embrio pada pH 6,5 dan 9 serta memiliki bentuk tidak normal. Hasil di atas menunjukkan bahwa embrio nilem dapat berkembang dengan baik pada pH 6-9 namun perkembangan terganggu pada pH asam.

Kata kunci: perkembangan embrio, *Osteochilus hasselti* C.V., pH medium, FR, HR

Pengantar

Keberhasilan budidaya perikanan sangat ditentukan oleh ketersediaan benih ikan yang berkualitas baik secara berkesinambungan. Ketersediaan benih ditentukan oleh jumlah sel telur yang dibuahi pada saat pemijahan dan jumlah embrio yang berkembang lebih lanjut menjadi larva. Pada ikan ovipar, fertilisasi, perkembangan embrio dan larva sangat ditentukan oleh kualitas air medias hidupnya. Beberapa parameter fisika kimia air yang berpengaruh terhadap perkembangan ikan dalam seluruh tahapan kehidupannya antara lain temperature, oksigen terlarut, CO₂ bebas dan pH (Stickney 1994). pH air memainkan peranan penting dalam metabolisme dan fisiologi hewan akuatik (Parra dan Baldisserotto, 2007). pH yang ekstrim merugikan pertumbuhan dan reproduksi ikan (Zwig *et al.*, 1999) bahkan dapat mengakibatkan kematian. pH ekstrim juga sangat toksik khususnya dalam regulasi ion (Scott *et al.*, 2005). Ketidak setimbangan ion dapat mengganggu sistem sirkulasi dan akhirnya menyebabkan kematian (Van Dijk *et al.*, 1993). pH yang terlalu asam menyebabkan degenerasi jaringan insang dan meningkatkan produksi mucus sehingga menyebabkan kematian karena asphyxia (Boyd 1990). Pada pH yang terlalu basa, terjadi penghambatan ekskresi amonia sehingga kadarnya di dalam darah meningkat dan dapat mengakibatkan kematian (Wilkie & Wood, 1994).

Penelitian pada berbagai spesies ikan mengindikasikan bahwa kisaran pH yang dapat ditolelir oleh ikan Teleostei pada umumnya berkisar antara 4,0-5,0 dan 9,0-10,0 (Alabaster & Lloyd, 1982). Toleransi ikan terhadap pH bervariasi menurut spesies, tahapan perkembangan dan umur ikan. Embrio dan larva pada umumnya lebih sensitif terhadap pH ekstrim (Kim *et al.*, 2003). Melihat pentingnya pengaruh pH dalam berbagai tahapan kehidupan ikan maka penelitian untuk mengetahui kisaran pH yang dapat ditolelir dan pH optimum bagi ikan perlu senantiasa dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perkembangan embrio dan larva ikan nilem pada berbagai pH dan mengetahui pH optimum yang mendukung perkembangan serta kelangsungan hidupnya. Ikan nilem dipilih sebagai hewan uji dengan pertimbangan bahwa ikan ini banyak

dibudidayakan oleh masyarakat dengan demikian informasi yang diperoleh dari penelitian ini dapat dimanfaatkan oleh para petani ikan.

Bahan dan Metode

Materi penelitian adalah sel telur dan spermatozoa ikan nilam hasil pemijahan induksi menggunakan $0,5 \text{ ml.kg}^{-1}$ yang difertilisasi dan diinkubasi pada pH 4, 6,5 dan 9. Penelitian dilakukan dalam dua eksperimen masing-masing menggunakan rancangan acak lengkap.

Eksperimen-I ditujukan untuk menguji pengaruh pH medium terhadap fertilisasi. Medium fertilisasi yang diuji terdiri atas medium dengan pH 4 (dibuat dengan menambahkan 10 mL asam cuka masak ke dalam 990 mL air sumur), pH 6,5 (air sumur) dan pH 9 (dibuat dengan menambahkan 50 mL air kapur ke dalam 950 L air sumur). Lima ulangan disediakan untuk masing-masing medium uji dan setiap ulangan terdiri atas 500 sel telur. Keberhasilan fertilisasi dievaluasi 30 menit setelah pencampuran sel telur dan spermatozoa. Sel telur yang telah dibuahi ditandai dengan adanya 2-4 blastomer di kutub animalisnya (Wijayanti *et al.*, 2010). Laju pertilisasi (*hatching rate* = FR) dihitung menggunakan rumus sebagai berikut.

$$FR = \frac{\sum \text{sel telur yang dibuahi}}{\sum \text{sel telur yang dibuahkan}} \times 100\%$$

Eksperimen-II ditujukan untuk mengevaluasi pengaruh pH terhadap perkembangan embrio dan larva serta kelangsungan hidupnya. Kombinasi perlakuan pada eksperimen ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi perlakuan untuk mengevaluasi pengaruh pH terhadap perkembangan embrio dan larva ikan nilam

pH Medium Fertilisasi	pH Medium Inkubasi Embrio dan Larva		
	4 (M1)	6,5 (M2)	9 (M3)
4 (F1)	F1M1	F1M2	F3M1
6,5 (F2)	F2M1	F2M2	F3M2
9 (F3)	F3M1	F3M2	F3M3

Setiap kombinasi perlakuan diulang 3 kali, kepadatan embrio pada setiap ulangan adalah 300/L. Selama perkembangan embrional diamati morfologi embrio dan dihitung persentase embrio yang menetas menggunakan rumus sebagai berikut.

$$HR = \frac{\sum \text{embrio yang diinkubasi}^{\text{menetas}}}{\sum \text{embrio yang menetas}^{\text{diinkubasi}}} \times 100\%$$

Larva yang menetas dipelihara dengan aerasi pada kepadatan 20 ekor/L. dalam akuarium yang dilengkapi Setelah yolk habis, larva diberi pakan pellet komersial berbentuk serbuk. Larva dipelihara selama 8 minggu hingga menjadi benih. Pada minggu ke 8, diambil 21 ekor benih secara acak dari setiap akuarium untuk diukur panjang standar dan berat tubuhnya. Kelangsungan hidup benih dihitung pada pada minggu ke empat dan pada umur minggu ke 8 menggunakan rumus sebagai berikut.

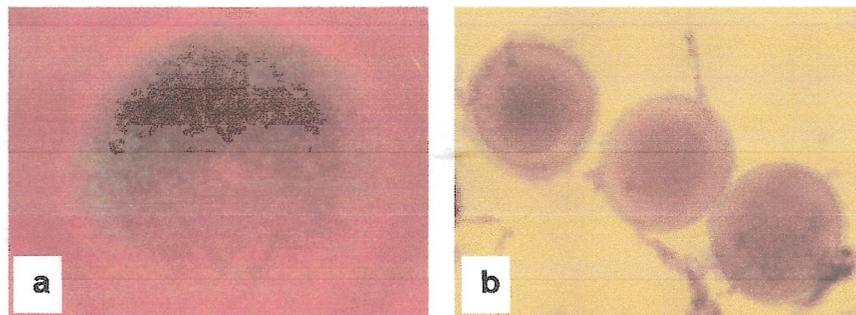
$$SR = \frac{\sum \text{larva awal pemeliharaan}}{\sum \text{benih pada minggu 4 atau 8}} \times 100\%$$

Data HR dianalisis dengan ANOVA satu arah, sedangkan panjang dan berat tubuh benih dianalisis dengan uji "t" pada tingkat signifikansi 5%.

Hasil dan Pembahasan.

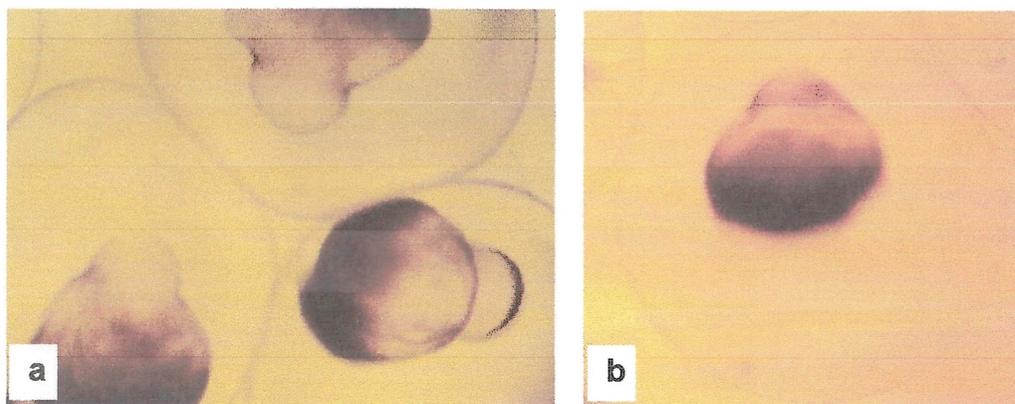
Di antara ketiga medium yang diujikan, embrio hanya diperoleh dari medium dengan pH 6,5 dan pH 9; dari medium dengan pH 4 tidak diperoleh embrio karena tidak ada sel telur yang dibuahi. Milt mengalami koagulasi segera setelah kontak dengan medium pH 4 (Gambar 1a). Evaluasi di bawah mikroskop menunjukkan bahwa jumlah spermatozoa yang motil dalam medium

tersebut sangat sedikit (<1%) dan lama motilitasnya sangat pendek hanya beberapa detik sedangkan dalam medium alami motilitas spermatozoa dapat mencapai 2 menit (Wijayanti & Sugiharto, 2006). Penurunan motilitas secara signifikan pada pH rendah juga dijumpai pada ikan *Acipenser percus* (Alavi *et al.*, 2004) dan striped bass (He, *et al.*, 2004). Hal ini disebabkan oleh terhambatnya pembentukan ATP pada pH rendah, sementara ATP diperlukan untuk motilitas spermatozoa. Pada sel telur, tampak yolk di bagian perifer menjadi lebih transparan (Gambar 1b), dan tidak mengalami *swelling*. Sementara itu seluruh sel telur yang difertilisasi pada medium dengan pH 6,5 dan 9 terbuahi (FR=100%). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pH 4 tidak mendukung fisiologi sel telur nilam dan bersifat letal bagi embrio. Kondisi ini dapat disebabkan karena pH yang terlalu asam mengganggu integritas membran plasma sehingga viabilitas sel telur dan embrio menurun. Disamping itu pH rendah menghambat penyerapan sodium dari perairan (William, 1980) sehingga mengganggu regulasi ion (Scott *et al.*, 2005) di dalam sel telur.



Gambar 1. Koagulasi milt (warna putih) segera setelah kontak dengan medium ber pH 4 (a), morfologi sel telur yang difertilisasi pada medium pH 4 (b).

HR dari embrio hasil fertilisasi pada pH 6,5 kemudian diinkubasi pada pH 4, pH 6,5 dan pH 9 berturut-turut sebesar 0%, $93,87 \pm 6,06\%$, dan $94,28 \pm 4,78\%$. HR embrio dari hasil fertilisasi pada pH 9 dan diinkubasi pada pH 9 sebesar $96,68 \pm 2,47\%$. Hasil uji F menunjukkan bahwa persentase pembuahan antara embrio yang diinkubasi pada pH 6,5 dan pH 9 berbeda namun tidak signifikan ($p > 0,05$).



Gambar 2. Embrio nilam yang diinkubasi pada medium dengan pH 4. Embrio pada saat awal *cleavage* (a), embrio dengan blastoderma yang menguncup (b). Tanda panah menunjukkan posisi blastomer dan blastoderma.

Toleransi embrio terhadap pH rendah bervariasi menurut spesies dan parameter kualitas perairan lainnya (Stouthart *et al.*, 1995; Keinanen *et al.*, 2003). Embrio ikan *Rivulus marmoratus* dapat berkembang pada pH 4 dan 78% di antaranya menetas namun persentase penetasan menurun hingga tinggal 5% pada pH 3,5 (Kim, *et al.*, 2003). Embrio *Salmo salar* L. pada stadium alevin juga mengalami kematian pada pH 3,6 (Daye & Garside, 1977). Evaluasi terhadap perkembangan embrio yang diinkubasi pada pH 4, pH 6,5 dan pH 9 menunjukkan bahwa embrio yang diinkubasi pada pH 4 memiliki blastomer dengan ukuran lebih kecil dibanding blastomer embrio yang diinkubasi pada pH 6,5 dan 9. Dengan ukuran blastomer yang lebih kecil bentuk blastoderma menjadi tampak seperti kerucut (Gambar 2). Embrio yang diinkubasi pada medium

dengan pH 9 memiliki perkembangan yang cenderung lebih cepat dibandingkan embrio yang diinkubasi pada pH 6,5. Proporsi embrio abnormal pada pH 4 sebesar 99% sedangkan pada pH 6,5 dan 9 berturut-turut sebesar 0,5% dan 0,6%. Tingginya proporsi embrio abnormal pada pH 4 menyebabkan embrio tidak dapat berkembang lebih lanjut dan akhirnya mati sehingga tidak ada embrio yang menetas. Pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) terjadi mortalitas larva total pada pH 5,5 (Jeziarska & Witeska, 1995).

Kelangsungan hidup larva sampai minggu pertama setelah penetasan 100% untuk pH inkubasi 6,5 dan 9. Pada minggu kedua terjadi kematian yang cukup besar pada pH 9 yaitu sebesar 25% pada saat pergantian medium. Pada minggu ketiga hingga ke 8 seluruh benih dapat bertahan hidup. Diduga kematian pada minggu kedua disebabkan oleh penanganan larva pada saat pergantian medium.

Pada minggu pertama, panjang larva yang dipelihara pada pH 6,5 berkisar antara 5-6 mm ($5,413 \pm 0,309$ mm) sedangkan pada pH 9 berkisar antara 4-6 mm ($5,492 \pm 0,404$ mm). Pada umur 8 minggu panjang benih yang dipelihara pada pH 6,5 sebesar $28,667 \pm 2,576$ mm dengan berat $275,24 \pm 79,98$ mg dan panjang benih yang dipelihara pada pH 9 sebesar $27,333 \pm 5,471$ mm dengan berat $267,62 \pm 140,99$ mg. Hasil uji *t* menunjukkan bahwa ukuran benih yang dipelihara pada pH 6,5 dan pH 9 selama 8 minggu relatif sama ($p > 0,05$). Meskipun demikian benih yang dipelihara pada medium 6,5 memiliki ukuran yang relatif lebih seragam dibandingkan dengan benih yang dipelihara pada pH 9. Hasil penelitian ini dan ikan lain seperti ikan *Perca fluviatilis* (Scott *et al.*, 2005), *Prochilodus lineatus* (Zaniboni-Filho *et al.*, 2002; 2008) menunjukkan bahwa pH 9 masih dalam kisaran yang mendukung kehidupan ikan. Menarik untuk diteliti lebih lanjut apakah pemeliharaan ikan sejak embrio hingga dewasa pada pH 9 akan berpengaruh terhadap performa reproduksinya. pH 9 atau lebih mengganggu ekskresi ammonia sehingga kadarnya di dalam plasma dapat tiga kali lebih tinggi dibanding kadar ammonia dalam plasma ikan yang dipelihara pada pH netral (Scott *et al.*, 2005).

Kesimpulan dan saran

Fertilisasi, perkembangan embrio dan larva ikan nilam berlangsung dengan baik pada kisaran pH 6,5 hingga 9. pH yang terlalu rendah mengakibatkan penurunan kualitas spermatozoa dan sel telur sehingga menurunkan fertilitas dan mengganggu perkembangan embrio. Berdasarkan kesimpulan tersebut disarankan bahwa pH perairan perlu mendapat perhatian khusus demi keberhasilan usaha penyediaan benih ikan secara berkelanjutan.

Daftar Pustaka

- Alabaster, J.S. and R. Lloyd, 1982. Water quality criteria for fresh-water fish, 2nd edn. FAO, Cambridge
- Alavi, SMH, J. Cosson, M. Karami, B.M. Amiri, and M. A. Akhoundzadeh. 2004. Spermatozoa motility in the Persian sturgeon, *Acipenser persicus*: effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. *Reproduction* 128: 819–828
- Boyd, C.E. 1990. Water quality management for pond fish culture. Elsevier, Amsterdam
- He, S., K. Jenkins-Keeran, and L. C. Woods III. 2004. Activation of sperm motility in striped bass via a cAMP-independent pathway. *Theriogenology* 61: 1487–1498
- Jeziarska, B. and M. Witeska, 1995. The influence of pH on embryonic development of common carp (*Cyprinus carpio*). *Arch Pol Fish* 3(1):85–94
- Keinänen, M., C. Tigerstedt, P. Kålax, and P. J. Vuorinen. 2003. Fertilization and embryonic development of whitefish (*Coregonus lavaretus lavaretus*) in acidic low-ionic-strength water with aluminum. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 55(3): 314–329
- Kim, A., Meoung-Sook Lee and Eun-Ho Park. 2003. Effects of Acute Acid Stress on Hatching and Mortality of Hermaphroditic Teleost, *Rivulus marmoratus* (Cyprinodontiformes; Rivulidae). *Korean Journal of Biological Sciences* 7(4): 345–348
- Daye, P.G., and E.T. Garside. 1977. Lower lethal levels of pH for embryos and alevins of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Canadian Journal of Zoology*, 55(9) 1504–1508

- Parra J.E.G., and B. Baldisserotto, 2007. Effect of water pH and hardness on survival and growth of freshwater teleosts. In: Baldisserotto B, Mancera JM, Kapoor BG (Eds) Fish osmoregulation. Science Publishers, Enfield
- Scott, D.M., M.C. Lucas, and R.W. Wilson. 2005. The effect of high pH on ion balance, nitrogen excretion and behaviour in freshwater fish from an eutrophic lake: a laboratory and field study. *Aquatic Toxicology* 73:31-43.
- Stickney, R.R. 1994. Principle of Aquaculture. John Wiley & Sons Inc. New York
- Stouthart, A.J.H.X., F.A.T. Spaning, R.A.C. Lock and S.E.W. Bonga 1995. Effects of water pH on chromium toxicity to early life stages of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology* 32(1): 31-42
- Van Dijk, P.L.M., G.E.E.J. Thillart, and P. Balm. 1993. Influence of gradual acid/base status and plasma hormone levels in carp (*Cyprinus carpio*). *J Fish Biol* 42:661-671
- Wijayanti, G.E. dan Sugiharto, 2006. Aktivitas Testis Ikan Nilem Selama Satu Siklus Reproduksi. *Omni Akuatika*. 2(1): 37-43
- Wijayanti, G.E., P. Susatyo, Sugiharto, A. Nuryanto dan Soeminto. 2010. Perkembangan Embrio Ikan Nilem yang Diinkubasi pada Media dengan Berbagai Temperatur. *Prosiding Seminar Nasional Basic Science VII*. Vol I hal 298-305
- Wilkie, M.P. and C.M. Wood. 1994. The effects of extremely alka-line water (pH 9.5) on rainbow trout gill function and morphology. *J Fish Biol* 45:87-98
- Zaniboni-Filho E., S. Meurer, J.I. Golombieski, L.F.V. Silva, and B. Baldisserotto. 2002. Survival of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) fingerlings exposed to acute pH changes. *Acta Scientiarum* 24(4): 917-920
- Zaniboni-Filho E., A.P.O. Nufler, D.A. Reynatte-Tataje, and R.L. Serafini. 2008. Water pH and *Prochilodus lineatus* larvae Survival. *Fish. Physiol. Biochem.* DOI 10.1007/s10695-008-9235-0
- Zweig R.D., J.D. Morton, and M.M. Stewart (1999) Source water quality for aquaculture. World Bank, Washington