

**PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI ETANOL PANAS DAN  
PENAMBAHAN ENZIM PROTEASE TERHADAP KEBERHASILAN  
PENGAKTIVASIAN (PARTHENOGENESIS) TELUR IKAN LELE DUMBO**

*(Clarias sp)*

**SKRIPSI  
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
(BUDIDAYA PERAIRAN)**

Oleh :  
**KOMARUDIN**  
0510852010



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERIKANAN  
MALANG  
2008**

**PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI ETANOL PANAS DAN  
PENAMBAHAN ENZIM PROTEASE TERHADAP KEBERHASILAN  
PENGAKTIVASIAN (PARTHENOGENESIS) TELUR IKAN LELE DUMBO**

*(Clarias sp)*

*Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan Di Fakultas  
Perikanan Universitas Brawijaya Malang*

Oleh :  
**KOMARUDIN**  
0510852010

Dosen Penguji I

(Ir. Maheno Sri Widodo, MS)  
Tanggal :

Dosen Penguji II

(Ir. Bambang Susilo Widodo)  
Tanggal

Dosen Pembimbing I

(Ir. Agoes Soeprijanto, MS)  
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Ir. Achmad Muchlis)  
Tanggal :

Mengetahui  
Ketua Jurusan

(Ir. Maheno Sri Widodo, MS)  
Tanggal :

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas Rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol Panas dan Penambahan Enzim Protease Terhadap Keberhasilan Pengaktivasian (Parthenogenesis) Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*)". Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang Jawa Timur.

Dengan selesainya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih penghargaan yang setulusnya kepada :

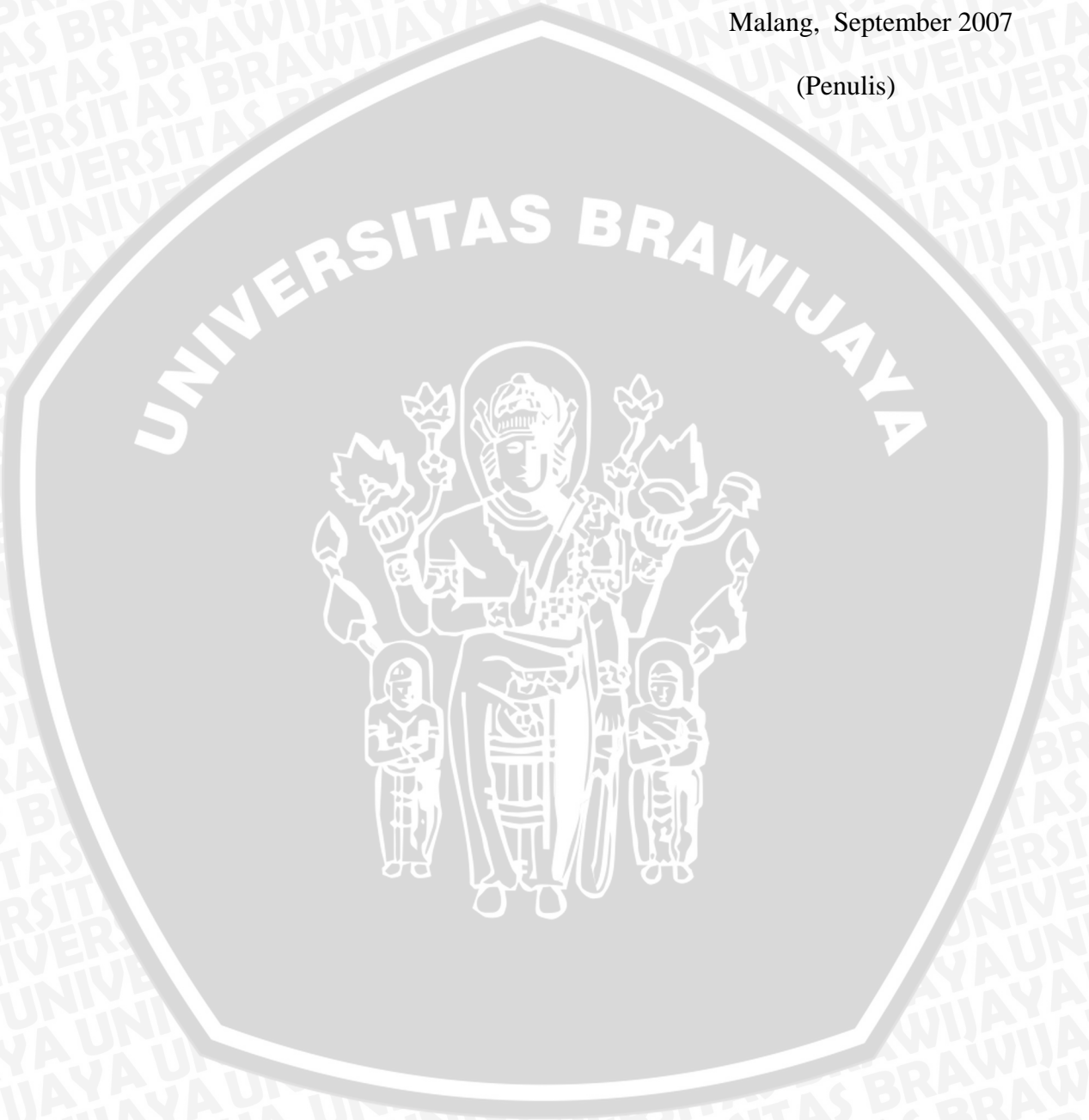
1. Kedua orang tua yang telah memberikan dukungan baik material maupun spiritual serta kasih sayang yang tak terhingga.
2. Bapak Ir. Agoes Soeprijanto, MS selaku dosen pembimbing I dan Bapak. Ir. Achmad Muchlis selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan saran dan bimbingan hingga terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Bapak Ir. Maheno Sri Widodo, MS selaku dosen penguji I dan Bapak Ir. Bambang Susilo Widodo selaku dosen penguji II.
4. Ketua Laboratorium Reproduksi, Pembenihan dan Pemuliaan Ikan, Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang beserta staf yang telah memberikan petunjuk dan membantu sehingga penelitian dapat terlaksana dengan baik.
5. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan dorongan dan bantuan sehingga dapat tersusunnya laporan skripsi ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan laporan ini sehingga kritik dan saran untuk penyempurnaan laporan ini.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi bagi semua pihak yang membutuhkannya.

Malang, September 2007

(Penulis)



## RINGKASAN

**KOMARUDIN. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol Panas dan Penambahan Enzim Protease Terhadap Keberhasilan Pengaktivasian (Parthenogenesis) Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) (di Bawah Bimbingan Ir. AGOES SOEPRIJANTO, MS dan Ir. ACHMAD MUCHLIS)**

---

---

Lele Dumbo adalah ikan pendatang yang merupakan keturunan lele hasil persilangan antara lele asli dari Taiwan dan lele yang berasal dari Afrika. Ikan hasil persilangan ini kemudian diintroduksi (dimasukkan) ke negara kita sekitar tahun 1986. Karena ukuran tubuh yang cepat besar atau bongsor dan melebihi ukuran ikan lele lokal, lele ini kemudian dinamakan lele dumbo (*Clarias sp.*).

Dengan menggunakan metode parthenogenesis diharapkan dapat memproduksi benih unggul dari induk betina yang unggul (homozigot). Karena pada parthenogenesis dapat menghasilkan individu baru yang identik dengan indukannya sehingga individu tersebut murni/mutlak dari sifat induk betina.

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian enzim protease pada perlakuan perbedaan konsentrasi etanol sebagai aktifator perkembangan embrio telur ikan lele. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi, Pembenihan dan Pemuliaan Ikan, Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya pada bulan Mei-Agustus 2007.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan pengambilan data dilakukan secara observasi langsung. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan uji keragaman model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang digunakan adalah karena untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi etanol yang dipanaskan dan penambahan enzim protease (tripsin) terhadap keberhasilan aktivasi dan perkembangan embrio (parthenogenetik) ikan lele dumbo yaitu perlakuan A (3%), perlakuan B (5%),

perlakuan C (7%), kontrol menggunakan sperma (K1), kontrol tanpa sperma (K2) dengan 3 kali ulangan untuk masing-masing perlakuan dan pemberian enzim protease tripsin (dosis 2 g/600 ml aquades).

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa pemberian etanol panas dengan dosis berbeda dan penambahan enzim protease (tripsin) memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap keberhasilan aktivasi dan perkembangan embrio. Pemberian enzim protease tripsin diduga berhasil mengikis atau melunakan chorion telur ikan lele dumbo sehingga aktivator etanol berhasil mengaktifasi telur hingga mencapai perkembangan embrio. Tripsin dalam hal ini digunakan sebagai pengganti fungsi akrosin yaitu zat yang keluar dari akrosom spermatozoa yang berfungsi memecah protein pada zona pellucida.

Pengaruh penggunaan enzim protease dengan konsentrasi etanol panas yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap perkembangan embrio pada fase pembelahan 8 sel, pada perlakuan etanol panas A, B, dan C diperoleh perkembangan embrio pada perlakuan masing-masing sebesar 81.94%, 92%, dan 95.33%. Sedangkan pada pada kontrol menggunakan sperma (K1) perkembangan embrio sebesar 92.67% dan kontrol tanpa sperma (K2) perkembangan embrio sebesar 84.78%.

Pengaruh penggunaan enzim protease dengan konsentrasi etanol panas yang berbeda berpengaruh nyata terhadap perkembangan embrio pada fase pembelahan morula, pada perlakuan etanol panas A, B, dan C diperoleh perkembangan embrio pada perlakuan masing-masing sebesar 65.17%, 83.06%, dan 85.33% berbentuk hubungan linier dengan persamaan  $Y = 45.577 + 3.3825X$ ,  $R^2 = 0.98$ . Sedangkan pada kontrol menggunakan sperma (K1) perkembangan embrio sebesar 85,17% dan pada kontrol tanpa sperma (K2) perkembangan embrio sebesar 80,72%.

Pengaruh penggunaan enzim protease dengan konsentrasi etanol panas yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap perkembangan embrio pada fase pembelahan blastula, pada perlakuan etanol panas A, B, dan C diperoleh perkembangan embrio pada perlakuan masing-masing sebesar 37%, 46.94%, dan 50.22%. Sedangkan pada kontrol menggunakan sperma (K1) perkembangan embrio sebesar 74.44% dan pada kontrol tanpa sperma (K2) perkembangan embrio sebesar 28.06%.

Pengaruh penggunaan enzim protease dengan konsentrasi etanol panas yang berbeda berpengaruh nyata terhadap perkembangan embrio pada fase pembelahan gastrula, pada perlakuan etanol panas A, B, dan C diperoleh perkembangan embrio pada perlakuan masing-masing sebesar 23%, 26.39%, dan 38.33% berbentuk hubungan linier dengan persamaan  $Y = 20.511 + 2.4025X$ ,  $R^2 = 0.98$ . Sedangkan pada kontrol menggunakan sperma (K1) perkembangan embrio sebesar 60.28% dan pada kontrol tanpa sperma (K2) embrio tidak berkembang.

Pengaruh penggunaan enzim protease dengan konsentrasi etanol panas yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap perkembangan embrio pada fase pembelahan organogenesis, pada perlakuan etanol panas A, B, dan C diperoleh perkembangan embrio pada perlakuan masing-masing sebesar 10.78%, 14.5%, dan 20.22%. Sedangkan pada kontrol menggunakan sperma (K1) perkembangan embrio sebesar 57% dan pada kontrol tanpa sperma (K2) embrio tidak berkembang.

Pengaruh penggunaan enzim protease dengan konsentrasi etanol panas yang berbeda memberikan kontribusi yang nyata terhadap keberhasilan penetasan pada setiap perlakuan. Pada perlakuan A menetas 0.89%, perlakuan B menetas 1.67%, dan pada perlakuan C menetas 6.39%. Sedangkan pada kontrol tanpa sperma tidak ada hasil yang menetas. Hasil yang menetas pada kontrol menggunakan sperma sebesar 63.67%.

Efek katalis enzim dan aktivasi etanol dapat dikatakan berhasil dalam penelitian ini walaupun tidak di capai hasil yang maksimal pada perkembangan embrio bila dibandingkan dengan kontrol sperma (K1) dengan hasil perkembangan embrio menetas sebesar 63.67%. Pengaruh penggunaan etanol panas pada konsentrasi yang berbeda menunjukkan hasil berbeda nyata dan hasil terbaik pada perlakuan C (7%) dengan HR dan SR masing-masing 5.57% dan 1.01%, sedangkan hasil kontrol normal dengan sperma (K1) yang menghasilkan jumlah telur HR dan SR yaitu sebesar 54.33% dan 30.99%.

Larva yang dihasilkan pada perlakuan penggunaan enzim protease dengan konsentrasi etanol panas yang berbeda berhasil hidup sampai umur 5 hari pada perlakuan A (konsentrasi 3%), 8 hari pada perlakuan B (konsentrasi 5%) dan 10 hari pada perlakuan C (konsentrasi 7%). Ternyata penggunaan enzim protease dengan konsentrasi etanol panas 7% dapat mengaktivasi (parthenogenesis) telur ikan lele dumbo sampai terjadi penetasan telur sampai menjadi larva sebesar 6.39% atau  $\pm 39$  ekor dari 600 butir telur.

Kualitas air untuk suhu diperoleh sekitar 26-28<sup>0</sup>C pada masa inkubasi telur, pH 7,4 dan oksigen terlarut 8,2 mg/l masih layak untuk perkembangan embrio ikan lele dumbo selama penelitian.

Dari hasil penelitian ini disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan pada konsentrasi penggunaan enzim sebagai katalis khusus yang berbeda dan konsentrasi etanol sebagai aktivasi serta kombinasi dengan bahan lain yang digunakan sehingga perkembangan larva dapat bertahan lebih lama sehingga diketahui pertumbuhannya dan dilakukan tes lebih lanjut mengenai hasil parthenogenesis untuk dapat meningkatkan mutu dan kualitas produk perikanan.



## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN .....	i
KATAPENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	8
1.4 Kegunaan Penelitian .....	8
1.5 Hipotesis.....	9
1.6 Tempat dan Waktu .....	9
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	10
2.1 Ikan Lele Dumbo ( <i>Clarias gariepinus</i> ).....	10
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Lele Dumbo .....	11
2.1.2 Habitat (lingkungan hidup) .....	15
2.2 Perkembangan Telur Ikan .....	16
2.3 Fertilisasi .....	20
2.4 Embriogenesis .....	22
2.4.1 Pembelahan Sel Zigot (Cleavage).....	22
2.4.2 Stadia Morula .....	24
2.4.3 Blastulasi .....	25
2.4.4 Gastrulasi .....	26
2.4.5 Organogenesis .....	30
2.4.6 Penetasan.....	31
2.5 Kejutan Suhu Pada Telur .....	33
2.6 Pemijahan Ikan Lele Dumbo.....	35
2.7 Pemijahan Buatan.....	36
2.8 Parthenogenesis .....	39
2.9 Mekanisme Aktivasi Telur.....	41
2.10 Pengaruh Aktivasi Etanol.....	42
2.11 Pengaruh Enzim Protease (Tripsin) .....	45
2.12 Kualitas Air .....	46
- Suhu .....	46
- Derajat Keasaman (pH) .....	47
- DO (Oksigen Terlarut).....	47

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	49
3.1 Materi Penelitian.....	49
3.1.1 Bahan Untuk Penelitian.....	49
3.1.2 Alat Untuk Penelitian.....	50
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian.....	50
- Metode Penelitian.....	50
- Rancangan Penelitian.....	51
3.3 Prosedur Penelitian.....	52
3.3.1 Pembuatan Ekstrak Hipofisa.....	52
3.3.2 Penyuntikan Hormon Pada Induk Ikan.....	52
3.3.3 Kontrol Pembuahan Normal.....	53
3.3.4 Perlakuan Aktivasi Penambahan Etanol.....	53
3.3.5 Perlakuan Penggunaan Enzim Protease.....	53
3.3.6 Kontrol Tanpa Pembuahan dan Tanpa Aktivator.....	53
3.4 Parameter Uji.....	54
3.4.1 Parameter Utama.....	54
3.4.2 Parameter Penunjang.....	54
3.5 Analisa Data.....	54
4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	56
4.1 Perkembangan Embrio Ikan.....	56
4.1.1 Fase pembelahan 8 sel.....	56
4.1.2 Fase Pembelahan Morula.....	57
4.1.3 Fase Pembelahan Blastula.....	61
4.1.4 Fase Pembelahan Gastrula.....	62
4.1.5 Fase Pembelahan Organogenesis.....	65
4.1.6 Fase Penetasan.....	67
4.1.7 Data Hasil Pengamatan Pada Perkembangan Embrio Tertinggi.....	69
4.2 Tingkat Penetasan ( <i>Hatching Rate</i> ).....	73
4.3 Tingkat Kelulushidupan ( <i>Survival Rate</i> ).....	77
4.4 Morfologi Larva.....	78
4.5 Kualitas Air.....	80
4.5.1 Suhu.....	80
4.5.2 pH (Derajat Keasaman).....	80
4.5.3 Oksigen Terlarut.....	81
5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	83
5.1 Kesimpulan.....	83
5.1 Saran.....	84
DAFTAR PUSTAKA.....	86
LAMPIRAN.....	89

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pengembangan budidaya perikanan yang terus menerus merupakan hal penting dan menjadi harapan pembudidaya ikan untuk terus meningkatkan teknik-teknik yang menjadi dasar-dasar pengembangan yang diperlukan. Produksi benih untuk penebaran budidaya ikan saat ini sudah menggunakan teknik pemijahan buatan baik secara semi alami maupun buatan.

Dengan semakin meningkatnya kesadaran dan pengetahuan masyarakat akan manfaat ikan sebagai makanan yang mempunyai kandungan protein yang sangat tinggi, maka tingkat konsumsi masyarakat terhadap daging ikan akan semakin meningkat pula. Salah satu usaha yang harus dilakukan untuk memenuhi kebutuhan masyarakat akan daging ikan adalah budidaya ikan. Hal ini disebabkan karena kita tidak bisa menggantungkan hanya pada hasil tangkapan dari alam. Karena kemungkinan penurunan hasil tangkapan ikan yang disebabkan oleh penangkapan yang berlebihan adalah sangat besar. Penangkapan yang dilakukan terus-menerus tanpa memperhatikan kelestarian daripada stock ikan yang ada pada perairan tersebut akan menyebabkan penurunan hasil tangkapan, yang berakibat tidak terpenuhinya permintaan daging ikan oleh masyarakat.

Pada dasa warsa terakhir ini terlihat kemajuan pesat dalam segi teknis produksi dan pemasaran hasil budidaya. Sisi lain dari kemajuan tersebut adalah semakin meningkatnya permintaan akan benih ikan sejalan dengan diterapkannya pola intensifikasi dan efisiensi produksi.

Di dalam budidaya ikan, ketersediaan benih merupakan unsur yang mutlak. Usaha budidaya dipandang tidak cukup bila hanya mengandalkan benih secara alami, karena bersifat musiman seperti benih ikan lele (*Clarias sp.*) yang ditemukan hanya pada saat musim penghujan. Penyediaan benih tidak hanya dalam jumlah yang cukup dan kontinu, tetapi diperlukan mutu yang baik serta tepat sasaran yang disebut dengan sapta tepat yaitu : tepat spesies, ukuran, kualitas, kuantitas, waktu, lokasi, dan tepat harga.

Akhir-akhir ini budidaya ikan air tawar secara intensif disamping menggunakan ikan lokal jenis unggul yang sudah dikenal mempunyai nilai ekonomis tinggi seperti ikan mas, gurame, nila dan sebagainya, juga telah dikembangkan ikan lele dumbo. Ikan lele dumbo ini termasuk jenis ikan yang telah lama dikenal di Indonesia yang aslinya berasal dari benua Afrika.

Disamping hal-hal diatas ikan lele dumbo juga punya keuntungan antara lain, nilai gizinya tinggi, protein mencapai 37%, banyak mengandung kalium sebagai penguat tulang, padat penebaran tinggi, tidak membutuhkan kolam yang luas dalam pemeliharaannya, selain itu juga produktivitasnya tinggi (Padmosudirdjo, 1986).

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, usaha yang telah dikembangkan selama ini adalah mengadakan perkawinan buatan (Artificial Fertilization) dari jenis ikan yang akan dibudidayakan untuk memproduksi benih. Usaha ini memerlukan pemahaman tentang sifat-sifat pemijahan ikan yang bersangkutan dan faktor-faktor yang mempengaruhinya. Dengan pemahaman mengenai hal-hal tersebut, manusia melakukan intervensi untuk memanipulasi kondisi pemijahan. Sehingga dibuatlah teknik-teknik pemijahan yang tidak bergantung pada kondisi alamiah.

Campur tangan manusia dalam pembiakan alami pada ikan tertentu dapat meningkatkan daya hidup dari anak-anak ikan. Teknik-teknik tentang pembiakan buatan/perkawinan buatan pada ikan telah banyak dilakukan, dan masing-masing disesuaikan dengan kebutuhan dan tujuan dari diadakannya perkawinan buatan tersebut, seperti misalnya untuk memperoleh hasil pemijahan yang sempurna, memperoleh benih ikan yang unggul, memperoleh kualitas bibit ikan yang baik untuk pembesaran.

## 1.2 Perumusan Masalah

Produksi ikan telah dipraktikkan secara luas selama berabad-abad di wilayah Asia Tenggara. Pengetahuan mengenai perikanan budidaya telah diterapkan secara meluas dan sukses. Dalam 4 dasawarsa terakhir ini, para peneliti telah ditantang oleh berbagai pertanyaan mengenai proses-proses mendasar mengenai pertumbuhan, reproduksi, dan penyakit, dan ini membawa kepada pendekatan manajemen baru mengenai produksi ikan.

Salah satu sifat dari organisme atau makhluk hidup adalah kemampuan untuk melakukan reproduksi. Kemampuan reproduksi ini sangat berkaitan erat dengan kelangsungan hidup suatu spesies yang secara keseluruhan mengharuskan setiap individu untuk memperbanyak diri, tiap individu menghasilkan individu baru untuk mengganti individu yang mati.

Ikan lele dumbo merupakan ikan air tawar yang dapat hidup dengan kandungan oksigen rendah pada lingkungan hidupnya, karena memiliki organ pernafasan tambahan yaitu *aborescent organ* sehingga dapat bernafas di udara, dan memijah hanya pada musim hujan. Berdasarkan pada besarnya kebutuhan konsumsi

ikan lele dumbo khususnya di wilayah Malang dan sekitarnya, maka diperlukan adanya keterjaminan mutu dan kualitas sehingga perubahan produk perikanan ini perlu adanya peningkatan melalui mempertahankan kualitas induk dan benih yang di hasilkan. Penerapan ilmu dan teknologi perlu di uji cobakan demi keberlangsungan pemenuhan kebutuhan konsumsi masyarakat dan peningkatan produk perikanan.

Dalam rangka untuk meningkatkan produksi perikanan khususnya budidaya perikanan tersebut sudah banyak dilakukan penelitian tentang faktor-faktor yang mendukung seperti perbaikan pakan, pengendalian penyakit maupun sistem pemeliharaannya, begitu juga faktor secara genetik yang berupa perlakuan androgenesis, gynogenesis, polyploidy (triploidy dan tetraploidy) yang pada dasarnya adalah untuk mempertahankan keberadaan galur murni dari keturunan ikan tersebut.

Beberapa faktor penting dalam penelitian ini adalah penggunaan induk ikan lele yang benar-benar unggul dengan kondisi baik, manipulasi pemijahan, kualitas telur yang bagus, serta perlakuan selama penelitian dengan tepat. Penelitian ini dilakukan berdasarkan pada laporan para petani ikan yang mengeluhkan bahwa ikan lele dumbo menurun kualitasnya yaitu pada waktu sebelumnya beberapa tahun kebelakang ikan lele dumbo dapat dipanen dengan ukuran konsumsi selama 3 bulan namun pada saat ini umur untuk menghasilkan ukuran konsumsi sekitar 6 bulan. Hal ini berarti pertumbuhan ikan lele dumbo mulai menurun, karena adanya kemungkinan perkawinan silang dalam (*inbreeding*) dari satu induk atau nenek moyang yang sama. Sehingga adanya keturunan genetik yang jelek yang terus berkembang hingga saat ini. Sedangkan untuk mengembalikan ke awal dibutuhkan

benih yang baik, sehingga banyak peneliti melakukan berbagai cara untuk merubah genetik ikan kearah yang lebih baik yang bertujuan melakukan perubahan genetik ikan sehingga menghasilkan benih-benih berkualitas tinggi seperti pertumbuhan yang cepat ukuran seragam serta kualitas daging yang bagus.

Salah satu penerapan rekayasa ilmu dan teknologi pada budidaya ikan yaitu perlakuan parthenogenesis. Parthenogenesis adalah perkembangan individu baru tanpa melalui proses pembuahan. Dengan kata lain bagian dari individu lama dapat menjadi individu baru.

Parthenogenesis merupakan reproduksi yang menghasilkan keturunan berupa individu betina tanpa adanya kontribusi genetik dari individu jantan. Dalam perkembangan teknologi kultur *in vitro*, kejadian embrio partenogenetik dapat diupayakan melalui aktivitas oosit dengan menggunakan bahan kimia (etanol), aliran listrik ataupun proses maturasi diperpanjang. (Mohamad et al, dalam Fuadiyah, 2007).

Penelitian ini menggunakan dasar manipulasi kromosom sebagai lanjutan gynogenesis yang memanipulasi aktivasi telur dengan menggunakan sperma yang dimatikan materi genetiknya dengan menggunakan sinar UV serta perlakuan heat shock (kejutan panas). Aktivasi tersebut dalam penelitian ini digantikan dengan menggunakan etanol yang dipanaskan dan penggunaan enzim protease tripsin sebagai pengganti akrosin (dalam akrosom sperma) yang berfungsi memecah zona pellucida. Menurut Ciptadi (2005) Stimulan buatan menggunakan etanol untuk meningkatkan kadar ion kalsium intraseluler diperlukan untuk menginduksi aktivasi oosit. Adanya pergerakan ion kalsium merupakan langkah awal pemicu siklus sel.

Perlakuan etanol panas mencegah terjadinya peloncatan polar body 2 juga sebagai aktivator dan pemberian enzim protease untuk memperlemah selaput sel sehingga dapat mengubah fisiologi ikan lele dumbo (*Clarias sp.*).

Pada penelitian ini selain teknik kawin suntik dilakukan juga dengan menggunakan metode aktivasi etanol (parthenogenesis) dan enzim protease tripsin, yang diharapkan dapat memproduksi benih unggul dari induk betina yang unggul (homozigot). Karena pada parthenogenesis dapat menghasilkan individu baru yang identik dengan indukannya sehingga individu tersebut murni/mutlak dari sifat indukan betina.

Ketika embryo dalam telur berkembang menjadi larva dan akan menetas melalui proses pemecahan sel telur. Pemecahan sel telur terjadi melalui proses mekanis, dibantu oleh adanya produksi enzim dari dalam sel telur untuk melemahkan selaput sel. Penetasan kadang-kadang terjadi tidak sesuai dengan waktu yang diperkirakan. Temperatur air dalam inkubator mempengaruhi perkembangan dan penetasan telur. Perkembangan dan penetasan telur akan berlangsung sangat cepat pada kondisi air yang hangat, karena mempengaruhi proses metabolisme dan mempercepat produksi material pelarut cangkang telur. Suhu air yang hangat dapat menyebabkan penetasan yang prematur sehingga menghasilkan larva-larva yang lemah (Rustidja, 2004).

Penetasan telur yang cepat dapat diperoleh dengan menggunakan sejenis enzim protease alkalin (Rustidja, 2004). Sedangkan pada proses parthenogenesis pemberian enzim dilakukan agar selaput sel melemah atau lunak sehingga telur teraktivasi etanol.



Penggunaan enzim protease tripsin dalam penelitian ini sebagai alternatif karena memiliki pH normal (7) lebih ke basa dengan pH 8-9. Dalam hal ini difungsikan sebagai pelunak chorion telur ikan lele dumbo sehingga bahan aktivasi etanol dapat masuk ke dalam telur sehingga terjadi parthenogenesis.

Enzim protease adalah enzim ekstraseluler yang dikeluarkan oleh mikroba, berfungsi menghidrolisis ikatan peptida pada protein, menghasilkan peptida yang lebih sederhana atau dapat pula menghasilkan asam amino. Enzim protease dalam industri pengolahan hasil perikanan dapat dipakai untuk melarutkan protein yang tidak diinginkan misalnya pada pengulitan ikan cumi-cumi, menghilangkan jaringan ikat pada selaput kulit telur ikan terbang, memodifikasi sifat-sifat fungsional konsentrat protein ikan, meningkatkan pengeringan tepung ikan serta memisahkan minyak dari daging ikan (Perangiangan *dalam* Kartikaningsih, 2005).

Tripsin adalah salah satu enzim proteolitik yang mempunyai kekhususan tinggi, enzim ini hanya menghidrolisis ikatan-ikatan peptid yang gugus karboksilnya disumbang oleh arginin atau lisin (Montgomery, et al, 1993). Tripsin merupakan contoh enzim yang merupakan protein-protein sederhana, yaitu hidrolisa secara sempurna menghasilkan hanya campuran asam amino (David, 1997).

Pembelahan sel ialah peristiwa dimana suatu sel membelah menjadi dua atau lebih sel baru. Sel yang terjadi sebagai hasil pembelahan itu setelah melalui proses pertumbuhan, maka bentuknya, besarnya dan sifatnya sama dengan sel semula. Pembelahan sel disebut juga divisio sel, adalah salah satu cara untuk melangsungkan hidup suatu organisme dengan demikian merupakan salah satu tanda khas kehidupan. Pada fase-fase pembelahan sel inilah dilakukan manipulasi dengan aktivator etanol.

Pada peristiwa pembelahan sel dapat dilihat 2 proses, yaitu pembelahan cytoplasma dan duplikasi nucleus. Apabila pembelahan nucleus tidak disertai pembelahan cytoplasma, maka hasilnya ialah sel yang berinti dua. Bila sebuah sel yang mempunyai dua inti ini, cytoplasmanya membelah tanpa diikuti pembelahan inti-inti, akan terjadi 2 cel masing-masing mempunyai sebuah inti kebanyakan sel membelah menjadi dua cytoplasma dan nukleus atau inti sama-sama membelah pada proses tersebut. Proses pembelahan yang terjadi pada cytoplasma disebut Cytoplasmic Cleavage dan peristiwa pembelahan inti selnya disebut dengan Nuclear Devison. Peristiwa pembelahan inti akan selalu mendahului terjadinya pembelahan cytoplasma dan sel keseluruhannya. Pembelahan inti meliputi terjadinya proses duplikasi dari chromosom-chromosomnya dan terpisahnya belahan-belahan chromosome itu untuk membentuk inti yang baru. (Moeljono, Soedaryanto, Setyono, 1984).

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol Panas dan Penambahan Enzim Protease Terhadap Keberhasilan Pengaktivasian (Parthenogenesis) Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*). Sebagai dasar perubahan genetik dari suatu spesies yaitu ikan lele dumbo (*Clarias gariepenus*).

### 1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol Panas dan Penambahan Enzim Protease Terhadap

Keberhasilan Pengaktivasian (Parthenogenesis) Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*).

### 1.5 Hipotesis

Ho : Diduga pemberian konsentrasi etanol panas yang berbeda dan penambahan enzim protease terhadap keberhasilan pengaktivasian (parthenogenesis) telur ikan lele dumbo tidak berpengaruh terhadap Perkembangan sel telur ikan lele.

H1 : Diduga pemberian konsentrasi etanol panas yang berbeda dan penambahan enzim protease terhadap keberhasilan pengaktivasian (parthenogenesis) telur ikan lele dumbo berpengaruh terhadap Perkembangan sel telur ikan lele.

### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian tentang pengaruh pemberian enzim protease dan etanol panas dengan dosis yang berbeda terhadap perkembangan telur ikan lele akan dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi, Pembenihan dan Pemuliaan Ikan, Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya pada bulan Mei-Agustus 2007.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Lele dumbo adalah salah satu jenis/hibrida ikan lele yang sudah lama diintroduksi ke Indonesia dari manca negara, yaitu Taiwan. P.T CIPTA MINA SENTOSA dari Jakarta tercatat dalam sejarah perikanan karena telah mendatangkan ikan lele hibrida baru ini pada bulan November 1986. Ketika dimasukkan ke wilayah Indonesia melalui bandara Soekarno-Hatta ikan lele ini tercatat bernama ilmiah *Clarias fuscus* dengan nama populer (Inggris) King Cat Fish yang berarti Raja Ikan Lele. Mempunyai sifat-sifat unggul seperti pertumbuhan yang cepat dan mencapai ukuran besar dalam waktu relatif pendek. Karena sifat tumbuhnya yang cepat maka diberi nama LELE DUMBO. Tidak jelas benar siapa sebenarnya yang memberi nama tersebut hingga saat ini dikenal sebagai lele dumbo. Setelah beberapa bulan ada pemberitaan yang menyatakan bahwa nama yang benar adalah *Clarias gariepinus*. Menurut keterangan peneliti pada Balai Peneliti Perikanan Air Tawar (BPPAT) Bogor, sebenarnya lele impor tersebut adalah hibrida atau hasil kawin silang antara jenis ikan lele asli Taiwan dan lele dari Afrika. Tetapi tidak jelas, apakah lele yang didatangkan tersebut merupakan hasil silang F-1, F-2, ataukah F-3. menurut keadaan morfologi, warna tubuh ukuran perbandingan panjang batok kepala dibanding panjang badan dan sifat-sifat lainnya, disimpulkan bahwa lele dumbo itu tidak mirip dengan *Clarias fuscus*, melainkan lebih mirip *C. Mossambicus* dari Afrika, dimana panjang batok kepalanya 1/5 bagian dari panjang badannya.

Menurut keterangan importirnya, lele yang diimpor tersebut adalah hasil kawin silang antara induk betina asli jenis Taiwan (*C. fuscus*) dengan induk lele jantan asal Kenya, Afrika (*C. mossambicus*) yang diberi nama *C. gariepinus*. Lele dumbo lebih banyak mewarisi sifat-sifat bapaknya, hingga diputuskan nama ilmiah ikan lele dumbo adalah : *Clarias gariepinus* (hibrida), dari kelas : Pisces, Ordo : Ostariophysi, Famili : Clariidae, Genus : Clarias. (Suyanto, 1986).

### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Menurut Khairuman (2002) ikan lele dumbo termasuk :

Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Klass	: Pisces
Sub kelas	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysi
Subordo	: Silaroidae
Famili	: Clariidae
Genus	: Clarias
Spesies	: <i>Clarias gariepinus</i>

Phylum *Chordata*, Kelas *Pisces*, Anak Kelas *Telestei*, Bangsa *Ostariophysi*, Anak Bangsa *Siluridae*, Suku *Claridae*, Marga *Clarias* dan Jenis *Clarias gariepinus* (Anonymous, 2007).

Di Indonesia ada 6 (enam) jenis ikan lele yang dapat dikembangkan:

- 1) *Clarias batrachus*, dikenal sebagai ikan lele (Jawa), ikan kalang (Sumatera Barat), ikan maut (Sumatera Utara), dan ikan pintet (Kalimantan Selatan).

- 2) *Clarias teysmani*, dikenal sebagai lele Kembang (Jawa Barat), Kalang putih (Padang).
- 3) *Clarias melanoderma*, yang dikenal sebagai ikan duri (Sumatera Selatan), wais (Jawa Tengah), wiru (Jawa Barat).
- 4) *Clarias nieuhofi*, yang dikenal sebagai ikan lindi (Jawa), limbat (Sumatera Barat), kaleh (Kalimantan Selatan).
- 5) *Clarias loiacanthus*, yang dikenal sebagai ikan keli (Sumatera Barat), ikan penang (Kalimantan Timur).
- 6) *Clarias gariepinus*, yang dikenal sebagai lele Dumbo (Lele Domba), King cat fish, berasal dari Afrika. (Anonymous, 2006).

Penyebaran ikan ini melampaui batas benua, sehingga membuatnya dikenal dengan berbagai nama internasional seperti *mali* (Afrika), *plamond* (Thailand), ikan *keli* (Malaysia), *gura magura* (Srilangka), *ca tre trang* (Jepang). Istilah dalam bahasa Inggris-pun cukup beragam, mulai dari *catfish*, *siluroid*, *mudfish* dan *walking catfish*. Beberapa keterangan menyatakan bahwa lele dumbo (*Clarias gariepinus*) merupakan hasil persilangan lele lokal yang berasal dari Afrika dengan lele lokal dari Taiwan.

Ciri-ciri morfologis ikan lele adalah ikan ini tidak bersisik dan licin, berwarna gelap pada bagian punggung dan sisi tubuh. Bila kena sinar, kulitnya berubah menjadi lebih terang. Bila dalam keadaan stres, kulitnya nampak seperti mosaik berwarna gelap dan total-total putih (terang) (Richter dan Rustidja, 1985). Ikan lele bersifat nokturnal, aktif pada malam hari atau lebih menyukai tempat gelap. (Suyanto Rachmatun, 1986).

Lele dumbo dengan mulutnya yang lebar (sesuai dengan besar tubuhnya) dapat menghisap organisme di dasar perairan dan makanan buatan. Ciri morfologis lainnya adalah sungutnya. Sungut berada di sekitar mulut berjumlah delapan buah atau empat pasang terdiri dari sungut masal dua buah, sungut mandibular luar dua buah, mandibular dalam dua buah, serta maxilar dua buah. Selain mengenal mangsanya dengan alat penciuman, lele dumbo dapat mengenal dan menemukan makanan dengan cara rabaan (tentakel) dengan menggerak-gerakkan salah satu sungutnya terutama mendibular (Santoso, 1994).

Karena mulutnya lebar (bukaan vertical), maka *Clarias gariepinus* dapat memakan berbagai makanan dari zooplankton yang kecil sampai ikan. Dia dapat menghisap benthos dari dasar, merobek-robek bangkai dengan giginya yang kecil dan dapat menelan mangsanya bulat-bulat seperti misalnya ikan. Mangsa yang paling besar yang dapat dimakan oleh binatang pemangsa ini ditentukan oleh lingkaran mulutnya, yang kira-kira seperempat panjang badan. Lele panjangnya 30 cm (kira-kira 200 gr) mempunyai mulut keliling lingkarannya kira-kira 7,5 cm. luas mulut ini cukup untuk menangkap *Tilapia nilotica* yang mempunyai keliling sampai dengan 8-10 cm, sehingga dengan demikian *Clarias gariepinus* merupakan pemangsa (predator) yang baik sekali untuk mencegah populasi tilapia yang berlebihan dalam kolam (Richter dan Rustidja, 1985).

Sirip pada *Clarias gariepinus*, sirip tunggal terdiri dari sirip dorsal, caudal dan anal, sedangkan sirip yang berpasangan terdiri dari sirip pectoral dan ventral. Pada sirip pectoral tumbuh duri yang kuat untuk fungsi pergerakan dan perlindungan. Duri-

duri ini tidak beracun. Ikan ini dapat berpindah melalui daratan (Richter dan Rustidja, 1985). Ikan lele dumbo memiliki 3 buah sirip tunggal, yaitu sirip punggung yang berfungsi sebagai alat berenang, sirip dubur, dan sirip ekor yang berfungsi sebagai alat bantu mempercepat dan memperlambat gerakan. Selain itu, lele dumbo juga mempunyai dua sirip berpasangan yaitu, sirip dada dan sirip perut. Sirip dada memiliki jari-jari yang keras dan runcing yang biasa disebut patil. Alat ini berfungsi sebagai senjata sekaligus alat bantu gerak kekanan dan kekiri, tetapi tidak beracun (Bachtiar,2006)

Insang dan alat-alat arborescent. Distribusi insang dan alat-alat arborescent pada kelima branchial arcs. Bagian-bagian ini dapat dilihat setelah operculum dibuka. Dalam bernafas, air dimasukkan ke mulut dialirkan melalui insang dimana terjadi pertukaran gas, dan kemudian dikeluarkan melalui lubang opercular. Apabila oksigen di air habis atau apabila Catfish sedang berada diluar air, maka ia secara periodik menelan udara melalui mulutnya. Pertukaran gas terjadi melalui alat-alat aborescent yang ada dalam kamar-kamar udara yang terletak diatas insang. Udara ini juga dikeluarkan melalui lubang opercular. Ikan ini tahan hidup dalam lumpur pada waktu musim kering dan bahkan dapat hidup di luar air selama berjam-jam tergantung dari kelembaban yang ada disekitarnya. Oleh karena kemampuan bernafas di udara inilah, maka Catfish bisa bertoleransi terhadap air yang oksigennya rendah sehingga ikan ini sangat cocok untuk dikultur. (Richter dan Rustidja, 1985).

Gill rakersnya yang lentur dan panjang terdapat di sepanjang concave anterior border dari branchial arcs. Gill rakers terutama berfungsi sebagai filter ketika makan tetumbuhan dan binatang tak bertulang belakang yang kecil. Sistem Urogenital pada



ikan jantan dan betina lubang urogenital terletak pada papilla tepat dibelakang anus. Ikan jantan dewasa dapat dibedakan dari betina karena papillanya menjulur memanjang ke belakang. Papilla Catfish betina berbentuk oval pada tahap fingerling papillanya belum berkembang (Richter dan Rustidja, 1985).

### 2.1.2 Habitat (lingkungan hidup)

Semua perairan tawar dapat menjadi lingkungan hidup atau habitat lele dumbo. Misalnya waduk, danau, rawa dan genangan air tawar lainnya. Di alam bebas, lele dumbo ini memang lebih menyukai air yang arusnya mengalir secara perlahan atau lambat. Terhadap aliran air/arus yang deras lele dumbo kurang menyukainya. Oleh karena itu, sungai yang arusnya lambat sering terdapat lele.

Walaupun lele dumbo jelas mendiami perairan tawar, namun sering terdapat pada perairan agak asin dan payau pada kisaran salinitas tertentu. Lele dumbo asal Afrika ternyata toleransi terhadap suhu air yang cukup tinggi yaitu  $20^{\circ}\text{C}$  -  $25^{\circ}\text{C}$ . Di samping itu, ia dapat hidup pada kondisi lingkungan yang jelek. Dengan kata lain, kondisi air yang kandungan oksigennya sangat minim lele dumbo masih dapat bertahan hidup, karena lele dumbo dikaruniai alat pernafasan tambahan yang disebut organ arborescent. (Santoso, 1994).

Cat fish afrika (*Clarias gariepinus*, Burch) tersebar luas di seluruh Afrika. Ia terdapat di rawa-rawa tropis, danau-danau dan sungai-sungai yang dapat menjadi kering pada musim panas. Di Afrika Utara dan Tengah terdapat jenis Cat Fish *Clarias lazera*, di Afrika Barat *Clarias mossambicus* dan di Afrika Selatan terdapat *Clarias gariepinus* (Richter dan Rustidja, 1985).

Siklus reproduksi ikan *Clarias gariepinus* di sebagian besar negara Afrika mulai terjadi pada awal musim hujan. Rupa-rupanya stimulus bagi ikan untuk berpijah ada hubungannya dengan naiknya permukaan air dan adanya banjir di daerah-daerah pinggiran. Peristiwa pemijahan ini terjadi di air antara kumpulan-kumpulan lele jantan dan betina. Kedalaman air sering kurang dari 10 cm dan terletak di tepi danau atau kolam. *Clarias gariepinus* berpijah di tempat yang terlindung pada bermacam-macam substrat termasuk serat sisal, daun-daun palma dan batu-batu. Selama percumbuan yang dapat berlangsung beberapa jam, telur dikeluarkan dalam satu kelompok dan dibuahi dengan sperma. Dengan mengibas-ibaskan ekornya pada telur tadi ikan betina menyebarkan telur-telur ini meliputi daerah yang luas sampai akhirnya telur-telur menempel pada tumbuhan yang digenangi air. Telurnya tidak dijaga oleh induknya. Setelah bertelur, kumpulan ikan ini kembali ke air yang lebih dalam.

Setelah beberapa minggu ikan ini sering telah siap untuk berpijah lagi dan kegiatan yang kedua dapat dimulai lagi tergantung pada curah hujan atau datangnya air dari sumbernya. Dengan jalan ini pemijahan dapat terjadi berkali-kali dalam satu tahun. Telur-telur ini akan menetas sekitar 24-28 jam, tergantung dari temperatur airnya.

## 2.2 Perkembangan Telur Ikan

Proses pematangan telur berupa perubahan-perubahan dalam struktur, kedudukan, cytoplasma dan juga mencakup fungsi dan fisiologis. Pada telur yang sudah matang bagian terbesar merupakan substansi lemak, karbohidrat dan protein.

Bersamaan dengan proses pematangan pada cytoplasma, suatu lapisan pembungkus telur paling luar terbentuk yaitu chorion. Antara chorion dengan kuning telur terbentuk ruang periviteline yang berisi suatu cairan (plasma) yang berguna agar sel telur atau embrio dapat bebas berputar dan selalu diliputi plasma.

Perkembangan ovarium biasanya terdiri dari beberapa tingkat yang didasarkan atas pengamatan secara mikroskopis ataupun makroskopis. Menurut Effendie (1979), bahwa umumnya sudah dapat diduga bahwa semakin meningkat tingkat kematangan, garis tengah telur yang ada dalam ovarium semakin besar pula. Penelitian mengenai hal-hal ini menyatakan bahwa tiap tingkat kematangan, garis tengah telur itu mempunyai kisaran nilai tertentu yang paling banyak. Dan akan didapatkan pula nilai-nilai yang bertumpu pada perbatasan tingkat kematangan yang berdekatan. Adapun cara menilai tingkat kematangan gonad di kemukakan oleh (Kesteven, Begenal dan Braum, 1986) dalam Effendie (2002), dimana perkembangan gonad dibagi menjadi sembilan tingkatan, yaitu :

- I. DARA. Ovarium sangat kecil dan terletak di bawah tulang punggung, tidak berwarna sampai berwarna abu-abu dan transparan. Butir-butir telur tidak terlihat dengan mata biasa.
- II. DARA BERKEMBANG. Ovarium jernih sampai abu-abu merah, panjangnya setengah atau lebih sedikit dari panjang rongga bawah. Butir telur satu per satu dapat terlihat dengan kaca pembesar.
- III. PERKEMBANGAN I. Ovarium bentuknya bulat telur, berwarna kemerah-merahan karena pembuluh darah kapiler, mengisi kira-kira

setengah ruang ke bagian bawah. Butir-butir telur dapat terlihat seperti serbuk putih dan terlihat oleh mata biasa.

IV. PERKEMBANGAN II. Ovarium berwarna oranye kemerah-merahan.

Telur jelas dapat dibedakan, bentuknya bulat telur, mengisi kira-kira dua per tiga ruang bawah.

V. BUNTING. Ovarium mengisi penuh ruangan rongga bawah telur berbentuk bulat telur dan jernih.

VI. MIJAH. Telur mudah keluar dengan sedikit tekanan pada perut, kebanyakan telur jernih dan hanya beberapa butir telur saja yang berbentuk bulat telur terdapat dalam ovarium.

VII. MIJAH/SALIN. Ovarium belum kosong sama sekali, tidak ada telur yang berbentuk bulat telur.

VIII. SALIN. Ovarium kosong dan berwarna kemerahan, beberapa butir telur sedang dihisap kembali.

IX. PULIH SALIN. Ovarium jernih sampai abu-abu kemerahan.

Menurut Woynarovich (1980), pada ukuran 600-900 micron, termasuk pada tahap VI, dimana tahap ini merupakan tahap ketiga dari vittelogenesis. Selama tahap ini kuning telur mendesak titik-titik lemak ke bagian tepi sel, sehingga membentuk cincin rangkap.

Tahap perkembangan kantung kuning telur, dicirikan dengan terbentuknya kantung atau vesikel. Pada perkembangan telur selanjutnya, kantung kuning telur ini akan membentuk kortikal alveoli yang berisi butir-butir korteks. Tahap ini juga

dicirikan dengan terbentuknya zona radiata, perkembangan ekstraselular dan bakal korion.

Vitelogenesis, dicirikan oleh bertambah banyaknya volume sitoplasma yang berasal dari luar sel, yakni kuning telur atau disebut juga vitelogenin. Vitelogenin disintesis oleh hati dalam bentuk lipophosphoprotein-calsium kompleks dan hasil mobilisasi lipid dari lemak viseral. Selanjutnya, kuning telur dibawa oleh darah dan ditransver ke dalam sel telur secara endositosis.

Tahap akhir dari perkembangan telur adalah tahap pematangan, yakni tahap pergerakan germinal vesikel ke tepi dan akhirnya melebur (*germinal vesicle break down*) selanjutnya membentuk pronuklei dan polar bodi II. Letak germinal vesicle dan butir-butir korteks telur yang belum terbuahi (Wallace dan Selman, 1981 *dalam* Billard, 1992).

Sedangkan menurut Rustidja (2004), seluruh proses perkembangan telur dapat dibedakan ke dalam beberapa fase. Perkembangan ukuran sel telur pada stadia yang berbeda seperti penjelasan di bawah ini (*fase perkembangan telur ikan mas*)

Stadia I : sel telur primitif (ovogonium dan achorogonium) masih sangat kecil, ukurannya lebih besar dari sel-sel lain (8-12 mikron), pembelahannya secara mitosis.

Stadia II : sel telur berkembang menjadi ukuran 12-20 mikron, mulai membentuk folikel di sekitar sel telur. Folikel berfungsi untuk memelihara dan melindungi perkembangan telur, kadang-kadang berfungsi sebagai lapisan rangkap dari sel.

Stadia III : selama stadia tersebut, sel telur tumbuh dan bertambah besar secara nyata mencapai ukuran 40-200 mikron dan tertutup oleh folikel.

Tiga stadia awal ini merupakan periode yang belum menggunakan nutrisi untuk perkembangan telur.

Stadia IV : Selama stadia ini mulai terjadi produksi dan pengumpulan nutrisi dari kuning telur. Telur terus berkembang menjadi ukuran 200-300 mikron dengan akumulasi bintik-bintik material lipid dalam cytoplasmanya.

Stadia V : Stadia ini merupakan fase kedua dari vitellogenesis. Cytoplasma dipenuhi oleh bintik-bintik lipid dan mulai menghasilkan kuning telur. Ukuran telur 350-500 mikron.

Stadia VI : Merupakan fase ketiga dari vitellogenesis, pada fase ini kuning telur merupakan bintik-bintik lipid ke bagian pinggir dari sel. Dimana mulai membentuk dua cincin. Nucleoli berperan mensintesa protein dan akumulasi nutrisi. Terlihat dengan membran dari nukleus, diameter telur 600-900 mikron.

Stadia VII : Proses vitellogenin telah lengkap pada stadia ini berukuran 900-1000 mikron, ketika akumulasi kuning telur berakhir, nucleoli tertarik ke bagian tengah nukleus. Mycrophyle berkembang selama stadia ini.

### 2.3 Fertilisasi

Fertilisasi pada hewan air khususnya ikan ada dua cara yaitu fertilisasi internal dan eksternal (alami) kalau untuk ikan secara umum melalui pembuahan eksternal.

Sedangkan untuk hewan air lainnya misalnya ikan paus dengan cara pembuahan internal. Adapun dalam penelitian ini cara fertilisasi yang digunakan adalah fertilisasi buatan, yaitu dengan cara mencampur telur ikan dari ikan resipien dengan sperma ikan yang telah disediakan. Sperma ikan ditetaskan kedalam telur kemudian digoyang-goyangkan selama kurang lebih satu menit supaya telur dan sperma tercampur merata dan telur dapat terbuahi seluruhnya. Sedangkan pada kontrol yang tanpa menggunakan sperma telur dibiarkan berkembang di media perkembangan embrio telur ikan tanpa dilakukan pencampran dengan sperma dari jantan, jadi hanya telur saja.

Tahap penting dari fertilisasi, yaitu awal persatuan antara sel mani dan sel telur. Yang menjadi masalah utama, mengapa persatuan tersebut hanya berlangsung antara sel telur dan sel mani tertentu saja, Mengapa tidak terjadi persatuan antara sel telur dengan sel telur, Mengapa tidak terjadi persatuan antara sel mani yang berbeda spesiesnya, Proses yang harus dilewati sel mani untuk bertemu dengan sel telur yaitu dinamakan dengan kapasitas. Diduga pada saat kapasitas terjadi perubahan susunan kimia membran sel mani sehingga pada saat bersatu dengan sel telur, membran plasma mani terikat dengan molekul glikoprotein dari zona pellucida sel telur. (Subowo,1995).

Apabila membran plasma pada ujung sel mani telah dapat kontak dengan membran plasma sel telur maka bersatulah kedua membran tersebut yang diikuti oleh masuknya bahan inti sel mani ke dalam sel telur. Persatuan membran plasma sel mani dan sel telur juga akan memacu aktivasi sel telur yang dimulai dengan peningkatan aktivasi sintesis DNA sehingga terjadilah pembelahan sel telur (Subowo,1995).

## 2.4 Embriogenesis

Menurut Tang dan Ridwan (2000), embriogenesis merupakan masa perkembangan sejak pembuahan sampai ikan mendapat makanan dari luar. Sedangkan embrio adalah makhluk yang sedang berkembang sebelum makhluk tersebut mencapai bentuk definitif seperti bentuk makhluk dewasa.

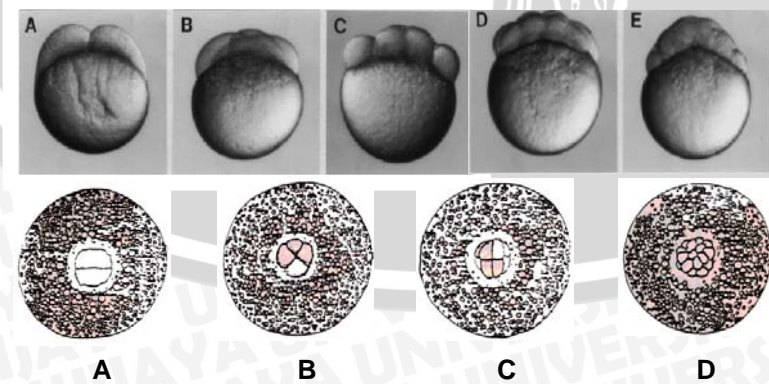
### 2.4.1 Pembelahan Sel Zigot (*Cleavage*)

Pembelahan zygot (*cleavage stage*) merupakan rangkaian mitosis yang berlangsung berturut-turut segera setelah terjadi pembuahan. Pembelahan zygot berlangsung cepat sehingga sel anak tidak sempat tumbuh sehingga besar sel anak makin lama makin kecil sesuai tingkat pembelahan. Akibat pembelahan menghasilkan kelompok sel anak yang disebut morula dan sel anak disebut blastomer. Blastomer melekat satu sama lain oleh kekuatan saling melekat yang disebut tigmotaksis (Tang dan Ridwan, 2000).

Menurut Woynarovich (1980), pada saat *swelling* atau perkembangan telur telah lengkap, telur mengalami dua fase yaitu inti menjadi bentuk yang lebih dibedakan, baik dari bentuk maupun warna. Kutub animal berkembang berbentuk bukit kecil dan kuning telur berkembang menjadi warna kuning gelap dimana proses tersebut tergantung dari temperatur air. Pembelahan kutub animal dimulai dari satu sel berturut-turut menjadi 2, 4, 8, 16 dan 32 sel. Stadia ini terlihat seperti buah *mulberry* dan hal ini merupakan akhir dari fase banyak sel atau blastoderm yang dimulai dari satu selaput sel yang kemudian secara berangsur-angsur berkembang menjadi beberapa selaput sel. Pada awal pembelahan sel yang terjadi segera setelah pembuahan, sel yang berukuran besar ini membagi-bagi dirinya melalui pembelahan



mitosis beberapa kali. Sel-sel hasil pembelahan ini dinamakan *blastomer*. Massa keseluruhan blastomer tidak berubah dari massa telur sebelum mengalami pembelahan, artinya sampai saat ini tidak ada penambahan atau pengurangan massa. Waktu pembelahan-pembelahan awal sangat cepat, karena membutuhkan waktu sekitar 30 menit. Pembelahan pertama berlangsung melalui bidang vertikal telur atau sejajar dengan sumbu yang menghubungkan kutub-kutub animal dan vegetal. Dari cara pembelahan ini akan diperoleh sel yang terletak simetris. Pembelahan berikutnya juga berlangsung melalui bidang vertikal sehingga sampai sekarang telah dihasilkan empat buah sel yang berukuran yang sama besar. Pembelahan ketiga melalui bidang horizontal yang letaknya sedikit di atas garis tengahnya dari empat sel tadi, sehingga dari pembelahan tersebut akan diperoleh 2 kelompok sel. Empat buah sel yang berukuran lebih besar terdapat di bawah empat buah sel yang berukuran lebih kecil. Selanjutnya, sampai pembelahan yang ke-12 pertama, sel-sel membelah masing-masing dalam waktu yang sama, tetapi pembagiannya asimetri sehingga bagian sel sebelah bawah (sel vegetal) berukuran lebih besar dan jumlahnya lebih sedikit daripada bagian atasnya (Subowo, 1995).



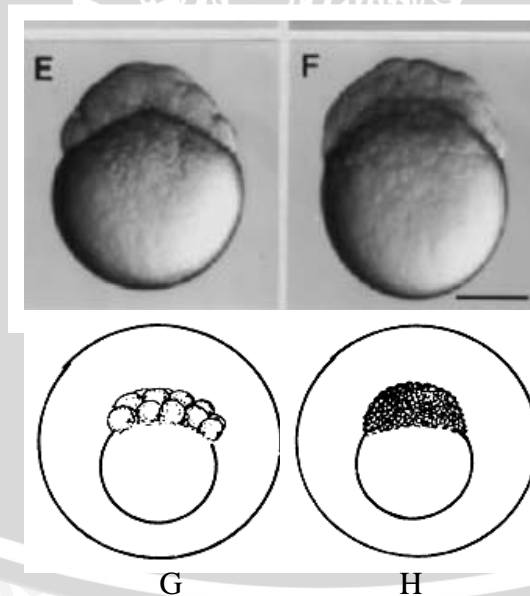
Gambar 1 : Pembelahan cleavage (Anonymus, 2006)

Keterangan : A. 2 sel; B. 4 sel; C. 8 sel; D. 16 sel; E. 32 sel (Ikan Zebra)

### 2.4.2 Stadia Morula

Stadia morula dimulai saat pembelahan mencapai 32 sel. Pada saat ini ukuran sel mulai beragam. Sel membelah secara melintang dan mulai terbentuk formasi lapisan kedua secara samar pada kutub animal. Stadia morula berakhir apabila pembelahan sel sudah menghasilkan blastomer yang ukurannya sama tetapi ukurannya lebih kecil. Sel tersebut memadat untuk menjadi blastodisk kecil membentuk dua lapisan sel (Tang dan Ridwan, 2000).

Pada stadia morula, perkembangan embrio sangat sensitif terhadap guncangan dan sel tersebut mudah terlepas dari permukaan sehingga menyebabkan kematian dari embrio dalam sel terbentuk ruang yang berukuran kecil antara kuning telur dan masa sel yang disebut *segmentation cavity*.



Gambar 2: Pembelahan morula (Anonymous, 2006)

Keterangan : E, G. 32 sel (morula awal); F, H. 64 sel (morula akhir) (E, F telur ikan Zebra) dan (G, H Finfish).

### 2.4.3 Blastulasi

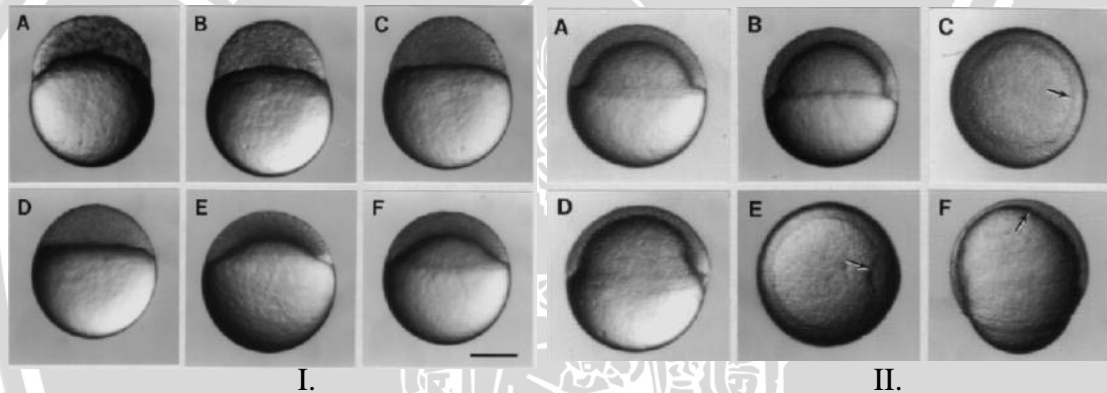
Menurut Nelsen (1954) dalam Effendie (2002) sel yang menempel kuning telur membuat penjuruan plasma ke bagian dalam sehingga seperti lapisan dibawah mangkuk terbalik. Lapisan itu dinamakan **periblast** atau **tropoblast** yang erat hubungannya dengan substansi kuning telur. Rongga yang ada didalamnya dinamakan **blastocoel**. Stadium demikian dinamakan stadium **blastula awal**.

Sebagai kelanjutan stadium Blastula awal ialah stadia blastula dimana sel-selnya terus mengadakan pembelahan dengan aktif sehingga ukuran sel-selnya semakin menjadi kecil. Pada stadia blastula ini terdapat dua macam sel yaitu sel formatif dan non formatif. Sel formatif masuk ke dalam komposisi tubuh embrionik, sedangkan sel non formatif sebagai tropoblast yang ada hubungannya dengan nutrisi embrio. Sel blastoderm yang kelak akan menjadi bagian depan embrio, lapisannya menjadi tebal. Sel-sel bagian pinggir blastoderm yang dekat kuning telur juga lapisannya menjadi tebal yang dinamakan **cincin kecambah**. Pada saat stadium blastula ini terdapat daerah sel yang dapat diperkirakan atau dipetakan menjadi lapisan ectoderm (epiblast), entoderm (hypoblast), dan mesoderm (mesoblast) (Effendie, 2002).

Blastulasi merupakan proses pembentukan blastula, dimana kelompok sel-sel anak hasil pembelahan berbentuk benda yang relatif bulat dan ditengahnya terdapat rongga. Thropoblast terletak diantara kuning telur dan sel-sel blastoderm dan membungkus semua kuning telur tersebut. Pada blastula ini sudah terdapat daerah yang akan berdiferensiasi membentuk organ-organ tertentu seperti sel-sel saluran pencernaan, notochorda, syaraf dan epiderm, eksoderm, mesoderm dan endoderm.

Bentuk dan fungsi beberapa bagian blastula terjadi melalui diferensiasi yakni sebuah atau sekelompok sel mengalami perubahan secara kimia, bentuk dan fungsi. Diferensiasi kimia merupakan langkah awal untuk diferensiasi-diferensiasi berikutnya dan sifatnya menentukan atau membatasi kegiatan sel kearah fungsi tertentu (Fujaya, 1999).

Pada akhir proses blastulasi, sel-sel blastoderm akan terdiri atas neural, epidermal, notokhordal, mesodermal dan endodermal yang merupakan bekal pembentukan organ-organ (Murtidjo, 2001).



Gambar 3 : Pembelahan blastula

Keterangan : A-E I : morula akhir, F I : Blastula awal, A-D II : Blastula; E-F II : Blastula Akhir (pada ikan Zebra) (Anonymous, 2006)

#### 2.4.4 Gastrulasi

Gastrulasi adalah proses pembentukan tiga daun kecambah yaitu ektoderm, mesoderm dan endoderm. Proses ini umumnya sama bagi ikan yang pembelahan telurnya meroblastik. Gastrulasi ini erat kaitannya dengan pembentukan sistem syaraf (neurolasi) sehingga merupakan periode kritis. Pada proses ini terjadi perpindahan

daerah ektoderm, mesoderm dan endoderm serat notokorda menuju tempat yang definitif. Ektoderm adalah lapisan luar dari gastrula, disebut juga ektoblas atau epiblas. Endoderm adalah lapisan sel-sel terdalam pada gastrula, sedangkan mesoderm atau mesoblast adalah lapisan sel lembaga yang terletak ditengah antara ektoderm dan endoderm (Fujaya, 1999).

Gastrula sebagai kelanjutan dari stadium blastula lapisannya berkembang dari satu menjadi dua lapis sel. Awal dari gastrulasi ini terjadi begitu stadium blastula selesai. Proses pembelahan sel dengan pergerakannya berjalan lebih cepat daripada dalam stadium blastula. Dalam garis besarnya proses pergerakan sel dalam stadium gastrula ada dua macam yaitu epiboly dan emboly. Epiboly ialah suatu gerakan sel-sel yang kelak dianggap akan menjadi epidermis dan daerah persyarafan, dimana pergerakannya itu ke depan, ke belakang dan juga ke sampingnya dari sumbu yang akan menjadi embrio. Jadi dengan epiboly akan terjadi penutupan kuning telur kecuali di tempat yang dinamakan blastopore. Sedangkan emboly ialah pergerakan sel yang arahnya menuju ke bagian dalam terutama di ujung sumbu bakal embrio.

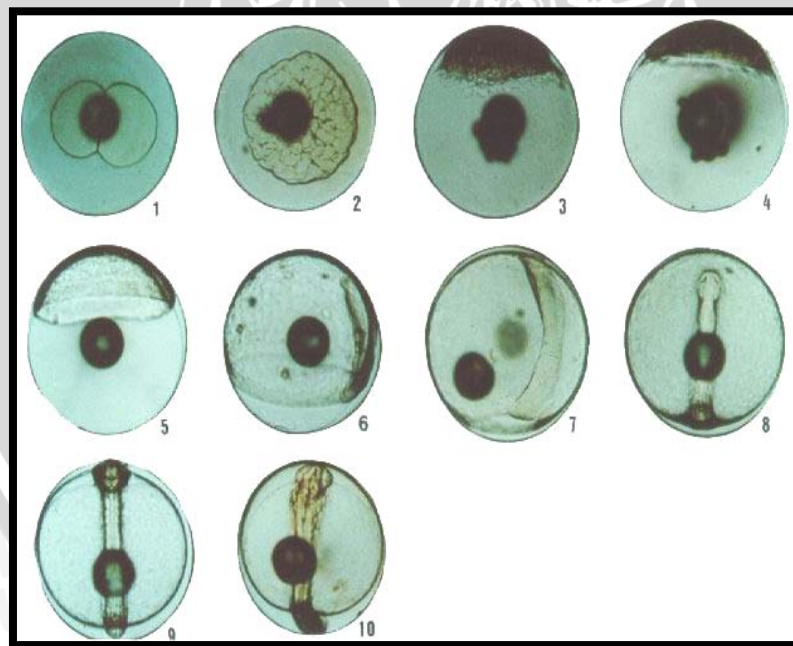
Dalam proses emboly ini ada beberapa pergerakan yang satu sama lain dapat dibedakan dan diantaranya ialah : involusi, invaginasi dan delaminasi. Involusi ialah pergerakan sel dengan rotasi menuju ke bagian dalam di daerah pinggir blastopore. Didalam proses ini sel-sel pinggir blastopore akan masuk menjadi lapisan di bawahnya. Invaginasi ialah proses mendalamnya lapisan sel yang akan membentuk suatu lekukan dimana di pinggirnya terdapat penonjolan. Delaminasi ialah pemisahan beberapa kelompok sel, terutama dari lapisan ectoderm, kemudian membuat lapisan baru yaitu lapisan mesoderm (Effendie, 2002).

Pada proses gastrulasi terjadi pergerakan massa sel yakni epiboli dan emboli. Epiboli meliputi pergerakan sepanjang sumbu antero-posterior dan meluas ke tepi (divergensi). Pergerakan ini mencakup pergerakan bakat epidermis dan daun syaraf serta erat kaitannya dengan pengaturan daerah daun syaraf dan epidermis. Gerakan epiboli di sebelah luar, diikuti oleh gerakan di sebelah dalam embrio (gerakan eksistensi). Pergerakan emboli mencakup pergerakan involusi (bergerak ke dalam), invaginasi (melekuk dan melipat ke arah dalam), evaginasi (kebalikan dari invaginasi), divergensi (memisahkan diri dari kelompok sel asalnya). Selain itu mencakup juga gerakan pemanjangan, pengluasan, penyempitan blastopore (Fujaya, 1999).

Gastrulasi mengubah embrio dalam bangunan yang berlapis tiga, yaitu: epitel sebelah dalam *endoderm*, epitel sebelah luar *eksoserm* dan lapisan di antaranya sebagai sel-sel *mesoderm* yang kemudian sel-selnya melepaskan diri dari ikatan epitel. Lapisan endoderm akan membentuk lapisan dalam dari usus dan jaringan turunnya seperti kelenjar pencernaan: lapisan ektoderm terutama akan membentuk epidermis dan susunan syaraf, sedangkan lapisan mesoderm akan membentuk sebagian besar jaringan otot, jaringan pengikat, susunan pembuluh peredaran dan saluran kencing dan kelamin (Subowo, 1995).

Akhir dari proses gastrulasi apabila kuning telur sudah tertutup oleh lapisan sel. Bersamaan dengan selesainya proses gastrulasi, sebenarnya sudah dimulai awal pembentukan organ-organ (organogenese) yang didahului oleh semacam pembuatan bumbung oleh jaringan-jaringan epidermis, neural, mesoderm dan endoderm. Bumbung neural dibentuknya dengan tenggelamnya lekukan neural yang berasal dari

lapisan ectoderm. Organ yang dibentuk dari jaringan neural antara lain otak, ganglion dan mata. Organ yang berasal dari endoderm ialah lapisan bagian dalam alat pencernaan makanan dengan kelanjarnya dan juga sebagian dari kelenjar endocrine. Lapisan mesoderm dibagi menjadi tiga bagian yaitu bagian dorsal, intermediate dan lateral. Dari mesoderm bagian dorsal akan terbentuk menjadi somite yaitu semacam ruas yang terdapat pada embrio. Dari mesoderm intermediate diantaranya akan terbentuk ginjal dan gonad. Sedangkan dari mesoderm lateral akan terbentuk pembungkus jantung dan pembungkus pembuluh darah. Di dalam somite terdapat sclerotom, myotome dan dermatome. Sclerotom kelak akan menjadi rangka axial, myotom menjadi urat daging dan dermatome akan menjadi dermis dengan derivatnya (Effendie, 2002).



Gambar 4 : Pembelahan sel telur pada ikan kerapu

Keterangan : 1) 12 cell; 2) multi cell. 3) morula, 4) Blastula, 5) gastrula 6) neurola, 7) awal embrio, 8) calon mata terbentuk, 9) embrio lengkap, 10) siap menetas (Anonymous, 2005)

#### 2.4.5 Organogenesis

Organogenesis adalah proses pembentukan alat-alat tubuh makhluk yang sedang berkembang. Sistem organ tubuh berasal dari tiga daun kecambah yakni ektoderm, mesoderm dan endoderm. Dari ektoderm akan terbentuk saluran pencernaan beserta kelenjar-kelenjar pencernaan dan pernafasan. Sedangkan dari mesoderm akan terbentuk rangka, otot, sistem peredaran darah, ekskresi, alat reproduksi dan korium kulit. Derivat-derivat ektoderm selanjutnya adalah lapisan luar gigi, epitelium olfaktorius, syaraf, lensa mata. Bulu neutral muncul dari rigi neural yang terbenam berasal dari ektoderm dan dari bulu neural tersebut terbentuk otak dan sumsum tulang belakang serta bagian dari mata yaitu retina, syaraf dan lainnya (Fujaya, 1999).

Mesodermal badan segera setelah terbagi menjadi dorsal, intermediate dan lateral. Mesoderm dorsal terbagi menjadi kelompok-kelompok somit. Tiap somit terbagi menjadi tiga bagian yaitu skelerotom, myotom dan dermatom. Skelerotom membentuk rangka axial, myotom berkembang menjadi otot tubuh, rangka apendicular, sirip dan otot-ototnya, dermatom berkembang menjadi jaringan-jaringan ikat dermis dan derivat-derivat kulit termasuk sisik dan lainnya (Fujaya, 1999).

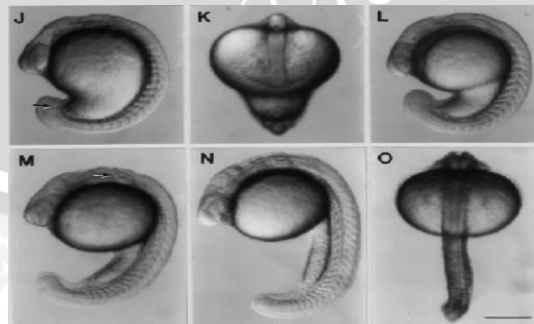
Pembentukan semua organ tubuh hampir sempurna ketika telur akan menetas. Selama pembentukan organ tersebut, yaitu semenjak telur dibuahi, chorion menjadi semakin keras. Hal ini menunjukkan bahwa telur itu mengadakan perlindungan untuk menjaga gangguan dari luar selama proses pembentukan organ-organ sedang berjalan. Pada waktu akan menetas kekerasan chorion akan menurun kembali (Nikolsky, 1963. dalam Effendie, 2002).



#### 2.4.6 Penetasan

Menetas merupakan saat terakhir masa pengeraman sebagai hasil beberapa proses sehingga embrio keluar dari cangkangnya. Pada saat akan terjadi penetasan seperti yang telah dikemukakan, kekerasan chorion semakin menurun. Hal ini disebabkan oleh substansi enzim dan unsur kimia lainnya yang dikeluarkan oleh kelenjar endodermal di daerah pharynx. Enzim ini dinamakan chorionase yang terdiri dari pseudokeratine yang kerjanya bersifat mereduksi chorion menjadi lembik (Effendie, 2002).

Menurut Murtidjo (2001), peristiwa penetasan terjadi jika embrio telah menjadi lebih panjang lingkaran kuning telur dan telah terbentuk perut. Selain itu, penetasan telur juga disebabkan oleh gerakan larva akibat peningkatan temperatur, intensitas cahaya dan pengurangan tekanan oksigen. Setelah telur menetas, embrio memasuki fase larva atau fase embrio yang masih berbentuk primitif dan sedang dalam proses perubahan untuk menjadi bentuk definitif dengan cara metamorfose. Pada ikan air tawar, fase akhir larva ditentukan oleh habisnya isi kantong kuning telur. Saat itu merupakan akhir dari bentuk. Dengan bentuk definitif, larva sudah ada lipatan sirip dan bintik pigmen (Murtidjo, 2001).



Gambar 5 : J-L : Organogenesis dan M-O : Penetasan (perkembangan larva)  
(Anonymous, 2006)

Semakin aktif embrio bergerak, maka akan semakin cepat terjadinya penetasan. Aktifitas embrio dan chorionase dipengaruhi oleh faktor dalam dan faktor luar. Faktor dalam antara lain hormon dan volume kuning telur. Pengaruh hormon misalnya adalah hormon yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisa dan tyroid yang berperan dalam proses metamorfosa, sedangkan volume kuning telur berhubungan dengan perkembangan embrio. Faktor luar yang berpengaruh antara lain suhu, oksigen terlarut, pH, salinitas dan intensitas cahaya. Proses penetasan umumnya berlangsung lebih cepat pada suhu yang lebih tinggi karena pada suhu yang tinggi proses metabolisme berjalan lebih cepat sehingga perkembangan embrio juga akan lebih cepat dan berakibat lanjut pada pergerakan embrio dalam cangkang yang lebih intensif. Namun demikian, suhu yang terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat menghambat proses penetasan, bahkan suhu yang terlalu ekstrim atau berubah secara mendadak dapat menyebabkan kematian embrio dan kegagalan penetasan (Tang dan Ridwan, 2000).

Pada waktu akan terjadi penetasan, embrio sering mengubah posisinya karena kekurangan ruang di dalam cangkang. Dalam pergerakan-pergerakan tersebut bagian cangkang telur yang telah lembik akan pecah. Dengan dua atau tiga kali pembetulan posisi embrio mengatur dirinya lagi. Biasanya pada bagian cangkang yang pecah ujung ekor embrio dikeluarkan terlebih dahulu sambil digerakan. Kepalanya dikeluarkan terakhir karena ukurannya lebih besar dibandingkan dengan bagian tubuh yang lainnya. tetapi banyak juga didapatkan kepala yang keluar lebih dahulu (Effendie, 2002).

Embrio akan tumbuh dalam telur yang telah dibuahi spermatozoa. Antara 2-3 hari kemudian, telur-telur tersebut akan menetas dan tumbuh menjadi larva. Larva ikan mempunyai kantong kuning telur yang berukuran relatif besar dan berfungsi sebagai makanan. Kantong kuning telur pada larva tersebut akan habis 2-4 hari kemudian. Larva ikan biasanya menempel dan bergerak vertikal. Ciri morfologinya adalah berukuran panjang antara 0,5-0,6 mm dan bobotnya antara 0,18-20 mg (Suseno, 2004).

## 2.5 Kejutan Suhu Pada Telur

Manipulasi kromosom biasanya dilakukan dengan pemberian kejutan suhu panas pada telur yang telah terfertilisasi. Metode perlakuan fisik kejutan panas merupakan metode yang sederhana, mudah murah dan efisien. Menurut Pandian dan Varadaraj (1988), dalam perlakuan pemberian kejutan suhu pada telur harus diperhatikan waktu awal kejutan, suhu kejutan dan lama kejutan dimana nilai setiap parameter tersebut beda untuk setiap spesies dimana perlakuan kejutan suhu panas ini juga dapat berpengaruh pada *hatching rate*, *survival rate* dan pertumbuhan ikan.

Androgenesis pada ikan relatif mudah dilakukan dengan menggunakan kejutan suhu sesaat setelah terjadinya fertilisasi. Perlakuan ini dimaksudkan untuk mencegah pembelahan sel, sehingga di dalam sel akan terdapat 2N kromosom. Seperti yang dikemukakan oleh Stanley dan Sneed (1974) dalam Gustiano dan Dharma (1987) bahwa mempertahankan telur bersifat diploid dapat dilakukan dengan memberi kejutan, baik kejutan panas, dingin, tekanan atau zat kimia.

Disamping itu kejutan suhu memiliki kelebihan jika dibanding perlakuan lain. Chourrout (1984), mengatakan bahwa untuk usaha komersial kejutan panas tidak membutuhkan keahlian khusus. Mair (1993), menambahkan bahwa kejutan panas lebih praktis, murah dan waktu yang dibutuhkan lebih singkat dibandingkan kejutan dingin. Dikemukakan pula oleh Refstie *et al.* (1982), bahwa pada prakteknya kejutan suhu paling banyak dilakukan, karena lebih mudah diterapkan, terutama kejutan panas yang dapat memberikan hasil lebih baik dan dapat menggunakan telur lebih banyak. Kejutan panas ( $40^{\circ}$ ) memberikan hasil yang lebih baik pada gynogenesis mitosis I ikan mas dengan waktu kejutan panas antara 30-40 menit (Komen *et al.*, 1990). Pada ikan mas (*Cyprinus carpio* linn.) mitosis terjadi pada 26-30 menit setelah pembuahan.

Panas atau dingin pada dasarnya merupakan pemberian stress fisik pada ikan. Menurut Kabakov dan Vladimir (1997), menyatakan bahwa stress temperatur, radiasi ultraviolet, perubahan pH lingkungan sel dan perlakuan dengan oksidan, deterjen, etanol, transisi ion logam, asam amino analog dan lain-lain akan mendorong sel untuk mensintesis protein sel baru yaitu *heat shock protein* (HSP). HSP berfungsi dalam pertahanan sel terhadap bahaya yang disebabkan oleh faktor tersebut.

Poliploidi pada ikan dapat dilakukan melalui perlakuan secara fisik seperti melakukan kejutan (shocking) suhu baik panas maupun dingin, pressure (hydrostatic pressure) yang secara kimiawi untuk mencegah peloncatan polar bodi II atau pembelahan sel pertama pada telur terfertilisasi. Pada perlakuan poliploidi ikan menunjukkan adanya tingkat mortalitas yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh beberapa macam efek merugikan dari perlakuan kejutan pada sitoplasma telur. Perlakuan

kejutan suhu dapat mengakibatkan kerusakan pada benang-benang spindel yang terbentuk setelah proses pembelahan sel dalam telur. Kejutan suhu dan tekanan mengakibatkan rusaknya mikrotubulus yang membentuk spindel selama pembelahan (Rustidja, 1997).

## 2.6 Pemijahan Ikan Lele Dumbo

Secara alamiah ikan lele dumbo memijah pada musim hujan. Pemijahan ikan lele dumbo diawali dengan terlihatnya sepasang induk berkejar-kejaran di depan kotak pemijahan yang dipilihnya. Beberapa waktu lamanya terjadi permainan keluar-masuk lubang kotak pemijahan itu. Kemudian pada klimaksnya proses perkawinan pada ikan itu yang disebut mamijah. Ikan jantan dan betina bergelut, betina melepaskan telur dan dalam waktu hampir bersamaan keluarlah air mani dari jantan. Pembuahan (fertilisasi) terjadi di dalam air. Pemijahan terjadi pada sore atau malam hari di dalam kotak pemijahan (Suyanto, 2006). Bila akan kawin menggali lubang di tepi perairan sedalam 30 cm dari permukaan air, yang bertujuan untuk meletakan telurnya. Ikan lele jantan akan melindungi telur atau burayak yang masih lemah (Djatkika *dalam* Rustidja, 1997).

Telur ikan lele hampir sebesar telur ikan mas, bergaris tengah 1,3-1,6 mm. telur itu tenggelam di dasar. Telur menetas setelah 1-2 hari. Sampai 3 hari setelah menetas, burayak lele belum makan, melainkan menyerap kuning telur yang masih melekat pada bagian perutnya. Setelah kuning telur habis terserap, burayak lele sudah mulai mencari makan dan akan keluar dari kotak sarang. Sebelum burayak keluar kolam besar pemeliharaan induk, sebaiknya segera dipanen (Suyanto, 2006).

## 2.7 Pemijahan buatan

Ikan lele dumbo yang berupa bastar (hibrida) dari induk jantan *Clarias gariepinus* dan induk betina *Clarias fuscus* itu ternyata terjadi bukan karena perkawinan secara alamiah, melainkan diatur dan dilakukan secara "paksa" (secara buatan) oleh manusia. Karena kedua spesies induk-induknya berbeda dan asal-usulnya dari tempat yang berlainan pula lingkungannya (Suyanto,2006).

Jika dilihat dialam aslinya, *clarias gariepinus* maupun *clarias fuscus* dapat memijah (kawin) antar sejenisnya masing-masing secara alamiah dengan mudah, sesuai dengan nalurinya tanpa campur tangan manusia. Tetapi di tempat pemeliharaan yang baru belum tentu mereka mau memijah (kawin). Maka orang "memaksanya" yaitu dengan cara merangsangnya dengan menyuntiknya dengan hormon yang di ambil dari kelenjar hipofisa ikan juga (Suyanto,2006).

Salah satu teknik yang cukup sukses dalam penggunaan bahan kimia untuk memanipulasi reproduksi ikan adalah perkembangan teknik pada awal tahun 1930-an yang disebut teknik hipofisasi (Houssay, 1931 dalam Handayani 2001). Teknik ini menggunakan penyuntikan ekstrak kelenjar hipofisa kepada ikan untuk merangsang pematangan gonad dan pemijahan. Tetapi, dengan standar yang lebih baru hipofisasi menjadi teknik yang kasar dan kurang populer, karenanya keefektifannya tergantung kepada kondisi kematangan gonad ikan donor.

Sistem budidaya ikan intensif biasanya membutuhkan metode pemijahan buatan yang lebih dapat diandalkan dibandingkan dengan teknik hipofisasi biasa. *Human chorionic gonadotropin* (HCG) merupakan salah satu alternatif yang telah

diuji. Tetapi, HCG dapat menyebabkan reaksi pengebalan pada ikan resipien, sehingga dapat menurunkan, bahkan menghilangkan pengaruh hormon penyuntikan berikutnya untuk individu ikan yang sama (Patino,1997).

Beberapa penelitian terbaru dalam perangsangan pemijahan ikan dengan menggunakan *GnRH* difokuskan dalam tiga hal, yaitu mendisain analog *GnRH* superaktif, menggunakan dugaan peran *GRIF*, dan mendesain sistem pemberian *GnRH* yang efektif. Pola analog *GnRH* superaktif didasarkan pada prinsip bahwa analog yang memiliki afinitas yang relatif tinggi dengan *GnRH* ikan resipien dan tingkat degradasi yang relatif rendah akan memiliki potensi yang lebih besar dalam merangsang pelepasan *GtH* oleh kelenjar hipofisa dibandingkan asing. Pada ikan-ikan siprinid dan beberapa ikan lainnya, *GRIF* (dopamin) juga memiliki peran penting sebagai kontrol negatif dalam pelepasan. karena itu, perlakuan dengan analog saja tidak mampu merangsang potensi pemijahan total (Peter *et al*,1988 dalam Handayani 2001).

Banyaknya hipofisa yang perlu disuntikkan kepada induk ikan lele dumbo sebesar 3 dosis. Artinya, seekor ikan lele dumbo yang berat badannya 0.5 kg memerlukan hipofisa yang berasal dari ikan donor yang berat badannya 3 x 0,5 kg. Ikan donor seberat 1,5 kg itu dapat terdiri atas 3 ekor yang masing-masing beratnya 0,5 kg atau dipakai 2 ekor yang beratnya 1 kg dan 0,5 kg atau dipakai 1 ekor donor yang beratnya 1,5 kg (Suyanto,2006).

Sebagai ikan donor sebaiknya dipakai ikan yang sudah dewasa, jantan atau betina boleh dan sama saja. Khasiat kelenjar hipofisa yang ada hubungannya dengan pembuahan buatan (kawin suntik) adalah hormon gonadotropin.

Fungsi hormon ini adalah :

- ❖ Gametogenesis

Memacu kematangan telur dan sel mani, disebut Follicel stimulating hormon. Setelah 2 jam penyuntikan, telur mengalami ovulasi (keluarnya telur dari jaringan ikat indung telur). Selama terjadi ovulasi, perut ikan betina akan membengkak sedikit demi sedikit karena ovarium (indung telur) menyerap air. Saat itulah yang baik untuk mengadakan pengerutan perut (stripping).

- ❖ Mendorong nafsu sex (libido). Hal ini akan jelas pada penyuntikan ikan lele dumbo, tanpa stripping pun lele tersebut akan memijah sendiri, hanya dengan dirangsang hormon.

Kegunaan teknik hipofisasi yang disusul dengan fertilisasi buatan itu menurut Suyanto (2006) adalah :

- ❖ Memungkinkan diperoleh hibrida dari dua spesies yang tidak mau kawin dengan sendirinya secara alami.
- ❖ Memungkinkan dikawinkannya dua induk dari satu spesies yang dipelihara pada lingkungan hidup yang berbeda dari alam aslinya.
- ❖ Untuk mengadakan pengaturan dalam memproduksi benih ikan, agar memungkinkan diproduksi benih di luar musim pemijahan yang lazim atau alamiah
- ❖ Untuk dapat diproduksi benih ikan sebanyak yang dikehendaki oleh orang, yaitu telur-telur dapat dibuahi, ditetaskan, selanjutnya diipuk dan dibesarkan secara terkontrol bebas dari gangguan hama, penyakit, supaya kelangsungan hidupnya tinggi.



## 2.8 Parthenogenesis

Parthenogenesis merupakan suatu proses dari pembelahan sel telur yang tidak terfertilisasi secara normal, yang mungkin akibat dari pembentukan jaringan embrio dan pada kondisi yang ekstrim secara sempurna akan berkembang menjadi individu, dan jaringan parthenogenetik yang berkembang pada telur infertil adalah bersifat infertil (Anonymous, 2005).

Parthenogenesis dalam biologi adalah bentuk reproduksi dimana ovum berkembang menjadi individu baru tanpa fertilisasi. Sebenarnya aktivitas sel telur tidak harus oleh sel mani. Kadang-kadang aktivasi sel telur, dapat diaktivasi oleh rangsangan mekanik atau kimiawi. Perkembangan sel telur tanpa adanya sel mani dinamakan parthenogenesis (Subowo, 1995).

Parthenogenesis adalah terjadinya embrio tanpa adanya fertilitas (pembuahan). Ini terjadi pada ikan-ikan tropis (*Peocilia formosa*). Dalam hal ini sel sperma hanya memacu perkembangan sel telur, tanpa menurunkan hereditas yang dimiliki. Embrio yang dihasilkan selalu berkelamin betina yang tidak mempunyai sifat-sifat genotip jantan (Arfiati, 2005).

Pada kenyataannya pemicu dari aktivasi alami dipengaruhi oleh sperma yang membawa serangkaian dari  $\text{Ca}^{2+}$  yang berlangsung pada waktu yang singkat dalam telur (Miyazaki, 1993; Kline, 1992). Dalam waktu yang singkat ion-ion  $\text{Ca}^{2+}$  disebarkan keseluruhan telur dibuahi dalam bentuk gelombang dan mengawali eksositosis kedua lapisan granula dan keluar dari proses metafase II akhir (Whitaker, 1990). Selanjutnya jelas bahwa tidak ada metode penelitian aktivasi telur, yang dapat

menirukan pola respon dari pengaruh sperma (Hoyland *et al.*, 1991). Meskipun hal yang terpenting dari aktivasi penuh tidak bisa ditunjukkan dari amplitudo dan frekuensi  $Ca^{2+}$  yang dipengaruhi oleh elektrik stimulan mempengaruhi aktivasi MPV (*Maturation Promoting Factor*), pada waktu pembentukan inti dan tingkat kepadatan pembentukan *blastocyt* dalam proses parthenogenesis dapat mengaktifkan telur (Loi *et al.*, 1998).

Dalam proses parthenogenesis, kajian yang pertama kali menetapkan bahwa aktivator kimia menyebabkan inti sel berkembang sedikit lebih tinggi kecepatannya dibanding dengan aktivator fisik, bahan-bahan itu adalah etanol 95 %, ionomycin 96 % dan elektro aktivator 80 %. Bahan-bahan tersebut dapat menghambat polar body II dan inti dapat teramati pada telur (Loi *et al.*, 1998).

Pada dasarnya parthenogenesis berasal dari kata *partheno* yang berarti dara, dan *genesis* yang berarti kejadian atau kelahiran. Pertumbuhan embrio tanpa dibuahi spermatozoa atau parthenogenesis ada 2 macam yaitu secara natural dan artificial. *Natural parthenogenesis* adalah parthenogenesis yang berlangsung secara alami, normal. Terdapat pada berbagai jenis Arthropoda, seperti lebah (*Apis indica*), semut (*Dolichoderus bituberculatus*), tawon (*Apis smaragdina*), kutu daun (*Aphis medicaginis*), dan kutu air (*Daphnia pulicaria*).

Pada lebah dan tawon, telur yang dibuahi jantan akan tumbuh jadi betina, sedang yang tidak dibuahi akan tumbuh jadi jantan. Jantan ini fertil, betinanya steril. Betina itu jadi pekerja, jantan untuk mengawini ratu yang terus menerus bertelur.

Pada kutu daun dan kutu air, buat berpuluh generasi tak dibutuhkan jantan. Betina terus-menerus bertelur. Kalau sudah menetas lalu anak menjadi dewasa, akan bertelur lagi secara parthenogenesis. Baru pada generasi kesekian mereka butuh kawin dengan jantan. Tak ubahnya seperti “mencas” aki yang sudah lemah arus listriknya, demikianlah pada suatu generasi dibutuhkan kekuatan untuk bereproduksi dengan kehadiran pihak jantan.

*Artificial parthenogenesis*, ialah parthenogenesis yang dilakukan secara tiruan, ini biasa dilakukan manusia dalam eksperimen. Berbagai jenis hewan dipakai objek artificial parthenogenesis, mulai dari Avertebrata, sampai pada mamalia (Yatim, Wildan., 1994).

## 2.9 Mekanisme Aktivasi Telur

Peningkatan aktivitas *Maturation Promoting Factor* (MPF) pada telur menyebabkan telur tertahan pada metaphase II (Liu dkk., 1998). MPF diketahui sebagai regulator siklus sel pada proses mitosis dan meiosis. Aktivasi dari MPF tergantung pada asosiasi antara  $p34^{cdc2}$  dan cyclin B (Goudet dkk., 1998). Proses aktivasi oosit ini tergantung pada umur oosit (waktu maturasi). Aktivasi oosit akan lebih mudah pada saat terjadi pengurangan aktivitas MPF seiring dengan penuaan oosit (Meo dkk., 2003) (dalam Novalisa, 2007).

Pelekatan antara sperma dan telur menyebabkan fluktuasi ion *calcium* ( $Ca^{2+}$ ) dalam telur selama proses fluktuasi ion selama proses fertilisasi (Alberio dkk., 2001). *Calcium* merupakan molekul signal universal pada berbagai proses sel penting (Meo dkk., 2003). Kenaikan konsentrasi ion *calcium* ( $Ca^{2+}$ ) dalam telur akan mengaktifkan

*calmodulin-dependent kinase* dan dilanjutkan dengan aktifnya *CaM K<sub>11</sub>*. aktivasi *CaM K<sub>11</sub>* menyebabkan 2 efek. Efek pertama adalah reduksi jumlah MPF yang tinggi pada saat metaphase II sehingga siklus sel dapat dilanjutkan dan efek kedua adalah degradasi CSF (*Cytostatic Factor*) yang berfungsi menjaga jumlah MPF tetap tinggi pada telur yang belum difertilisasi (Kalthoff,2001). Aktifnya reseptor sperma pada permukaan membrane telur oleh sperma juga akan mengaktifkan enzim *Phospholipase C* (PLC) sebagai enzim kunci dalam pelepasan *messenger* (Totrtora, 2000). Enzim *phospholipase C* akan memecah *Phosphatidyl-inositol 4.5 biphosphate* (PIP<sub>2</sub>) menjadi *Inositol triphosphate* (IP<sub>3</sub>) dan *Diacylglycerol* (DAG) (Kalthoff, 2001). *Inositol triphosphate* (IP<sub>3</sub>) mampu menginduksi lepasnya ion *calcium* (Ca<sup>2+</sup>) dari *Reticulum Endoplasma* (RE) ke dalam sitoplasma dengan membukanya chanel ion *calcium* (Ca<sup>2+</sup>) sehingga ion *calcium* (Ca<sup>2+</sup>) dapat dilepaskan. *Diacylglicerol* (DAG) yang terbentuk mengaktifkan pembentukan *Protein Kinase C* (PKC). DAG dan peningkatan ion *calcium* (Ca<sup>2+</sup>) dapat mengaktifkan terjadinya pertukaran ion H<sup>+</sup> dari dalam membran sel yang dapat menyebabkan aktivasi telur yang dilanjutkan dengan pembelahan sel (Totrtora, 2000) (dalam Novalisa, 2007).

## 2.10 Pengaruh aktivasi etanol

Etanol adalah molekul kecil yang larut dalam air yang dapat diabsorpsi dengan cepat oleh membran. Belum ditemukan adanya reseptor khusus, namun sebaliknya etanol telah dibutuhkan mempengaruhi sejumlah besar protein membran yang berperan dalam induksi sinyal, termasuk reseptor neurotransmitter berbagai amine, asam amino, opioid, enzim-enzim seperti Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>, ATP ase, *adenylyl cyclose*,

*phosphonositide-specific phospholipase C* dan beberapa kanal untuk ion  $\text{Ca}^{2+}$  (Diamon, 1997 dalam Bertram, 2001).

Etanol merupakan salah satu dari bahan kimia yang mempunyai molekul dari golongan hydroxyl (-OH) dan diikat oleh atom karbon. Beberapa sifat etanol antara lain tidak mempunyai warna (jernih) dan dapat larut dalam air. (Shakhashiri, 2005) dalam (Novalisa, 2007).

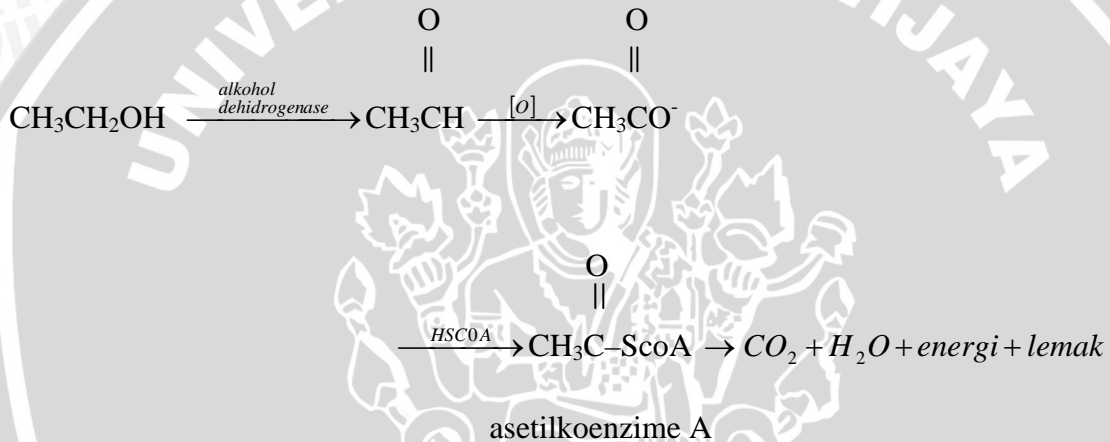
Selama bertahun-tahun efek utama dari etanol adalah menyebabkan kerusakan pada membran biologis akibat dari penurunan viskositas lipid. Efek fluidisasi etanol ini dianggap suatu hipotesis yang bertanggung jawab atas beraneka ragam perubahan yang diamati dalam membran. Dalam parthenogenesis, kajian yang pertama kali menetapkan bahwa aktivator kimia menyebabkan inti sel berkembang sedikit lebih tinggi kecepatannya dibanding aktivator fisik. Bahan-bahan kimia itu adalah etanol 95 %, ionomycin 96 % dan elektro aktivator 80 %. Bahan-bahan tersebut dapat menghambat polar bodi II dan inti dapat teramati pada telur (Betram, 2001).

Etanol menyebabkan Ca tunggal meningkat yang akan menginaktifkan CSF (Cytostatic factor) dan mensistesis di dalam telur. Aktivasi tidak akan terjadi pada telur apabila tidak ada ekstraseluler kalsium. Etanol menyebabkan Ca tunggal meningkat yang mengakibatkan masuk secara ekstraseluler dan beberapa bermobilisasi secara intraseluler. Etanol pada perkembangan telur digunakan sebagai pemicu awal dari aktivasi (Loi Ledda *et al*, 1998 dalam Betram 2001).

Dalam sistem binatang menyusui, etanol yang dicerna dioksidasi terutama di dalam hati (liver) dengan pertolongan enzim yang disebut alcohol-dehidrogenase. Produk dehidrogenasi ini adalah aseteldehida,  $\text{CH}_3\text{CHO}$  (oksidasi biologis methanol

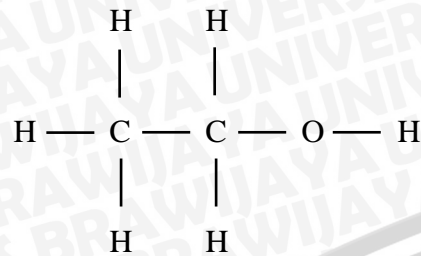
menghasilkan formaldehida, (HCHO), yang bersifat racun. Asetaldehid dari etanol ini dioksidasi lebih lanjut secara enzimatik menjadi ion asetat,  $\text{CH}_3\text{CO}_2^-$ , yang bereterifikasi dengan koenzim A tiol. Produk esterifikasi ini ialah asetilkoenzim A. Gugus asetil ( $\text{CH}_3\text{CO}-$ ) dalam setil koenzim A ini dapat diubah menjadi  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan energi atau diubah menjadi senyawa lain, seperti lemak.

Oksidasi biologis etanol.



Gambar 6. Oksidasi Biologis Etanol (Fessenden, 1982)

Penggunaan etanol dalam parthenogenesis diketahui dapat menyebabkan terjadinya aktivasi sel telur dengan melakukan inisiasi pelepasan ion *calcium* ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Menurut Meo dkk. (2003) etanol dapat menyebabkan peningkatan ion *calcium* ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dalam sel. Peningkatan ion *calcium* ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dapat terjadi karena masuknya ion *calcium* ( $\text{Ca}^{2+}$ ) ekstra seluler dan mobilisasi ion *calcium* ( $\text{Ca}^{2+}$ ) intraseluler. Menurut Grupen dkk. (2002) etanol dapat melakukan interaksi dengan membrane sel dan secara langsung akan menyebabkan polaritas membrane dan memindahkan ion *calcium* ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dari membrane phosfolipid (dalam Novalisa, 2007).



Rumus Struktur Etanol (Novalisa, 2007)

### 2.11 Pengaruh Enzim Protease (Tripsin)

Spermatozoa mengeluarkan androgamon yang terdiri dari 1. hyaluronidase, 2. antifertilizin, 3. akrosin, dan 4. zat penelur. *Hyaluronidase*, enzim yang dihasilkan dalam testis. Untuk melarutkan asam hyaluronad yang menyemen sel-sel granulosa sekeliling ovum (corona radiata). *Antifertilizin*, sebagai lawan dari fertilizin yang dihasilkan ovum. Jika fertilizin bertindak sebagai antigen, maka antifertilizin sebagai antibodinya. Oleh interaksi kedua zat itu terjadi aglutinasi spermatozoa sekitar ovum, sehingga ada sebagian yang menumbuk ovum sendiri, lalu menerobos masuk. *Akrosin*, semacam protease, memecah protein. Mirip tripsin yang dihasilkan pancreas untuk mencernakan protein dalam usus. Zat ini keluar dari akrosom spermatozoa, ketika terjadi apa yang disebut "reaksi akrosom". Zat ini menghancurkan zona pellucida. Tidak seluruh zona dihancurkan, hanya di suatu tempat kecil, cukup untuk menerobosnya masuk spermatozoa. Sedangkan zona penelur, bekerja untuk merangsang betina agar mengeluarkan telur, sebagai imbalan zat yang sama dikeluarkan betinanya (Yatim, 1994).

Enzim tripsin adalah protein globular yang memiliki 245 residu asam amino dengan lima jembatan disulfide. Tripsin membantu pencernaan dengan memutus ikatan peptide pada protein dan peptide makanan. Penggunaan tripsin dalam hal ini

adalah sebagai pengganti *akrosin* pada sperma yang bertugas memecah protein atau menghancurkan zona pellucida dan mempermudah terjadinya aktivasi.

## 2.12 Kualitas Air

Kualitas air adalah variabel-variabel yang dapat mempengaruhi kehidupan lele. Variabel tersebut dapat berupa sifat fisika, kimia dan biologi air. Sifat fisika air meliputi suhu, kekeruhan dan warna air. Sifat kimia air adalah kandungan oksigen ( $O_2$ ), karbon dioksida ( $CO_2$ ), pH (derajat keasaman), amoniak ( $NH_3$ ) dan alkalinitas. Sifat biologi meliputi jenis dan jumlah binatang air (binatang renik), seperti plankton yang hidup di perairan.

### ⇒ Suhu

Suhu adalah kapasitas panas. Penyebaran suhu dalam perairan dapat terjadi karena adanya penyerapan, angin dan aliran tegak. Ditinjau dari segi fisiologis, perubahan suhu air dapat mempengaruhi kecepatan metabolisme pada ikan. Di daerah subtropis dan dingin, suhu air berkaitan erat dengan lama penyinaran matahari sehingga kedua faktor abiotik tersebut mempengaruhi proses biologis seperti pematangan gonad, pemijahan dan penetasan telur pada pembenihan ikan. Kisaran suhu yang diperlukan dalam pembenihan ikan adalah antara  $25^0 - 30^0$  (Sutisna dan Ratno, 1995).

Dalam penetasan telur ikan koi perlu diperhatikan suhu air dan kandungan oksigen dalam air. Pada suhu yang relatif rendah, masa tetas telur menjadi makin lama sedangkan pada suhu relatif tinggi (dalam batas tertentu) masa tetas telur menjadi lebih cepat (Effendie, 1993).



### ⇒ **Derajat Keasaman (pH)**

Nilai pH menyatakan nilai konsentrasi ion hidrogen dalam suatu larutan. Nilai pH yang ideal bagi kehidupan organisme air pada umumnya terdapat antara 7 sampai 8,5. kondisi perairan yang bersifat sangat asam maupun sangat basa akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan menyebabkan terjadinya gangguan metabolisme dan respirasi. Disamping itu nilai pH yang sangat rendah akan menyebabkan mobilitas berbagai senyawa logam berat terutama ion Aluminium yang bersifat toksik sedangkan pH yang tinggi akan menyebabkan keseimbangan amoniak dalam air akan terganggu dimana konsentrasi amoniak yang berlebih akan bersifat sangat toksik bagi organisme (Barus, 2002).

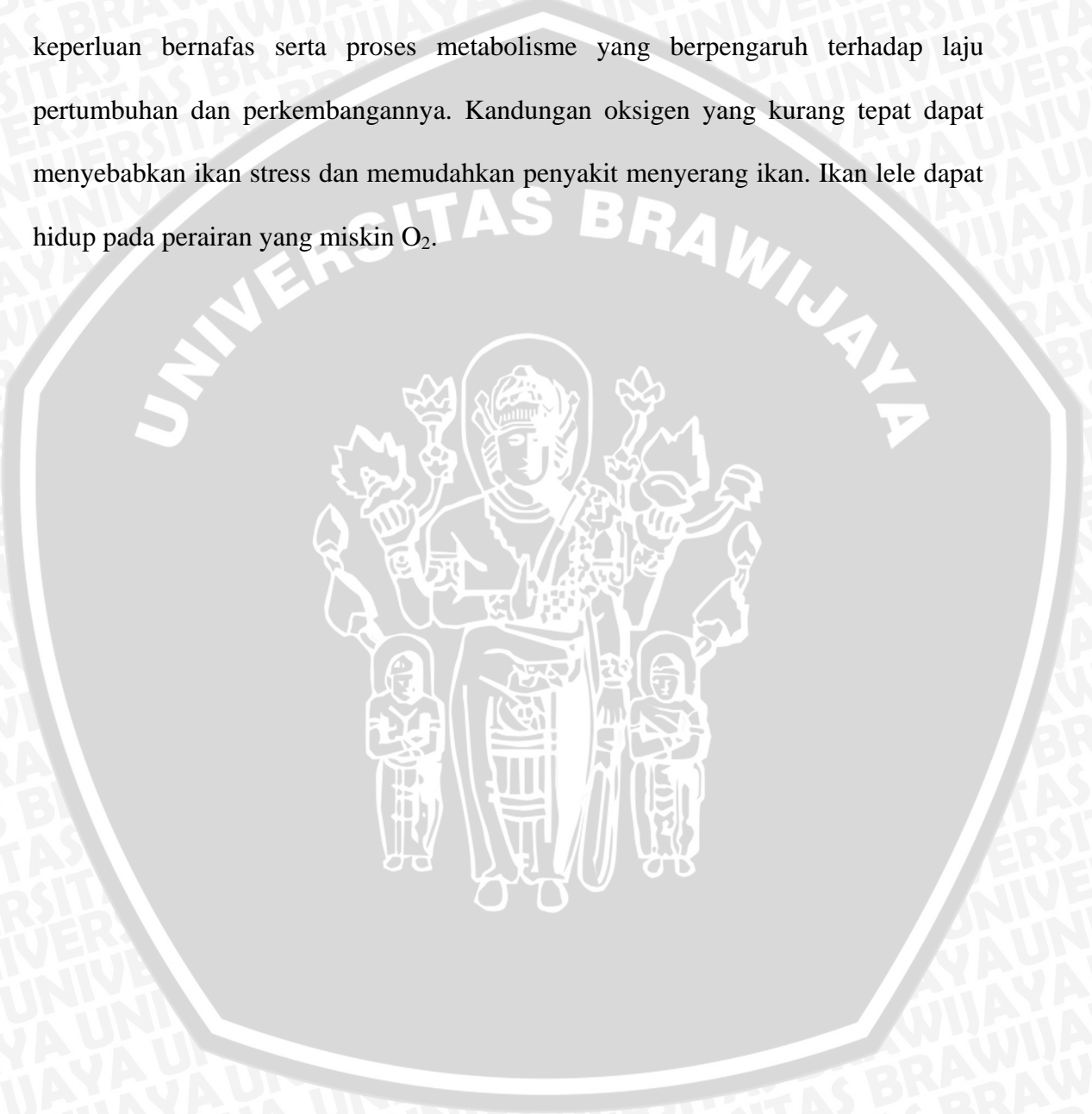
Penggunaan pH alkalin yaitu pada enzim Tripsin pH 8-9 yang difungsikan sebagai pengganti akrosin yang bekerja pada korion telur ikan lele dumbo.

### ⇒ **DO (Oksigen terlarut)**

Oksigen merupakan gas yang terpenting untuk respirasi dan metabolisme dalam tubuh ikan. Dalam usaha pembenihan ikan, konsentrasi oksigen yang terlarut dalam kolam akan berkurang karena konsumsi oksigen digunakan untuk pernafasan ikan dan organisme lainnya serta reaksi kimia bahan organik yang berasal dari kotoran ikan, sisa pakan, pembusukan tumbuhan dan hewan yang mati dan sebagainya. Konsentrasi oksigen yang optimal dalam usaha pembenihan ikan adalah 5 ppm. Pada kolam pembenihan ikan dengan konsentrasi oksigen sebesar kurang dari 3 ppm akan berbahaya bagi benih ikan dimana konsentrasi oksigen yang rendah dapat

ditingkatkan dengan menggunakan aerator ataupun dengan pemasangan kincir (Sutisna dan Ratno, 1995).

Seperti halnya makhluk hidup lain, ikan sangat memerlukan oksigen untuk keperluan bernafas serta proses metabolisme yang berpengaruh terhadap laju pertumbuhan dan perkembangannya. Kandungan oksigen yang kurang tepat dapat menyebabkan ikan stress dan memudahkan penyakit menyerang ikan. Ikan lele dapat hidup pada perairan yang miskin  $O_2$ .



### III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan Untuk Penelitian

➤ **Induk ikan lele dumbo**

Ikan lele dumbo yaitu induk ikan lele dumbo jantan dan betina dengan bobot ikan berkisar antara 1-1,5 kg

➤ **Petridisk**

Sebagai tempat untuk telur dalam pengamatan di mikroskop.

➤ **Kotak mika**

Digunakan sebagai wadah media pertumbuhan telur.

➤ **Bak Suhu Panas**

Bak ini berisi air yang akan digunakan sebagai tempat untuk melakukan pemanasan etanol 40°C.

➤ **Bak Inkubasi**

Bak inkubasi berfungsi sebagai tempat inkubasi telur-telur yang telah dibuahi dan yang telah diberi perlakuan kejutan suhu.

➤ **NaCl fisiologi 0,9 %**

NaCl fisiologis digunakan untuk mengencerkan ekstrak hipofisa dengan perbandingan 2 ml untuk tiap 1 kg ikan.

➤ **Methylen blue**

*Methylen blue* digunakan untuk treatment air pada bak inkubasi yang berfungsi untuk mencegah tumbuhnya jamur pada telur.

➤ **Aquadest**

Untuk mencuci telur yang telah direndam etanol.

➤ **Etanol 40°C**

Sebagai bahan aktivasi telur

➤ **Enzim Protease (Tripsin)**

Sebagai bahan untuk melemahkan selaput sel kulit telur atau sebagai pelunak chorion

➤ **Bahan lainnya**

Bahan lainnya yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah bulu ayam, tissue, kertas label.

### 3.1.2 Alat Untuk Penelitian

Alat yang dipergunakan untuk penelitian adalah :

- |                      |                                 |
|----------------------|---------------------------------|
| ➤ Akuarium           | ➤ Spet injeksi                  |
| ➤ Pemanas (Heater)   | ➤ Obyek glass                   |
| ➤ Thermometer        | ➤ Pipet tetes                   |
| ➤ pH meter           | ➤ Penghitung waktu (Stop watch) |
| ➤ DO meter           | ➤ Aerator                       |
| ➤ Mikroskop          | ➤ Mangkuk                       |
| ➤ Timbangan analitik | ➤ Seperangkat alat bedah        |

## 3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

### 3.2.1 Metode Penelitian

Penelitian parthenogenesis yang dilakukan ini menggunakan metode eksperimen. Nazir (1983) menyatakan bahwa metode penelitian yang mempergunakan metode eksperimen merupakan metode penelitian yang melakukan

manipulasi obyek penelitian untuk mengetahui ada atau tidak hubungan sebab akibat dapat perlakuan yang diberikan dengan memakai kontrol sebagai pembanding dengan teknik pengambilan data secara langsung yang dilakukan dengan cara observasi langsung.

Pada penelitian ini diterapkan perlakuan untuk menguji keberhasilan pengaktivasian telur ikan lele dumbo yaitu dengan menggunakan beberapa konsentrasi etanol yang dipanaskan 40<sup>0</sup>C dan dengan penambahan enzim protease. Lama perendaman ditetapkan selama 2 menit. Tariq (2002) pada percobaan tentang androgenesis mendapatkan hasil terbaik pada suhu 40<sup>0</sup>C dengan lama perendaman 2 menit. Perlakuan perbedaan konsentrasi etanol dalam penelitian ini yaitu perlakuan A 3%, B5%, dan C 7% yang direndam selama 2 menit, serta kontrol menggunakan sperma (K1) dan kontrol tanpa menggunakan sperma (K2).

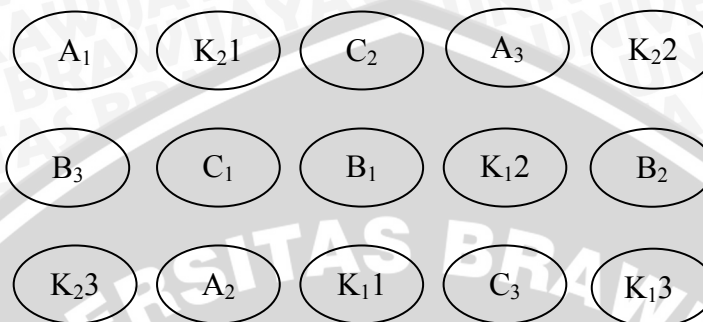
### 3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana RAL ini digunakan untuk penelitian yang mempunyai media atau tempat percobaan yang bersifat homogen atau seragam sehingga tidak berpengaruh pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000).

Dalam penelitian ini, perlakuan untuk mengaktivasi telur yaitu dengan menggunakan berbagai konsentrasi etanol yang dipanaskan 40<sup>0</sup>C dengan penambahan enzim protease dengan lama perendaman selama 2 menit. Pada penelitian yang dilakukan oleh Stackei (1994) dalam Novaliza (2007) didapatkan perlakuan menggunakan etanol dengan konsentrasi 7% sering digunakan untuk mengaktivasi oosit secara partenogenesis dengan menginduksi peningkatan *calcium*

(Ca<sup>2+</sup>) dalam telur. Penelitian tersebut dijadikan dasar dalam penentuan konsentrasi etanol pada perlakuan yang diberikan.

Masing-masing perlakuan diulang 3 kali dengan denah perlakuan sebagai berikut:



Gambar 6. Denah Penelitian

Keterangan : A-C : perlakuan kejutan suhu, K1 : kontrol sperma1, K2 : kontrol tanpa sperma. 3 ulangan

### 3.3 Prosedur penelitian

#### 3.3.1 Pembuatan Ekstrak Hipofisa

Ikan donor yang dipakai berupa ikan lele dumbo dengan berat 1-1,5 kg. Ikan donor yang dipilih berupa ikan jantan karena memiliki sifat/kondisi hormonal yang lebih stabil dibandingkan dengan ikan betina. Ekstrak hipofisa dibuat dengan cara menimbang ikan donor, kemudian kepala ikan dipotong sampai bagian operkulum untuk diambil kelenjar hipofisanya. Hipofisa tersebut digerus dengan mortal dan ditambah NaCl fisiologis (2 ml untuk 1 kg ikan), kemudian disentrifuge selama 2 menit sehingga terbentuk ekstrak hipofisa.

#### 3.3.2 Penyuntikan Hormon Pada Induk Ikan

Ekstrak hipofisa yang telah dibuat maupun ovaprim tersebut disuntikkan pada induk betina di bagian dorsal dan ditunggu “latency time” dengan mengacu pada

suhu lingkungan pemeliharaan dan baru kemudian distriping. Penyuntikan dilakukan dua kali dengan dosis 1 ml, 1/3 ml pada penyuntikan awal, dibiarkan selama 5-6 jam kemudian dilakukan penyuntikan kedua sebanyak 2/3 ml dan ikan di masukan kembali ke dalam bak. Empat jam setelah penyuntikan kedua, induk betina di striping untuk mengeluarkan telurnya.

### **3.3.3 Kontrol Pembuahan Normal**

Kontrol normal diperoleh dengan cara mencampur telur dan sperma ikan. Setelah telur dan sperma tercampur, ditambahkan larutan fertilizer (campuran garam+urea+aquadest). Dengan menggunakan bulu ayam, telur disebar di dalam wadah pemeliharaan tanpa diberikan kejutan panas.

### **3.3.4 Perlakuan Aktivasi Penambahan Etanol**

Telur yang belum difertilisasi diperlakukan seperti pada kontrol normal tanpa sperma, tetapi diberikan perlakuan enzim dan etanol panas 40 °C, enzim dengan dosis 0,5 g dalam 300 ml aquades selama 2 menit dan etanol panas selama 2 menit. Lalu dimasukkan ke dalam bak inkubator.

### **3.3.5 Perlakuan Penggunaan Enzim Protease**

Tripsin dalam penelitian ini digunakan sebagai pelunak lapisan chorion yaitu agar memudahkan telur menetas atau masuknya aktivator (etanol).

### **3.3.6 Kontrol Tanpa Pembuahan dan Tanpa Aktivator**

Kontrol tanpa pembuahan diperoleh dengan meletakkan telur di kotak yang berisi air tanpa diberi apa-apa lalu dimasukkan ke dalam inkubator.

### 3.4 Parameter Uji

#### 3.4.1 Parameter Utama

Sebagai parameter utama dalam penelitian ini adalah:

- Tingkat perkembangan embrio telur ikan lele dumbo (perlakuan)
- Keberhasilan aktivasi telur dengan menggunakan etanol
- HR dan SR

#### 3.4.2 Parameter Penunjang

Sebagai parameter penunjang dalam penelitian ini adalah :

- Kualitas air yang meliputi:
  - Suhu yang diukur dengan thermometer
  - pH air yang diukur dengan pH meter
  - Oksigen terlarut yang diukur dengan oksimeter.

### 3.5 Analisa Data

Penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 3 kali ulangan untuk masing-masing perlakuan. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan digunakan analisis keragaman atau uji F. Apabila nilai F berbeda nyata atau sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan yang memberi respon terbaik. Respon terbaik pada taraf atau derajat kepercayaan 5% dan 1%. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipengaruhi digunakan analisa regresi yang bertujuan untuk menentukan sifat dari fungsi regresi yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan yang terbaik pada respon. Selanjutnya untuk mengetahui bentuk kerja antara perlakuan dengan penentuan penelitian dilakukan uji polinomial orthogonal.



Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana RAL ini digunakan untuk penelitian yang mempunyai media atau tempat percobaan yang bersifat homogen atau seragam sehingga tidak berpengaruh pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000)



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Perkembangan embrio ikan lele dumbo

#### 4.1.1 Fase Pembelahan 8 Sel

Berdasarkan hasil pengamatan pada perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan  $40^{\circ}\text{C}$  dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease terhadap perkembangan embrio pada telur ikan lele (*Clarias sp.*) pada fase 8 sel dapat dilihat pada tabel 1. Diagram hubungan antara perlakuan dengan jumlah telur dapat dilihat pada gambar 7.

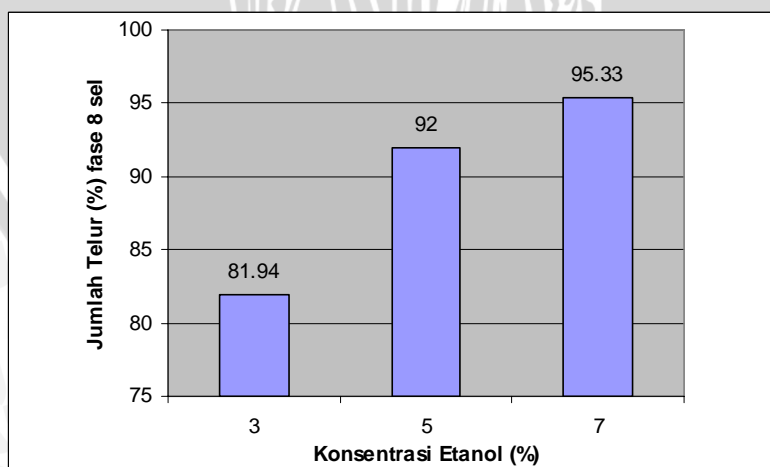
Tabel 1. Data pengamatan perkembangan embrio pada fase pembelahan 8 sel telur ikan lele dumbo (%)

PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	91.67	85.33	68.83	245.83	81.94
B	90.17	92.17	93.67	276	92
C	94.5	96.17	95.33	286	95.33
total				807.83	
K1	95	90.5	92.5	278	92.67
K2	88.33	83.33	82.67	254.33	84.78

Keterangan :

K1 : kontrol normal (dengan sperma)

K2 : kontrol tanpa sperma (tanpa perlakuan apa-apa)



Gambar 7. Perkembangan embrio pada fase pembelahan 8 sel telur ikan lele dumbo

Selanjutnya setelah dilakukan perhitungan diperoleh daftar sidik ragam seperti terdapat dalam tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Daftar sidik ragam tingkat perkembangan embrio pada fase pembelahan 8 sel telur ikan lele dumbo

sumber keragaman	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	223.29	111.65	4.134	5.14	10.9
Acak	6	162.08	27.02			
Total	8	385.37				

Keterangan<sup>ns</sup> = tidak berbeda nyata/non significant

Pada tabel 2, dapat diketahui bahwa perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40<sup>0</sup>C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease tidak berpengaruh nyata terhadap perkembangan embrio ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) pada fase pembelahan 8 sel. Perlakuan C dengan konsentrasi etanol 7% mengalami perkembangan embrio tertinggi dengan jumlah 95.33% dibandingkan dengan kontrol tanpa sperma (K2) yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 84.78% dan kontrol dengan menggunakan sperma diperoleh hasil perkembangan embrio sebesar 92.67% (lihat tabel 1).

#### 4.1.2 Fase pembelahan morula

Dari data hasil penelitian dengan perlakuan penggunaan etanol yang di panaskan 40<sup>0</sup>C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease pada perkembangan embrio telur ikan lele (*Clarias sp.*) pada fase morula data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 3. dan diagram hubungan antara perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40<sup>0</sup>C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease dengan jumlah telur pada perkembangan embrio fase morula dapat disajikan pada gambar 8.

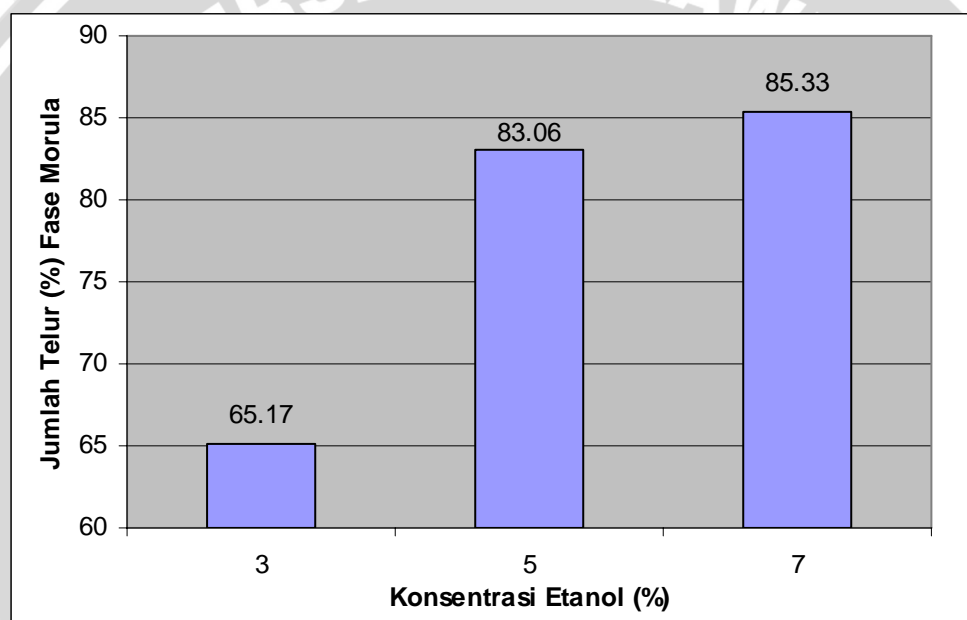
Tabel 3. Data pengamatan perkembangan embrio pada fase pembelahan morula telur ikan lele dumbo (%)

PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	79.33	64.5	51.67	195.5	65.17
B	81.67	85	82.5	249.17	83.06
C	90.33	82.17	83.5	256	85.33
total				700.67	
K1	87.17	85.33	83	255.5	85.17
K2	80	82.5	79.67	242.17	80.72

Keterangan :

K1 : kontrol normal (dengan sperma)

K2 : kontrol tanpa sperma (tanpa perlakuan apa-apa)



Gambar 8. Perkembangan embrio pada fase pembelahan morula telur ikan lele dumbo

Selanjutnya setelah dilakukan perhitungan diperoleh daftar sidik ragam seperti terdapat dalam tabel 4 berikut ini.

Tabel 4. Daftar sidik ragam tingkat perkembangan embrio pada fase morula telur ikan lele dumbo

sumber keragaman	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	321.28	160.64	5.47	5.14	10.9
Acak	6	176.37	29.39			
Total	8	497.65				

Keterangan \* = berbeda nyata/significant

Berdasarkan tabel 4 dapat diketahui bahwa perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease berpengaruh nyata terhadap perkembangan embrio ikan lele dumbo pada fase morula. Hasil tersebut menunjukkan telur (embrio) terus mengalami perkembangan, ini dapat diketahui dari perlakuan C yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 85.33% dibandingkan dengan kontrol tanpa sperma (K2) yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 80.72%. Kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), dengan perhitungan berdasarkan uji BNT disajikan pada tabel berikut ini.

Tabel 5. Daftar uji BNT perkembangan embrio pada fase morula telur ikan lele dumbo

Rata-rata Perlakuan	A (54.11)	B (65.71)	C (67.64)	Notasi
A (54.11)	-			a
B (65.71)	11.6*	-		b
C (67.64)	13.53*	1.93 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan : \* = berbeda nyata

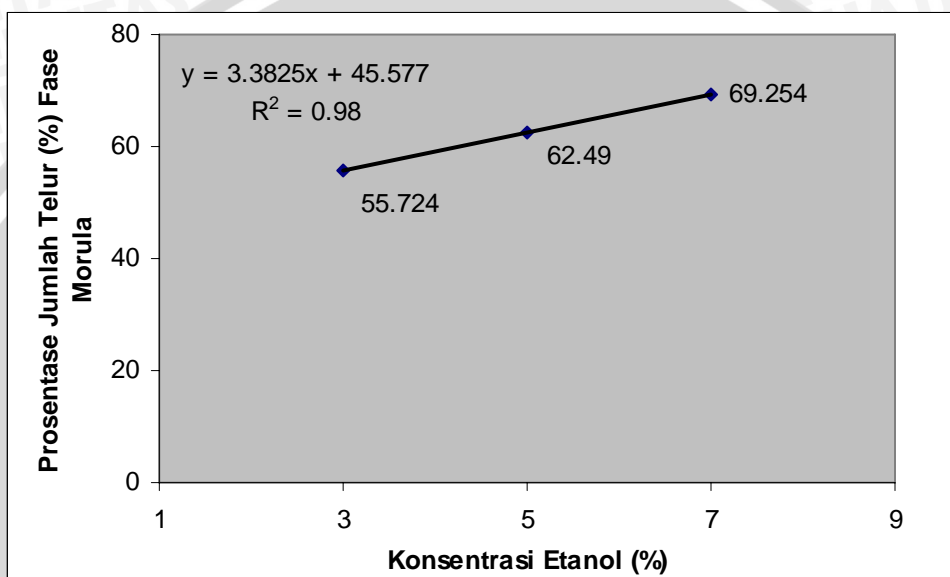
Ns = tidak berbeda nyata

Berdasarkan tabel tersebut, diketahui bahwa perlakuan C berbeda nyata terhadap perlakuan B. Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan jumlah telur pada perkembangan embrio ikan lele dumbo dengan penggunaan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease. Perbedaan ini bukan berarti semua telur teraktivasi, karena dibandingkan dengan kontrol normal yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 85.17%.

Berdasarkan hasil analisis polinomial orthogonal diperoleh hubungan linier antara konsentrasi etanol terhadap perkembangan embrio ikan lele dumbo dengan persamaan  $Y = 3.3825x + 45.577$  dengan  $R^2 = 0.98$ . Hal ini dapat dilihat pada grafik

persamaan linier yang disajikan pada gambar 9 berikut ini, dimana X = Konsentrasi etanol dan Y = jumlah telur perkembangan embrio pada fase morula.

Grafik hubungan antara perlakuan penggunaan enzim protease dan etanol pada konsentrasi yang berbeda terhadap jumlah telur (%) perkembangan embrio tertinggi pada fase morula disajikan pada gambar 9. (Grafik Linier)



Gambar 9. Pengaruh perbedaan konsentrasi etanol yang dipanaskan 40°C dan ditambahkan enzim protease pada fase morula telur ikan lele dumbo

Grafik pada gambar 9, menunjukkan bahwa pada penelitian telur ikan lele dumbo ini mempunyai respon yang berbeda dalam perkembangan embrio sebagai akibat dari perbedaan konsentrasi etanol. Perlakuan C dengan konsentrasi etanol (7%) memiliki jumlah telur yang terbanyak dengan jumlah 85.33% diikuti perlakuan B dengan konsentrasi etanol (5%) memiliki jumlah telur 83.06%.

Diperoleh persamaan dari grafik di atas menunjukkan hubungan yang linier antara konsentrasi etanol dengan jumlah telur pada fase morula. Hal ini sesuai dengan Minamishi dkk (1998) dalam Novalisa (2007), pada beberapa perlakuan, etanol 7% merupakan konsentrasi etanol yang optimal untuk perlakuan partenogenesis.

### 4.1.3 Fase pembelahan blastula

Data hasil penelitian dengan perlakuan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease pada tahap perkembangan embrio telur ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) pada fase blastula disajikan pada tabel berikut.

Tabel 6. Data pengamatan perkembangan embrio pada fase blastula telur ikan lele dumbo (%).

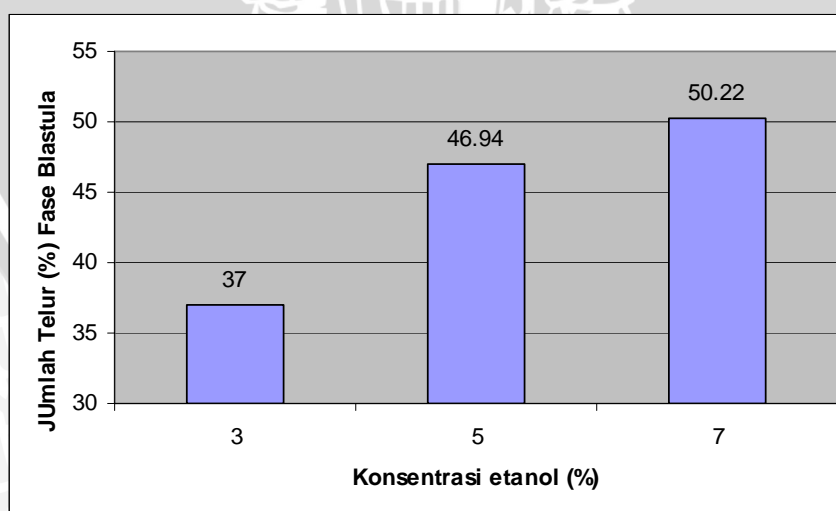
PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	33.33	35	42.67	111	37
B	50	37.5	53.33	140.83	46.94
C	53.17	45	52.5	150.67	50.22
total				402.5	
K1	70	78.33	75	223.33	74.44
K2	29.17	30	25	84.17	28.06

Keterangan :

K1 : kontrol normal (dengan sperma)

K2 : kontrol tanpa sperma (tanpa perlakuan apa-apa)

Diagram hubungan antara perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease dengan jumlah telur pada perkembangan embrio fase blastula dapat disajikan pada gambar berikut ini.



Gambar 10. Perkembangan embrio pada fase pembelahan blastula telur ikan lele dumbo

Selanjutnya setelah dilakukan perhitungan diperoleh daftar sidik ragam seperti terdapat dalam tabel 7 berikut ini.

Tabel 7. Daftar sidik ragam tingkat perkembangan embrio pada fase blastula telur ikan lele dumbo

sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	96.18	48.09	3.73	5.14	10.9
Acak	6	77.39	12.89			
Total	8	173.57				

$F_{hit} < F_{tabel 1\%}$  berarti non significant/ tidak berbeda nyata

Berdasarkan tabel tersebut, dapat diketahui bahwa perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, tidak berbeda nyata terhadap perkembangan embrio ikan lele dumbo pada fase blastula. Ini dapat diketahui dari perlakuan C yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 50.22% dibandingkan dengan kontrol tanpa sperma (K2) yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 28.06% (lihat tabel 6).

#### 4.1.4 Fase pembelahan gastrula

Data hasil penelitian dengan perlakuan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease pada tahap perkembangan embrio telur ikan lele dumdo (*Clarias sp.*) pada fase gastrula disajikan pada tabel 8.

Tabel 8. Data pengamatan perkembangan embrio pada fase gastrula telur ikan lele dumbo (%)

PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	25.5	22.83	20.67	69	23
B	16.67	30.83	31.67	79.17	26.39
C	41.67	38.33	35	115	38.33
total				263.17	
K1	63.33	58.33	59.17	180.83	60.28
K2	0	0	0	0	0

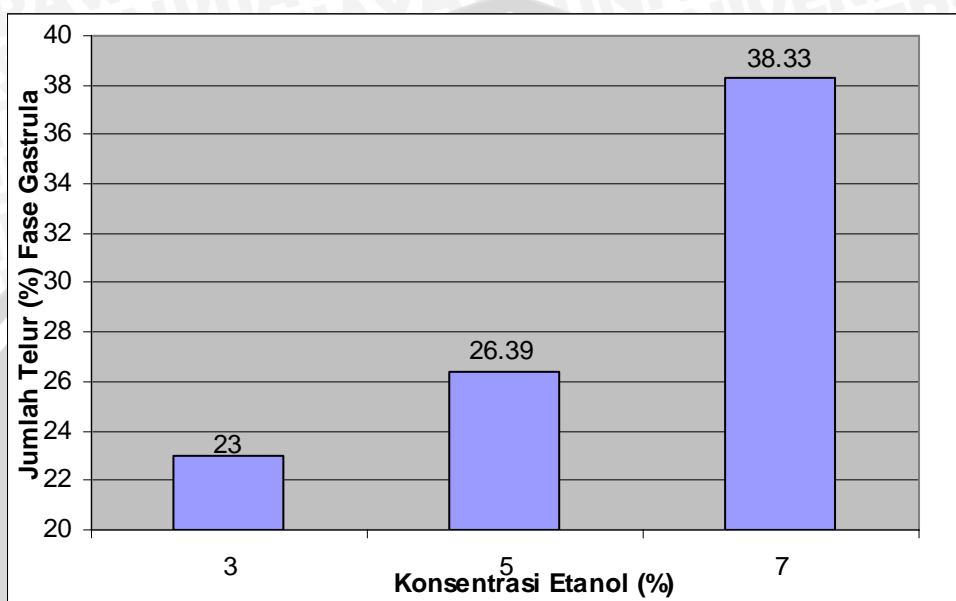
Keterangan :

K1 : kontrol normal (dengan sperma)

K2 : kontrol tanpa sperma (tanpa perlakuan apa-apa)



Diagram hubungan antara perlakuan penggunaan enzim protease pada konsentrasi etanol 40°C yang berbeda dengan jumlah telur pada perkembangan embrio tertinggi dapat disajikan pada gambar 11.



Gambar 11. Perkembangan embrio pada fase pembelahan gastrula telur ikan lele dumbo

Selanjutnya setelah dilakukan perhitungan diperoleh daftar sidik ragam seperti terdapat dalam tabel seperti dibawah ini.

Tabel 9. Daftar sidik ragam tingkat perkembangan embrio pada fase gastrula telur ikan lele dumbo.

sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	153.48	76.74	5.86	5.14	10.9
Acak	6	78.55	13.09			
Total	8	232.03				

$F_{hit} < F_{tabel 5\%}$  = berarti significant/berbeda nyata

Berdasarkan tabel diatas, dapat diketahui bahwa perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, berpengaruh nyata terhadap perkembangan embrio ikan lele dumbo pada fase gastrula. Hasil tersebut menunjukkan telur (embrio) terus mengalami perkembangan, ini

dapat diketahui dari perlakuan C yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 38.33% dibandingkan dengan kontrol tanpa sperma (K2) yang tidak mengalami perkembangan embrio lagi dengan jumlah 0%. Untuk mengetahui perbedaan pengaruh dari tiap perlakuan maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), dengan perhitungan berdasarkan uji BNT disajikan pada tabel 10 berikut ini.

Tabel 10. Daftar uji BNT perkembangan embrio pada fase gastrula telur ikan lele dumbo

Rata-rata Perlakuan	A (28.64)	B (30.69)	C (38.24)	Notasi
A (28.64)	-			a
B (30.69)	2.05 <sup>ns</sup>	-		b
C (38.24)	9.6*	7.55*	-	b

Keterangan : \* = berbeda nyata

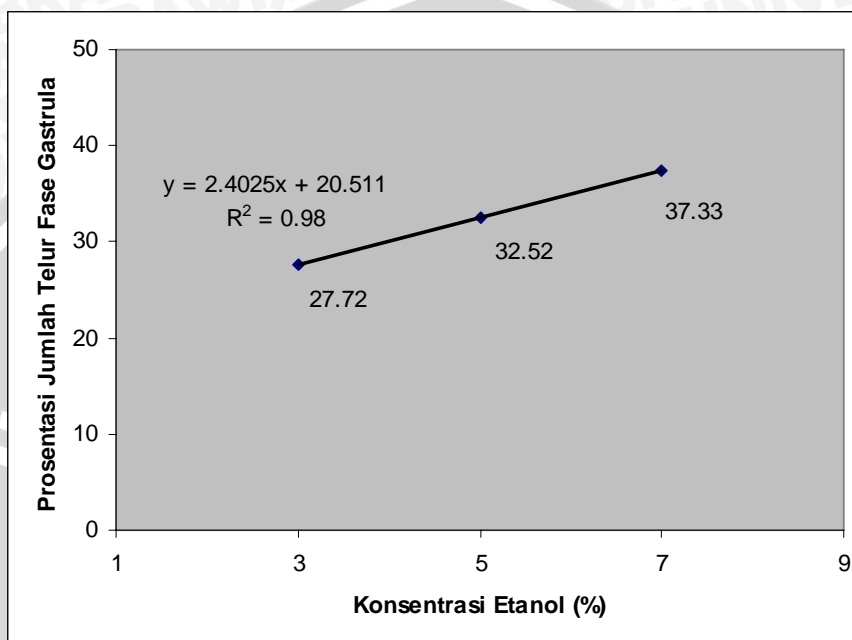
Ns = tidak berbeda nyata

Berdasarkan tabel 10, dapat diketahui bahwa perlakuan C berbeda nyata terhadap perlakuan B. Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan jumlah telur pada perkembangan embrio ikan lele dumbo dengan penggunaan enzim protease pada konsentrasi etanol 40°C yang berbeda. Perbedaan ini bukan berarti semua telur teraktivasi, karena dibandingkan dengan kontrol normal yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 60.28%.

Berdasarkan analisis polinomial orthogonal diperoleh hubungan linier antara konsentrasi etanol 40°C terhadap perkembangan embrio ikan lele dumbo dengan persamaan  $Y = 2.4025x + 20.511$  dengan nilai  $R^2 = 0.98$ . Hal ini dapat dilihat pada grafik persamaan linier yang disajikan pada gambar 12 berikut ini, dimana X = Konsentrasi etanol dan Y = jumlah telur perkembangan embrio pada fase gastrula.

Grafik hubungan antara perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease terhadap jumlah telur (%) perkembangan embrio tertinggi pada fase gastrula disajikan pada gambar 12.

(Grafik Linear)



Gambar 12. Pengaruh perbedaan konsentrasi etanol yang dipanaskan 40°C dan ditambahkan enzim protease pada fase gastrula telur ikan lele dumbo

Gambar grafik 12, memperlihatkan bahwa pada penelitian telur ikan lele dumbo ini mempunyai respon yang berbeda dalam perkembangan embrio sebagai akibat dari perbedaan konsentrasi etanol. Perlakuan C dengan konsentrasi etanol (7%) memiliki jumlah telur yang terbanyak dengan jumlah 38.33% diikuti perlakuan B dengan konsentrasi etanol 5% memiliki jumlah telur 26.39%. Persamaan yang diperoleh dari grafik di atas menunjukkan hubungan yang linier antara konsentrasi etanol dengan jumlah telur pada fase gastrula.

#### 4.1.5 Fase pembelahan Organogenesis

Data hasil penelitian dengan perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease pada tahap

perkembangan embrio telur ikan lele dumdo (*Clarias sp.*) pada fase organogenesis disajikan pada tabel 11.

Tabel 11. Data pengamatan tingkat perkembangan embrio pada fase organogenesis telur ikan lele dumbo (%)

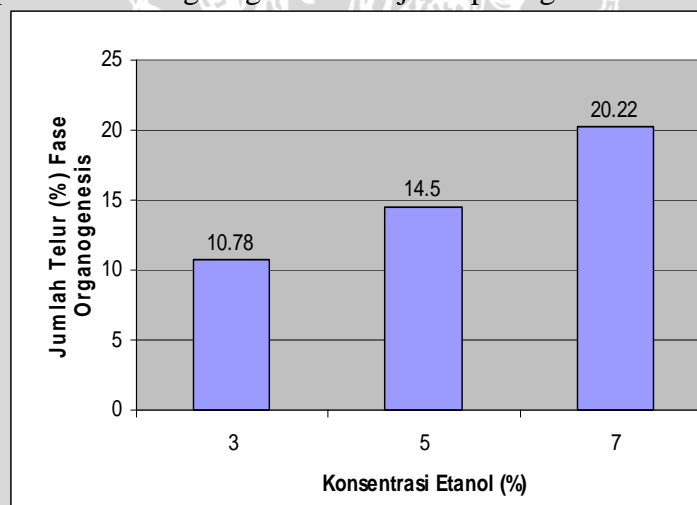
PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	11.5	12.5	8.33	32.33	10.78
B	16.33	14.33	12.83	43.5	14.5
C	27.83	16.67	16.17	60.67	20.22
total				136.5	
K1	60.5	57	53.5	171	57
K2	0	0	0	0	0

Keterangan :

K1 : kontrol normal (dengan sperma)

K2 : kontrol tanpa sperma (tanpa perlakuan apa-apa)

Diagram hubungan antara perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, dengan jumlah telur pada fase pembelahan organogenesis disajikan pada gambar 13 berikut ini.



Gambar 13. Perkembangan embrio pada fase pembelahan organogenesis telur ikan lele dumbo.

Selanjutnya setelah dilakukan perhitungan diperoleh daftar sidik ragam seperti terdapat dalam tabel 12 berikut ini.

Tabel 12. Daftar sidik ragam tingkat perkembangan embrio pada fase organogenesis telur ikan lele dumbo

sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	83.62	41.81	4.59	5.14	10.9
Acak	6	54.61	9.10			
Total	8	138.23				

$F_{hit} < F_{tabel 5\%}$  = berarti non significant/tidak berbeda nyata

Berdasarkan tabel 12 dapat diketahui bahwa perlakuan konsentrasi etanol yang berbeda, tidak berbeda nyata terhadap perkembangan embrio ikan lele dumbo pada fase organogenesis. Ini dapat diketahui dari perlakuan C yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 20.22% dibandingkan dengan kontrol tanpa sperma yang tidak mengalami perkembangan embrio yaitu 0% (lihat tabel 11).

#### 4.1.6 Fase Penetasan

Data hasil penelitian dengan perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease pada perkembangan embrio telur ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) pada fase penetasan disajikan pada tabel 13.

Tabel 13. Data pengamatan tingkat perkembangan embrio pada masing-masing konsentrasi etanol 40°C pada fase penetasan telur ikan lele dumbo

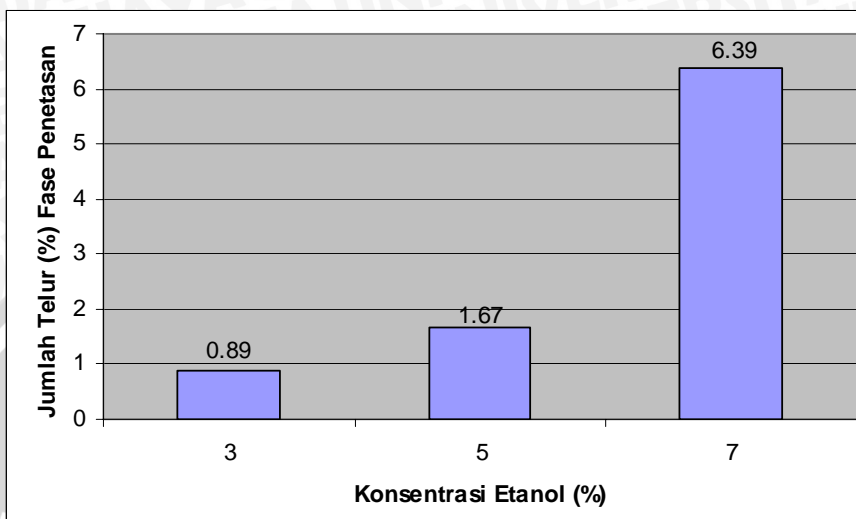
PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	0.83	0.83	1	2.67	0.89
B	1.67	1.5	1.83	5	1.67
C	2	5.5	11.67	19.17	6.39
total				26.83	
K1	66	63	62	191	63.67
K2	0	0	0	0	0

Keterangan :

K1 : kontrol normal (dengan sperma)

K2 : kontrol tanpa sperma (tanpa perlakuan apa-apa)

Diagram hubungan antara perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, dengan jumlah telur pada fase penetasan disajikan pada gambar 14 berikut ini



Gambar 14. Perkembangan embrio pada fase penetasan telur ikan lele dumbo

Selanjutnya setelah dilakukan perhitungan diperoleh daftar sidik ragam seperti terdapat dalam tabel 14 berikut ini.

Tabel 14. Daftar sidik ragam tingkat perkembangan embrio pada fase penetasan telur ikan lele dumbo.

Sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	117.87	58.94	5.00	5.14	10.9
Acak	6	70.70	11.78			
Total	8	188.5719				

$F_{hit} < F_{tabel 5\%}$  = berarti non significant/tidak berbeda nyata

Berdasarkan tabel sidik ragam, dapat diketahui bahwa perlakuan konsentrasi etanol yang berbeda, tidak berbeda nyata terhadap perkembangan embrio ikan lele dumbo pada fase penetasan. Ini dapat diketahui dari perlakuan C yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 6.39% dibandingkan dengan kontrol tanpa sperma yang tidak mengalami perkembangan embrio yaitu 0% (lihat tabel 13).

#### 4.1.7 Data Hasil Pengamatan Pada Perkembangan Embrio Tertinggi

Data hasil penelitian dengan perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, terhadap tahap perkembangan embrio pada telur ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) disajikan pada tabel 15.

Tabel 15. Data pengamatan rata-rata tingkat perkembangan embrio total ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) (%)

Perlakuan	Rata-rata Tingkat Perkembangan Embrio						
	Pembelahan 8 sel	Morula	Blastula	Gastrula	Organo	Penetasan	Larva hari ke-2
A (3%)	81.94	65.17	37	23	10.78	0.89	0.22
B (5%)	92	83.06	46.94	26.39	14.5	1.67	0.78
C (7%)	95.33	85.33	50.22	38.33	20.22	6.39	5.39
K1	92.67	85.17	74.44	60.28	57	63.67	56.11
K2	84.78	80.72	28.06	0	0	0	0

Tabel 15. Lanjutan

Perlakuan	Rata-rata Tingkat Perkembangan Embrio							
	Larva hari ke-3	Larva hari ke-4	Larva hari ke-5	Larva hari ke-6	Larva hari ke-7	Larva hari ke-8	Larva hari ke-9	Larva hari ke-10
A (3%)	0.06	0.06	0.06	0	0	0	0	0
B (5%)	0.56	0.17	0.11	0.06	0.06	0.06	0	0
C (7%)	4.17	3.61	1.61	0.89	0.33	0.33	0.11	0.06
K1	51.72	50.67	47.83	41.89	39.61	37.89	26.89	16.89
K2	0	0	0	0	0	0	0	0

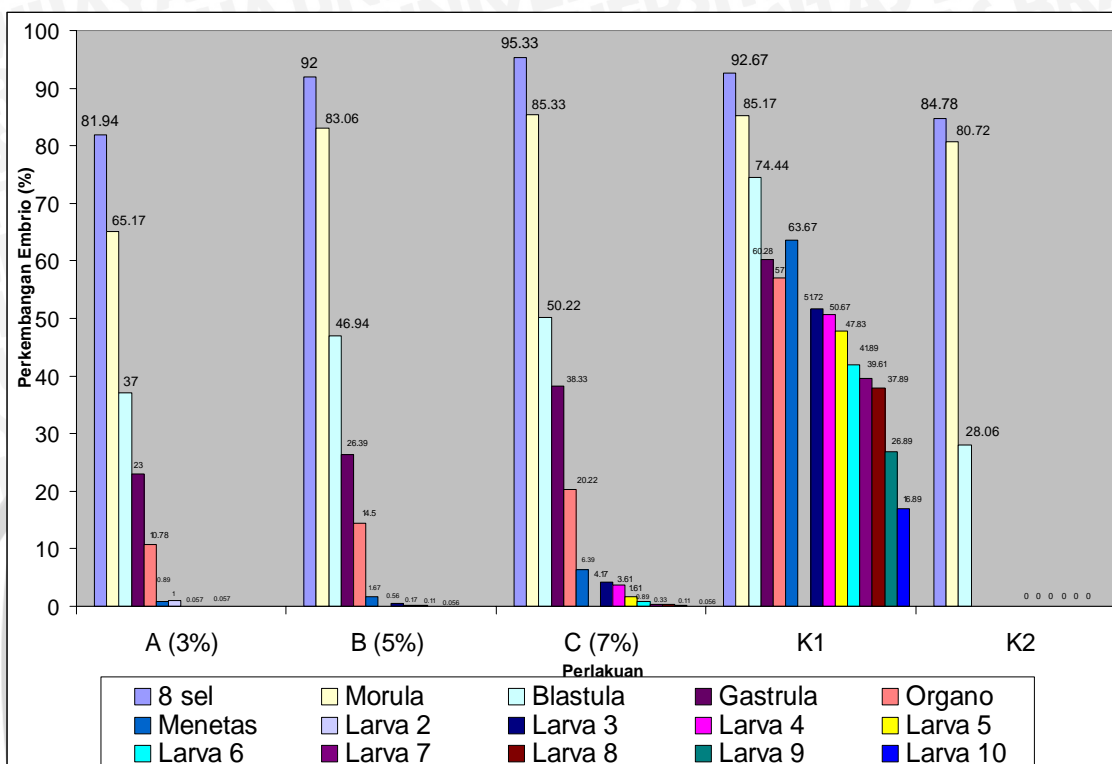
Keterangan :

K1 : kontrol normal (dengan sperma)

K2 : kontrol tanpa sperma (tanpa perlakuan apa-apa)

Dari data pengamatan rata-rata tingkat perkembangan embrio total ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) dilanjutkan dengan diagram hubungan antara perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan

ditambahkan enzim protease, dengan jumlah telur pada perkembangan embrio tertinggi disajikan pada gambar berikut ini.



Gambar 15. Perkembangan embrio tertinggi telur ikan lele dumbo

Dari penelitian dengan menggunakan etanol yang di panaskan 40<sup>0</sup>C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease pada proses parthenogenesis didapat hasil pada fase pembelahan 8 sel yaitu perlakuan C dengan konsentrasi etanol 7% didapat jumlah telur yang berkembang 95.33%, untuk fase morula yaitu perlakuan C didapat jumlah telur yang berkembang 85.33%, untuk fase blastula yaitu perlakuan C didapat jumlah telur yang berkembang 50.22%, untuk fase gastrula yaitu perlakuan C didapat jumlah telur yang berkembang 38.33%, untuk fase organogenesis yaitu perlakuan C didapat jumlah telur yang berkembang 20.22%, untuk fase penetasan yaitu perlakuan C didapat jumlah telur yang berkembang 6.39%, untuk fase larva hari ke-2 yaitu perlakuan C didapat jumlah larva yang berkembang 5.39%, untuk fase larva hari ke-3 yaitu perlakuan C didapat jumlah larva yang berkembang 4.17%, untuk fase larva





hari ke-4 yaitu perlakuan C didapat jumlah larva yang berkembang 3.61%, untuk fase larva hari ke-5 yaitu perlakuan C didapat jumlah larva yang berkembang 1.61%, untuk fase larva hari ke-6 yaitu perlakuan C didapat jumlah larva yang berkembang 0.89%, untuk fase larva hari ke-7 yaitu perlakuan C didapat jumlah larva yang berkembang 0.33%, untuk fase larva hari ke-8 yaitu perlakuan C didapat jumlah larva yang berkembang 0.33%, untuk fase larva hari ke-9 yaitu perlakuan C didapat jumlah larva yang berkembang 0.11%, untuk fase larva hari ke-10 yaitu perlakuan C didapat jumlah larva yang berkembang 0.06%, sedangkan secara keseluruhan diperoleh konsentrasi etanol 40<sup>0</sup>C yang terbaik yaitu 7% dengan jumlah larva yang berkembang hingga hari ke-10 adalah 0.06%.

Hasil ini sesuai dengan Stacheki *et al* (1994) dalam Pekey (2007) bahwa konsentrasi etanol 7% sering digunakan untuk mengaktivasi oosit secara partenogenesis dengan menginduksi peningkatan ion kalsium (Ca<sup>2+</sup>). Dijelaskan juga Ruddock *et al.*,(2000) dalam Pekey (2007), perlakuan dengan etanol 7% berakibat meningkatkan rata-rata keasaman (pH) intra sel pada oosit babi, sehingga memicu ion kalsium (Ca<sup>2+</sup>) intra sel untuk memulai siklus sel meiosis II. Proses peningkatan konsentrasi ion kalsium diinduksi oleh peningkatan etanol sebagai molekul sinyal pada reseptor tirosin kinase. Etanol yang terikat pada reseptor mengakibatkan pengaktifan enzim *Phospholipase C* (PLC). Enzim ini memecah protein membran plasma yang disebut *Phosphotidyl inositol 4,5-bisphosphate* (PIP2) menjadi *diacylglycerol* (DAG) dan *Inositol 1,4,5-triphosphate* (IP3). IP3 lalu berikatan dengan reseptor yang ada pada retikulum endoplasma (RE) ke sitoplasma (Campbell dkk., 1999 dalam Nurbaini, 2005).

Menurut Nakada and Mizuno (1998) dalam Ciptadi (2005), etanol berfungsi untuk menaikkan konsentrasi kalsium intraseluler sehingga menyebabkan terjadinya *repetitive* kalsium transien tunggal pada oosit berbagai spesies. Setelah pemaparan oosit dalam etanol 7% atau Calcium Ionophore A-23187 10 $\mu$ M, akan menyebabkan kenaikan transien Ca<sup>2+</sup> tunggal pada oosit selama 500 detik. Etanol menginduksi kenaikan konsentrasi Ca<sup>2+</sup> lebih lama dari pada Calcium Ionophore A-23187, tetapi puncaknya lebih rendah.

Penelitian ini menggunakan enzim protease tripsin pada konsentrasi etanol panas (40<sup>0</sup>C) yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang nyata. Tripsin adalah protein globular yang memiliki 245 residu asam amino dengan lima jembatan disulfide. Tripsin membantu pencernaan dengan memutus ikatan peptide pada protein dan peptide makanan. Tetapi kekhususan tripsin ialah bahwa enzim ini hanya memutus ikatan peptide yang gugus karbonnya berasal dari lisina dan arginina, yaitu dua residu yang rantai sampingnya bermuatan positif pada pH enzim yang optimum (Wilbraham dan Matta, 1992), Kekhususan aktivitas enzim adalah peranannya sebagai katalis hanya terhadap satu reaksi atau beberapa reaksi yang sejenis saja, sehingga dapat melibatkan beberapa jenis substrat (Winarno, 1986). Penetasan telur yang cepat dapat diperoleh dengan menggunakan enzim protease alkalin. Enzim ini biasanya digunakan dalam industri pencucian untuk membersihkan kotoran organik pada bahan tekstil secara biologi. Enzim tersebut berada pada sel telur dengan cara melarutkan cangkang telur (Rustidja, 2004).

Menurut (Wilbraham dan Matta, 1992) Enzim menyusun sebagian besar protein total dalam sel. Suatu sel dapat memuat 3000 jenis molekul enzim dan sejumlah besar dari setiap jenis. Enzim dapat mempercepat reaksi kimia, sedangkan protein lain tidak

dapat. Oleh sebab itu, enzim adalah katalis. Selain mampu meningkatkan reaksi, enzim memiliki dua sifat lain katalis sejati. Pertama, enzim tidak diubah oleh reaksi yang dikatalisnya. Kedua (dan yang penting), walaupun dapat mempercepat reaksi, enzim tidak mengubah kedudukan normal dari kesetimbangan kimia. Dengan kata lain, enzim dapat membantu mempercepat pembentukan produk, tetapi akhirnya jumlah produk tetap sama dengan produk yang diperoleh tanpa enzim.

Penggunaan enzim tripsin pada telur dilakukan agar terjadi pelunakan lapisan cangkang telur sehingga etanol dapat masuk dan terjadi aktivasi fertilisasi. Hasil perkembangan embrio perthenogenesis yang dihasilkan masih rendah. Ada banyak faktor yang diduga berpengaruh pada hasil ini. Jika ditinjau dari salah satu faktor utama aktivasi sebagai fokus penelitian, maka hal ini bisa berarti bahwa aktivasi yang dilakukan adalah belum optimal untuk mendukung perkembangan embrio.

Pada penelitian ini menggunakan 2 kontrol yaitu kontrol normal dengan menggunakan sperma dan kontrol tanpa sperma. Kontrol normal ini diperoleh dengan cara mencampur telur dengan sperma, dan ditambahkan dengan larutan fertiliser lalu diamati sampai mengalami penetasan. Kontrol normal dengan sperma ternyata mengalami penetasan pada hari berikutnya dengan jumlah telur sebesar 63.67%. Pada kontrol tanpa sperma (tanpa perlakuan apa-apa) ternyata hanya sampai fase blastula awal lalu mati dengan jumlah telur sebesar 28.06%.

#### **4.2 Tingkat Penetasan (*Hatching rate*)**

Data hasil penelitian dengan perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease menunjukkan tingkat penetasan (*Hatching rate*) yang berbeda pada ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) dapat dilihat pada lampiran 2.

Tabel 16. Data pengamatan Tingkat penetasan pada sel telur ikan lele dumbu.

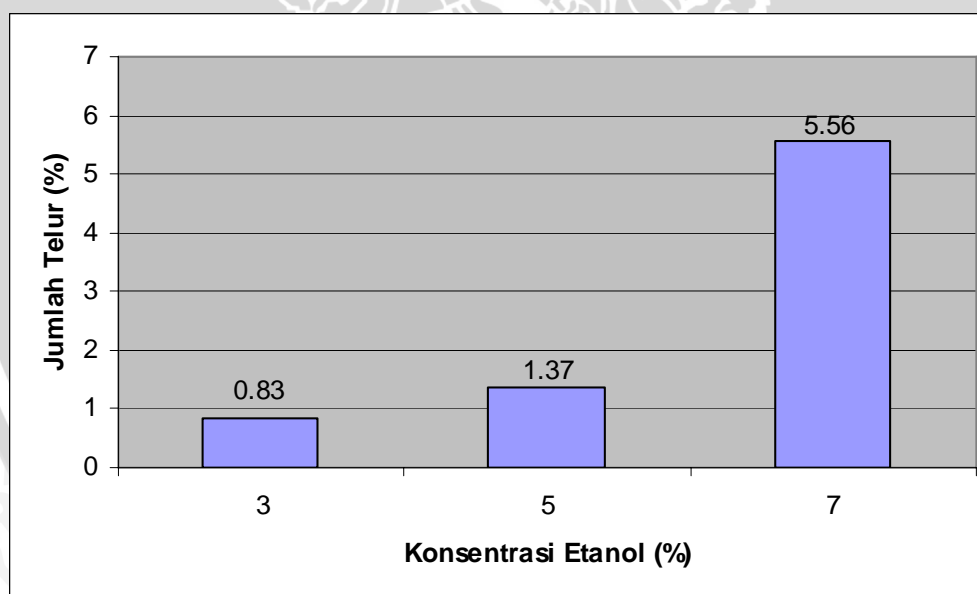
PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	0.83	0.83	0.83	2.49	0.83
B	1.3	1.5	1.3	4.1	1.37
C	1.5	4.67	10.5	16.67	5.57
total				23.26	
K1	56.67	54.33	52	163	54.33
K2	0	0	0	0	0

Keterangan :

K1 : kontrol normal (dengan sperma)

K2 : kontrol tanpa sperma (tanpa perlakuan apa-apa)

Diagram hubungan antara perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, dengan Prosentase perkembangan telur ikan lele dumbu disajikan pada gambar 16 berikut ini.



Gambar 16. Hubungan perlakuan konsentrasi etanol 40°C yang berbeda dengan Prosentase perkembangan telur ikan lele dumbu.

Selanjutnya setelah dilakukan perhitungan diperoleh daftar sidik ragam untuk mengetahui apakah data tersebut berbeda nyata atau tidak. seperti terdapat dalam tabel 17 berikut ini.

Tabel 17. Daftar sidik ragam tingkat penetasan pada perlakuan konsentrasi etanol 40°C yang berbeda dengan Prosentase perkembangan telur ikan lele dumbo

sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	40.19	20.09	3.05	5.14	10.9
Acak	6	39.46	6.58			
Total	8	79.64				

$F_{hit} < F_{tabel 5\%}$  = berarti non significant/tidak berbeda nyata

Berdasarkan tabel 17 dapat diketahui bahwa perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, tidak berbeda nyata terhadap perkembangan embrio ikan lele dumbo pada fase penetasan. Ini dapat diketahui dari perlakuan C yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 5.57% dibandingkan dengan kontrol tanpa sperma yang tidak mengalami perkembangan embrio yaitu 0% (lihat tabel 16).

Sedangkan pada kontrol memakai sperma mempunyai tingkat penetasan yang tinggi yaitu sebesar 54.33% atau masih diatas perlakuan C. Hal ini terjadi karena kontrol memakai sperma kematian larva hanya dikarenakan faktor lain seperti kualitas telur, kualitas air seperti pH, suhu, dan kandungan oksigen di dalam air, bisa juga dikarenakan cara penanganan telur selama penelitian.

Menurut Gustiano, Harjamulia dan Subagyo, 1987 dalam (Rustidja, 1997), prosentasi penetasan rendah sebagai akibat adanya perkembangan telur yang tidak seragam kematangan gonadnya dan juga karena kualitas sperma yang menurun sehingga terjadi banyak telur yang tidak terbuahi. Hal ini terlihat dari banyaknya telur yang berwarna putih keruh setelah 24 jam pertama. Dengan demikian banyak telur yang rusak dan kemudian tidak menetas.

Fase gastrula merupakan fase yang rawan pada perkembangan telur sehingga kematian tertinggi pada fase ini (Nagy dalam Rustidja, 1989). (Chourrout dan Gervai

dalam Komen et al, 1986) memberikan ciri-ciri larva cacat yaitu kepala mengecil, pemendekan dan pembengkokan ekor serta penyusutan dan pembengkakan kuning telur, dengan keadaan tersebut maka larva tidak bertahan lama.

Menurut Effendie, 1978 dalam (Rustidja, 1997), bahwa pengerasan chorion terjadi semenjak telur dibuahi sampai telur akan menetas dan pengerasan chorion ini disebabkan adanya penambahan ion Calcium yang terdapat dalam air. Pada saat akan menetas embrio ikan melakukan pergerakan sehingga chorion akan pecah, tetapi dalam pergerakan tersebut karena adanya penambaham ion Calcium maka chorion sulit pecah, sehingga setelah menetas, embrio akan lahir dalam kondisi tubuh yang cacat.

Dalam reaksi berenzim, reaksi terjadi melalui interaksi substrat dengan rantai samping residu asam amino yang cocok dari enzim atau koenzim yang ada pada enzim. Salah satu sifat dari kebanyakan enzim ialah kekhususan, maksudnya *mengkatalisis satu reaksi kimia dengan hanya satu jenis substrat*. (Wilbraham dan Matta, 1992).

Ketepatan pengikatan substrat pada enzim membuahkan dua keuntungan. Pertama, pengikatan dapat menyatukan substrat dan enzim. Keadaan ini meningkatkan konsentrasi substrat yang efektif pada tapak aktif enzim. Sekalipun dalam larutan encer substrat dan enzim saling berhubungan satu dengan satu pada tapak aktif. Kedua, sekali terikat, kecocokan substrat pada tapak aktifnya menempatkan substrat tersebut pada kedudukan yang paling tepat untuk membentuk atau memutuskan ikatan yang dikatalisis oleh enzim. Kedua ciri ini menyebabkan cepatnya reaksi yang berkataliskan enzim, berjuta kali lebih cepat dibanding reaksi yang sama tanpa enzim. Enzim menyusun sebagian besar dari protein total dalam sel. Suatu sel dapat memuat 3000 jenis molekul enzim dan sejumlah besar molekul dari setiap jenis (Wilbraham dan Matta, 1992).

### 4.3 Tingkat Kelulushidupan (*Survival Rate*)

Tingkat kelulushidupan (*survival rate*) ini diukur berdasarkan jumlah larva normal yang hidup pada awal penelitian dan jumlah larva normal yang mampu bertahan hidup pada akhir penelitian.

Tabel 18. Data pengamatan Tingkat Kelulushidupan pada larva dengan perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40<sup>0</sup>C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, pada sel telur ikan lele dumbo.

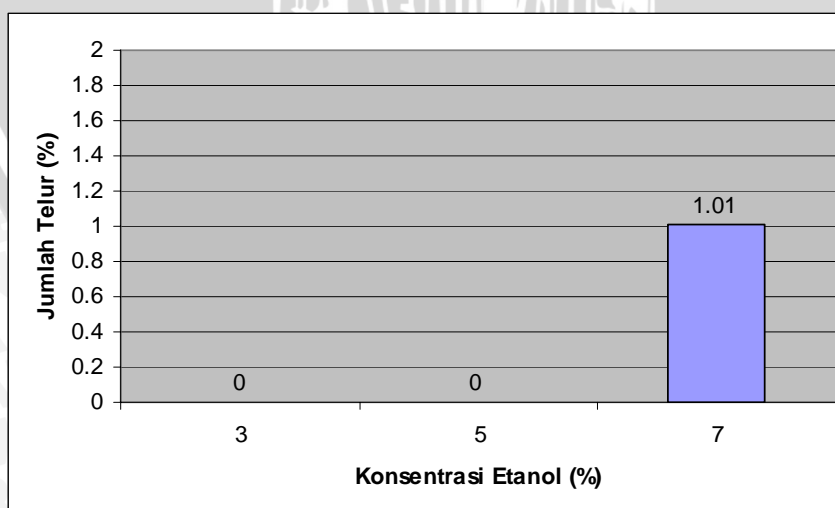
PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	0	0	0	0	0
B	0	0	0	0	0
C	0	3.03	0	3.03	1.01
total				3.03	
K1	35.3	30.1	27.56	92.96	30.98
K2	0	0	0	0	0

Keterangan :

K1 : kontrol normal (dengan sperma)

K2 : kontrol tanpa sperma (tanpa perlakuan apa-apa)

Dari data jumlah tingkat kelulushidupan pada masing–masing perlakuan dapat dibuat grafik rata–rata kelulushidupan larva ikan pada masing–masing perlakuan seperti terlihat pada gambar berikut ini.



Gambar 17. Grafik rata–rata jumlah kelulushidupan larva ikan lele Dumbo (*Clarias sp.*) pada masing–masing perlakuan.

Dari hasil perhitungan statistik setelah ditransformasikan dalam bentuk arc sin akar persentase (dapat dilihat pada lampiran 10) didapatkan daftar sidik ragam seperti pada tabel berikut.

Tabel 19. Hasil sidik ragam kelulushidupan larva ikan lele Dumbo (*Clarias sp.*) pada masing – masing perlakuan

sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	2.04	1.02	1	5.14	10.9
Acak	6	6.12	1.02			
Total	8	8.16				

$F_{hit} < F_{tabel 5\%}$  = berarti non significant/tidak berbeda nyata

Berdasarkan tabel 19, diketahui bahwa perlakuan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, tidak berbeda nyata terhadap perkembangan embrio ikan lele dumbo pada fase penetasan. Ini dapat diketahui dari perlakuan C yang mengalami perkembangan embrio dengan jumlah 1.01% dibandingkan dengan kontrol tanpa sperma yang tidak mengalami perkembangan embrio yaitu 0% (lihat tabel 18).

#### 4.4 Morfologi Larva

Penelitian penggunaan menggunakan etanol yang di panaskan 40°C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, didapat perlakuan A, B dan C dengan konsentrasi etanol 3%, 5% dan 7% mengalami pembelahan hingga fase penetasan, hasil dari pembelahan ini dapat dilihat pada Lampiran 1. Pada perlakuan perendaman enzim protease dilanjutkan masing-masing dalam etanol 3%, 5% dan 7% oosit yang telah teraktivasi berkembang membentuk *blastodisc* pada bagian kutub animalnya. Tahap awal perkembangan pada telur perlakuan hampir sama dengan tahap awal pembelahan pada proses fertilisasi normal. Pembelahan secara normal terjadi



hingga tahap 8 sel setelah itu telur mengalami *abnormal cleavage*. *Abnormal cleavage* dapat ditemukan pada fase morula, dimana telur yang diberikan perlakuan mengalami bentuk yang berbeda dari pada fertilisasi normal. *Abnormal cleavage* pada telur perlakuan mulai terjadi 4-6 jam setelah inkubasi dalam kotak perlakuan yang diletakan dalam inkubator dan terjadi hingga fase penetasan, tetapi hanya beberapa yang sampai pada fase penetasan. Penelitian dikatakan berhasil ketika perlakuan dapat melebihi perkembangan embrio pada kontrol tanpa sperma.

Menurut Liu dkk., (2005) dalam Novalisa (2007) fluktuasi konsentrasi kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) akan berpengaruh besar terhadap respon telur (aktivasi) dan perkembangan telur selanjutnya. Fluktuasi kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dapat mempengaruhi perpindahan kromosom dan regulasi siklus sel. Kematian sel pada perlakuan partenogenesis bukan disebabkan kualitas oosit yang kurang bagus, ini dapat dilihat bahwa oosit yang digunakan memiliki kualitas yang bagus karena tingkat penetasan oosit yang difertilisasi secara normal mampu menetas mencapai 63,67%. Hal ini dimungkinkan karena zat kimia yang digunakan dalam perlakuan dapat bersifat toksik terhadap oosit tersebut sehingga menyebabkan embrio berkembang secara abnormal dan menyebabkan kematian, apalagi dipaparkan dalam waktu yang lama. Precise (1994) dalam Novalisa (2007), etanol mampu menginduksi pelepasan kalsium ekstraseluler dan intraseluler, pemaparan etanol dengan waktu yang pendek efisien mengaktivasi oosit. Perubahan morfologi sel secara abnormal, dimungkinkan pada saat sitokinesis terjadi tidak sempurna sehingga pembagian sitoplasma pada sel anakan hasil pembelahan tidak sama sehingga mempengaruhi bentuk sel menjadi abnormal (Novalisa, 2007). Adanya *abnormal cleavage* yang terjadi pada telur perlakuan dapat diketahui dengan membandingkan pembelahan yang terjadi pada telur yang difertilisasi sebagai kontrol.

#### 4.5 Kualitas air

Selama penelitian berlangsung, pengukuran kualitas air dilakukan yang meliputi suhu ( $^{\circ}\text{C}$ ), oksigen terlarut (DO), dan pH (ppm) pada tiap wadah media penelitian. Faktor-faktor tersebut turut diperhatikan selama penelitian berlangsung karena air dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan itu sendiri. Air merupakan media bagi ikan merupakan Salah satu faktor penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air. Air sebagai tempat hidup organisme perairan harus mampu mendukung kehidupan dan pertumbuhannya. Untuk itu kualitas air menjadi faktor penting dalam kehidupan ikan selain secara kuantitas harus tersedia. Pada penelitian ini digunakan parameter penunjang, antara lain :

##### 4.5.1 Suhu

Perlakuan yang dilakukan pada telur ikan lele ini tidak memberikan perubahan yang besar terhadap suhu media (air inkubator). Suhu pada media masih dalam kisaran budidaya ikan lele dumbo yaitu sekitar  $26-28^{\circ}\text{C}$ . Suhu sangat berpengaruh pada proses kimia dan biologis (Arifin, 2003).

Menurut Alabaster dan Liyod (1980 dalam Handayani 2001), toleransi ikan terhadap suhu yang berbeda-beda tergantung pada jenis spesies, stadium pertumbuhan, derajat aklimatisasi, oksigen terlarut, jenis dan tingkat pencemaran serta lamanya lingkungan terkena panas dan musim. Fluktuasi suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan organisme karena setiap organisme mempunyai daya adaptasi yang berbeda-beda terhadap suhu lingkungannya.

##### 4.5.2 pH (Derajat Keasaman)

pH adalah suatu ukuran dari konsentrasi ion hidrogen, yang menunjukkan suasana air tersebut apakah bereaksi asam atau basa. Skala pH mempunyai deret 0-14

dan pH 7 adalah netral, tidak bersifat asam atau basa. Skala pH akan menurun (bersifat asam) apabila konsentrasi karbondioksida (CO<sub>2</sub>) meningkat, derajat keasaman air ditentukan oleh ion H<sup>+</sup> yang dinyatakan dengan nilai 0-14 dan pH 7 adalah netral, tidak bersifat asam atau basa. Derajat keasaman (pH) air dapat diukur dengan menggunakan kertas lakmus atau pH meter. Skala pH akan menurun (bersifat asam) apabila konsentrasi karbondioksida (CO<sub>2</sub>) meningkat. Hasil pengukuran pH pada saat penelitian adalah 7,4 dengan menggunakan pH meter. Kondisi ini sesuai dengan kisaran pH untuk lele dumbo menurut Khairuman (2002) yaitu 6,5-8.

Menurut Stickney (1979 dalam Handayani 2001), pH di perairan dipengaruhi oleh jumlah CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dari proses respirasi sesuai dengan reaksi sebagai berikut ini



Dari reaksi di atas dapat dilihat bahwa CO<sub>2</sub> akan bereaksi dengan H<sub>2</sub>O membentuk H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> yang pada reaksi selanjutnya akan terionisasi menjadi ion H<sup>+</sup> dan HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> yang akan terionisasi lagi menjadi ion H<sup>+</sup> dan CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. Penambahan ion H<sup>+</sup> pada air akan berakibat meningkatkan keasaman air yang diindikasikan dengan turunnya pH.

#### 4.5.3 Oksigen terlarut

Berdasarkan hasil pengamatan pada saat penelitian berlangsung didapatkan kisaran oksigen terlarut yaitu 8,2 mg/l. Kondisi ini sesuai dengan kandungan oksigen terlarut yang baik untuk kehidupan lele dumbo adalah di atas 3 mg/l, namun ikan lele mempunyai organ pernafasan tambahan (arborescent organ), maka ikan lele mampu hidup pada air dengan DO 0-3 mg/l (Viveen et al,1986 dalam Handayani 2001).

Kondisi kadar oksigen terlarut merupakan komponen terpenting dalam kehidupan akuatik. Oksigen terlarut dalam air dapat berkurang karena digunakan untuk respirasi baik fitoplankton maupun organisme lain dalam perairan, selain itu oksigen juga bisa berkurang karena pada proses dekomposisi bahan organik. Penyebab lain berkurangnya kandungan oksigen dalam air lepasnya oksigen ke udara yang diakibatkan oleh meningkatnya suhu air.



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian tentang “Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol Panas Dan Penambahan Enzim Protease Terhadap Keberhasilan Pengaktivasian (Parthenogenesis) Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*)” dapat disimpulkan sebagai berikut :

- ❖ Penelitian dengan perlakuan penggunaan etanol yang di panaskan 40<sup>0</sup>C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, diperoleh hasil pada fase morula dan gastrula berpengaruh nyata terhadap jumlah telur yang berkembang yaitu sebesar 85.33% dan 38.33% pada perlakuan C (7%).
- ❖ Ternyata penggunaan etanol yang di panaskan 40<sup>0</sup>C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease, tidak berpengaruh nyata terhadap fase pembelahan 8 sel, fase blastula, fase organogenesis dan fase penetasan pada jumlah telur yang berkembang. Akan tetapi hasil tersebut masih lebih rendah dibandingkan dengan hasil kontrol normal dengan sperma (K1) yang menghasilkan jumlah telur pada fase 8 sel sebesar 92.67%, pada fase blastula 74.44%, pada fase organogenesis 57% dan pada fase penetasan sebesar 63,67%.
- ❖ Ternyata penggunaan etanol yang di panaskan 40<sup>0</sup>C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease tidak memberikan pengaruh yang nyata. Efek katalis enzim dan aktivasi etanol dapat dikatakan berhasil dalam penelitian ini walaupun tidak di capai hasil yang maksimal pada perkembangan embrio. Pengaruh penggunaan etanol panas pada konsentrasi yang berbeda menunjukkan hasil berbeda nyata dan hasil terbaik pada perlakuan C (7%) dengan

HR dan SR (pada hari ke 10) masing-masing 5.56% dan 1.01%, akan tetapi hasil tersebut masih lebih rendah dibandingkan dengan hasil kontrol normal dengan sperma (K1) yang menghasilkan jumlah telur HR dan SR (pada hari ke 10) sebesar 54.33% dan 30.98 %.

- ❖ Larva yang dihasilkan pada perlakuan etanol yang di panaskan 40<sup>0</sup>C dengan konsentrasi yang berbeda dan ditambahkan enzim protease berhasil hidup sampai umur 5 hari pada perlakuan A (konsentrasi 3%), 8 hari pada perlakuan B (konsentrasi 5%) dan 10 hari pada perlakuan C (konsentrasi 7%). Ternyata penggunaan enzim protease dengan konsentrasi etanol panas 7% dapat mengaktivasi (parthenogenesis) telur ikan lele dumbo sampai terjadi penetasan telur sampai menjadi larva sebesar 6.39% atau ± 39 ekor dari 600 butir telur.
- ❖ Penggunaan enzim protease pada telur dilakukan agar terjadi pelunakan lapisan cangkang telur sehingga etanol dapat masuk dan terjadi aktivasi fertilisasi.
- ❖ Kualitas air untuk suhu diperoleh sekitar 26-28<sup>0</sup>C pada masa inkubasi telur, pH 7,4 dan oksigen terlarut 8,2 mg/l masih layak untuk perkembangan embrio ikan lele dumbo.

## 5.2 Saran

Dari Hasil penelitian ini dapat disarankan :

- ❖ Perlu penelitian lanjutan pada penggunaan enzim sebagai katalis khusus dan konsentrasi etanol serta kombinasi dengan bahan lain yang digunakan sehingga perkembangan larva dapat bertahan lebih lama sehingga diketahui pertumbuhannya dan dilakukan tes lebih lanjut mengenai hasil parthenogenesis untuk dapat meningkatkan mutu dan kualitas produk perikanan.

- ❖ Ada kemungkinan bahan aktivator lain yang lebih baik dari etanol serta perlunya pengendalian kualitas air.
- ❖ Pemilihan induk yang benar-benar matang gonad dan terjamin keturunan genetik asli lele dumbo, karena kualitas hasil parthenogenesis tergantung dari kualitas telur. Semakin bagus kualitas telur semakin tinggi tingkat kemungkinan terjadinya parthenogenesis.
- ❖ Apabila melakukan penelitian parthenogenesis lanjutan diperlukan prosedur yang tepat serta metodologi sedetail-detailnya agar tidak terjadi kesalahan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonymus. 1989. **Beternak Lele Dumbo Secara Intensif**. Departemen Pertanian Dirjen Perikanan Propinsi DKI Jakarta. Jakarta.
- \_\_\_\_\_. 2006. **<http://Stress In Fish Part I : What Is Stress In Fish>**. <http://www.advancedaquarist/issues/july2004/short.htm>.
- Arfiati, D. 2005. **Anatomi Ikan**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 103 Hal.
- Arifin, Z. 2003. **Budidaya Lele**. Effhar & Dahara Prize (Percetakan dan Penerbitan). Semarang. 93 Hal.
- Barus, T.A. 2002. **Pengantar Limnologi**. Jurusan Biologi FMIPA, USU. Medan. 112 Hal.
- Bhise, M.P.and Tariq A.K. 2002. **Androgenesis: The Best Tool For Manipulation Of Fish Genomes**. Fish Genetics And Biotechnology Division, Central Institute Of Fisheries Education, Versova. Mumbai, India. 232 Hal.
- Ciptadi, G. 2002. **Pengembangan Metode Aktivasi Oosit Rekonstruksi Hasil Transfer Nukleus Intra Sitoplasma Untuk Produksi Embrio Kloning Kambing**. Universitas Brawijaya Program Pasca Sarjana. Malang. 49 Hal.
- David, S. Page.1997. **Prinsip-Prinsip Biokimia**. Airlangga. Jakarta. 256 Hal.
- Effendie, M. I. 1979. **Metode Biologi Perikanan**. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 69 Hal.
- Effendie, M. I. 1993. **Mengenal Beberapa Jenis Koi**. Kanisius. Yogyakarta. 65 Hal.
- Effendie, M. I. 2002. **Biologi Perikanan**. Yayasan Pustaka Utama. Yogyakarta. 163 hal
- Fessenden, 1982. **Kimia Organik (Edisi Ketiga)**. Penerbit Erlangga. Jakarta. 590 Hal.
- Fuadiyah, S. 2007. **Pengaruh Variasi Waktu Perendaman Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Dalam Etanol 7% dan Perendaman Dalam 6-Dimethylaminopurine (6DMAP) Terhadap Aktivasi dan**



- Perkembangan Embrio Parthenogenetik.** Universitas Brawijaya. Malang. 125 Hal.
- Fujaya, Y. 1999. **Fisiologi Ikan.** Jurusan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanudin. Ujung Pandang. 177 Hal.
- Kabakov, A.E. and Vladimir L.G. 1997. **Heat Shock Protein And Cytoprotection: Atp Deprived Mammalian Cells.** R.G. Landes Company. Austin. 237 Hal.
- Kartikaningsih, H. 2005. **Pemanfaatan Enzim Protease Dari Bacillus Sp Dalam Pelunakan Kulit Ikan.** Jurnal Penelitian Perikanan Volume 8 No. 2, Desember 2005. ISSN 0854-3658. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 119-125.
- Khairuman. 2002. **Budidaya Lele Dumbo Secara Intensif.** Agromedia Pustaka. Jakarta. 79 Hal.
- Komen, 1990. **Genetic Reserch At Wageningen.** University and Research Center. The Netherland. 270 Hal.
- Loi, 1998. **Development Of Parthenogenetic Clones Ovine Embryo: Effect Of Activation Protocols.** Biology Reproduksi. 58 Hal.
- Murtidjo, B.A. 2001. **Beberapa Metode Pembenihan Ikan Air Tawar.** Kanisius. Yogyakarta. 107 Hal.
- Mair, G. C. 1993. **Chromosome Set Manipulation in Tilapia Technique, Problems and Prospec.** Aquaculture, 111: 227-244.
- Nazir M, 1983. **Metode Penelitian.** Ghalia Indonesia. Jakarta. 62 Hal.
- Novalisa, T. 2007. **Tingkat Aktivasi dan Perkembangan Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Secara Parthenogenesis Menggunakan Variasi Konsentrasi Etanol dan Sitokalasin B.** Universitas Brawijaya. Malang. 35 Hal.
- Pandian, T.J. dan Varadaraj. K. 1990. **Techniques to Produce 100 % Male Tilapia.** NAGA, The ICLARAM Quuarterly, Volume 13, nomor 34. pp. 3-5.
- Patino, 1997. **Manipulation Of The Reproductive System Of Fishes By Means Of Exogenous Chemicals.** The Progressive Fish-Culturist. Amirican Fisheries. 59 Hal.
- Richter, C.J.J. 1985. **Pengantar Ilmu Reproduksi Ikan.** NUFFIC/UNIBRAW/LUW/FISH. Malang. 86 Hal.

- Rustidja. 1997. **Kromosom Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Polyploid**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 90 Hal.
- Rustidja. 2004. **Pemijahan Buatan Ikan-Ikan Daerah Tropis**. Bahtera Press. Malang. 191 Hal.
- Santoso, B. 1994. **Petunjuk Praktis Budidaya Lele Dumbo dan Lokal**. Kanisius. Yogyakarta. 42 hal.
- Sastrosupadi, A. 2000. **Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi**. Kanisius. Yogyakarta. 276 Hal.
- Subowo, 1995. **Biologi Sel**. Penerbit Angkasa. Bandung. 286 hal.
- Suseno, D. 2004. **Pengelolaan Usaha Pembenihan Ikan Mas**. Penebar Swadaya. Jakarta. 74 Hal
- Sutisna, D.H., Ratno S. 1995. **Pembenihan Ikan Air Tawar**. Kanisius. Yogyakarta. 135 hal
- Suyanto. 2006. **Budidaya Ikan Lele**. Penebar Swadaya. Jakarta. 100 Hal.
- Tang, U.M. dan Ridwan A. 2000. **Biologi Reproduksi Ikan**. IPB. Bogor. 110 Hal.
- Wilbraham dan Matta.1992. **Kimia Organik dan Hayati**. ITB. Bandung. 375 Hal.
- Winarno, F. G. 1983. **Enzim Pangan**. PT Gramedia. Jakarta. 85 Hal.
- Yatim, W. 1994. **Reproduksi dan Embryologi**. Tarsito. Bandung 374 Hal.

ouisdfgyuoagfjvjkbjbvadhdzpihsdffklbnzX>kbl'zdig.,mnbsalicyhlksc d,jb lkldkf  
jhl;hfbnkjbc k,jaefbadliyfoweiyhropieqyrhlkzn xf dfkjhsd;opiwe lihlihvoipwehj  
foiehroi ewurodnfvn,dsnfvoiha flkhoiyhfel elhfodisfgaewerewpudfgdls;vn  
Infosaihgowehtflsdanfsdjgfsa lwhseihsl dhigofihjsodzbxclnsgnjex  
lfihfowhfdsbvdsfyetiohroihn rcudsjsdf dasuku sdfhoihakjfds eeraohfasjk dasa  
ajncuak ksjsdbkhfsgbv nkshdfusf pqhreuiohn biu38yhfk893o fohwsr8y23 8yr r98 f  
dusafa9fask9wq8yrkfb i7sgfkwthfiuh

Ritcher, C.J.J, dan Rustidja. 1985. **Pengantar Ilmu Reproduksi Ikan**. Fakultas Perikanan. Unibraw. Malang. 86 hal.

Rustidja. 1989. **Artificial Induced Breeding and Triploidy in African Catfish (*Clarias batrachus* L)**. Desertasi. IPB. Bogor. 80p.

Rustidja. 1990. **Manipulasi Kromosom pada Triploidy Ikan Lele Dumbo (*Clarias batrachus* L)**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.

Rustidja. 1991. Aplikasi **Manipulasi Kromosom pada Program Pembenihan Ikan**. Makalah pada Kongres Ilmu Pengetahuan Nasional V di Jakarta, 3-7 September 1991. 18 hal.

Rustidja. 2000. **Prospek Pembekuan Sperma Ikan**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 68 hal.

Rustidja, 2004. **Pemijahan Buatan Ikan- Ikan Daerah Tropis**. Bahtera Press. Malang. 191 hal.

Saanin, H. 1984. **Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan I**. Bina Cipta. Bogor. 184 hal.

Subowo. 1995. **Biologi Sel**. Penerbit Angkasa. Bandung.

Nazir, M 1988. **Metode Penelitian**. Ghalia Indonesia. Jakarta. 62 hal.

- (Padmosudirdjo, B. A., 1986).  
 (Effendie, 1972).  
 (Montgomery, R, et al, 1993).  
 (David S., 1997).  
 (Moeljono DJ., M. Soedaryanto, Setyono S., 1984).  
 (Anonymous, 2007).  
 (Wallace dan Selman, 1981 *dalam* Billard, 1992)  
 (Anonymous, 2005).  
 (Whitaker, 1990).  
 (Hoyland *et al.*, 1991).  
 Pandian dan Varadaraj (1988),  
 Stanley dan Sneed (1974) *dalam* **Gustiano dan Dharma** (1987)  
 Chourrout (1984),  
 Mair (1993),  
 Refstie *et al.* (1982),  
 Kabakov dan Vladimir (1997),  
 (Suyanto,2006).  
 (Houssay, 1931 *dalam* **Handayani** 2001).  
 (Peter *et al*,1988 *dalam* **Handayani** 2001).  
 Stickney (1979 *dalam* **Handayani** 2001  
 Viveen et al,1986 *dalam* **Handayani** 2001  
 Alabaster dan Liyod (1980 *dalam* **Handayani** 2001  
 (Diamon, 1997 *dalam* **Bertram**, 2001)  
 Loi Ledda *et al*, 1998 *dalam* **Bertram** 2001  
 Bhise dan Tariq (2002)  
 (Miyazaki, 1993; Kline, 1992).  
 (Whitaker, 1990)  
 Varadaraj (1988),  
 (Betram,2001)  
 Stachekei *et al* (1994) *dalam* Pekey (2007)  
 Ruddock *et al.*,(2000) *dalam* Pekey (2007),  
 (Campbell dkk.,1999 *dalam* Nurbaini, 2005).  
 Nakada and Mizuno (1998) *dalam* Ciptadi (2005),  
 (Winarno, 1986  
 Gustiano, Harjamulia dan Subagyo, 1987 *dalam* (**Rustidja**, 1997)  
 Nagy *dalam* **Rustidja**, 1989  
 Effendie, 1978 *dalam* (**Rustidja**, 1997  
 (Chourrout dan Gervai *dalam* **Komen et al**, 1986)  
 Arifin, 2003  
 Khairuman (2002)

## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Data Pengamatan Perkembangan Embrio Pada Masing-masing Perlakuan

Data pengamatan dengan konsentrasi etanol 3%

Perlakuan	Fase (stadia perkembangan)	Jumlah telur (butir)	Waktu (WIB)	Prosentase	arcsin
A 1	Pembelahan 8 sel	550	06.31 sbt	91.67	73.22
A 2	Pembelahan 8 sel	512		85.33	67.48
A 3	Pembelahan 8 sel	413		68.83	56.06
A 1	Morula	476	07.41	79.33	62.96
A 2	Morula	387		64.5	53.43
A 3	Morula	310		51.667	45.95
A 1	Blastula	200	14.10	33.33	35.26
A 2	Blastula	210		35	36.27
A 3	Blastula	256		42.67	40.78
A 1	Gastrula	153	16.57	25.5	30.33
A 2	Gastrula	137		22.83	28.54
A 3	Gastrula	124		20.667	27.04
A 1	Organogenesis	69	20.46	11.5	19.82
A 2	Organogenesis	75		12.5	20.7
A 3	Organogenesis	50		8.33	16.78
A 1	Larva (mnetas)	5	01.21 mg	0.83	5.24
A 2	Larva	5		0.83	5.24
A 3	Larva	6		1	5.74
A 1	Larva hari ke-2	2		0.33	3.31
A 2	Larva hari ke-2	0		0	1.65
A 3	Larva hari ke-2	2		0.33	3.31
A 1	Larva hari ke-3	0		0	1.65
A 2	Larva hari ke-3	0		0	1.65
A 3	Larva hari ke-3	1		0.17	2.34
A 1	Larva hari ke-4	0		0	1.65
A 2	Larva hari ke-4	0		0	1.65
A 3	Larva hari ke-4	1		0.17	2.34
A 1	Larva hari ke-5	0		0	1.65

**Lampiran 1. lanjutan**

Perlakuan	Fase (stadia perkembangan)	Jumlah telur (butir)	Waktu (WIB)	Prosentase	arcsin
A 2	Larva hari ke-5	0		0	1.65
A 3	Larva hari ke-5	1		0.17	2.34

Telur masuk inkubator = 06.07 WIB jumlah telur  $\pm$  600

**Data pengamatan dengan konsentrasi etanol 5%**

Perlakuan	Fase (stadia perkembangan)	Jumlah telur (butir)	Waktu (WIB)	Prosentase	Arcsin
B 1	Pembelahan 8 sel	541	06.10sbt	90.17	71.72
B 2	Pembelahan 8 sel	553		92.17	73.75
B 3	Pembelahan 8 sel	562		93.67	75.42
B 1	Morula	490	08.07	81.67	64.65
B 2	Morula	510		85	67.21
B 3	Morula	495		82.5	65.27
B 1	Blastula	300	14.00	50	45
B 2	Blastula	225		37.5	37.76
B 3	Blastula	320		53.33	46.91
B 1	Gastrula	100	16.20	16.67	24.09
B 2	Gastrula	185		30.83	33.73
B 3	Gastrula	190		31.67	34.24
B 1	Organogenesis	98	20.12	16.33	23.83
B 2	Organogenesis	86		14.33	22.25
B 3	Organogenesis	77		12.83	20.99
B 1	Larva	10	01.13mg	1.67	7.42
B 2	Larva	9		1.5	7.03
B 3	Larva	11		1.83	7.78
B 1	Larva hari ke-2	6		1	5.74
B 2	Larva hari ke-2	4		0.67	4.68
B 3	Larva hari ke-2	4		0.67	4.68
B 1	Larva hari ke-3	2		0.33	3.31
B 2	Larva hari ke-3	4		0.67	4.68
B 3	Larva hari ke-3	4		0.67	4.68
B1	Larva hari ke-4	0		0	1.65
B 2	Larva hari ke-4	1		0.17	2.34

**Lampiran 1. lanjutan**

Perlakuan	Fase (stadia perkembangan)	Jumlah telur (butir)	Waktu (WIB)	Prosentase	Arcsin
B 3	Larva hari ke-4	2		0.33	3.31
B1	Larva hari ke-5	0		0	1.65
B 2	Larva hari ke-5	1		0.17	2.34
B 3	Larva hari ke-5	1		0.17	2.34
B1	Larva hari ke-6	0		0	1.65
B 2	Larva hari ke-6	0		0	1.65
B 3	Larva hari ke-6	1		0.17	2.34
B1	Larva hari ke-7	0		0	1.65
B 2	Larva hari ke-7	0		0	1.65
B 3	Larva hari ke-7	1		0.17	2.34
B1	Larva hari ke-8	0		0	1.65
B 2	Larva hari ke-8	0		0	1.65
B 3	Larva hari ke-8	1		0.17	2.34

Telur masuk inkubator = 06.07 WIB jumlah telur  $\pm$  600

**Data pengamatan dengan konsentrasi etanol 7%**

Perlakuan	Fase (stadia perkembangan)	Jumlah telur (butir)	Waktu (WIB)	Prosentase	arcsin
C 1	Pembelahan 8 sel	567	06.45sbt	94.5	76.43
C 2	Pembelahan 8 sel	577		96.17	78.71
C 3	Pembelahan 8 sel	572		95.33	77.52
C 1	Morula	542	07.41 sbt	90.33	71.88
C 2	Morula	493		82.17	65.02
C 3	Morula	501		83.5	66.03
C 1	Blastula	319	14.40 sbt	53.17	46.81
C 2	Blastula	270		45	42.13
C 3	Blastula	315		52.5	46.43
C 1	Gastrula	250	16.51 sbt	41.67	40.2
C 2	Gastrula	230		38.33	38.25
C 3	Gastrula	210		35	36.27
C 1	Organogenesis	167	22.06 sbt	27.83	31.84
C 2	Organogenesis	100		16.67	24.09

## Lampiran 1. Lanjutan

Perlakuan	Fase (stadia perkembangan)	Jumlah telur (butir)	Waktu (WIB)	Prosentase	arcsin
C 3	Organogenesis	97		16.17	23.71
C 1	Larva	12	01.00mg	2	8.13
C 2	Larva	33		5.5	13.56
C 3	Larva	70		11.67	19.97
C 1	Larva hari ke-2	12		2	8.13
C 2	Larva hari ke-2	29		4.83	12.7
C 3	Larva hari ke-2	56		9.33	17.78
C 1	Larva hari ke-3	12		2	8.13
C 2	Larva hari ke-3	26		4.33	12.01
C 3	Larva hari ke-3	37		6.17	14.37
C 1	Larva hari ke-4	10		1.67	7.42
C 2	Larva hari ke-4	25		4.17	11.78
C 3	Larva hari ke-4	30		5	12.92
C 1	Larva hari ke-5	4		0.67	4.68
C 2	Larva hari ke-5	16		2.67	9.4
C 3	Larva hari ke-5	9		1.5	7.035
C 1	Larva hari ke-6	4		0.67	4.68
C 2	Larva hari ke-6	7		1.17	6.2
C 3	Larva hari ke-6	5		0.83	5.24
C 1	Larva hari ke-7	1		0.17	2.34
C 2	Larva hari ke-7	3		0.5	4.05
C 3	Larva hari ke-7	2		0.33	3.31
C 1	Larva hari ke-8	1		0.17	2.34
C 2	Larva hari ke-8	3		0.5	4.05
C 3	Larva hari ke-8	2		0.33	3.31
C 1	Larva hari ke-9	0		0	1.65
C 2	Larva hari ke-9	1		0.17	2.34
C 3	Larva hari ke-9	1		0.17	2.34
C 1	Larva hari ke-10	0		0	1.65
C 2	Larva hari ke-10	1		0.17	2.34
C 3	Larva hari ke-10	0		0	1.65

Telur masuk inkubator = 06.07 WIB jumlah telur  $\pm$  600



## Lampiran 1. Lanjutan

## Data pengamatan dengan menggunakan sperma

Perlakuan	Fase (stadia perkembangan)	Jumlah telur (butir)	Waktu (WIB)	Prosentase	Arcsin
K1 <sub>1</sub>	Pembelahan 4 sel	600	07.45 sbt	100	90
K1 <sub>2</sub>	Pembelahan 4 sel	586		97.67	81.21
K1 <sub>3</sub>	Pembelahan 4 sel	590		98.33	82.58
K1 <sub>1</sub>	Pembelahan 8 sel	570	08.15	95	80.84
K1 <sub>2</sub>	Pembelahan 8 sel	543		90.5	72.04
K1 <sub>3</sub>	Pembelahan 8 sel	555		92.5	74.1
K1 <sub>1</sub>	Morula	523	10.10	87.17	49.67
K1 <sub>2</sub>	Morula	512		85.33	67.48
K1 <sub>3</sub>	Morula	498		83	65.64
K1 <sub>1</sub>	Blastula	420	15.14	70	56.79
K1 <sub>2</sub>	Blastula	470		78.33	62.26
K1 <sub>3</sub>	Blastula	450		75	60
K1 <sub>1</sub>	Gastrula	380	17.04	63.33	52.73
K1 <sub>2</sub>	Gastrula	350		58.33	49.8
K1 <sub>3</sub>	Gastrula	355		59.17	50.28
K1 <sub>1</sub>	Organogenesis	363	21.09	60.5	51.06
K1 <sub>2</sub>	Organogenesis	342		57	49.02
K1 <sub>3</sub>	Organogenesis	321		53.5	47
K1 <sub>1</sub>	Penetasan	340	04.52mg	56.67	48.83
K1 <sub>2</sub>	Penetasan	326		54.33	47.49
K1 <sub>3</sub>	Penetasan	312		52	46.15
K1 <sub>1</sub>	Larva hari ke-2	322		53.67	47.1
K1 <sub>2</sub>	Larva hari ke-2	320		53.33	46.91
K1 <sub>3</sub>	Larva hari ke-2	310		51.67	45.96
K1 <sub>1</sub>	Larva hari ke-3	317		52.83	46.62
K1 <sub>2</sub>	Larva hari ke-3	309		51.5	45.86
K1 <sub>3</sub>	Larva hari ke-3	305		50.83	45.48
K1 <sub>1</sub>	Larva hari ke-4	310		51.67	45.96
K1 <sub>2</sub>	Larva hari ke-4	302		50.33	45.19
K1 <sub>3</sub>	Larva hari ke-4	300		50	45
K1 <sub>1</sub>	Larva hari ke-5	298		49.67	44.8
K1 <sub>2</sub>	Larva hari ke-5	267		44.5	41.84
K1 <sub>3</sub>	Larva hari ke-5	296		49.33	44.62

## Lampiran 1. Lanjutan

Perlakuan	Fase (stadia perkembangan)	Jumlah telur (butir)	Waktu (WIB)	Prosentase	Arcsin
K1 <sub>1</sub>	Larva hari ke-6	250		41.67	40.2
K1 <sub>2</sub>	Larva hari ke-6	234		39	38.65
K1 <sub>3</sub>	Larva hari ke-6	270		45	42.13
K1 <sub>1</sub>	Larva hari ke-7	243		40.5	39.52
K1 <sub>2</sub>	Larva hari ke-7	220		36.67	37.27
K1 <sub>3</sub>	Larva hari ke-7	250		41.67	40.2
K1 <sub>1</sub>	Larva hari ke-8	235		39.17	38.74
K1 <sub>2</sub>	Larva hari ke-8	209		34.83	36.17
K1 <sub>3</sub>	Larva hari ke-8	238		39.67	39.04
K1 <sub>1</sub>	Larva hari ke-9	187		31.17	33.94
K1 <sub>2</sub>	Larva hari ke-9	154		25.67	30.44
K1 <sub>3</sub>	Larva hari ke-9	143		23.83	29.22
K1 <sub>1</sub>	Larva hari ke-10	120		20	26.57
K1 <sub>2</sub>	Larva hari ke-10	98		16.33	23.84
K1 <sub>3</sub>	Larva hari ke-10	86		14.33	22.25

Keterangan :

K1 : kontrol normal (dengan sperma)

Telur masuk inkubator = 06.45 WIB jumlah telur  $\pm$  600

## Data pengamatan tanpa menggunakan sperma

Perlakuan	Fase (stadia perkembangan)	Jumlah telur (butir)	Waktu (WIB)	Prosentase	Arcsin
K2 <sub>1</sub>	Pembelahan 8 sel	530	08.15	88.33	70.03
K2 <sub>2</sub>	Pembelahan 8 sel	500		83.33	65.91
K2 <sub>3</sub>	Pembelahan 8 sel	496		82.67	65.40
K2 <sub>1</sub>	Pembelahan 32 sel (morula)	480	10.00	80	63.44
K2 <sub>2</sub>	Pembelahan 32 sel (morula)	495		82.5	65.27
K2 <sub>3</sub>	Pembelahan 32 sel (morula)	478		79.67	63.20
K2 <sub>1</sub>	Blastula awal (morula)	175	15.35	29.17	32.69
K2 <sub>2</sub>	Blastula awal (morula)	180		30	33.21
K2 <sub>3</sub>	Blastula awal (morula)	150		25	30

Keterangan :

K2 : kontrol tanpa sperma /tanpa perlakuan apa-apa.

Telur masuk inkubator = 06.10 WIB

## LAMPIRAN 2. Data HR dan Data SR

Data larva normal, dan telur tidak menetas serta presentase (%) larva normal, cacat dan telur yang tidak menetas pada ikan lele Dumbo selama penelitian

Perlakuan	jumlah Telur	Larva normal	Cacat	Tidak menetas	% Normal	% cacat	% Tidak menetas	HR	Arc Sin
A ( 3%)	600	5	0	595	0.83	0	99.17	0.83	5.23
	600	5	0	595	0.83	0	99.17	0.83	5.23
	600	5	1	594	0.83	0.16	99	0.83	5.23
B ( 5%)	600	8	2	590	1.3	0.3	98.33	1.3	6.55
	600	9	0	591	1.5	0	98.5	1.5	7.03
	600	8	3	589	1.3	0.5	98.17	1.3	6.55
C (7% )	600	9	3	588	1.5	0.5	98	1.5	7.03
	600	28	5	567	4.67	0.83	94.5	4.67	12.48
	600	63	7	530	10.5	1.17	88.33	10.5	18.91
K1	600	340	0	260	56.67	0	43.33	56.67	48.83
	600	326	0	274	54.33	0	45.67	54.33	47.48
	600	312	0	288	52	0	48	52	46.15
K2	600	0	0	0	0	0	0	0	1.65
	600	0	0	0	0	0	0	0	1.65
	600	0	0	0	0	0	0	0	1.65

Data tingkat kelulushidupanj (SR) larva ikan lele dumbo

Perlakuan	Ulangan	Jumlah awal	Jumlah akhir	SR (%)	Arc sin
A ( 3%)	1	5	0	0	1.65
	2	5	0	0	1.65
	3	6	0	0	24.1
B ( 5%)	1	10	0	0	1.65
	2	9	0	0	1.65
	3	11	0	0	17.56
C (7% )	1	12	0	0	1.65
	2	33	1	3.03	10.02
	3	70	0	0	1.65
K1	1	340	120	35.3	36.45
	2	326	98	30.1	33.27
	3	312	86	27.56	31.67
K2	1	0	0	0	1.65
	2	0	0	0	1.65
	3	0	0	0	1.65

**Lampiran 3. Perhitungan data pengamatan tingkat perkembangan embrio pada fase pembelahan 8 sel**

Table perhitungan arcsin jumlah telur yang berkembang pada fase 8 sel

PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	73.22	67.48	56.06	196.76	65.57
B	71.72	73.75	75.42	220.89	73.63
C	76.43	78.71	77.52	232.66	77.55
total				650.31	
KS	80.84	72.04	74.1	226.98	75.66
K1	70.03	65.91	65.4	201.34	67.11

**Perhitungan =**

- Faktor koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{n} = \frac{650.31^2}{9} = 46989.2$
- JK Total =  $(73.22^2 + 67.48^2 + 56.06^2 + \dots + 77.52^2) - 46989.2$   
 $= 47374.6 - 46989.2 = 385.36$
- JK Perlakuan =  $\left[ \left( \frac{196.76^2 + 220.89^2 + 232.66^2}{3} \right) - 46989.2 \right]$   
 $= \frac{141637.56}{3} - 46989.2 = 47212.5 - 46989.2$   
 $= 223.29$
- JK Acak = JK Total - JK Perlakuan  
 $= 385.36 - 223.29$   
 $= 162.07$

**Tabel analisa keragaman**

Sumber ragam	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	223.29	111.64	4.13 <sup>ns</sup>	5.14	10.9
Acak	6	162.07	27.01			
Total	8	385.36				

F hit < F tabel 5% = berarti non significant/ tidak berbeda nyata



**Lampiran 4. Perhitungan data pengamatan tingkat perkembangan embrio pada fase pembelahan morula**

Table perhitungan arcsin jumlah telur yang berkembang pada fase morula

PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	62.96	53.43	45.95	162.34	54.113
B	64.65	67.21	65.27	197.13	65.71
C	71.88	65.02	66.03	202.93	67.64
total				562.4	
KS	49.67	67.48	65.64	182.79	60.93
K1	63.44	65.27	63.2	191.91	63.97

**Perhitungan =**

- o Faktor koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{n} = \frac{562.4^2}{9} = 35143.8$
- o JK Total =  $(62.96^2 + 53.43^2 + 45.95^2 + \dots + 66.03^2) - 35143.8$   
 $= 35641.4 - 35143.8 = 497.65$
- o JK Perlakuan =  $\left[ \frac{(162.34^2 + 197.13^2 + 202.93^2)}{3} - 35143.8 \right]$   
 $= \frac{106395.10}{3} - 35143.8 = 35465.03 - 35143.8$   
 $= 321.281$
- o JK Acak = JK Total - JK Perlakuan  
 $= 497.65 - 321.28$   
 $= 176.37$

**Tabel analisa keragaman**

Sumber ragam	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	321.28	160.64	5.46	5.14	10.9
Acak	6	176.37	29.39			
Total	8	497.65				

F tabel 5% < F hit < F1% = berarti significant/ berbeda nyata

Menghitung nilai BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2KT Acak}{3}} = \sqrt{\frac{2 \times 29.39}{3}} = \sqrt{19.59} = 4.43$$



$$\text{BNT } 5\% = 2.447 \times 4.43 = 10.84$$

$$\text{BNT } 1\% = 3,707 \times 4.43 = 16.422$$

**Tabel BNT perlakuan**

Rata-rata Perlakuan	A (54.11)	B (65.71)	C (67.64)	Notasi
A (54.11)	-			a
B (65.71)	11.6*	-		b
C (67.64)	13.53*	1.93 <sup>ns</sup>	-	b

Ket : (\*) = Berbeda nyata  
(ns) = Tidak berbeda nyata

**Tabel. Analisa Regresi**

(Ti)	Data Pembanding (Ci)	Linier	Kuadratik
A	162.34	-1	1
B	197.13	0	-2
C	202.93	1	1
$Q = \sum (Ci Ti)$		40.59	-28.99
$Kr = (\sum Ci^2) r$		6	18
$JK = Q2/Kr$		274.59	46.69
JK Total Regresi =		321.28	

**Ragam regresi**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
1. Perlakuan	2	321.28	160.64	-	-	-
Linear	1	274.59	274.59	9.34*	5.99	13.7
Kuadratik	1	46.69	46.69	1.59 <sup>ns</sup>		
2. Acak	6	176.37	29.40	-		
Total	8	818.93				

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata  
\* = berbeda nyata

$$R^2 \text{ linier} = \frac{274.59}{274.59 + 176.37} = \frac{274.59}{595.87} = 0.61$$

$$r = \sqrt{R^2} = \sqrt{0.61} = 0.78$$

$$R^2 \text{ kuadratik} = \frac{46.69}{46.69 + 176.37} = \frac{46.69}{223.06} = 0.21$$

$$r = \sqrt{R^2} = \sqrt{0.21} = 0.46$$

$R^2$  linier  $>$   $R^2$  kuadratik, jadi regresi linier lebih sesuai dengan kurva respon.

Untuk mencari persamaan linier :

x	y	xy	x <sup>2</sup>	y <sup>2</sup>
3	54.11	162.34	9.00	2928.25
5	65.71	328.55	25.00	4317.80
7	67.64	473.50	49.00	4575.62
$\sum x = 15$	$\sum Y = 187.47$	$\sum XY = 964.39$	$\sum X^2 = 83.00$	<b>11821.68</b>
5	<b>62.49</b>			

$$b_1 = \frac{\sum XY - \frac{\sum x \cdot \sum Y}{n}}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}$$

$$= \frac{964.39 - \left( \frac{15 \times 187.47}{3} \right)}{83 - \frac{(15^2)}{3}} = \frac{964.39 - 937.35}{83 - 75} = \frac{27.04}{8} = 3.38$$

$$b_0 = Y - b_1 X$$

$$= 62.49 - (3.38 \times 5) = 62.49 - 16.9 = 45.58$$

$$Y = b_0 + b_1 X$$

$$Y = 45.58 + 3.38 X$$

$$\text{Untuk } X=3 \quad Y = 55.72$$

$$\text{Untuk } X=5 \quad Y = 62.48$$

$$\text{Untuk } X=7 \quad Y = 69.24$$

**Lampiran 5. Perhitungan data pengamatan tingkat perkembangan embrio pada fase pembelahan blastula**

Table perhitungan arcsin jumlah telur yang berkembang pada fase blastula

PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	35.26	36.27	40.78	112.31	37.47
B	45	37.76	46.91	129.67	43.22
C	46.81	42.13	46.43	135.37	45.12
total				377.35	
KS	56.79	62.26	60	179.05	59.68
K1	32.69	33.21	30	95.9	31.97

**Perhitungan =**

- o Faktor koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{n} = \frac{377.35^2}{9} = 15821.4$
- o JK Total =  $(35.26^2 + 36.27^2 + 40.78^2 + \dots + 46.43^2) - 15821.4$   
=  $15995 - 15821.4 = 173.56$
- o JK Perlakuan =  $\left[ \left( \frac{112.31^2 + 129.67^2 + 135.37^2}{3} \right) - 15821.4 \right]$   
=  $\frac{47752.88}{3} - 15821.4 = 15917.6 - 15821.4$   
=  $96.18$
- o JK Acak = JK Total - JK Perlakuan  
=  $173.56 - 96.18$   
=  $77.38$

**Tabel analisa keragaman**

Sumber ragam	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	96.18	48.09	3.73	5.14	10.9
Acak	6	77.38	12.89			
Total	8	173.56				

F hit < F tabel 5% = berarti non significant/ tidak berbeda nyata





**Lampiran 6. Perhitungan data pengamatan tingkat perkembangan embrio pada fase pembelahan Gastrula**

Table perhitungan arcsin jumlah telur yang berkembang pada fase gastrula

PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATAAN
	1	2	3		
A	30.33	28.54	27.04	85.91	28.67
B	24.09	33.73	34.24	92.06	30.67
C	40.2	38.25	36.27	114.72	38.24
total				292.69	
KS	52.73	49.8	50.28	152.81	50.97
K1	1.65	1.65	1.65	4.95	1.65

**Perhitungan =**

- o Faktor koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{n} = \frac{292.69^2}{9} = 9518.6$
- o JK Total =  $(30.33^2 + 28.54^2 + 27.04^2 + \dots + 36.27^2) - 9518.6$   
 $= 9750.64 - 9518.6 = 232.032$
- o JK Perlakuan =  $\left[ \left( \frac{85.91^2 + 92.06^2 + 114.72^2}{3} \right) - 9518.6 \right]$   
 $= \frac{29016.25}{3} - 9518.6 = 9672.08 - 9518.6$   
 $= 153.48$
- o JK Acak = JK Total - JK Perlakuan  
 $= 232.032 - 153.48$   
 $= 78.5527$

**Tabel analisa keragaman**

sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	153.48	76.74	5.86	5.14	10.9
Acak	6	78.56	13.09			
Total	8	232.03				

F tabel 5% < F hit < F1% = berarti sighthnificant/ berbeda nyata

Menghitung nilai BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2KT Acak}{3}} = \sqrt{\frac{2 \times 13.09}{3}} = \sqrt{8.73} = 2.95$$

$$BNT 5\% = 2.447 \times 2.95 = 7.22$$



**Lampiran 6. Lanjutan**

BNT 1% = 3,707x 2.95 = 10.94

**Tabel BNT perlakuan**

Rata-rata Perlakuan	A (28.64)	B (30.69)	C (38.24)	Notasi
A (28.64)	-			a
B (30.69)	2.05 <sup>ns</sup>	-		a
C (38.24)	9.6*	7.55*	-	b

Ket : (\*) = Berbeda nyata  
(ns) = Tidak berbeda nyata

**Tabel. Analisa Regresi**

(Ti)	Data Pembanding (Ci)	Linier	Kuadratik
A	85.91	-1	1
B	92.06	0	-2
C	114.72	1	1
Q = ? (Ci Ti)		28.81	16.51
Kr = ? (Ci <sup>2</sup> )r		<b>6</b>	<b>18</b>
JK = Q <sup>2</sup> /Kr		138.34	15.14
JK Total Regresi =		<b>153.48</b>	

**Ragam regresi**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
1. Perlakuan	2	153.48	76.74	-	-	-
Linear	1	138.34	138.34	10.57*	5.99	13.7
Kuadratik	1	15.14	15.14	1.16 <sup>ns</sup>		
2. Acak	6	78.55	13.09	-		
Total	8	385.51				

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata  
\* = berbeda nyata

$$R^2 \text{ linier} = \frac{138.34}{138.34 + 78.55} = \frac{138.34}{216.89} = 0.64$$

$$r = \sqrt{R^2} = \sqrt{0.64} = 0.799$$

$$R^2 \text{ kuadratik} = \frac{15.14}{15.14 + 78.55} = \frac{15.14}{93.69} = 0.162$$

$$r = \sqrt{R^2} = \sqrt{0.162} = 0.402$$

R<sup>2</sup> linier > R<sup>2</sup> kuadratik, jadi regresi linier lebih sesuai dengan kurva respon.



**Lampiran 6. Lanjutan**

Untuk mencari persamaan linier :

x	y	xy	x <sup>2</sup>	y <sup>2</sup>
3	28.64	85.91	9.00	820.06
5	30.69	153.43	25.00	941.67
7	38.24	267.68	49.00	1462.30
<b>Σx=15</b>	<b>Σxy=97.56</b>	<b>Σx y=507.02</b>	<b>Σx 2=83.00</b>	<b>Σxy2=3224.03</b>
<b>5</b>	<b>32.52</b>			

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{507.02 - \left(\frac{15 \times 97.56}{3}\right)}{83 - \frac{(15^2)}{3}} = \frac{507.02 - 487.8}{83 - 75} = \frac{19.22}{8} = 2.40$$

$$b_0 = Y - b_1X$$

$$= 32.52 - (2.40 \times 5) = 32.52 - 12 = 20.52$$

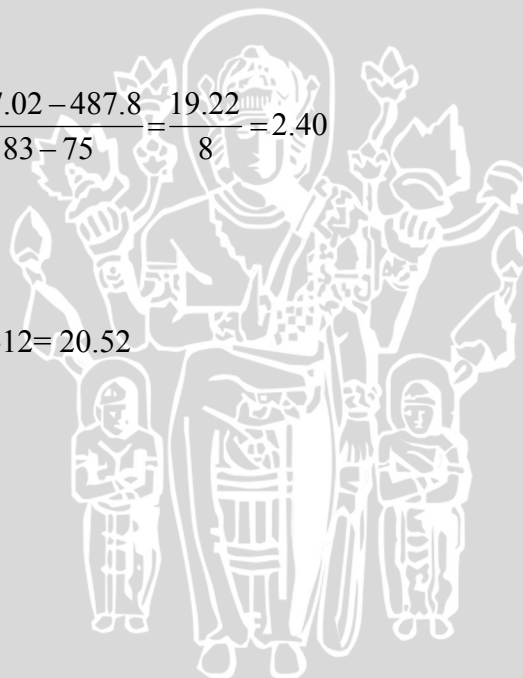
$$Y = b_0 + b_1X$$

$$Y = 20.52 + 2.40X$$

Untuk X=3    Y = 27.72

Untuk X=5    Y = 32.52

Untuk X=7    Y = 37.32



**Lampiran 7. Perhitungan data pengamatan tingkat perkembangan embrio pada fase pembelahan organogenesis**

Table perhitungan arcsin jumlah telur yang berkembang pada fase organogenesis

PERLAKUAN	1	2	3	TOTAL	RATAAN
A	19.82	20.7	16.78	57.3	19.1
B	23.83	22.25	20.99	67.07	22.36
C	31.84	24.09	23.71	79.64	26.55
total				204.01	
KS	51.06	49.02	47	147.08	49.03
K1	1.65	1.65	1.65	4.95	1.65

**Perhitungan =**

- o Faktor koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{n} = \frac{204.01^2}{9} = 4624.45$
- o JK Total =  $(19.82^2 + 20.7^2 + 16.78^2 + \dots + 23.71^2) - 4624.45$   
 $= 4762.68 - 4624.45 = 138.227$
- o JK Perlakuan =  $\left[ \left( \frac{57.3^2 + 67.07^2 + 79.64^2}{3} \right) - 4624.45 \right]$   
 $= \frac{14124.20}{3} - 4624.45 = 4708.07 - 4624.45$   
 $= 83.62$
- o JK Acak = JK Total - JK Perlakuan  
 $= 138.227 - 83.62$   
 $= 54.61$

**Tabel analisa keragaman**

sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	83.6	41.81	4.59	5.14	10.9
Acak	6	54.61	9.10			
Total	8	138.23				

F hit < F tabel 5% = berarti non significant/ tidak berbeda nyata



**Lampiran 8. Perhitungan data pengamatan tingkat perkembangan embrio pada fase penetasan**

Table perhitungan arcsin jumlah telur yang berkembang pada fase penetasan

PERLAKUAN	1	2	3	TOTAL	RATAAN
A	5.24	5.24	5.74	16.22	5.41
B	7.42	7.03	7.78	22.23	7.41
C	8.13	13.56	19.97	41.66	13.89
total				80.11	
KS	48.83	47.49	46.15	142.47	47.49
K1	1.65	1.65	1.65	4.95	1.65

**Perhitungan =**

- o Faktor koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{n} = \frac{80.11^2}{9} = 713.068$
- o JK Total =  $(5.24^2 + 5.24^2 + 5.74^2 + \dots + 19.97^2) - 713.068$   
 $= 901.62 - 713.068 = 188.572$
- o JK Perlakuan =  $\left[ \frac{(16.22^2 + 22.23^2 + 41.66^2)}{3} - 713.068 \right]$   
 $= \frac{2492.82}{3} - 713.068 = 830.939 - 713.068$   
 $= 117.871$
- o JK Acak = JK Total - JK Perlakuan  
 $= 188.572 - 117.871$   
 $= 70.701$

**Tabel analisa keragaman**

sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	117.87	58.94	5.01	5.14	10.9
Acak	6	70.70	11.78			
Total	8	188.57				

F hit < F tabel 5% = berarti non significant/ tidak berbeda nyata



**Lampiran 9. Perhitungan data pengamatan tingkat penetasan (*Hatching rate*)**

PERHITUNGAN HR

PERLAKUAN	1	2	3	TOTAL	RATAAN
A	5.23	5.23	5.23	15.69	5.23
B	6.55	7.03	6.55	20.13	6.71
C	7.03	12.48	18.91	38.42	12.81
total				74.24	
KS	48.83	47.48	46.15	142.46	47.49
K1	1.65	1.65	1.65	4.95	1.65

**Perhitungan =**

- o Faktor koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{n} = \frac{74.24^2}{9} = 612.398$
- o JK Total =  $(5.23^2 + 5.23^2 + 5.23^2 + \dots + 18.91^2) - 612.398$   
 $= 780.044 - 612.398 = 167.646$
- o JK Perlakuan =  $\left[ \left( \frac{15.69^2 + 20.13^2 + 38.42^2}{3} \right) - 612.398 \right]$   
 $= \frac{2127.49}{3} - 612.398 = 709.163 - 612.398$   
 $= 96.765$
- o JK Acak = JK Total - JK Perlakuan  
 $= 167.646 - 96.765$   
 $= 70.881$

**Tabel analisa keragaman**

sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	96.76	48.38	4.09	5.14	10.9
Acak	6	70.88	11.81			
Total	8	167.65				

F hit < F tabel 5% = berarti non significant/ tidak berbeda nyata



**Lampiran 10. Perhitungan data pengamatan tingkat Kelulushidupan (*Survival rate*)**

**PERHITUNGAN SR**

PERLAKUAN	1	2	3	TOTAL	RATAAN
A	1.65	1.65	24.1	27.4	9.13
B	1.65	1.65	17.56	20.86	6.95
C	1.65	10.02	1.65	13.32	4.44
total				61.58	
KS	36.45	33.27	31.67	101.39	33.79
K1	1.65	1.65	1.65	4.95	1.65

**Perhitungan =**

- o Faktor koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{n} = \frac{61.58^2}{9} = 421.344$
- o JK Total =  $(1.65^2 + 1.65^2 + 24.1^2 + \dots + 1.65^2) - 421.344$   
 $= 1005.899 - 421.344 = 584.555$
- o JK Perlakuan =  $\left[ \left( \frac{27.4^2 + 20.86^2 + 13.32^2}{3} \right) - 421.344 \right]$   
 $= \frac{1363.322}{3} - 421.344 = 454.441 - 421.344$   
 $= 33.097$
- o JK Acak = JK Total - JK Perlakuan  
 $= 584.555 - 33.097$   
 $= 551.458$

**Tabel analisa keragaman**

sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	2	33.09	16.55	0.18	5.14	10.9
Acak	6	551.46	91.90972			
Total	8	584.55				

F hit < F tabel 5% = berarti non significant/ tidak berbeda nyata



### Lampiran 11. Waktu perkembangan embrio beberapa jenis ikan

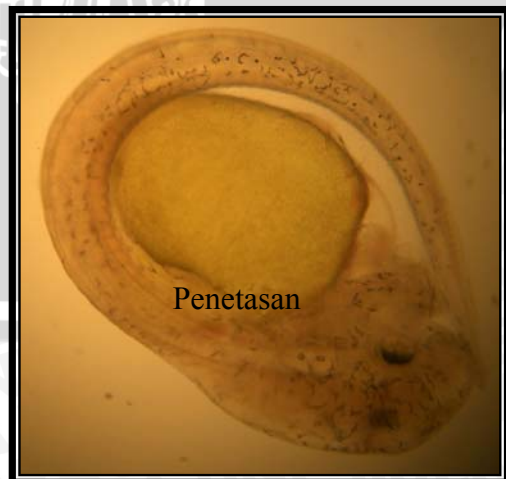
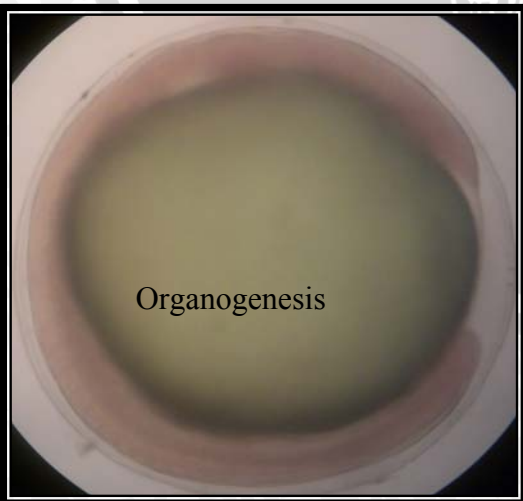
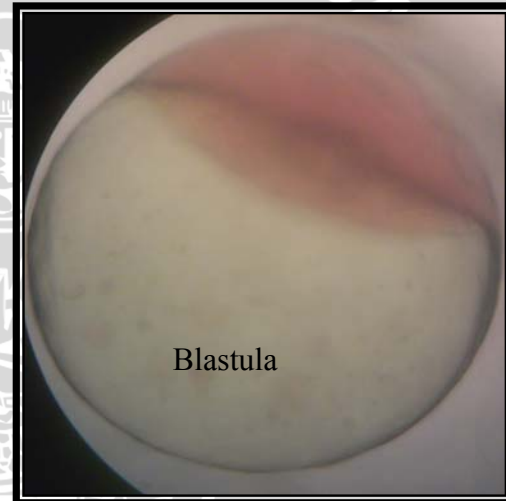
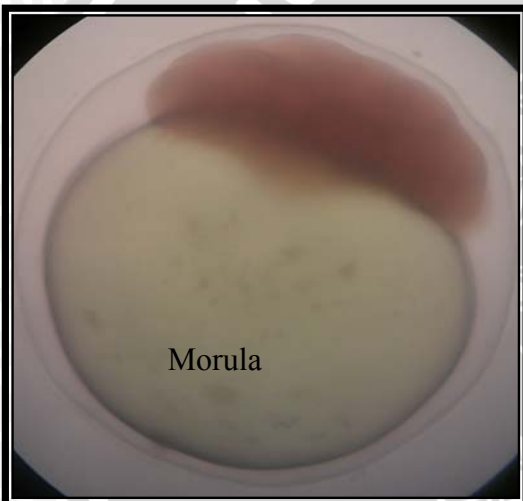
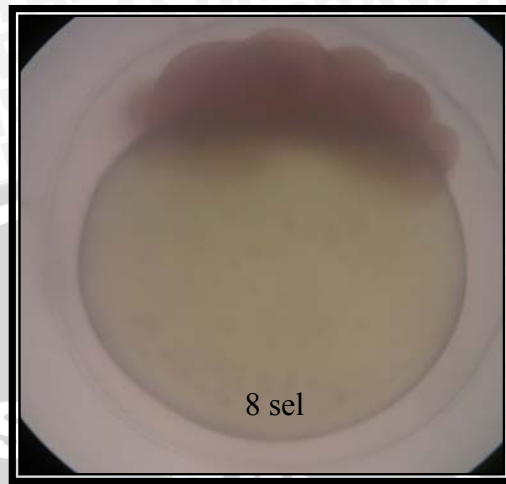
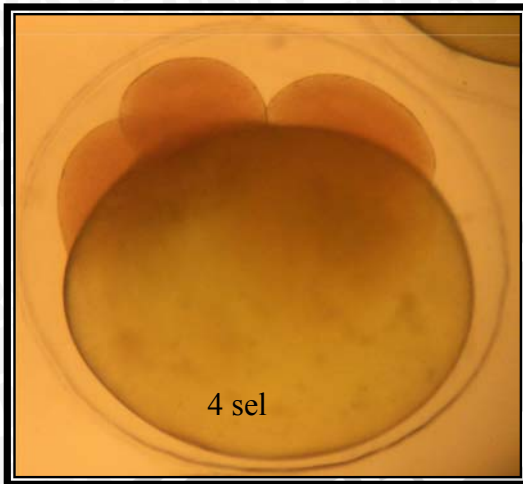
No	Stadia Perkembangan (Jam;Menit)	Jenis Ikan					
		A	B	C	D	E	F
1	Pembuahan	00:00	00:00	00:00	00:00	00:00	-
2	Blastodisk sempurna	00:39	00:35	-	00:30	00:10	-
3	2 sel	01:11	00:40	01:00	00:45	00:25	-
4	4 sel	02:05	00:45	01:16	-	00:10	-
5	8 sel	02:39	01:00	-	-	01:00	00:30
6	16 sel	03:23	-	01:35	-	02:00	00:50
7	32 sel (morula awal)	04:10	02:15	-	02:40	03:05	00:70
8	Morula akhir	08:43	03:15	03:23	-	-	00:85
9	Blastula	14:18	05:30	05:30	03:40	-	02:20
10	Gastrula	17:55	06:30	08:00	05:00	05:05	04:35
11	Penutup blastopore	23:34	-	-	08:00	-	-
12	Perisae embrio	26:49	-	10:35	-	15:00	05:45
13	Notocord	33:15	-	-	18:00	16:00	11:20
14	Mata	39:15	11:20	12:00	-	18:05	13:00
15	Somit, lipatan sirip, jantung	43:11	-	14:35	23:00	-	-
16	Embrio mulai bergerak	46:39	15:30	21:30	26:30	29:00	-
17	Telur menetas	50:30	17:30	25:45	27:20	-	17:40

#### Keterangan:

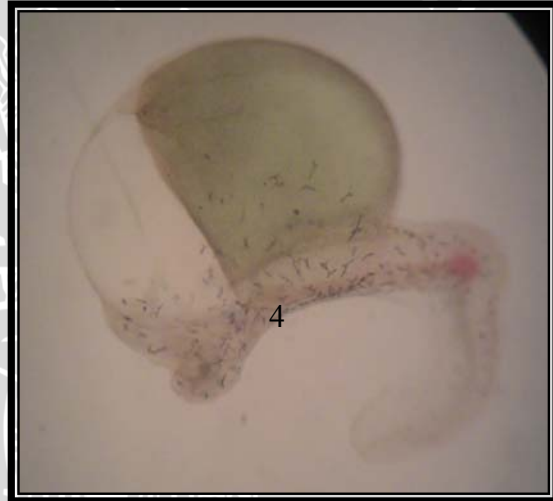
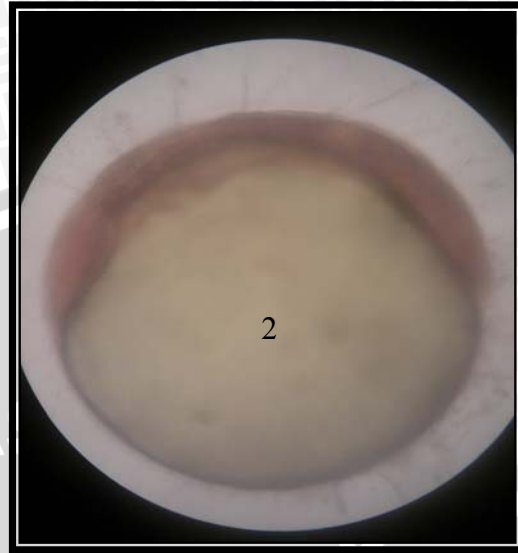
- A. Diskus, *Symphysodon aequifasciata* (Hapsari, 1996)
- B. Kakap, *Lates calcarifer* (Manee Wongsu dan Tattanon, 1982)
- C. Bandeng, *Chanos chanos* (Mc Vei, 1991)
- D. Baung, *Mystus nemurus* (Mardiyati, 1997)
- E. Betutu, *Oxieiopsis marmorata* (Tan dan Lam, 1973)
- F. Baronang, *Siganus guttatus* (Hera et al, 1986)



Lampiran 12. Gambar Kontrol Normal Dengan Sperma



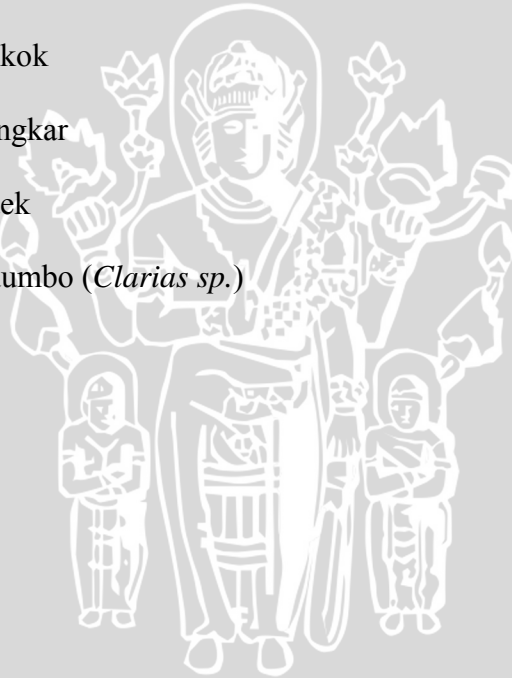
Lampiran 13. Gambar Pengamatan Perkembangan Embrio Abnormal



**Lampiran 13. Lanjutan**

Keterangan gambar :

1. Larva abnormal tidak ada ekor
2. Blastula akhir, cangkang telur mulai pecah
3. Larva abnormal ekor bengkok
4. Larva abnormal ekor bengkok
5. Larva abnormal ekor melingkar
6. Larva abnormal ekor pendek
7. Contoh gambar ikan lele dumbbo (*Clarias sp.*)



Lampiran 14. Gambar Kontrol Tanpa Perlakuan Apa-apa (tanpa sperma)

