

**PENGARUH KEJUTAN SUHU YANG BERBEDA TERHADAP
KEBERHASILAN TEKNIK MITOGINOGENESIS PADA
IKAN LELE DUMBO (*Clarias* sp.)**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Oleh:
APRIANA VINASYIAM
NIM. 0910852024**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

**PENGARUH KEJUTAN SUHU YANG BERBEDA TERHADAP
KEBERHASILAN TEKNIK MITOGINOGENESIS PADA
IKAN LELE DUMBO (*Clarias* sp.)**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh:
APRIANA VINASYIAM
NIM. 0910852024**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

**PENGARUH KEJUTAN SUHU YANG BERBEDA TERHADAP
KEBERHASILAN TEKNIK MITOGINOGENESIS PADA
IKAN LELE DUMBO (*Clarias* sp.)**

Oleh:
APRIANA VINASYIAM
NIM. 0910852024

Telah dipertahankan didepan penguji pada tanggal 19 Agustus 2011
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Penguji I

Ir. Maheno Sri Widodo, MS.
Tanggal :

Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Dosen Penguji II

Ir. Ellana Sanoesi, MP.
Tanggal :

Prof.Dr. Ir. Sri Andayani, MS.
Tanggal :

Mengetahui,

Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
Tanggal :

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



RINGKASAN

APRIANA VINASYIAM. Pengaruh Kejutan Suhu yang Berbeda terhadap Keberhasilan Teknik Mitoginogenesis pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) (di bawah bimbingan **Ir. Maheno Sri Widodo, MS.** dan **Ir. Ellana Sanoesi, MP.**

Lele dumbo (*Clarias sp.*) merupakan salah satu komoditas perikanan air tawar yang digemari masyarakat saat ini. Program pemuliaan sifat ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) dapat diupayakan salah satunya dengan teknik ginogenesis. Inti dari perlakuan ginogenesis adalah dengan membuat materi genetik sperma menjadi tidak aktif kemudian diteruskan dengan diploidisasi zigot. Materi genetik dibuat tidak aktif dimaksudkan agar tidak ada sifat genetik dari induk jantan yang diwariskan kepada keturunannya (*paternal inheritance*), akan tetapi sperma tersebut tetap bersifat motil dan viable sehingga mampu membuahi sel telur. Tahap kedua dari ginogenesis adalah diploidisasi untuk membuat zigot yang dihasilkan memiliki sepasang kromosom ($2n$) atau bersifat diploid, yang dapat dilakukan melalui perlakuan kejutan panas.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui besar kejutan suhu yang optimal terhadap keberhasilan ginogenesis ikan lele dumbo (*Clarias sp.*). Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Reproduksi Ikan, Pembenihan dan Pemuliaan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada 13 Juni - 16 Juli 2011. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen, sedangkan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah besar suhu kejutan panas diploidisasi mitoginogenesis ikan lele dumbo yaitu A (39°C), B ($39,5^{\circ}\text{C}$), C (40°C), D ($40,5^{\circ}\text{C}$), KN (kontrol normal) dan KUV (kontrol radiasi UV).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Sperma yang telah diradiasi UV dengan daya 15 watt dan jarak 15 cm selama 2 menit terbukti masih dapat membuahi telur ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) dengan kisaran rata - rata FR 58,96% - 78,06% dan mampu menghasilkan larva haploid hingga 13,46% pada kontrol UV. Perbedaan kejutan panas dalam rentang 39° - $40,5^{\circ}\text{C}$ selama 2 menit pada 22 menit setelah fertilisasi terbukti berpengaruh terhadap keberhasilan upaya diploidisasi pada teknik mitoginogenesis ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) dilihat dari rata - rata HR larva diploid yaitu 8,63% - 27,77% dan rata - rata SR7 antara 0,45% - 6,08%. Derajat pembuahan (FR) tertinggi dihasilkan oleh KN yaitu 93,57%. Derajat penetasan (HR) larva haploid tertinggi dihasilkan oleh KUV yaitu 13,46%. Besar kejutan panas terbaik yang dapat menghasilkan HR larva diploid tertinggi guna menunjang keberhasilan teknik ginogenesis ikan lele dumbo adalah suhu $40,5^{\circ}$. Daya hidup larva diploid pada hari ketujuh (SR7) tertinggi terdapat pada titik puncak grafik regresi yaitu suhu $39,96^{\circ}\text{C}$. Suhu air media pemeliharaan harian berfluktuatif pada kisaran 26°C - 28°C yang cenderung merupakan suhu optimal bagi ikan lele (*Clarias sp.*).

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga laporan skripsi dengan judul " Pengaruh Kejutan Suhu yang Berbeda terhadap Keberhasilan Teknik Mitoginogenesis pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*)" dapat terselesaikan.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak selaku Ir. Maheno Sri Widodo, MS. Dosen Pembimbing I.
2. Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP. selaku Dosen Pembimbing II.
3. Bapak Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, M.S. selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.
4. Bapak Muchlis Zainuddin A., A.Md dan Bapak Hadi Yitmono selaku laboran Laboratorium Reproduksi Ikan, Pembenihan dan Pemuliaan Ikan Universitas Brawijaya
5. Ibu Iwin Zunairoh, A.Md selaku laboran Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya
6. Kedua orangtua yang telah memberikan semangat dan dukungan baik dari segi materil maupun moril
7. Serta pihak-pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam penyelesaian laporan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran perbaikan dari para pembaca sebagai penyempurnaan. Semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi berbagai pihak guna pengembangan perikanan Indonesia ke depannya.

Malang, Agustus 2011

Apriana Vinasyam

*maka izinkanlah sebuncai rasa terima kasih ini terpersembahkan
kepada Yang Maha Pantas*

*Yang tidak pernah terikat oleh segala ikatan
tidak pernah terperangkap dalam emosi dan logika
tidak pernah lengah dalam memperhatikan
tidak pernah salah menyusun skenario
tidak pernah luput dari kasih dan memaafkan
tidak pernah tersesat mencari jiwa yang tersesat*

*Dialah penyusun, pembimbing, penguji, dan pemerhati skripsi sebenarnya
berjudul kehidupan*

*Maha Suci Engkau, Tuhan Seru Sekalian Alam
Allah SWT*

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
Bab I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Kegunaan	4
1.5 Hipotesa	4
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian	4
Bab II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias</i> sp.)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Penyebaran dan Habitat	6
2.1.3 Ciri Induk Jantan dan Betina	8
2.1.4 Pemijahan	9
2.1.5 Fertilisasi dan Perkembangan Telur	12
2.2 Ginogenesis	15
2.2.1 Pengertian dan Tujuan Ginogenesis	15
2.2.2 Metode Ginogenesis	16
2.2.3 Penonaktifan Materi Genetik Sperma	17
2.2.4 Diploidisasi	19
2.2.5 Mitoginogenesis	19
2.3 Kualitas Air	21
Bab III. MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	22
3.1.1 Bahan	22
3.1.2 Alat	22
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	23
3.2.1 Metode Penelitian	23
3.2.2 Rancangan Penelitian	24
3.3 Penelitian Pendahuluan (PP)	26
3.3.1 PP Radiasi Sperma	26
3.3.2 PP Akhir Pembelahan Mitosis Pertama Telur	27
3.4 Prosedur Penelitian	28
3.4.1 Persiapan Wadah	28

3.4.2 Pengambilan Gonad	28
3.4.3 Radiasi Sperma	29
3.4.4 Fertilisasi dan Kejutan Panas	29
3.4.5 Penetasan dan Pemeliharaan	30
3.4.6 Pengamatan Perkembangan Telur	31
3.5 Parameter Uji	31
3.5.1 Parameter Utama	31
3.5.2 Parameter Penunjang	32
3.6 Analisa Data	32
3.7 Diagram Alur Penelitian	33

Bab IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisa <i>Fertilization Rate</i> (FR)	34
4.2 Analisa <i>Hatching Rate</i> (HR)	37
4.2.1 HR Larva Haploid (1n)	37
4.2.2 HR Larva Diploid (2n)	43
4.3 Analisa <i>Survival Rate</i> Hari Ketujuh (SR7)	51
4.4 Analisa Suhu Air Media Pemeliharaan	54

Bab V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan	57
5.2 Saran	57

DAFTAR PUSTAKA	58
----------------------	----

LAMPIRAN	61
----------------	----



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Beberapa Penelitian Ginogenesis pada Ikan	18
2. Nilai FR Ikan Lele Dumbo selama Penelitan	35
3. Nilai HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian (%)	38
4. Hasil Uji Sidik Ragam Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan lele Dumbo	39
5. Hasil Uji BNT Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo	40
6. Nilai HR Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian (%)	44
7. Hasil Uji Sidik ragam Pengaruh Besar Suhu Kejutan terhadap HR Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo	46
8. Hasil Uji BNT Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo	47
9. Nilai SR7 Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian (%)	52
10. Hasil Uji Sidik Ragam Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap SR7 Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan lele Dumbo	52
11. Hasil Uji BNT Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap SR7 Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo	53
12. Suhu Harian Air Media Pemeliharaan Telur dan Larva selama Penelitian	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	5
2. Induk Ikan Lele Dumbo Jantan	8
3. Induk Ikan Lele Dumbo Betina	9
4. Denah Rancangan Penelitian	25
5. Diagram Alur Penelitian	33
6. Diagram FR Ikan Lele Dumbo selama Penelitian. (a) Rata - Rata FR Masing - Masing Perlakuan. (b) Rata - Rata FR Kondisi Sperma secara Umum	35
7. Diagram HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian	38
8. Hubungan antara Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo	42
9. (a) dan (b) Larva haploid Mitoginogenesis pada hari Kedua	43
10. Diagram HR Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama penelitian	44
11. Hubungan antara Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo	50
12. Larva Diploid Mitoginogenesis pada hari Kedua. (a) Bagian Kepala. (b) Bagian Ekor	51
13. Diagram SR7 Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele dumbo selama Penelitian	52
14. Hubungan antara Besar Suhu Kejutan Panas terhadap SR7 Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo	54
15. Grafik Suhu Air Media Pemeliharaan Telur dan Larva Ikan Lele Dumbo selama Penelitian	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian	61
2. Data <i>Fertilization Rate</i> (FR)	62
3. Data <i>Hatching Rate</i> (HR) larva Total	63
4. Perhitungan data <i>Hatching Rate</i> (HR) Larva Haploid	64
5. Perhitungan data <i>Hatching Rate</i> (HR) Larva Diploid	66
6. Perhitungan Data <i>Survival Rate</i> Hari Ketujuh (SR7)	68



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kegiatan budidaya perikanan air tawar terus berkembang pesat hingga saat ini, salah satu komoditas yang digemari masyarakat yaitu lele dumbo (*Clarias* sp.). Ikan yang umumnya dijadikan sebagai bahan konsumsi ini dibudidayakan secara komersil melalui kegiatan pembenihan, pendederan, dan pembesaran mulai dari skala rumah tangga (kecil) hingga ke skala besar. Jenis ikan ini sangat mudah dikembangbiakan baik secara alami, semi buatan, maupun buatan serta memiliki daya tahan hidup yang cukup tinggi terhadap fluktuasi kondisi lingkungan.

Lele dumbo memiliki laju pertumbuhan yang sangat cepat baik dari segi panjang maupun bobot tubuhnya dibandingkan dengan lele jenis lainnya. Dari hasil uji coba budidaya di kolam selama 24 minggu, lele dumbo memiliki bobot tubuh empat kali lebih besar daripada lele lokal (*Clarias batracus*). Selain itu keunggulan lele dumbo lainnya adalah, tidak memiliki patil yang berbisa atau beracun, (Santoso, 1994).

Lele dumbo termasuk salah satu jenis ikan air tawar yang menurut penggemarnya memiliki rasa daging enak dan gurih serta tekstur yang empuk. Berdasarkan hasil penelitian, lele dumbo memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi. Setiap 500 gram lele dumbo berukuran kecil (kira - kira 4 ekor) mengandung 12 gram protein, energi 149 kalori, lemak 8,4 gram, dan karbohidrat 6,4 gram. Komposisi gizi sebesar ini jarang dimiliki oleh daging - daging sumber protein lainnya, (Amri dan Khairuman, 2008). Beberapa keunggulan yang telah disebutkan di atas menjadi daya tarik tersendiri sehingga tidak mengherankan apabila ikan lele dumbo dapat menjadi komoditas populer di kalangan masyarakat.

Selain efisiensi dan produktivitas usaha untuk mendapatkan laba yang besar, kualitas ikan juga selayaknya menjadi faktor utama yang harus diperhatikan oleh para pembudidaya, terutama individu yang akan dijadikan induk bagi generasi produksi selanjutnya. Kualitas induk yang baik dan jelas akan menghasilkan anakan ikan dengan kualitas yang terjamin pula. Saat ini, telah terjadi penurunan kualitas ikan secara luas yang disebabkan oleh banyaknya terjadi *inbreeding* (Rustidja, 1995), dan perkawinan antar individu yang tidak jelas kualitas sifat dan riwayatnya. Kualitas sifat induk sangat ditentukan oleh keadaan genetik yang ia dapatkan dari induk - induk sebelumnya. Induk yang didapatkan dari hasil persilangan beberapa generasi di atasnya akan menghasilkan ketidakjelasan kualitas sifat yang artinya semakin jauh dari pemurnian sifat yang diturunkan kepada anaknya. Pemurnian sifat suatu individu merupakan salah satu upaya dalam program pemuliaan ikan. Ikan yang memiliki sifat genetik baik, jelas dan murni kemudian akan dijadikan induk yang akan disilangkan satu sama lain, sehingga mampu menghasilkan anakan dengan sifat baik dan terkontrol.

Upaya pemuliaan dalam menghasilkan ikan yang jelas dan kualitasnya masih umum dilakukan dengan metode konvensional yaitu dengan cara seleksi dan persilangan. Namun metode ini masih tergolong menyulitkan kegiatan pembenihan dan tidak efisien karena untuk mencari satu ikan yang benar - benar unggul membutuhkan waktu yang lama yaitu sekitar 13 - 15 generasi seleksi dan persilangan, (Rustidja, 1995). Pemurnian pada induk juga dapat dilakukan dengan rekayasa genetika berupa manipulasi kromosom dalam proses pembuahan. Beberapa contoh sifat yang diharapkan Asrianingtyas (2009) adalah pertumbuhan relatif cepat, tahan terhadap penyakit, kelangsungan hidup tinggi, toleran terhadap perubahan lingkungan dan mudah dibudidayakan. Salah satu contoh teknik yang digunakan adalah dengan ginogenesis.

Inti dari ginogenesis adalah dengan membuat materi genetik dari sperma menjadi tidak aktif dan diploidisasi zigot. Penonaktifan materi genetik sperma dilakukan dengan radiasi sinar UV terhadap sperma yang telah diencerkan dan proses diploidisasi untuk membuat kromosom zigot bersifat tetap $2n$ (diploid) dilakukan dengan memberikan kejutan suhu atau tekanan hidrostatik pada telur yang telah terbuahi oleh sperma tersebut, (Sambara, 1989). Ginogenesis dibagi menjadi dua tergantung kepada saat diploidisasi dilakukan, yaitu ginogenesis meiosis (mioginogenesis) dan ginogenesis mitosis (mitoginogenesis). Diploidisasi mioginogenesis dilakukan pada saat telur mengalami pembelahan meiosis dan mitoginogenesis pada saat pembelahan mitosis, (Rustidja, 1995).

1.2 Rumusan masalah

Program pemuliaan sifat ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) dapat diupayakan salah satunya dengan teknik ginogenesis. Teknik ginogenesis dapat dilakukan dengan memberi perlakuan radiasi UV terhadap sperma ikan untuk menonaktifkan materi genetik sebagai penyumbang pewarisan sifat hereditas sperma namun tetap mempertahankan motilitas dan viabilitasnya sehingga dapat membuahi sel telur. Kemudian dilakukan proses diploidisasi dengan cara memberikan kejutan panas untuk menginduksi terjadinya fusi pada sel telur terbuahi saat menjelang akhir pembelahan mitosis pertama (*first cleavage*) sehingga kromosom yang telah terduplikasi tidak terpisah ke dalam 2 sel melainkan tetap berada di dalam 1 sel. Diploidisasi akan membuat sel zigot tetap bersifat $2n$ dan memiliki kromosom inti yang homolog atau identik (homozigot) karena berasal dari penggandaan 1 set kromosom dengan hanya membawa sifat induk betina. Besar kejutan suhu optimal diperlukan guna mengetahui metode yang paling efektif dalam diploidisasi mitoginogenesis guna mendukung program pemuliaan ikan lele dumbo (*Clarias* sp.).

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui besar kejutan suhu yang optimal terhadap keberhasilan teknik mitoginogenesis ikan lele dumbo (*Clarias* sp.).

1.4 Kegunaan

Hasil kegiatan diharapkan dapat digunakan sebagai bahan informasi bagi pengembangan budidaya perikanan khususnya dalam pemuliaan ikan serta untuk mendapatkan keturunan lele dumbo (*Clarias* sp.) dengan teknik mitoginogenesis.

1.5 Hipotesa

H₀ : Diduga pemberian besar kejutan suhu yang berbeda tidak berpengaruh terhadap keberhasilan teknik mitoginogenesis ikan lele dumbo (*Clarias* sp.).

H₁ : Diduga pemberian besar kejutan suhu yang berbeda berpengaruh terhadap keberhasilan teknik mitoginogenesis ikan lele dumbo (*Clarias* sp.).

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Reproduksi, Pembenihan dan Pemuliaan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada 13 Juni - 16 Juli 2011.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan lele Dumbo (*Clarias sp.*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Saanin (1984) dan Simanjuntak (1989) dalam Rustidja (1995), klasifikasi ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Sub kingdom	: Metazoa
Phylum	: Chordata
Sub phylum	: Vertebrata
Class	: Pisces
Sub class	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysoidei
Sub Ordo	: Siluroidea
Family	: Clariidae
Genus	: <i>Clarias</i>
Spesies	: <i>Clarias sp.</i>

Ikan ini disebut juga *African catfish*, (Varadi, Ivan, Janos, dan Laszlo, 1999).



Gambar 1. Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) (Mahalder, 2009)

Ikan lele memiliki bentuk badan yang memanjang, berkepala pipih, tidak bersisik, memiliki empat pasang kumis yang memanjang sebagai alat peraba. Bagian depan badannya memiliki penampang melintang yang membulat, sedang bagian tengah dan belakang berbentuk pipih. Mulutnya terdapat di bagian ujung moncong dan memiliki empat pasang sungut yaitu satu pasang sungut hidung, satu pasang sungut maksilar, (berfungsi sebagai tentakel), dan dua pasang sungut mandibula. Insangnya berukuran kecil dan terletak pada kepala bagian belakang. Siripnya terdiri dari 5 jenis yaitu sirip dada, sirip punggung, sirip perut, sirip dubur, dan sirip ekor. Sirip dadanya berbentuk bulat agak memanjang dengan ujung runcing, dan dilengkapi dengan sepasang duri yang biasa disebut patil, (Najiyati, 2003).

Lele dumbo memiliki insang tambahan yang sering disebut dengan arborescen atau labirin. Insang tambahan ini memungkinkan lele dumbo untuk hidup di lingkungan yang minim kandungan oksigen, seperti lumpur. Lele dumbo memiliki kulit tubuh yang licin dan berlendir. Warna tubuhnya akan menjadi pucat saat terkena sinar matahari dan berubah menjadi loreng seperti mozaik hitam putih jika terkejut atau kaget. Ukuran mulutnya elatif lebar, mencapai hamper seperempat dari panjang total tubuhnya. Menurut beberapa informasi, lele dumbo merupakan hasil persilangan lele lokal yang berasal dari Afrika dengan lele lokal yang berasal dari Taiwan (*Clarias gariepinus*. x *Clarias fuscus*), dan pertama kali masuk ke Indonesia pada tahun 1986. Lele dumbo merupakan jenis lele yang memiliki ukuran tubuh besar (bongsor). Kata 'dumbo' sendiri berasal dari kata 'jumbo' yang berarti berukuran besar, (Amri dan Khairuman, 2008).

2.1.2 Penyebaran dan Habitat

Lele dumbo (*Clarias* sp.), yang merupakan spesies dari Afrika dan Asia, saat ini telah dibudidayakan secara luas di dunia bahkan telah didomestikasi di

Belanda. Jenis ikan ini dibudidayakan terutama di Taiwan. Persilangan *Clarias* sp. dan *Clarias macrocephalus* banyak dikembangkan di Malaysia, Filipina, Thailand, dan Vietnam, sedangkan di China umumnya dibudidayakan hibrida hasil persilangan dari *Clarias* sp. dan *C. fuscus*. Pada banyak Negara Asia, umumnya budidaya lele dumbo berintegrasi dengan usaha peternakan untuk menekan biaya pakan 2 bulan pertama dan meningkatkan profit usaha. Di Afrika, umumnya kegiatan budidaya lele dumbo diintegrasikan dengan budidaya ikan - ikan tilapia (nila), (Mustafa, 1999).

Semua perairan tawar dapat menjadi lingkungan hidup atau habitat lele dumbo, misalnya waduk, bendungan, danau, rawa, dan genangan air tawar lainnya. Walaupun lele dumbo jelas mendiami perairan tawar, namun sering pula ditemukan pada perairan agak asin atau payau. Hal ini terbukti di daerah Tanjung Priok Jakarta Utara, banyak warga memanfaatkan genangan air payau untuk usaha pembesaran lele dumbo, (Santoso, 1994).

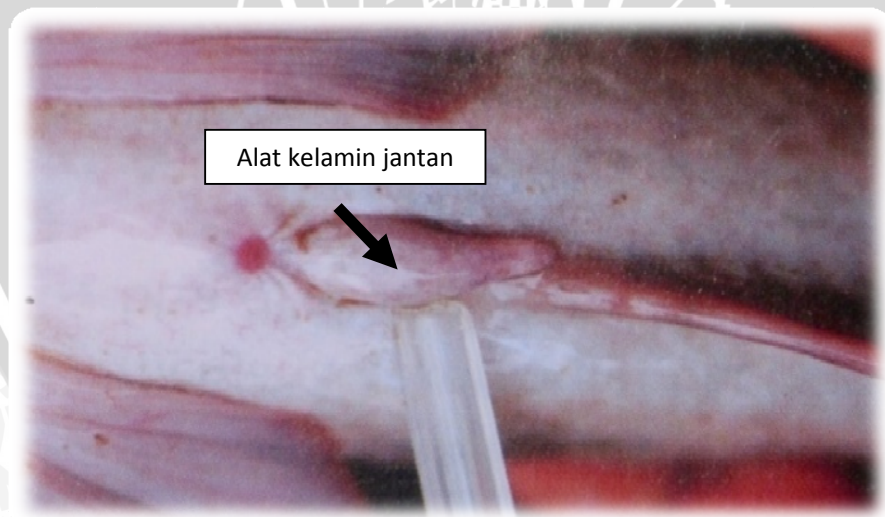
Menurut Najiyati (2003), lele dumbo termasuk ikan air tawar yang menyukai genangan air yang agak tenang. Di alam, ikan ini lebih banyak dijumpai di sungai - sungai memiliki aliran air tidak begitu deras. Ikan lele dumbo memiliki organ pernapasan tambahan yang dapat digunakan bila mengambil oksigen langsung dari udara. Oleh sebab itu, ikan ini sering menyembul ke permukaan air untuk mengambil oksigen. Karena sifatnya itu, lele dumbo dapat dipelihara pada kolam yang tergenang dan berair keruh sekalipun (minim oksigen). Sebaliknya, ia tidak dapat hidup pada kolam yang permukaan airnya tertutup oleh sampah atau daun - daun hidup seperti enceng gondok. Ikan ini memiliki kebiasaan membuat dan menepati lubang - lubang di tepi sungai atau kolam sebagai sarangnya, serta mengaduk - aduk lumpur di dasar air untuk mencari makan. Lele dumbo bersifat nokturnal, yaitu aktif bergerak mencari

makanan pada malam hari. Pada siang hari, ikan lele dumbo memilih berdiam diri dan berindung di tempat - tempat yang gelap.

2.1.3 Ciri Induk Jantan dan Betina

Determinasi sex induk sangat penting dilakukan dalam upaya pengembangbiakan ikan. Terdapat beberapa perbedaan antara induk lele dumbo jantan dan betina baik dari segi ciri fisik maupun pergerakan. Menurut Puspowardoyo dan Djarijah (2003), induk lele dumbo jantan yang telah matang kelamin adalah sebagai berikut :

1. Umur 8 – 24 bulan
2. Tidak cacat fisik (tubuh)
3. Postur tubuh ideal (berat dan panjang badan seimbang)
4. Pergerakan lebih lincah dari induk betina
5. Alat kelamin berwarna merah, memanjang dan membengkak (Gambar 2).



Gambar 2. Induk Lele Dumbo Jantan (Hendrawan, 2010)

Induk lele betina yang telah matang kelamin adalah sebagai berikut :

1. umur 1 – 2 tahun
2. Tidak cacat fisik

3. Perut menggebung dan lembek
4. Pergerakan sedikit lamban
5. Alat kelamin merah dan membesar (Gambar 3)



Gambar 3. Induk Lele Dumbo Betina (Hendrawan, 2010)

Betina yang dinyatakan matang telur ditandai dengan bagian perutnya lembek dan tampak gendut, di sekitar dubur warnanya tampak kemerahan. Pemeriksaan telur dapat dilakukan dengan metode *stripping* (pengurutan). *Stripping* harus dilakukan dengan hati - hati karena dapat menyebabkan induk stress. Cara yang aman yaitu dengan menutup bagian kepala (terutama mata) ikan dengan kain halus dan basah kemudian bagian perut diurut dengan jari tangan kearah ekor perlahan - lahan. Jika induk betina mengeluarkan sel telur, artinya induk betina tersebut telah matang telur dan siap dikawinkan, (Santoso, 1994).

2.1.4 Pemijahan

Pemijahan ikan dapat diartikan sebagai proses perkawinan antara ikan jantan dan betina. Proses ini terjadi pada induk - induk ikan yang telah matang gonad. Hasil pemijahan adalah keluarnya telur dan sperma dari induk tersebut dan diikuti oleh proses pembuahannya (fertilisasi). Keberhasilan pemijahan

dinilai dari banyak sedikitnya telur atau sperma yang keluar dan dapat terbuahi. Terdapat banyak faktor yang mempengaruhi tingkat keberhasilan pemijahan. Selain faktor dari dalam induk sendiri antara lain kesehatan ikan termasuk kecukupan jumlah sperma dan kualitas telurnya serta hormon, faktor luar seperti lingkungan juga akan berpengaruh, (Lesmana, 2007).

Menurut Sunarma (2008), pemijahan ikan lele dumbo dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu pemijahan alami (*natural spawning*), pemijahan semi-buatan dan buatan (*induced/artificial spawning*). Pemijahan alami adalah pemijahan yang terjadi dengan sendirinya. Pemijahan semi buatan dilakukan dengan merangsang induk betina dengan hormon dan dibiarkan memijah secara alami dengan induk jantan. Sedangkan pemijahan buatan dilakukan dengan merangsang induk betina dengan hormon dan kemudian dilakukan fertilisasi secara buatan dengan mencampurkan langsung sel telur dan sperma oleh tangan manusia.

Secara alami, apabila telah mencapai usia dewasa, lele jantan dan betina akan segera berpasangan untuk mengadakan proses pemijahan. Lele betina akan meletakkan telur di atas sarangnya. Bersamaan dengan itu, lele jantan akan menyembutkan spermanya di sekitar telur terbuahi. Telur yang telah terbuahi akan dijaga oleh induk betina sampai menetas dan menjadi lele kecil yang siap mencari makan sendiri. Telur - telur tersebut akan menetas dalam jangka waktu 2 - 3 hari. Di alam bebas, biasanya lele akan memijah pada sore hari di musim hujan, sedangkan untuk pemijahan secara buatan, waktu pemijahan dapat diatur sehingga perkawinan dapat terjadi sepanjang tahun dengan syarat ikan telah cukup matang gonad, (Najiyati, 2003). Pada negara - negara Timur, terutama Indonesia, kolam pemijahan biasanya dilengkapi dengan kakaban yang digunakan sebagai sarang telur. Kakaban terbuat dari seram alam tumbuhan *Arenga pinata* (pohon enau). Kakaban dijepit dengan 4 buah bambu yang

menjadi sisi - sisinya. Bobot kakaban diatur sedemikian rupa sehingga tetap berada di bawah permukaan air kolam, (Huet, 1986).

Dalam pemijahan semi buatan dan buatan, dilakukan penyuntikkan hormon perangsang pemijahan. Beberapa contoh hormon yang digunakan menurut Lesmana (2007), antara lain:

a. Ekstrak hipofisa

Bahan ini diperoleh dengan cara mengekstrak kelenjar hipofisa atau pituitary dari ikan dewasa baik dari ikan dengan spesies yang sama maupun tidak. Hipofisa yang bersumber dari spesies yang sama disebut hipofisasi homoplastik, dan dari spesies berbeda disebut hipofisasi heteroplastik. Ikan mas umumnya menjadi ikan donor yang sering digunakan karena pengambilan mudah dan ukuran hipofisanya relatif besar. Cara pengambilan hipofisa ini adalah dengan memotong kepala ikan donor (misalnya ikan mas) di belakang tutup insang. Selanjutnya kepala ini dipotong lagi secara horizontal di atas mata bagian depan. Hipofisa akan tampak di rongga tulang kepala sebagai bulatan kecil. Hipofisa diambil kemudian digerus dengan ditambahkan larutan NaCl 0,9% atau akuabides. Larutan diendapkan atau dipusingkan menggunakan *sentrifuge* beberapa saat, kemudian cairan bening tanpa endapan disuntikkan ke ikan.

b. GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormon*)

Hormon ini dapat merangsang naiknya gonadotropin dalam darah. Saat ini GnRH sintesis telah dapat dihasilkan. Preparat ini sudah umum digunakan, selain amat praktis, penggunaanya juga cukup baik dan efektif. Sebagai contoh adalah preparat yang terkenal dengan nama *Ovaprim* yang merupakan GnRH yang ditambahkan anti dopamin.

c. LhRh (*Luteinizing Hormon Releasing Hormon*)

Merupakan GnRH yang terdapat pada mamalia. Aktivitasnya sama dengan GnRH apabila diberikan kepada ikan yaitu dapat menstimulasi perkembangan

ovarium dan testis. LhRH telah dapat dibuat secara sintetis dan telah dikomersialkan.

d. HCG (*Human Chorionic Gonadotropin*)

Hormon ini berasal dari plasenta manusia. HCG dijual dengan nama dagang "Prygnil" berbentuk powder atau bubuk yang dilarutkan terlebih dahulu dengan akuabides apabila ingin disuntikkan. Produk ini sekarang jarang digunakan karena pemakaiannya yang kurang praktis dan efisien. Namun kombinasi HCG dengan ovaprim telah diteliti menghasilkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan pemakaian *Ovaprim* saja pada ikan balashark (*Balantheocheilus melanopterus*).

e. Hormon Steroid

Metal testosterone merupakan steroid yang paling banyak digunakan. Volume sperma dan jumlah spermatozoa per ml dapat meningkat sampai dua kali lipat tanpa mengurangi motilitas atau efektivitasnya. Pada pemijahan buatan, induk betina dan betina harus dilap kering sebelum diambil gonadnya masing - masing. Air akan mengaktifkan sperma untuk melakukan fertilisasi, namun lama hidup sperma yang telah terkena air sangat singkat. Induk betina *distripping* dan telurnya ditampung ke dalam wadah yang kering baru kemudian dicampurkan dengan sperma dan diberi air. Percampuran ini selanjutnya dapat diaduk dengan jari atau bulu (ayam), (Spepherd dan Niall, 2003).

2.1.5 Fertilisasi dan Perkembangan Telur

Masuknya spermatozoa ke dalam sel telur melalui lubang mikrofil dan bergabung dengan inti sel telur merupakan proses pembuahan atau fertilisasi. Bersatu atau fusi dari inti sel jantan yang haploid (n) dan berada dalam sperma dengan inti sel telur yang juga haploid (n) ini akan menghasilkan sel pertama somatik yang diploid (2n) dan disebut *zygote* (zigot). Proses ini akan memacu

proses proses selanjutnya yaitu tumbuhnya badan - badan atau kutub - kutub polar sel yang nantinya akan berkembang menjadi embrio, (Rothbard, 1980, Woynarovich dan Horvarthh, 1980, *dalam* Lesmana, 2007).

Waktu yang dibutuhkan oleh sel telur yang matang dan sperma sampai dapat terfertilisasi amat terbatas. Hal ini akibat dari cepatnya mikrofil tertutup maupun umur dari sperma yang pendek setelah bersentuhan dengan air. Masuknya sperma ke dalam telur dan fusi dari inti sel telur dengan inti sel sperma dan berkembang menjadi zigot yang akan dilanjutkan dengan proses pembelahan dapat dinyatakan sebagai pembuahan sempurna, (Lesmana, 2007).

Perkembangan telur berlangsung dalam beberapa tahap atau fase. Beberapa fase perkembangan telur setelah fertilisasi menurut Rustidja (2004), antara lain:

- a. Setelah terjadi fertilisasi, telur kemudian mengembang atau swelling. Inti telur akan menjadi bentuk yang lebih mudah dibedakan dari segi bentuk maupun warna. Kutub anima berkembang berbentuk bukit kecil dan kuning telur berkembang menjadi warna kuning gelap. Proses tersebut bergantung pada temperatur air. Pembelahan kutub anima dimulai dari satu sel berturut - turut menjadi 2, 4, 8, 16, dan 32 sel. Pada Stadia ini telur terlihat seperti buah mulberry, dan hal ini merupakan akhir dari stadia morulla.
- b. Selanjutnya, telur memasuki fase banyak sel atau blastoderm, yang dimulai dari satu selaput sel. Sel - sel tersebut disebut blastomer. Seiring jumlahnya yang semakin meningkat, ukuran blastomer semakin kecil. Pada stadia morulla, perkembangan embrio bersifat sangat sensitif terhadap guncangan dan mudah mengalami kematian. Dalam sel, terbentuk sebuah ruang yang berukuran kecil antara kuning telur dan massa sel yang disebut segmentation cavity. Embrio pada stadia ini disebut blastula.

- c. Sel - sel blastoderm pada mulanya tersusun pada bagian atas kuning telur berbentuk mangkuk. Pada tingkat selanjutnya, sel mulai menutup kuning telur hingga keseluruhannya, yang tersisa hanya bagian akhir dengan bukaan yang kecil dari blastophore, akan tetapi pada akhirnya blastophore ini pun juga akan tertutup seluruhnya. Ini merupakan fase transisi dari perkembangan embrionik dan dimulainya stadia perkembangan germ atau inti.
- d. Massa sel menebal pada sebagian lingkaran blastophore, kepala dan ujung ekor terlihat pada kedua ujungnya. Sesaat kemudian, kedua ujung ekor dan kepala menjadi sangat jelas dan ruas pertama dari badan menjadi terlihat. Mata berkembang berupa “opticvesicles” pada kepala, dan ekor mulai tumbuh secara longitudinal. Ini merupakan akhir dari fase gastrula, dan beranjak ke fase organogenesis. Fase organogenesis merupakan fase dimana embrio akan mulai membentuk organ - organ vital dalam tubuhnya.
- e. Jantung berkembang dan mulai berdenyut. Pada waktu yang sama sistem kapiler atau pembuluh darah berkembang pada permukaan kuning telur. Ekor embrio berangsur - angsur mulai bergerak, diikuti oleh pergerakan badan, bahkan selanjutnya mulai memutar pada ruang perivitelin. Perputaran dan pergerakan lainnya menjadi sangat aktif menjelang menetas sehingga cangkang telur nantinya dapat pecah.

Menurut Rustidja (1999), penetasan telur ikan yang utama dipengaruhi oleh suhu pengeraman. Pada saat terjadi penetasan, chorion akan semakin lunak karena adanya enzim dan unsur kimia lainnya yang dikeluarkan oleh kelenjar endodermal di daerah pharinx. Enzim ini disebut “chorionase” yang dapat mereduksi chorion. Dalam proses ini, pH dan suhu sangat berperan. Embrio yang ada di dalam cangkang akan sering merubah posisinya, dengan pergerakan dan chorion yang sudah lunak dan pecah, ekor akan keluar terlebih dahulu kemudian perlahan - lahan diikuti oleh bagian kepala. Anak ikan yang

baru menetas disebut larva dan dalam perkembangannya larva ini dibedakan menjadi dua tahap:

a. Prolarva

Prolarva masih mempunyai kuning telur, tubuhnya transparan dengan beberapa butir pigmen yang fungsinya belum diketahui, sirip dada dan sirip ekor sudah ada tetapi belum sempurna bentuknya dan kebanyakan pro larva yang baru keluar dari cangkang ini tidak memiliki sirip perut yang nyata melainkan hanya tonjolan saja.

b. Postlarva

Masa postlarva dimulai dari hilangnya kantong kuning telur sampai terbentuknya organ - organ yang telah ada, sehingga pada masa akhir dari postlarva tersebut secara morfologi telah mempunyai bentuk yang hampir sama dengan induknya. Pada mas ini, sel - sel germinal primordial (PGC) akan mengalami diferensiasi menjadi gonad.

2.2 Ginogenesis

2.2.1 Pengertian dan Tujuan

Ginogenesis adalah upaya menghasilkan anakan dengan sifat yang kesemuanya diturunkan oleh induk betina. Ginogenesis didapatkan dengan mengaktifkan pembelahan sel pada telur dengan sperma yang telah teradiasi dan kemudian mengembalikan diploidi pada perkembangan zigot. Teknik ini dapat digunakan untuk menghasilkan keturunan *inbreed line* yang cepat, populasi klon, dan monosex (satu jenis kelamin). Ginogenesis dapat juga memperjelas mekanisme *sex-determining* (penentuan jenis kelamin) pada ikan, (Dunham, 2004).

Ginogenesis adalah sebuah teknik yang mengalokasikan semua materi genetik pada *progeny* (keturunan) berasal dari induk betina. Selain untuk

menghasilkan keturunan yang kesemuanya betina, kegunaan utama dari teknik ini yaitu untuk menunjang program in breeding karena ginogenesis membuat seleksi kualitas dapat dilakukan jauh lebih cepat dibandingkan dengan seleksi pemijahan jantan-betina konvensional, (Sepherd dan Niall, 2003). Purdom (1969) dalam Thompson (1983) juga menyatakan bahwa teknik ini akan menghasilkan perkembangan pesat induk *inbreeding* pada budidaya ikan tanpa hambatan yang berkaitan dengan beberapa generasi *sib-mating* (perkawinan saudara). Ginogenesis dilakukan dengan tujuan untuk mempercepat proses mendapatkan ikan lele dumbo murni dengan homosigositas tinggi, (Sucipto, 2000).

Fertilisasi eksternal dan fekunditas tinggi yang dimiliki oleh banyak spesies ikan mendukung aplikasi teknik ini sebagai bentuk upaya manipulasi genetik untuk diaplikasikan. Mengingat perkembangan garis inbreed dan diikuti oleh *crossbreed* (perkawinan silang) untuk menghasilkan *hybrid* (hibrida) akan membawa banyak manfaat bagi perkembangan ilmu breeding (perkembangbiakan) pada hewan maupun tanaman, maka hal ini tentunya juga akan bermanfaat bagi budidaya perikanan, (Thompson, 1983). *Inbreed line* memiliki variasi yang luas dalam aplikasinya secara praktikal maupun teoritikal, seperti pada produksi *superior lines* (individu sangat unggul) dengan *crossbreeding* (perkawinan silang) dan kajian mengenai efek lokus tunggal. *Clonal lines* (klon) hasil ginogenesis telah berhasil dihasilkan pada beberapa spesies ikan komersial dan non-komersial seperti ikan zebrafish (*Danio rerio*), ikan medaka (*Oryzias latipes*) dan ikan mas atau Carp (*Cyprinus Carpio*) dalam Varadi *et al.* (1999).

2.2.2 Metode Ginogenesis

Ginogenesis dapat terjadi secara alami maupun buatan (oleh manusia). Ginogenesis secara alami jarang terjadi karena sperma yang membuahi telur

dalam keadaan materi genetiknya tidak aktif jarang ditemukan, (Golovinskaya, 1972; Stanley dan Sneed, 1974, Nagy *et al.*, 1978 *dalam* Yulintine, 1995). Contoh ginogenesis yang pernah ditemukan secara alami yaitu pada spesies *Carassius auratus gibelio* dan jenis dari famili Poeciliidae (Refstie *et al.*, 1982 *dalam* Sambara, 1989).

Pada ginogenesis, telur difertilisasi dengan sperma yang telah teradiasi kemudian diberi kejutan panas atau dingin, (Spehpherd dan Nial, 2003). Ginogenesis dilakukan dengan mengembalikan diploid pada telur yang diaktifkan oleh spermatozoa yang telah non aktif secara genetik dengan menghalangi proses pembelahan meiosis maupun mitosisnya, (Thompson, 1983). Menurut Sambara (1989) metode ginogenesis dilakukan melalui beberapa perlakuan pada tahapan pembuahan dan awal perkembangan embrio. Perlakuan - perlakuan ini dilakukan dalam rangka mencapai dua masalah, yaitu ;

- a. Membuat materi genetik gamet jantan menjadi tidak aktif
- b. Mengupayakan agar terjadi diploidisasi pada zigot

2.2.3 Penonaktifan Materi Genetik Sperma

Bahan genetik dalam spermatozoa dapat dibuat tidak aktif dengan cara meradiasinya dengan sinar gamma, sinar x, dan sinar ultra-violet (UV), (Purdom, 1983 *dalam* Sambara 1989). Dalam penelitiannya, Arti (2004), mendapatkan bahwa UV menunjukkan keberhasilan dalam meradiasi sperma sehingga mengakibatkan rendahnya embrio yang mampu berkembang, telur dan larva yang haploid serta abnormal yang mengakibatkan kematian.

Ginogenesis berbagai spesies ikan telah dilakukan menggunakan beberapa macam sinar pada penelitian - penelitian yang terdahulu, seperti sinar X, UV, maupun sinar gamma. Dunham (2004) menyatakan radiasi akan memecah atau merusak DNA pada sperma, sehingga tidak ada kontribusi

paternal pada zigot, tetapi sperma masih bersifat motil dan dapat mempenetrasi telur serta mengaktifkan pembelahan sel. UV dan sinar gamma dapat menonaktifkan genom dari induk jantan maupun betina. Radiasi memiliki keunggulan dan lebih efektif dibandingkan sinar gamma. Beberapa jenis sinar yang dipakai dalam penelitian ginogenesis terdahulu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Beberapa Penelitian Ginogenesis pada Ikan, Purdom (1983) *dalam* Yulintine (1995).

No.	Peneliti	Nama Ikan	Metode
1.	Romashov <i>et al.</i> (1961)	Loach	Sinar x
		Sturgeon	Kejutatan dingin
		Karper	
2.	Colovinskala (1968)	Karper	Sinar x
			Kejutatan dingin
3.	Purdom (1969)	Plaice	Sinar x
		Trout	Kejutatan dingin
4.	Cherfas (1975)	Karper	Sinar x
			Kejutatan dingin
5.	Stanley (1976)	Karper	UV
		Karper rumput	
6.	Cherfas (1977)	Karper	Sinar gamma
	Cherfas dan Truveller (1978)	Karper	Kejutatan dingin
7.	Gervai <i>et al.</i> (1980)	Karper	Sinar gamma
			Kejutatan dingin
8.	Chourrout (1980)	Trout	Sinar gamma
			Kejutatan panas
9.	Streisinger <i>et al.</i> (1981)	Ikan zebra	UV
			Tekanan

Apabila dosisnya terlalu kecil, radiasi gamma akan menghasilkan fragmen kromosom yang berlebihan, dari sperma donor, yang dapat terintegrasi dalam satu host dan bereplikasi secara independen pada banyak pembelahan sel seperti sebuah kromosom dan terekspresikan ppada zigot. Namun, sinar gamma memiliki keunggulan yaitu lebih mempenetrasi daripada UV, dan sinar UV hanya efektif apabila sperma diencerkan dandisebar dalam lapisan yang

tipis. Mutagen kimia, seperti dimetilsulfat, juga dapat menonaktifkan sperma dalam volume yang banyak, tetapi prosedur ini juga dapat menghasilkan fragmen kromosom berlebihan, (Dunham, 2004).

2.2.4 Diploidisasi

Diploidisasi dalam ginogenesis dapat dilakukan dengan cara menahan pengeluaran polar body II pada saat meiosis kedua (mioginogenesis) atau dengan memberi penekanan pada saat pembelahan mitosis pertama (mitoginogenesis) (Nagy *et al.*, 1978 dalam Sambara, 1989). Proses diploidisasi ini dapat dilakukan dengan pemberian kejutan fisik seperti yang ditampilkan pada Tabel 1.

Selain secara fisik, diploidisasi juga dapat dilakukan secara kimiawi. Salah satu contohnya yaitu dengan menggunakan larutan Kolkhisin. Dalam penelitiannya, Hariani (2008) berhasil menggunakan larutan kolkhisin untuk menghasilkan ikan Mas (*Cyprinus carpio*) triploid. Perendaman telur pada 3 menit setelah terfertilisasi dalam larutan ini berhasil menahan ekstrusi (pengeluaran) polar body II.

2.2.5 Mitoginogenesis

Menurut Rustidja (1995), perbedaan antara ginogenesis mitosis (mitoginogenesis) dan ginogenesis meiosis (mioginogenesis) antara lain ;

a. Ginogenesis meiosis

Telur normal dibuahi dengan sperma yang diradiasi maka jumlah kromosom dalam telur tetap $2n$ (kromosom spermatozoa mati) saat telur mengalami meiosis II dan belum terjadi peluncutan polar body II dilakukan kejutan suhu untuk menahan loncatan ikan polar body, maka jumlah kromosom dalam telur tetap $2n$. selanjutnya telur mengalami proses mitosis, berkembang dan menetas menjadi ikan mempunyai $2n$ komosom.

b. Ginogenesis mitosis

Telur normal dibuahi spermatozoa yang diradiasi maka di dalam telur terdapat 2n kromosom dari sel telur, maka peloncatan polar body II di dalam telur tunggal 1n kromosom. Proses selanjutnya telur mengalami mitosis dan dilakukan kejutan suhu sehingga pembelahan terjadi pada kromosom saja dan selnya tetap, sehingga di dalam sel terdapat 2n kromosom.

Diploid mitoginogenesis merupakan suatu keuntungan yang besar karena *homozigous lines* (clones atau klon homozigot) yang komplit dapat diproduksi hanya dalam 2 generasi, dimana dengan mioginogenesis membutuhkan beberapa generasi untuk mendekati homosigositas (Nagy dan Csanyi, 1982 dalam Varadi *et al.*, 1999).

Mitoginogenesis telah berhasil dilakukan pada ikan yang dibudidayakan maupun yang non-komersial, contohnya pada ikan ayu (*Plecoglossus altivelis*), ikan koi carp (*Cyprinus carpio*), beberapa spesies salmon, ikan channel catfish (*Ictalurus punctatus*) dan ikan tench (*Tinca tinca*), (Varadi *et al.*, 1999). Diploid mitoginogen dihasilkan dengan cara menahan atau memblok (*blocking*) akhir pembelahan mitosis atau cleavage pertama. Duplikasi kromosom dibiarkan sehingga menghasilkan kromosom ganda (berjumlah satu pasang atau berjumlah 2n) dari kondisi yang semula haploid (kromosom hanya berjumlah 1n yang berasal dari induk betina). Kemudian dilakukan kejutan suhu agar sel tidak jadi membelah pada saat terjadi fase akhir pembelahan, sehingga dapat dihasilkan sebuah sel diploid. Mitoginogen bersifat homozigot karena berasal dari sebuah set kromosom tunggal yang digandakan, (Dunham, 2004).

2.3 Kualitas Air

Suhu perairan yang ideal untuk lele dumbo berkisar 20-30°C atau tepatnya 27°C dengan tingkat keasaman tanah (pH) 6,5-8. Umumnya, lele

dumbo dapat hidup di perairan yang mengandung karbondioksida 15 p,pm, NH_3 0,05 ppm, NO_2 0,25 ppm, NO_3 250 ppm dan oksigen minimum 3 ppm (Amri dan Khairuman 2008).

Menurut Najiyati (2003), lele dumbo termasuk ikan air tawar yang menyukai genangan air yang tidak tenang. Di sungai-sungai, ikan ini lebih banyak dijumpai di tempat-tempat yang aliran airnya tidak terlalu deras. Kondisi yang ideal bagi hidup lele dumbo adalah air yang mempunyai pH 6,5-9 dan bersuhu 24° – 26°C . Kandungan O_2 yang terlalu tinggi akan menyebabkan timbulnya gelembung-gelembung dalam jaringan tubuhnya. Sebaliknya penurunan kandungan O_2 secara tiba-tiba, dapat menyebabkan kematiannya.

Hal atau faktor yang perlu diperhatikan dalam inkubasi telur adalah (Lesmana, 2007):

- Konsentrasi oksigen yang terus-menerus sampai inkubasi selesai
- Dibutuhkan suhu optimal sesuai jenis ikannya, tidak terlalu rendah ataupun tinggi
- Selama perkembangan telur memproduksi CO_2 dan NH_3 yang dapat meracuni sehingga air untuk inkubasi harus bersih agar kadar metabolit tersebut tidak terlalu tinggi.
- Kebanyakan spesies selama perkembangan bersifat sangat sensitif terhadap goncangan atau tekanan mekanis.

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada saat penelitian yaitu :

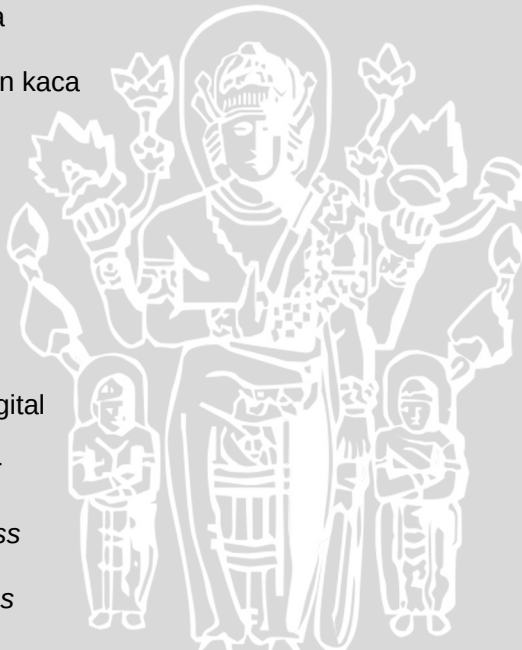
- Induk lele dumbo (*Clarias sp.*) jantan dan betina
- Telur lele dumbo (*Clarias sp.*)
- Sperma lele dumbo (*Clarias sp.*)
- Larutan Fisiologis (NaCl)
- *Ovaprim*
- Bulu ayam
- *Methylene Blue*
- Kertas tisu
- Benang kasur
- Pelet lele
- *Artemia salina*
- *Tubifex sp.*
- Bulu ayam
- Air
- Eosin

3.1.2 Alat – Alat Penelitian

Alat – alat yang digunakan pada saat penelitian yaitu :

- *Dissecting set*
- Spuit
- Mangkok plastik
- Termometer

- Stopwatch
- Mikroskop
- Cawan petri
- Erlenmeyer
- Pipet
- Bak fiber
- Aquarium
- Timbangan analitik
- Heater
- Kotak mika
- Lempengan kaca
- Inkubator
- Kotak UV
- Lampu UV
- Penggaris
- Kamera digital
- Gelas ukur
- *Object glass*
- *Cover glass*



Adapun gambar dari beberapa alat dan bahan dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen.

Menurut Suryabrata (1992), metode eksperimen adalah kegiatan percobaan untuk melihat hasil atau hubungan kausal antara variable - variabel yang diselidiki. Menurut Hanafiah (2008), percobaan dapat menentukan berhasil

tidaknya pemecahan yang ditawarkan untuk mengatasi permasalahan yang ingin diselesaikan.

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dimana yang menjadi variabel bebas (perlakuan) adalah besar suhu kejutan panas (*heat shock*) untuk menginduksi fusi sel pada akhir pembelahan mitosis pertama pada proses diploidisasi mitoginogenesis lele dumbo (*Clarias* sp.). Perlakuan kejutan panas yang diberikan adalah:

A = 39°C

B = 39,5°C

C = 40°C

D = 40,5°C

KN = fertilisasi normal tanpa perlakuan (kontrol normal)

KUV = tanpa kejutan panas, namun sperma diradiasi UV(kontrol radiasi UV)

Pemberian rentang suhu 39° - 40,5°C pada perlakuan kejutan panas mengacu pada beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Dalam penelitiannya, Varadi *et al.* (1999) menggunakan kejutan panas dengan suhu 40,5° C selama 2 menit pada induksi diploid ginogenseis dan tetraploidisasi *Clarias* sp.. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Galbusera *et al.* (2000) diperoleh fakta bahwa kejutan panas optimal untuk mitoginogenesis *Clarias* sp. dengan suhu sebesar 40°C selama 1 menit dan 39°C selama 15 - 2 menit pada 20 - 37 menit setelah fertilisasi. Berdasarkan acuan tersebut, maka penelitian ini dilakukan dengan memilih kisaran suhu 39° - 40,5°C guna mengetahui dengan tepat besar suhu optimal kejutan panas yang diaplikasikan selama 2 menit pada diploidisasi mitoginogenesis *Clarias* sp.. Untuk itu, interval besar suhu perlakuan dibuat cukup sempit yaitu 0.5°C.

Banyaknya jumlah ulangan sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Frederer (Yuniarti dan Damar, 2003) sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Ket : n : besar ulangan

t : jumlah perlakuan dan kontrol, sehingga ;

$$(n-1)(6-1) \geq 15 ; t = 6$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Jadi banyaknya ulangan yang dipakai adalah 4 untuk tiap perlakuan. Denah percobaan dapat dilihat dibawah ini (Gambar 4):

K1	D3
A4	K4
C1	B4
KUV4	B3
A1	K2
K3	C2
KUV1	A3
B1	KUV3
D2	C3
B2	A2
KUV2	D1
D4	C4

Gambar 4. Denah Rancangan Penelitian

Ket : A, B, C, D, KN, KUV = Perlakuan
1, 2, 3, 4 = Ulangan

3.3 Penelitian Pendahuluan (PP)

3.3.1 PP Radiasi sperma

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mengetahui jarak antara sperma dan lampu UV yang paling efektif untuk menonaktifkan materi genetik sperma namun tetap menjaga motilitas (daya gerak aktif) dan viabilitasnya (daya hidup) untuk memfertilisasi telur. Penelitian dilakukan dengan meradiasi sperma pada jarak 5, 10, 15, dan 20 cm terhadap lampu UV 15 watt selama 2 menit. Kemudian sperma diletakkan dalam *object glass* dan diberi sedikit air untuk membuatnya aktif. Selanjutnya, motilitas diamati di bawah mikroskop dan dihitung perbandingan jumlah antara yang motil dan keseluruhan sperma yang diamati. Sperma motil adalah sperma yang aktif bergerak. Sperma non motil adalah sperma diam yang menandakan sperma tersebut tidak dapat aktif.

Selanjutnya disiapkan pula sperma dalam *object glass* yang ditambahkan dengan larutan Eosin. Sperma dan eosin kemudian dicampur dan diratakan di luasan *object glass* dengan bantuan ujung *object glass* lainnya. Selanjutnya ulasan dikeringanginkan dan viabilitas diamati di bawah mikroskop. Sperma yang dikatakan viabel (hidup) adalah sperma yang tidak berwarna merah (seperti eosin) atau berwarna sedikit merah muda, sedangkan sperma yang mati berwarna merah tua pekat pada seluruh selnya. Hal ini disebabkan karena eosin akan masuk ke dalam seluruh sel sperma yang mati karena dinding selnya mudah hancur, sedangkan sperma yang masih hidup memiliki dinding sel yang utuh sehingga eosin tidak mudah masuk. Warna merah muda pada sperma hidup merupakan warna imbas ketika sperma tersebut direndam pada eosin yang berwarna merah tua. Persentase viabilitas dihitung dengan membandingkan jumlah sel sperma hidup dan jumlah total sperma yang diamati.

Parameter yang dilihat adalah tingkat motilitas dan viabilitas sperma dalam %. Rumus untuk menghitung dua parameter tersebut adalah ;

$$\begin{aligned}\text{Motilitas} &= \frac{b}{a} \times 100\% \\ \text{Viabilitas} &= \frac{c}{a} \times 100\%\end{aligned}$$

- a = jumlah sperma dalam 1 bidang pandang
b = jumlah sperma motil (aktif bergerak)
c = jumlah sperma viabel (hidup)

Dari hasil yang didapatkan pada PP jarak radiasi sperma ini, didapatkan bahwa perlakuan jarak radiasi sperma yang terbaik untuk besar daya lampu 15 Watt dan durasi penyinaran 2 menit adalah jarak 15 cm.

3.3.2 PP Akhir Pembelahan Mitosis Pertama Telur

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mengamati kapan terjadinya pembelahan mitosis pertama pada telur yang terfertilisasi. Informasi ini akan berfungsi dalam penentuan waktu pelaksanaan kejutan suhu untuk diploidisasi zigot. Pembelahan mitosis pertama terjadi pada fase morula dimana 1 inti sel telur akan mulai membelah pada kutub anima telur. Apabila waktu pemberian perlakuan tidak tepat maka mitoginogenesis tidak akan berhasil dan larva akan tetap bersifat haploid. Kejutan suhu harus diberikan tepat ketika kromosom telah terduplikasi sempurna dan sesaat sebelum badan sel membelah menjadi dua. Sel yang terkena kejutan suhu tersebut akan mengalami shock dan gangguan fungsi sehingga 2 calon sel baru tersebut akan berhenti membelah dan terjadilah fusi sel (tetap menjadi 1 sel). Hasil akhirnya didapatkan 1 buah sel dengan kromosom berjumlah ganda dari sebelumnya (haploid menjadi diploid) yang artinya diploidisasi berhasil. Selanjutnya, sel akan tetap dapat beraktivitas membelah seperti semula hingga telur menetas.

Penelitian dilakukan menggunakan telur yang difertilisasi dengan sperma normal (tanpa radiasi UV). Waktu dimulai sesaat setelah telur dicampur dengan sperma dan air (fertilisasi). Selanjutnya telur diamati di bawah mikroskop setiap menitnya dengan pembesaran 40x. Telur diletakkan ke dalam cawan petri yang

ditetesi air agar tetap hidup. Hasil didapatkan dari rata - rata waktu akhir pembelahan mitosis pertama dari beberapa sampel telur yang diamati dan dipilih secara acak. Telur diinkubasi dalam air suhu ruang (25° - 26°C). Hasil yang didapatkan dari PP ini yaitu, rata - rata telur mencapai fase akhir pembelahan mitosis pertama pada waktu 22 menit setelah fertilisasi.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Wadah

a. Wadah Radiasi Sperma

Radiasi sperma dilakukan pada wadah berupa cawan petri dalam sebuah kotak kayu berisi lampu UV tertutup berukuran $50 \times 35 \times 44 \text{ cm}^3$ dimana pada sikunya dilapisi kain tebal agar tidak ada sinar yang memancar keluar.

b. Wadah Kejutan Panas

Telur yang telah difertilisasi kemudian diletakkan di atas lempengan kaca bersih berukuran $18 \times 13 \text{ cm}$ dan diinkubasi. Kejutan panas dilakukan dalam sebuah baskom plastik berdiameter 30 cm . Tidak lupa disiapkan wadah untuk air dingin dan air panas untuk dicampur apabila suhu pada air pada wadah kejutan panas sewaktu - waktu berubah

C. Wadah Inkubasi Telur

Wadah inkubasi telur berupa lempengan kaca yang dimasukkan ke dalam kotak mika bersih berukuran $18 \times 13 \times 7 \text{ cm}^3$ dengan tinggi air $4 - 5 \text{ cm}$. Kotak - kotak tersebut diletakkan secara acak dalam inkubator berukuran $195 \times 45 \times 15 \text{ cm}$ yang memungkinkan terjadinya sirkulasi air secara kontiny dan suhu yang stabil. Bagian atas inkubator ditutup dengan plastik bening untuk menghindari kotoran, fluktuasi suhu udara, dan binatang lain masuk ke dalam. Kotak mika dan inkubator sehari sebelumnya telah disirkulasi atau direndam dalam air pemeliharaan yang telah diberi larutan *Methylen blue* agar steril.

3.4.2 Pengambilan Gonad

Ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) yang digunakan sebagai induk sebanyak 2 pasang yang telah matang gonad dipilih secara acak. Ikan betina disuntik dengan hormon perangsang *Ovaprim* 12 jam sebelum dilakukan fertilisasi dengan dosis 0,5 ml/kg secara intramuscular (pada bagian otot punggung), (Olufeagba dan Moses, 2011). Ikan jantan dan betina diletakkan pada kolam yang terpisah untuk menghindari terjadinya pemijahan.

Ikan betina dilap kering *distripping* dan telur diletakkan pada mangkuk kering. Telur tidak boleh terkena air agar tidak terjadi penutupan lubang mikrofil dan melekatnya telur dengan wadah atau sesamanya. Mangkuk kemudian ditutup lap lembab (air tidak boleh menetes) agar kondisi telur tetap lembab (seperti dalam perut ikan) dan tidak terkena cahaya. Adanya rangsangan cahaya akan menyebabkan tertutupnya lubang mikrofil.

Sperma ikan jantan diperoleh dengan cara pembedahan. Kepala ikan dipotong melintang kemudian bagian perut di bedah hingga ke arah anus dan diambil sepasang etstisnya. Testis dibersihkan dan dibilas dengan Na-fis. Testis dipotong dan sperma diperas ke dalam *beaker glass* 250 ml untuk dilakukan pengenceran. Pada penelitian yang dilakukan oleh Mardiana (2007) dilakukan pengenceran sebesar 1 : 100 terhadap sperma yang akan diradiasi UV dalam ginogenesis ikan sumatra (*Punctius tetrazona*, Bleeker). Pada penelitian ini dilakukan pengenceran yang lebih tinggi yaitu 1 : 300 untuk mengurangi kepadatan sperma. Kepadatan sperma yang lebih rendah diasumsikan akan menghasilkan paparan sinar UV yang lebih merata terhadap semua sel sperma dan masing – masing sel dapat teradiasi secara optimal. Setelah diencerkan, sperma siap untuk diradiasi UV untuk perlakuan A, B, C, D, dab KUV atau difertilisasi untuk KN. Sperma tidak boleh terkena air sebelum terjadi fertilisasi karena akan bersifat motil atau aktif dan waktu hidupnya sangat singkat.

3.4.3 Radiasi Sperma

Sperma yang telah diencerkan dan diaduk rata ditetaskan pada cawan petri petri berdiameter 7 cm pada lapisan tertipis (kira - kira 7 tetes atau 0,32 ml) hingga semua permukaan dasar cawan tertutup. Kemudian sperma diradiasi UV dengan lampu UV 15 watt dengan jarak 15 cm selama 2 menit.

3.4.4 Fertilisasi dan Kejutan Panas

Sperma yang telah siap kemudian dicampurkan dengan sel telur, diaduk, dan ditetaskan beberapa tetes air. Waktu fertilisasi mulai dihitung. Kemudian campuran tersebut diaduk lagi hingga 1 - 1,5 menit agar semua telur dapat terfertilisasi. Kemudian telur dituangkan dalam lempengan kaca. Lempengan kaca dibilas dari sisa sperma dan telur diinkubasi dalam kotak mika berisi air.

Kejutan panas diberikan dengan cara memindahkan lempengan kaca berisi telur ke dalam baskom perlakuan selama 2 menit pada 22 menit setelah fertilisasi. Setelah itu, lempengan kaca dibilas pada baskom lain berisi air dengan suhu ruang agar suhu kaca cepet turun kembali. Telur kemudian diinkubasi lagi ke dalam kotak mika semula. Jumlah total telur yang ditebar dihitung.

3.4.5 Penetasan dan Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan dengan tetap menjaga suhu air inkubator stabil pada $26^{\circ}\text{--}27^{\circ}\text{C}$, sirkulasi air lancar, dan kondisi air bersih. Telur yang tidak terbuahi atau mati segera dibuang untuk menghindari infeksi jamur. Sirkulasi air bertujuan untuk mengganti air yang kotor menjadi air bersih dan sebagai sumber suplai oksigen dalam media pemeliharaan. Untuk menjaga kestabilan suhu air, dipasang heater pada bak sirkulasi inkubator.

Setelah waktu inkubasi 10 jam, setelah fertilisasi, dilakukan perhitungan jumlah telur yang terfertilisasi dan tidak. Telur - telur ikan lele dumbo akan

menetas dalam interval 24 - 48 jam inkubasi bergantung kepada suhu air.

Setelah terjadi penetasan, kemudian dilakukan perhitungan terhadap ;

1. Jumlah larva diploid (normal) sebagai HR diploid.
2. Jumlah larva haploid (cacat atau *cripple* dengan ciri *haploid syndrome*) sebagai HR haploid.
3. Jumlah larva yang bertahan hidup pada hari ketujuh sebagai SR 7.

Setelah kuning telur habis, maka larva diberi pakan berupa *Artemia salina* dan *Tubifex* sp. yang dicacah kecil. Setelah pemeliharaan 7 hari, larva kemudian dapat dipindahkan ke wadah yang lebih besar yaitu berupa akuarium yang dilengkapi aerator dan *heater* untuk menjaga kestabilan suhu dan suplai oksigen dalam air pemeliharaan.

3.4.6 Pengamatan Perkembangan Telur

Telur diamati di bawah mikroskop pembesaran 400x. Telur ditempatkan ke dalam cawan petri kecil yang diberi sedikit air agar larva tetap hidup selama proses pengamatan. Telur yang dijadikan objek pengamatan berkala ditempatkan pada wadah terpisah agar tidak mengganggu telur lainnya dan didapatkan perkembangan telur kontinyu. Perkembangan fase - fase telur kemudian dibandingkan antar perlakuan. Hasil pengamatan disajikan dalam bentuk foto.

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama dari penelitian yang diamati adalah besarnya derajat fertilisasi atau *fertilization rate* (FR) dan angka daya tetas telur atau *hatching rate* (HR) larva haploid untuk melihat efektifitas radiasi UV terhadap sperma, serta HR larva diploid untuk melihat efektivitas kejutan suhu terhadap telur yang telah terbuahi.

a. *Fertilization rate* FR dalam %

$$FR = \frac{d}{e} \times 100 \%$$

b. *Hatching rate* HR dalam %

$$HR \text{ haploid}(1n) = \frac{f}{d} \times 100\%$$

$$HR \text{ diploid}(2n) = \frac{g}{d} \times 100\%$$

Ket : d = jumlah telur terfertilisasi
 e = jumlah telur yang ditebar
 f = jumlah larva haploid
 g = jumlah larva diploid

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dari penelitian yang diamati adalah besarnya nilai angka daya hidup larva atau *survival rate* hingga hari ketujuh (SR7) dimana pada umur pemeliharaan 7 hari tersebut larva telah memiliki tubuh lengkap, pergerakan stabil, dan cukup kuat untuk dapat dipindahkan ke wadah pembesaran dan bertahan hidup. Pengamatan dilakukan untuk dapat melihat daya tahan hidup larva diploid ginogen dan membandingkannya dengan diploid normal. Selain SR7, parameter penunjang lainnya adalah berupa suhu air media pemeliharaan. Suhu air merupakan salah satu faktor kualitas air yang sangat berpengaruh terhadap lama pembelahan sel dalam telur.

a. *Survival rate* hari ketujuh SR7 dalam %

$$SR7 = \frac{h}{d} \times 100\%$$

Ket : d = jumlah telur terfertilisasi
 h = jumlah larva yang bertahan hidup pada hari ketujuh

b. Suhu Air Media Pemeliharaan

Rata-rata proses kimia bergantung suhu. Pada kondisi alami, ikan dapat tumbuh dengan baik pada suhu berkisar 20⁰-28⁰C, namun masih bisa tumbuh

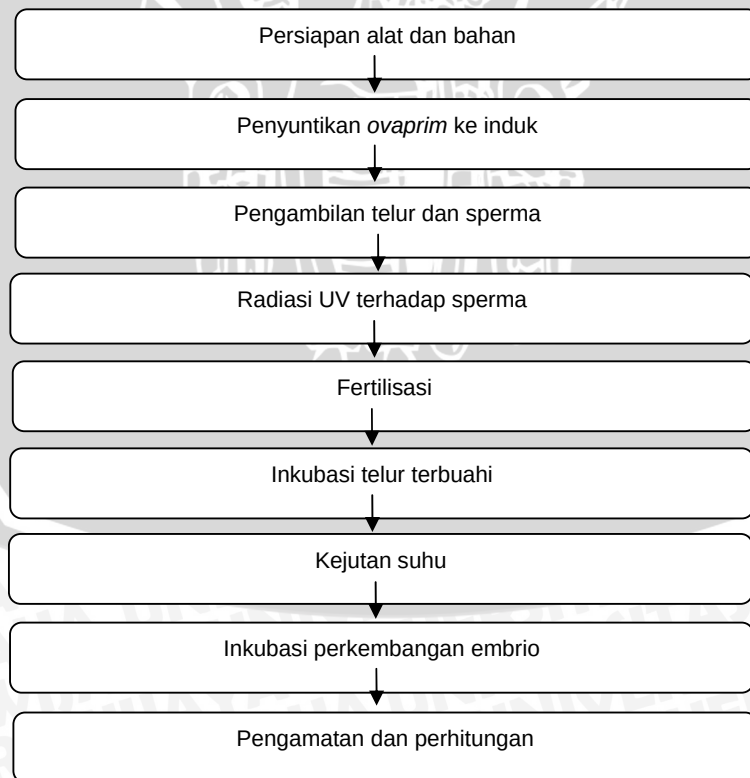
pada suhu mendekati 0°C (Boyd, 1990 dalam Shahrani, 2003). Termometer diikat dengan benang kasur kemudian dicelupkan ke dalam air. Benang kasur digunakan untuk menghindari kontaminasi suhu tangan pada termometer.

3.6 Analisa Data

Analisa data dilakukan dengan statistik menggunakan sidik ragam Uji ANOVA sesuai dengan rancangan yang digunakan RAL dengan taraf kepercayaan 95%. Apabila hasil nilai F berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan urutan perlakuan terbaik.

3.7 Diagram Alur Penelitian

Penelitian mitoginogenesis pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) dilakukan berdasarkan serangkaian proses yang berkesinambungan dimulai dari persiapan alat bahan, radiasi UV, hingga ke pemberian kejutan panas. Tata urutan pelaksanaan perlakuan penelitian seperti dapat dilihat pada Gambar 5



Gambar 5. Diagram Alur Penelitian

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

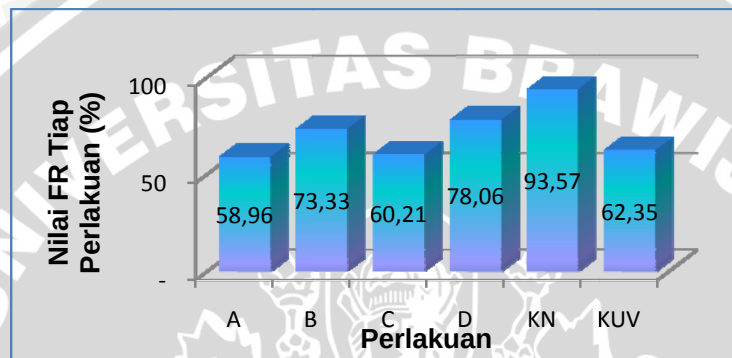
4.1 Analisa *Fertilization Rate* (FR)

FR merupakan derajat fertilisasi telur dimana nilai FR menunjukkan persentase banyaknya telur yang dapat terbuahi oleh sperma yang diberikan. FR telur tidak berhubungan langsung dengan pengaruh perbedaan suhu pada kejutan panas yang diberikan. Hal ini dikarenakan kejutan panas dilakukan dengan tujuan untuk menahan pembelahan sel pada akhir mitosis pertama sel telur. Artinya, pengaruh perlakuan kejutan panas hanya dapat diamati pada sel telur yang telah berhasil terfertilisasi dan melakukan serangkaian fase pembelahan sel. FR berhubungan erat dengan kondisi awal kualitas telur dan sperma yang akan memfertilisasi sehingga pada penelitian ini FR digunakan untuk membandingkan antara kemampuan sperma normal dalam perlakuan KN dan yang telah diradiasi UV (dengan daya, jarak, dan durasi yang sama atau homogen) dalam perlakuan A, B, C, D, dan KUV dalam membuahi sel telur. Dengan kata lain, perbandingan nilai FR digunakan untuk melihat pengaruh radiasi UV terhadap kemampuan sperma dalam membuahi dan mengaktifkan pembelahan sel pada telur.

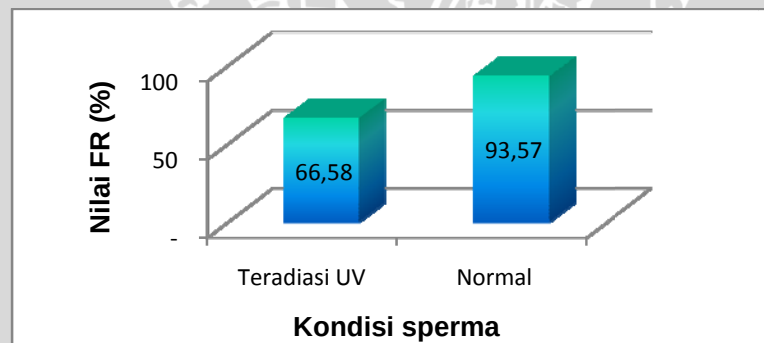
Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan angka pembuahan telur atau FR untuk masing - masing ulangan perlakuan seperti yang tercantum pada Tabel 2. Data lengkap mengenai FR ditampilkan dalam Lampiran 2. Untuk lebih memperjelas pengamatan hasil, rata - rata nilai FR dari 4 ulangan disajikan dalam bentuk diagram batang (Gambar 6a), dan rata - rata umum nilai FR dari sperma normal (pada KN) dan sperma yang telah teradiasi UV (pada perlakuan A, B, C, D dan KUV) disajikan dalam Gambar 6b. dari kedua gambar tersebut dapat dibandingkan sepiantas mengenai kemampuan sperma dalam membuahi sel telur.

Tabel 2. Nilai FR Ikan Lele Dumbo selama Penelitian (%)

Perlakuan	Ulangan				Rata - Rata
	1	2	3	4	
A	55,07	62,13	63,48	55,14	58,96
B	76,80	72,93	67,28	76,30	73,33
C	69,73	53,47	67,63	50,00	60,21
D	73,26	76,27	87,12	75,57	78,06
KN	92,25	95,14	93,75	93,15	93,57
KUV	70,65	69,78	47,95	61,03	62,35



(a)



(b)

Gambar 6. Diagram FR Ikan Lele Dumbo selama Penelitian
 (a) Rata - Rata FR Tiap Perlakuan
 (b) Rata - Rata FR Kondisi Sperma secara Umum

Berdasarkan diagram (Gambar 6a) di atas, dapat dilihat bahwa nilai derajat pembuahan atau FR tertinggi dimiliki oleh perlakuan KN sebesar 93,57% dilanjutkan berturut - turut oleh perlakuan D (78,06%), B (73,33%), KUV (62,35%), C (60,21%), dan terakhir A (58,96%). KN dengan sperma normal memiliki nilai FR yang sangat tinggi 93,57% (mendekati 100%). Tingginya nilai FR menunjukkan kualitas sperma dan telur pada kondisi tanpa perlakuan dalam

keadaan baik dan siap untuk difertilisasi. Dengan demikian, tidak terdapat masalah pada faktor kondisi awal telur dan sperma untuk perlakuan radiasi sperma dan kejutan panas yang diberikan. Lebih rendahnya nilai FR dari masing - masing perlakuan dibandingkan KN diduga disebabkan oleh pengaruh yang diberikan oleh radiasi UV terhadap sperma.

Sementara itu berdasarkan diagram pada Gambar 6b, rata - rata FR dari sperma normal bernilai 93,57% sedangkan untuk sperma yang telah diradiasi UV (rata - rata gabungan dari perlakuan A, B, C, D, dan KUV) adalah sekitar 66,58%. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan sperma yang telah diradiasi UV pada fertilisasi menghasilkan nilai FR yang lebih rendah jika dibandingkan dengan fertilisasi menggunakan sperma normal. Akan tetapi, terjadinya fertilisasi pada perlakuan A, B, C, D, dan KUV juga membuktikan bahwa radiasi UV 15 watt dengan jarak 15 cm selama 2 menit tidak merusak kemampuan sperma untuk membuahi dan mengaktifkan pembelahan sel pada telur.

Tingginya nilai FR disebabkan oleh beberapa faktor antara lain kualitas telur, sperma, lama penyimpanan, dan proporsi yang seimbang antara telur dan sperma. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Lin dan Dabrowski (1996) menyimpulkan bahwa FR optimal didapatkan pada lama penyimpanan gamet kurang dari 24 jam dalam suhu (6^0 - 10^0 C) pada *Esox masquinongy*. Colihueque, Iturra, Diaz, Veloso, dan Estay (1992) juga menyatakan bahwa FR yang lebih tinggi dihasilkan dari penggunaan jumlah telur yang lebih sedikit untuk konsentrasi sperma yang sama. Dengan kata lain, hubungan antara volume sperma dan jumlah telur sangat penting untuk mendapatkan FR yang tinggi.

Pada penelitian ini juga dapat disimpulkan bahwa kualitas sperma yang telah diradiasi UV 15 watt dengan jarak 15 cm selama 2 menit dalam membuahi sel telur lebih rendah dibandingkan dengan sperma normal, namun tetap dapat membuahi sel telur. Menurut (Dunham, 2004), radiasi akan memecah atau

merusak DNA pada sperma, sehingga tidak ada kontribusi paternal pada zigot, tetapi sperma masih bersifat motil dan dapat mempenetrasi telur serta mengaktifkan pembelahan sel. Menurut Chakraborty, Miah, Mirza, dan Habib (2006), keberhasilan radiasi sperma bergantung pada pengetahuan mengenai konsentrasi sperma optimum dimana semua sperma dalam larutan mendapat radiasi yang cukup untuk menghasilkan inaktivasi genetik total tanpa merusak kemampuannya untuk memfertilisasi telur secara optimal dan menghasilkan embrio viabel untuk menginduksi ginogen dengan hasil yang maksimal.

FR tinggi menandakan bahwa telur yang terbuahi dan berkembang berada dalam jumlah banyak, sehingga memungkinkan perolehan derajat penetasan (HR) larva yang tinggi karena telur yang terbuahi. Namun, menurut Colihueque *et al.* (1992) meskipun dengan FR 100 %, daya hidup (SR) embrio hasil diploidisasi ginogenesis tidak akan sama besar dengan embrio diploid dari fertilisasi normal karena adanya pengaruh kejutan suhu pada telur.

4.2 Analisa Hatching Rate (HR)

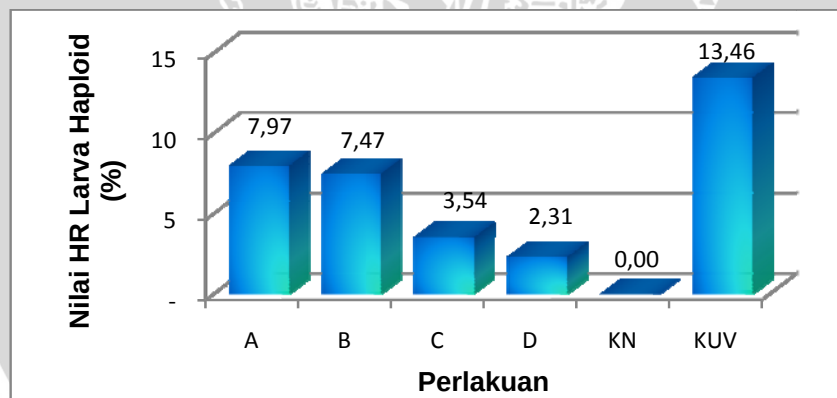
4.2.1 HR Larva Haploid (1n)

Inti dari perlakuan ginogenesis adalah dengan membuat materi genetik sperma menjadi tidak aktif kemudian diteruskan dengan diploidisasi zigot. Materi genetik dibuat tidak aktif dimaksudkan agar tidak ada sifat genetik dari induk jantan yang diwariskan kepada keturunannya (*paternal inheritance*), akan tetapi sperma tersebut tetap bersifat motil dan viable sehingga mampu membuahi sel telur. Keberhasilan radiasi sperma dengan sinar UV dapat dilihat dari kondisi kontrol UV (KUV). Kontrol UV merupakan perlakuan dimana sperma diberikan radiasi UV untuk menonaktifkan materi genetiknya tanpa dilakukan kejutan suhu sebagai diploidisasi zigot sehingga diharapkan terbentuknya larva yang hanya memiliki 1 set kromosom dari induk betinanya (haploid).

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan derajat penetasan larva ditunjukkan dalam Lampiran 4. Derajat larva haploid atau HR larva haploid masing - masing perlakuan tercantum pada Tabel 3. Untuk mempermudah pengamatan hasil penelitian. Rata - rata nilai FR dari 4 ulangan disajikan dalam bentuk diagram batang (Gambar 7). Perhitungan analisa data secara lengkap dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 3. Nilai HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian (%)

Perlakuan	Ulangan				Rata - Rata
	1	2	3	4	
A	5,26	8,57	9,59	8,47	7,97
B	8,72	6,06	8,26	6,82	7,47
C	0,78	2,60	4,26	6,52	3,54
D	2,19	2,22	2,82	2,02	2,31
KN	-	-	-	-	-
KUV	4,23	11,02	18,10	20,48	13,46



Gambar 7. Diagram HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian

Nilai HR larva haploid tertinggi dimiliki oleh perlakuan KUV sebesar 13,46% dilanjutkan berturut - turut oleh perlakuan A (7,97%), B (7,47%), C (3,54%), D (2,31%), dan terakhir KN (0%) yang artinya tidak ditemukan larva haploid pada perlakuan KN. Tidak ditemukannya individu haploid pada hasil fertilisasi telur dengan sperma normal dalam KN disebabkan oleh tidak adanya materi genetik dari sperma yang inaktif.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian besar suhu yang berbeda terhadap nilai HR larva haploid maka dilakukan Uji Sidik Ragam. Hasil Uji Sidik Ragam perlakuan terhadap nilai HR larva haploid dapat dilihat Pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Sidik Ragam Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fh	F5%	F1%
Perlakuan	3	95.49	31.83	11.41**	3.49	5.95
Acak	12	33.47	2.79			
Total	15	128.96				

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa nilai F hitung (11,41) bernilai lebih besar dari F5% (3,49) dan F1% (5,95) sehingga dapat diartikan perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata terhadap HR larva haploid atau menolak H_0 dan menerima H_1 . Dengan kata lain, radiasi UV terhadap sperma terbukti mampu menginaktifkan materi genetik pewarisan sifat dalam sperma dan menghasilkan individu yang haploid ketika difertilisasikan dengan telur yang normal. Hal ini sejalan dengan yang dinyatakan oleh Purdom (1983) dalam Sambara (1989), penonaktifan bahan genetik dalam spermatozoa dapat dilakukan dengan radiasi beberapa macam sinar seperti sinar gamma, sinar x, dan sinar ultra-violet (UV). Dunham (2004) menyatakan bahwa mutagen kimia, seperti dimetilsulfat, juga dapat menonaktifkan sperma.

Menurut Bordignon dan Smith (1999), radiasi UV merupakan suatu cara yang dapat mengeliminasi komponen kromatin pada spermatozoa secara fungsional tanpa merusak kemampuan sperma untuk mengaktivasi perkembangan partenogenetik pada telur. Setelah diradiasi UV, fungsi kromatin akan menjadi abnormal. Abnormalitas fungsi kromatin terlihat pada fragmentasi kromatin, yang meliputi terbentuknya blastomer sel saudara dengan benang kromatin yang menyatu, kondensasi kromatin, dan degradasi kromatin.

Radiasi UV hanya efektif apabila sperma diencerkan dan disebar dalam lapisan yang tipis, (Dunham, 2004). Pada penelitian ini, lapisan sperma dibuat setipis dan semerata mungkin dalam cawan petri yang digunakan (diameter 7 cm) yakni ± 7 tetes atau 0,32 ml sperma dari pengenceran 1:300 dengan NaCl fisiologis. Namun hingga saat ini kajian literatur mengenai pengaruh pengenceran sperma terhadap efektivitas radiasi UV masih sulit ditemukan mengingat konsentrasi spermatozoa dalam testis memiliki kecenderungan nilai yang berbeda - beda untuk masing - masing individu.

Untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar masing - masing perlakuan dan tata urutan perlakuan terbaik maka analisa dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji BNT Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo

Perlakuan	D	C	B	A	Notasi
D	-				a
C	1.23	-			a
B	5.15**	3.93**	-		b
A	5.66**	4.44**	0.51	-	b

Keterangan: ** = berbeda sangat nyata

BNT 5% = 2,57

BNT 1% = 3,61

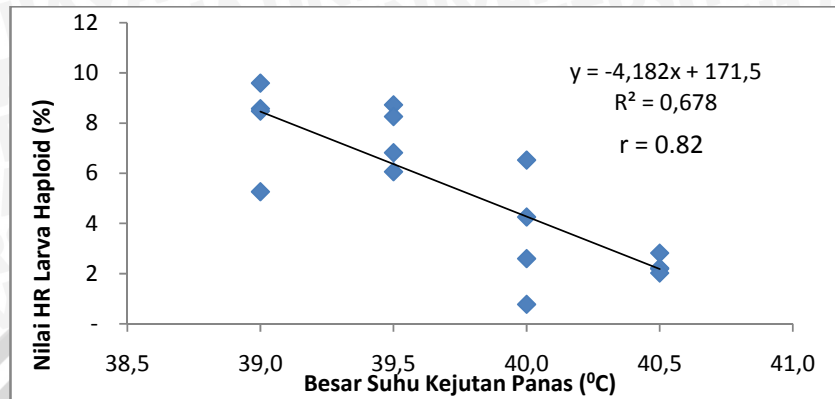
Perlakuan yang terbaik adalah perlakuan yang mampu memberikan hasil berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya dalam menghasilkan nilai HR larva haploid terendah. Berdasarkan Uji BNT, perlakuan KN tidak berbeda nyata dengan D, selanjutnya C, kemudian B dan A, serta yang terakhir adalah KUV, KUV merupakan perlakuan yang menghasilkan HR larva haploid tertinggi (13,46%), sedangkan KN terendah bahkan tidak menghasilkan sama sekali (0%) Hal tersebut membuktikan bahwa radiasi UV sperma tanpa disertai kejutan suhu pada telur akan menghasilkan individu dengan hanya satu bagian kromosom (haploid atau $1n$) yaitu dari induk betina saja.

Dari hasil Uji BNT didapatkan bahwa pengaruh perlakuan A tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B dan pengaruh perlakuan C berbeda nyata terhadap perlakuan D. Tingginya larva haploid yang menetas merupakan penanda bahwa perlakuan kejutan suhu yang diberikan tidak tepat baik dari besarnya suhu maupun waktu inisiasinya. Akan tetapi, HR larva haploid tidak dapat dijadikan penentu mutlak keberhasilan kejutan suhu pada ginogenesis ikan, Hal ini disebabkan karena diduga banyak dari embrio haploid yang mati pada saat pembelahan sel dalam telur. Karena dalam penelitian ini tidak dilakukan perhitungan ploidi pada telur, oleh karena itu tidak didapatkan data mengenai jumlah embrio haploid yang dihasilkan namun mati sebelum sampai menetas. Dalam penelitiannya, Arti (2004), mendapatkan bahwa UV menunjukkan keberhasilan dalam meradiasi sperma sehingga mengakibatkan rendahnya embrio yang mampu berkembang, telur dan larva yang haploid serta abnormal yang mengakibatkan kematian.

Chourrout (1984) dalam Colihuque *et al.* (1992) menyatakan bahwa telur yang difertilisasi dengan sperma yang telah diradiasi menunjukkan angka haploiditas yang tinggi (lebih dari 91%) ketika dilakukan analisa fragmen kromosom pada saat metafase embrio haploid. Dalam penelitiannya, Colihuque *et al.* (1992), menemukan fakta bahwa hanya terdapat sedikit larva yang menetas pada grup haploid yakni $\pm 4,2\%$. Akan tetapi, mereka berasumsi bahwa tidak ada embrio haploid ikan *rainbow trout* (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) yang dapat sampai menetas sehingga keberadaan larva tersebut justru diasumsikan berhubungan dengan kondisi diploid akibat penahanan polar body II (mioginogenesis) yang terjadi secara spontan.

Untuk mengetahui hubungan antara besar perlakuan kejutan suhu mitoginogenesis terhadap nilai HR larva haploid ($1n$) lele dumbo maka digunakan

analisa regresi. Bentuk regresi yang digunakan adalah bentuk linier dan didapatkan persamaan $y = 171,5 - 4,182x$ (Gambar 9).



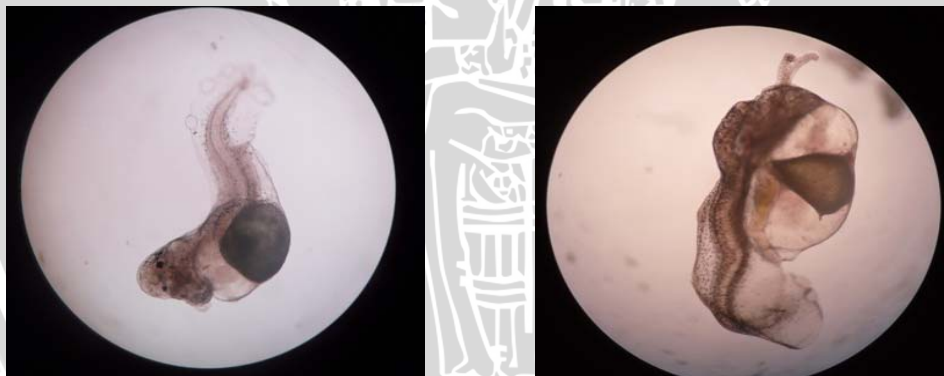
Gambar 8. Hubungan antara Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Haploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo

Pada penelitian ini, koefisien determinasi yang didapatkan yaitu (R^2) = 0,678 yang artinya 67,8% nilai HR larva haploid dipengaruhi oleh perbedaan besar suhu kejutan panas antara 39^0 , $39,5^0$, 40^0 , dan $40,5^0$ yang diberikan. Pada penelitian ini, didapatkan koefisien korelasi sebesar 0,82 yang artinya besar suhu kejutan panas dan HR larva haploid memiliki korelasi tinggi. Artinya, pemberian perbedaan kejutan panas pada ginogenesis telur memiliki pengaruh yang tinggi terhadap penekanan jumlah HR larva haploid. Berdasarkan grafik di atas, semakin mendekati 39^0 maka nilai HR haploid semakin tinggi yang artinya diduga tingkat diploidisasi lebih rendah seiring lebih rendahnya suhu kejutan panas yang diberikan.

Penentuan jumlah ploidi dapat dilakukan dengan menghitung langsung banyaknya ploidi pada inti sel. Akan tetapi, larva ikan haploid ($1n$ kromosom) juga mampu ditandai secara visual karena memiliki sejumlah ciri yang mencolok. Menurut Onozato dan Yamaha dalam Sambara (1989) menyatakan bahwa embrio yang menunjukkan gejala haploid atau *haploid syndrome* adalah embrio haploid yang hidup pada saat 33 - 40 jam setelah pembuahan dengan ciri-ciri memiliki pigmentasi mata yang tidak merata atau kurang hitam, badan pendek

dan embrio bergerak lemah. Menurut Taniguchi *et al*, (1988) dalam Yulintine (1995) larva yang abnormal ditandai dengan tulang punggung yang tidak berkembang dan ekor pendek, pigmen bintik mata tidak terjadi, tidak berenang, tinggal di dasar saja.

Pada penelitian ini ditemukan larva haploid yang bertahan hidup hingga hari kedua (Gambar 9), dengan ciri - ciri tubuh pendek, dan ekor membulat (seperti terpotong dan tidak berkembang). Larva haploid bergerak lambat di dasar, miring, dan larva tidak aktif mendekati pakan. Dalam penelitian ini, tidak ditemukan lagi larva yang haploid yang hidup pada waktu 42 jam setelah penetasan. Haploiditas larva pada dasarnya dipastikan melalui uji perhitungan kromosom, namun pada penelitian ini digunakan perbandingan keberadaan larva haploid dan diploid pada KUV, KN, dan masing – masing perlakuan untuk memastikan haploiditas larva – larva tersebut.



(a)

(b)

Gambar 9. (a) dan (b) Larva Haploid Mitoginogenesis pada Hari Kedua

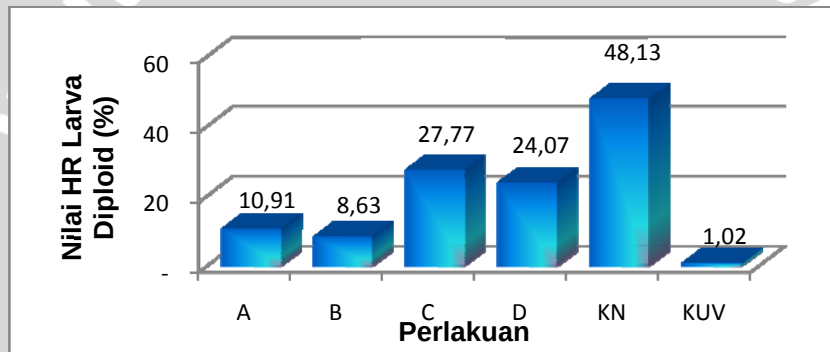
4.2.2 HR Larva Diploid ($2n$)

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan angka penetasan atau HR larva diploid untuk masing - masing ulangan perlakuan seperti yang tercantum pada Tabel 6. Untuk lebih memperjelas pengamatan hasil, rata - rata nilai HR dari 4 ulangan tiap perlakuan disajikan dalam bentuk diagram batang yang dapat dilihat

pada Gambar 10, Perhitungan data HR diploid selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 6. Nilai HR Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian (%)

Perlakuan	Ulangan				Rata - Rata
	1	2	3	4	
A	14,47	8,57	9,59	11,02	10,91
B	8,05	6,06	12,84	7,58	8,63
C	26,36	23,38	28,72	32,61	27,77
D	25,55	18,89	22,54	29,29	24,07
KN	40,34	43,80	56,19	52,21	48,13
KUV	0,70	-	0,95	2,41	1,02



Gambar 10. Diagram HR Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian

Hasil perolehan HR larva diploid ($2n$) sebagaimana dapat dilihat pada gambar di atas dimana nilai tertinggi diperoleh oleh perlakuan KN (48,13%), kemudian berturut - turut C (27,77%), D (24,07 %), A (10,91%), B (8,63%) dan KUV dengan nilai ternedah (1,02%). HR fertilisasi normal dalam penelitian ini (48,13%) tergolong rendah meskipun FR (93,57%) cukup tinggi, Umumnya persentase penetasan ikan berkisar antara 50-80% (Ritcher dan Rustidja, 1985). Rendahnya laju penetasan telur ikan dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain kualitas telur dan kualitas air media inkubasi (Mukti, Rustidja, Sumitro, dan Djati, 2001) yang tidak baik, dan ketidaktepatan penempatannya.

Tipe telur ikan lele yang cenderung berlendir dan lengket (adhesif) memungkinkannya menjadi salah satu faktor yang menyebabkan kematian telur

pada saat pembelahan sel berlangsung. Menurut Mukti (2001), sifat telur ikan yang melekat, membutuhkan tempat pelekatan atau substrat yang baik seperti rerumputan, akar tanaman air, ataupun substrat buatan seperti kakaban (ijuk). Perbedaan substrat sebagai media inkubasi dapat berpengaruh terhadap pembelahan pertama dan fisiologis keturunan. Pada penelitian ini, rendahnya HR (48,13%) pada perlakuan normal (KN) tanpa radiasi UV dan perlakuan panas kemungkinan disebabkan oleh masih terdapatnya telur yang saling menempel satu sama lain pada substrat kaca yang digunakan. Menurut Soeprijanto, Fajar, Dalimunthe, Wilujeng, dan Widodo (2005), penyebaran telur yang kurang baik juga dapat mengganggu proses perkembangan embrio. Menempelnya telur yang satu dengan telur yang lainnya mudah menyebabkan kerusakan pada telur. Hal ini dikarenakan kemampuan telur untuk menyerap oksigen terlarut berkurang, sehingga proses terbentuknya embrio dalam telur otomatis akan terhambat.

Berdasarkan hasil penelitian, HR larva diploid cukup rendah yaitu hanya berkisar antara 8,63% - 27,77%. Hal ini sejalan dengan yang dinyatakan dalam Anonymous (2009) bahwa secara umum angka penetasan ikan ginogenetik biasanya rendah. Pada penelitian yang dilakukan oleh Olufeagba dan Moses (2011), didapatkan HR sebesar 50,7% pada ginogenesis ikan *African catfish* spesies *H. longifilis* dengan kejutan dingin 5°C pada 40 menit setelah fertilisasi selama 15 menit. Hammed, Bombata, dan Osinaike (2010) memperoleh HR sebesar 55% pada triploidisasi ikan *African mud catfish Clarias* sp. dengan kejutan suhu 0°C, 3 menit setelah fertilisasi yang dilakukan selama 25 menit.

Pada penelitian ini ditemukan pula larva diploid pada perlakuan KUV dimana seharusnya didapatkan individu haploid secara keseluruhan karena sperma diradiasi UV namun telur yang terbuahi tidak diberi kejutan panas. Kejadian ini kemungkinan disebabkan karena terdapat beberapa sel spermatozoa yang memiliki daya tahan terhadap radiasi UV yang lebih kuat

dibandingkan dengan sel lainnya. Artinya, pada beberapa sel spermatozoa, materi genetik dalam rantai DNA masih tetap aktif. Selain itu, kemungkinan lainnya adalah, yaitu dengan terjadinya diploidisasi spontan atau alami pada telur terbuahi tanpa materi genetik sperma seperti yang ditemukan pada beberapa penelitian terdahulu. Pada kasus ini, radiasi UV efektif menonaktifkan materi genetik sperma akan tetapi terjadi diploidisasi alami pada telur.

Penelitian yang dilakukan oleh Kucharczyk, Luczynski, Woznicki, Kujawa, Szczerbowski, Targonska, dan Mamcarz (2008) menemukan fakta bahwa telah terjadi ginogenesis alami (*spontaneous gynogenesis*) pada ikan *ide* (*Leuciscus idus* L.) dengan persentase rata - rata kejadian 0,4%. Penelitian tersebut berangkat dari adanya kejadian bahwa dalam beberapa penelitian mengenai rekayasa genetika (*genetik engineering*) beberapa jenis ikan sering ditemukan adanya ginogenesis atau androgenesis yang terjadi secara spontan atau alami. Ginogenesis alami terjadi terutama ketika kualitas biologi dari telur sangat rendah. Pada ikan *ide* kejadian ini diduga berhubungan dengan kualitas oosit, akan tetapi diperlukan penelitian lebih lanjut lagi mengenai hal tersebut. Hasil Uji Sidik Ragam perhitungan data HR larva diploid ditampilkan pada Tabel 7 di bawah ini.

Tabel 7. Hasil Uji Sidik Ragam Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fh	F5%	F1%
Perlakuan	3	1,080.17	360.06	28.80**	3.49	5.95
Acak	12	150.01	12.50			
Total	15	1,230.18				

Keterangan: ** = berbeda sangat nyata

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa nilai F hitung (28,80) lebih besar dari nilai F5% (3,49) dan F1% (5,95) sehingga diartikan perlakuan memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap daya penetasan HR larva diploid atau

menolak H_0 dan menerima H_1 . Untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar masing - masing perlakuan dan tata urutan perlakuan terbaik maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti dapat dilihat di bawah ini (Tabel 8).

Tabel 8. Hasil Uji BNT Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian

Perlakuan	B	A	D	C	Notasi
B	-				a
A	2.28	-			a
D	15.43**	13.15**	-		b
C	19.13**	16.85**	3.70	-	b

Keterangan: ** = berbeda sangat nyata

BNT 5% = 5,45

BNT 1% = 7,64

Berdasarkan Uji BNT didapatkan bahwa pengaruh perlakuan C tidak berbeda nyata terhadap perlakuan D, sedangkan perlakuan A juga memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B. Tingginya larva diploid yang menetas merupakan penanda bahwa perlakuan kejutan suhu yang diberikan tepat. Berdasarkan analisa BNT diperoleh hasil suhu perlakuan kejutan panas yang mampu menghasilkan larva diploid tertinggi adalah perlakuan C (40°C) dengan nilai rata-rata HR 27,77% yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan D (40,5°C) dengan nilai rata - rata HR 24,07%. Nilai HR pada kisaran tersebut pada spesies ikan lele dapat dikatakan sangat kecil apabila dibandingkan dengan HR larva hasil fertilisasikan secara normal, seperti pada KN yaitu 48.13%. Namun kendala umum dalam kasus mitoginogenesis memang terdapat pada masalah rendahnya HR larva diploid yang dihasilkan. Anonymous (2009) menyatakan bahwa pada ikan sea bass, HR mioginogen umumnya bervariasi antara 17 - 35 %, sedangkan untuk HR mitoginogen tidak lebih dari 27%. Hal ini diduga disebabkan oleh banyaknya tahapan teknis dalam rangkaian proses mitoginogenesis yang mampu menyebabkan kerusakan pada sperma maupun zigot.

Setelah penonaktifan materi genetik sperma melalui radiasi UV, tahap kedua dari ginogenesis adalah diploidisasi zigot. Meskipun sperma yang telah teradiasi UV dapat membuahi telur, akan tetapi jika tanpa perlakuan lanjutan telur tersebut akan bersifat $1n$ (haploid) karena hanya mendapatkan warisan genetik dari induk betina (*maternal inheritance*). Oleh karenanya, dilakukan proses diploidisasi. Diploidisasi dimaksudkan untuk membuat zigot yang dihasilkan memiliki sepasang kromosom $2n$ (diploid), seperti yang dihasilkan oleh pembuahan alami. Perbedaan larva diploid normal dan ginogen yaitu, diploid normal mendapatkan warisan kromosom lengkap dari induk jantan dan betinanya sedangkan diploid ginogen memiliki sepasang kromosom yang hanya berasal dari induk betinanya.

Diploidisasi dilakukan dengan menahan keluarnya polar bodi kedua pada pembelahan meiosis pertama (mioginogenesis), atau dengan mencegah pembelahan sel pada akhir mitosis pertama dimana kromosom di dalamnya telah terduplikasi (mitoginogenesis). Menurut Dunham (2004), produksi ginogen dengan menahan cleavage pertama (mitoginogen) lebih sulit daripada dengan menahan polar bodi kedua (mioginogen) sama halnya dengan menghasilkan ikan triploid lebih mudah daripada tetraploid. Hal ini mengindikasikan bahwa polar bodi kedua lebih mudah dimanipulasi daripada pembelahan mitosis pertama pada telur, atau bahwa embrio lebih sensitif terhadap kejutan lingkungan pada saat mendekati pembelahan sel pertama dibandingkan dengan beberapa saat setelah fertilisasi. Mitoginogen mudah mati selama perkembangan embrionik.

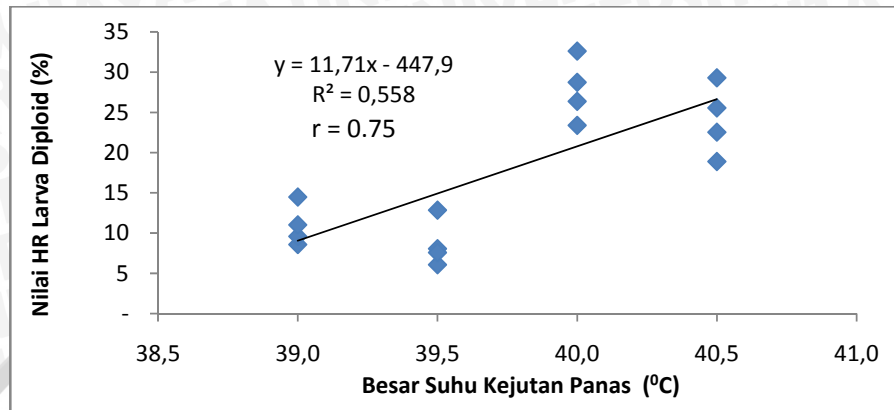
Diploidisasi dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain pemberian kejutan panas, dingin, tekanan hidrostatik, maupun larutan kimia tertentu. Pada penelitian ini, kejutan panas dilakukan pada saat menjelang fase terakhir dari akhir mitosis pertama. Penentuan waktu perlakuan kejutan panas yang efektif

dalam mitoginogenesis sama dengan waktu efektif untuk dilakukannya tetraploidisasi karena kedua teknik tersebut bergantung pada penahanan pembelahan mitosis sel pertama. Pada mitoginogenesis, duplikasi kromosom dibiarkan sehingga menghasilkan kromosom ganda (berjumlah satu pasang atau berjumlah $2n$) dari kondisi yang semula haploid (kromosom hanya berjumlah $1n$ yang berasal dari induk betina) menjadi kondisi diploid, kemudian apabila pembelahan sel pertama diblok, dihasilkan sebuah sel diploid. Mitoginogen adalah homozigot karena berasal dari sebuah set kromosom tunggal yang digandakan, (Dunham, 2004).

Pada penelitian ini, parameter yang menentukan perlakuan besar suhu kejutan panas mana yang dianggap terbaik untuk diploidisasi mitoginogenesis adalah dengan melihat tingginya larva diploid yang dihasilkan. Berdasarkan hasil Uji BNT diperoleh kesimpulan bahwa perlakuan D memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan C. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Varadi *et al.* (1999) dimana kejutan panas diberikan dengan suhu $40,5^{\circ}\text{C}$ selama 2 menit pada induksi diploid ginogenseis dan tetraploidisasi *Clarias* sp.. Sementara Galbusera *et al.* (2000) memperoleh fakta bahwa kejutan panas optimal untuk mitoginogenesis *Clarias* sp. adalah dengan dengan suhu sebesar 40°C selama 1 menit dan 39°C selama 1,5 - 2 menit pada 20 - 37 menit setelah fertilisasi.

Untuk mengetahui hubungan antara besar perlakuan kejutan suhu perlakuan mitoginogenesis terhadap nilai HR larva haploid ($1n$) lele dumbo maka digunakan analisa regresi. Bentuk regresi yang digunakan adalah bentuk linier dan didapatkan persamaan $y = 11,71x - 447,9$ (Gambar 11). Pada penelitian ini, koefisien determinasi yang didapatkan yaitu (R^2) = 0,558 yang artinya 55,8% nilai HR larva haploid dipengaruhi oleh perbedaan besar suhu kejutan panas antara 39°C , $39,5^{\circ}\text{C}$, 40°C , dan $40,5^{\circ}\text{C}$ yang diberikan. Pada penelitian ini, didapatkan

koefisien korelasi sebesar 0,75 yang artinya perlakuan memiliki korelasi yang tinggi atau hubungan yang erat.



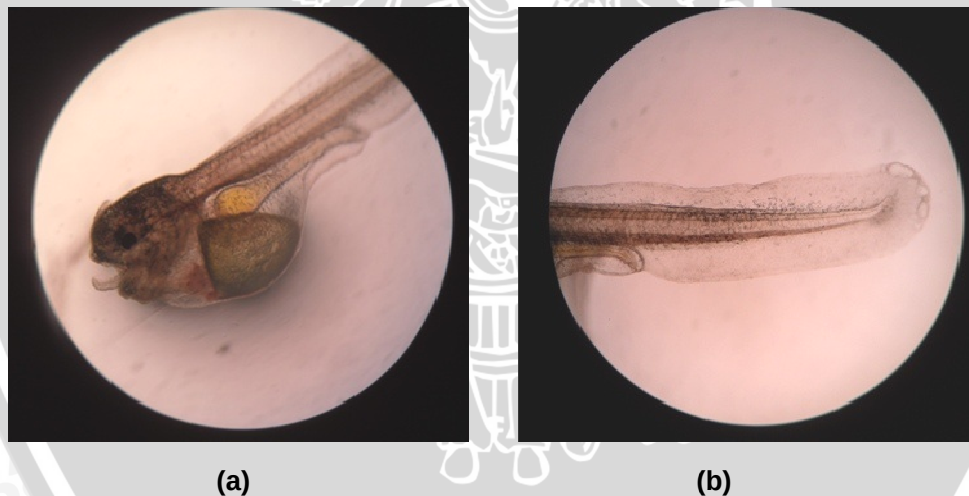
Gambar 11. Hubungan antara Besar Suhu Kejutan Panas terhadap HR Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo

Berdasarkan grafik linear di atas, dapat ditarik kesimpulan bahwa perlakuan terbaik untuk menunjang keberhasilan teknik ginogenesis melalui pemberian kejutan panas dalam proses diploidisasi zigot yaitu perlakuan D (40,5°C). Hal ini diduga disebabkan karena kejutan panas pada suhu 40,5°C selama 2 menit mampu mempengaruhi sejumlah reaksi biologis dalam proses pembelahan sel telur yang menyebabkan akhir fase mitosis pertama terhenti sejenak dan separasi 2 calon inti sel tertahan. Pada grafik hubungan antara besar suhu kejutan panas dan nilai HR larva diploid pada mitoginogenesis ikan lele dumbo di atas, belum ditemukan pola kuadratik dengan titik puncak yang menandakan besar suhu yang paling optimal. Oleh karena itu, dalam penelitian selanjutnya, sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan dengan besar suhu yang lebih tinggi dari 40,5°C agar didapatkan titik puncak grafik regresi.

Menurut Cherfas (1981) dan Aray (2001); dalam Mardiana (2007) Embrio yang terbentuk dari pembuahan sel telur oleh sperma yang diradiasi adalah haploid dimana pada umumnya tidak normal (abnormal) dikenal dengan *haploid syndrome* dan akan mati selama perkembangan embrio, atau beberapa saat setelah menetas, atau selama stadia awal larva sebelum mulai makan. Larva

diploid pada hari kedua (Gambar 12) memiliki ciri - ciri tubuh panjang (normal), ekor meruncing, bergerak aktif vertikal maupun horizontal dalam air, larva dengan gesit mendekat ketika diberi pakan.

Menurut Rustidja (1997) larva diploid (normal) akan nampak seperti jarum-jarum kecil dengan bulatan hijau, yaitu kantung kuning (*yolk sack*). Selama 4-5 hari larva akan memanfaatkan kuning telur tersebut sebagai makanan, Setelah kuning telur habis maka larva akan mencari makan. Menurut Rustidja (2004), larva-larva yang baru menetas berenang secara vertikal menuju ke arah permukaan. Tingkah laku larva terus berubah sesuai proses perkembangannya, beberapa larva yang berenang secara vertikal kadang-kadang menetap di dasar tanpa bergerak, kemudian akan bergerak secara aktif dengan cara melompat dan berenang aktif.



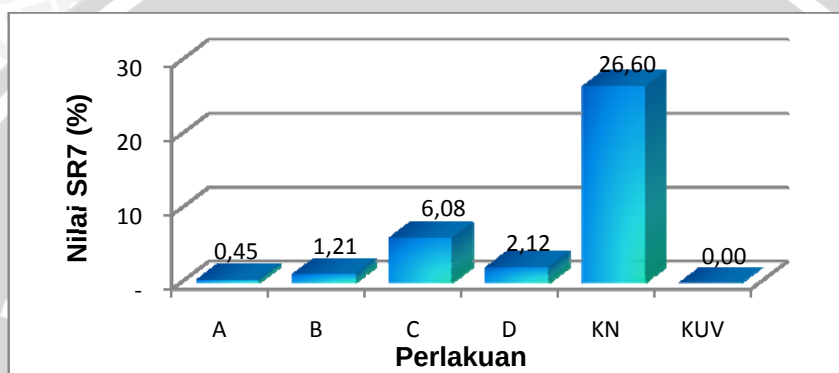
Gambar 12. Larva Diploid Mitoginogenesis pada Hari Kedua, (a)Bagian Kepala (b)Bagian Ekor

4.3 Analisa *Survival Rate* Hari Ketujuh (SR7)

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan daya hidup larva diploid pada hari ketujuh (SR7) disajikan pada Tabel 9. rata - rata nilai SR7 disajikan dalam bentuk diagram (Gambar 13). Perhitungan data dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 9. Nilai SR7 Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian (%)

Perlakuan	Ulangan				Rata - Rata
	1	2	3	4	
A	-	0,95	-	0,85	0,45
B	1,34	-	2,75	0,76	1,21
C	3,10	10,39	2,13	8,70	6,08
D	3,65	-	2,82	2,02	2,12
KN	27,73	28,47	26,67	23,53	26,60
KUV	-	-	-	-	-



Gambar 13. Diagram SR7 Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo selama Penelitian

Nilai daya tahan hidup (SR) larva diploid hingga hari ketujuh tertinggi dimiliki oleh perlakuan KN sebesar 26,6% dilanjutkan berturut - turut oleh perlakuan C (6,08%), D (2,12%), B (1,21%), A (0,45%), dan terakhir KUV (0%). Untuk mengetahui pengaruh pemberian besar suhu yang berbeda terhadap nilai HR larva diploid maka dilakukan Uji Sidik ragam, Hasil analisa Uji Sidik Ragam ditampilkan pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil Uji Sidik Ragam Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap SR7 Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fh	F5%	F1%
Perlakuan	3	75.21	25.07	4.84*	3.49	5.95
Acak	12	62.12	5.18			
Total	15	137.33				

Keterangan: * = berbeda nyata

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa nilai F hitung (4,84) bernilai lebih besar daripada nilai F5% (3,49) sehingga dapat diartikan perlakuan - perlakuan

yang diberikan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap SR7 larva diploid atau menolak H_0 dan menerima H_1 . Untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar masing - masing perlakuan dan tata urutan perlakuan terbaik maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti dapat dilihat di bawah ini (Tabel 11).

Tabel 11. Hasil Uji BNT Pengaruh Besar Suhu Kejutan Panas terhadap SR7 Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo

Perlakuan	A	B	D	C	Notasi
A	-				a
B	0.76	-			a
D	1.67	0.91	-		a
C	5.63**	4.87*	3.96*	-	b

Keterangan: * = berbeda nyata

** = berbeda sangat nyata

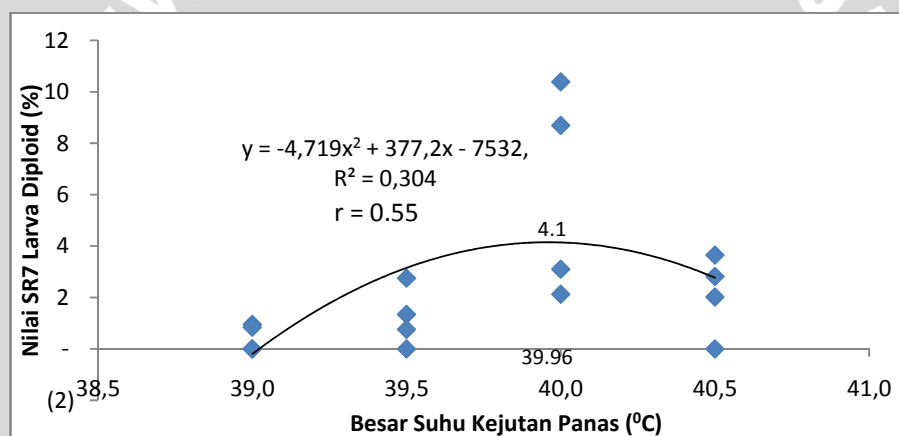
BNT 5% = 3,51

BNT 1% = 4,92

Perlakuan yang memiliki pengaruh terbesar adalah perlakuan yang mampu memberikan hasil berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya dan memiliki nilai rata - rata SR7 tertinggi. Tingginya SR menunjukkan daya tahan hidup larva diploid yang baik. Berdasarkan Uji BNT, perlakuan terbaik adalah KN selanjutnya yaitu C dan kemudian perlakuan sisanya D , B, A, dan KUV yang saling tidak berbeda nyata.

Untuk mengetahui hubungan antara besar perlakuan kejutan suhu mitoginogenesis terhadap nilai HR larva haploid (1n) lele dumbo maka digunakan analisa regresi. Bentuk regresi yang digunakan adalah bentuk kuadratik dan didapatkan persamaan $y = -4.719x^2 - 377.2x^3 - 7532$ (Gambar 14). koefisien determinasi yang didapatkan yaitu $R^2 = 0,547$ yang artinya 54,7% nilai SR larva diploid pada hari ketujuh dipengaruhi oleh perbedaan besar suhu kejutan panas antara 39°C, 39,5°C, 40°C, dan 40,5°C yang diberikan. Pada penelitian ini, didapatkan koefisien korelasi sebesar 0,55 yang artinya antar perlakuan memiliki korelasi tinggi. Titik puncak menandakan besarnya besar suhu kejutan panas

optimal terhadap SR7 larva diploid. Pada kurva kuadratik yang didapatkan, titik puncak berada pada suhu $39,96^{\circ}\text{C}$ yang mampu menghasilkan SR7 sebesar 4,1%. Akan tetapi SR7 tidak dapat dijadikan parameter utama penentu keberhasilan teknik mitoginogenesis, karena terdapat faktor selain kejutan suhu yang mempengaruhi daya hidup larva hingga hari ke-7, seperti faktor lingkungan. Hal tersebut juga terlihat dari besar koefisien korelasi grafik regresi yang ada, pada HR larva diploid besar koefisien korelasinya adalah 0,75 sedangkan SR7 hanya 0,55. Artinya, hubungan antara kejutan suhu dan HR larva diploid jauh lebih erat dibandingkan hubungan antara kejutan panas dan SR7.



Gambar 14. Hubungan antara Besar Suhu Kejutan Panas terhadap SR7 Larva Diploid Mitoginogenesis Ikan Lele Dumbo

Dalam analisa SR7 ini diperoleh hasil bahwa suhu kejutan panas terbaik adalah perlakuan C ($39,96^{\circ}\text{C}$). Hal ini disebabkan karena jumlah larva diploid yang menetas tertinggi ada pada perlakuan ini, serta diduga larva - larva tersebut memiliki kestabilan kondisi tubuh yang lebih tinggi untuk dapat bertahan hidup hingga hari ketujuh. Kestabilan kondisi tubuh larva tersebut diduga disebabkan oleh proses diploidisasi yang baik dan besar suhu kejutan panas yang tepat.

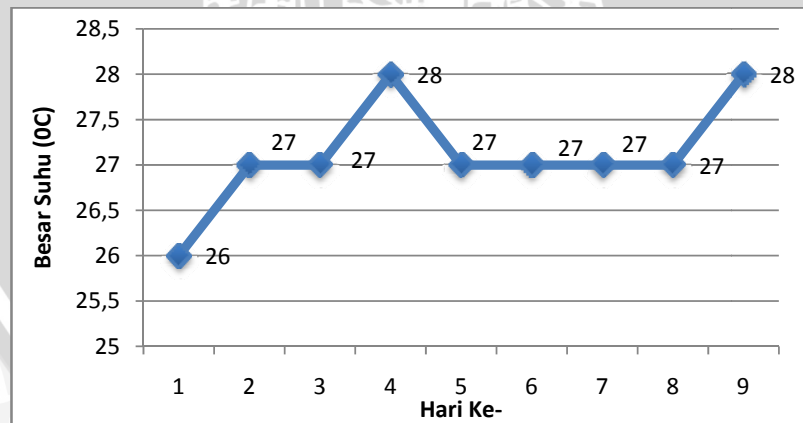
4.4 Analisa Suhu Air media Pemeliharaan

Nilai suhu air media pemeliharaan telur dan larva ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) selama penelitian ini berfluktuatif namun masih dalam kisaran yang sempit.

Nilai suhu harian air media pemeliharaan ditampilkan pada Tabel 12. Untuk lebih mempermudah pengamatan terhadap fluktuasi suhu harian, maka data suhu ditampilkan dalam bentuk grafik (Gambar 15).

Tabel 12. Suhu Harian Air Media Pemeliharaan Telur dan Larva selama Penelitian

Hari ke-	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)
1 (Inkubasi telur)	26
2 (Penetasan telur)	27
3 (Larva umur 1 hari atau D-1)	27
4 (D-2)	28
5 (D-3)	27
6 (D-4)	27
7 (D-5)	27
8 (D-6)	27
9 (D-7)	28

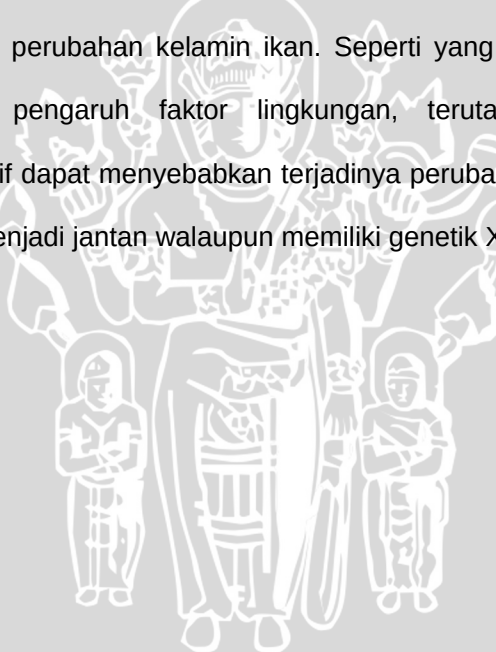


Gambar 15. Grafik Suhu Air Media Pemeliharaan Telur dan Larva Ikan Lele Dumbo selama Penelitian

Suhu harian air media pemeliharaan dalam penelitian ini berada pada kisaran 26°C - 28°C . Interval suhu tersebut berada pada kadar toleransi hidup

ikan lele. Menurut Amri dan Khairuman (2008), suhu yang cocok untuk memelihara lele dumbo adalah 20°C - 30°C dengan suhu optimum yaitu 27°C . Suhu termasuk salah satu faktor penting yang harus diperhatikan dalam pemeliharaan ikan, karena suhu dapat mempengaruhi lama penetasan telur dan laju pertumbuhan larva ikan.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Morgan (2005), ditemukan bahwa ikan *North Carolina southern flounder* (*Paralichthys lengostigma*) yang dipelihara pada suhu 28°C dan 29°C memiliki laju pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang dipelihara pada 23°C . Namun selain dapat meningkatkan laju pertumbuhan dan perkembangan, suhu juga dapat berpengaruh terhadap perubahan kelamin ikan. Seperti yang dijelaskan dalam Anonymous (2009), pengaruh faktor lingkungan, terutama suhu, atau keberadaan gen resesif dapat menyebabkan terjadinya perubahan kelamin pada ikan betina ginogen menjadi jantan walaupun memiliki genetik XX-XY.



V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- Sperma yang telah diradiasi UV dengan daya 15 watt dan jarak 15 cm selama 2 menit terbukti masih dapat membuahi telur ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) dengan kisaran rata - rata FR 58,96% - 78,06% dan mampu menghasilkan larva haploid hingga 13,46% pada kontrol UV.
- Perbedaan kejutan panas dalam rentang 39⁰ - 40,5⁰C selama 2 menit pada 22 menit setelah fertilisasi terbukti berpengaruh terhadap keberhasilan teknik mitoginogenesis ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) dilihat dari rata - rata HR larva diploid yaitu 8,63% - 27,77% dan rata - rata SR7 antara 0,45% - 6,08%.
- Berdasarkan grafik regresi hubungan antara perlakuan terhadap HR larva diploid, kejutan panas terbaik guna menunjang keberhasilan mitoginogenesis ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) adalah pada suhu 40,5⁰C.
- Daya hidup larva diploid mitoginogenesis pada hari ketujuh tertinggi terdapat pada suhu kejutan 39,96⁰C.
- Suhu air media pemeliharaan harian berfluktuatif dengan kisaran 26⁰-28⁰C yang cenderung merupakan suhu optimal bagi ikan lele.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disarankan perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh konsentrasi sperma dalam radiasi UV, dan kajian lebih dalam mengenai pengaruh besar suhu kejutan panas yang optimum pada suhu di atas 40,5⁰C agar didapatkan titik puncak diagram regresi yang menunjukkan besarnya kejutan suhu yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Amri K., dan Khairuman. 2008. Buku Pintar Budi Daya 15 Ikan Konsumsi. Agromedia Pustaka : Jakarta. 358 hal.
- Anonymous. 2009. Protocol H: Induction of Gynogenesis Using UV-light and Cold Shock. A practical manual for sea bass. Options Mediterraneennes B No. 63: 53-56.
- Arti, S. 2004. Ginogenesis Ikan Sumatra (*Puntius tetrazona*, Bleeker) dengan Kejutan Panas pada Suhu Berbeda. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor. 29 hal. Tidak dipublikasikan.
- Bordignon, V., dan L.C. Smith. 1999. Ultraviolet Irradiated Spermatozoa Activate Oocytes but Arrest preimplantation Development After Fertilization and Nuclear Transplantation in Cattle. *Biology of Reproduction Journal* 61:1513-1520.
- Chakraborty B.K., M.I. Miah, M.J.A. Mirja, dan M.A.B. Habib. 2006. Induction of Gynogenesis in Endangered Sarpunti, *Puntius sarana* (Hamilton) and Evidence for Female Homogamety. *Aquaculture* 258: 312-320.
- Colihueque, N., P. Iturra, N. Diaz, A. Veloso, dan F. Estay. 1992. Karyological Analysis and Identification of Heterochromosomes in Experimental Gynogenetic Offspring of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Brazil J. Genetics* 15 (3): 535-546.
- Dunham, R.A. 2004. *Aquaculture and Fisheries Biotechnology : Genetic Approaches*. CAB International Publishing : UK. 367 hal.
- Galbusera, P., A.M. Filip, dan O. Frans. 2000. Gynogenesis in The *African Catfish Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). III. Induction of Endomitosis and The Presence of Residual Genetic Variation. *Aquaculture* 185 25-42.
- Hammed, A.M., F.H.A. Bombata, dan A.O. Osinaike. 2010. The Use of Cold Shock in Inducing Triploidy in *African Mud Catfish (Clarias gariepinus)*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9 (12): 1844-1847.
- Hanafiah, K.A. 2008. Rancangan Percobaan Aplikatif : Aplikasi Kondisional Bidang Pertanian, Peternakan, Perikanan, Industri, dan Hayati. PT. Raja Grafindo Persada : Jakarta.
- Hariani, D. 2008. Daya Tetas Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Hasil Triploidi Menggunakan Larutan Kolkhisin. Artikel Ilmiah. *Majalah Wahana* Vol. 51 No. 2. 9 hal.
- Huet, M. 1986. *Textbook of Fish Culture. Breeding and Cultivation of Fish*. Fishing New Book. Blackwell Scientific Publication Ltd. : UK. 456 hal.
- Kucharczyk, D., M.J. Luczynski, P.Woznicki, R. Kujawa, A. Szczerbowski, K. Targonska, dan A. Mamcarz. 2008. Spontaneous Gynogenesis in Ide, *Leuciscus Idus* (L.). *Archives of Polish Fisheries* Vol 16: 447-451.

- Lesmana, D.S. 2007. Reproduksi dan Pembenihan Ikan Hias Air Tawar. Loka Riset Budidaya Ikan Hias Air Tawar. Departemen Kelautan dan Perikanan : Jakarta. 119 hal.
- Lin Feng, dan K. Dabrowski. 1996. Effects of Sperm Irradiation and Heat Shock on Induction of Gynogenesis in Muskellunge (*Esox masquinongy*). Can J. Fish Aquat. Sci 53: 2067-2075.
- Mardiana, T.Y. 2007. Karakteristik Genetik Klon Ikan Sumatra (*Puntius tetrazona*, Bleeker). Thesis. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor: Bogor. Tidak dipublikasikan.
- Morgan, A.J. 2005. Genetic and Temperature Manipulation of Southern Flounder (*Paralichthys lethostigma*) for The Production of Monosex Populations. Thesis. Departement of Zoology. Thesis. North Carolina State University: NC. 59 hal. Tidak dipublikasikan
- Mukti, A. T., Rustidja, S. B. Sumitro dan M. S. Djati. 2001. Poliploidisasi Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Biosain, 1(1):111-123.
- Mustafa, S. 1999. Genetics in Sustainable Fisheries Management. Fishing New Book. Blackwell Sciencetific Publication Ltd. : UK. 223 hal.
- Najiyati, S. 2003. Memeilihara Lele Dumbo di Kolam Taman. Penebar Swadaya : Jakarta. 49 hal.
- Olufegba S.O., dan Y. Moses. 2011. Monosex Production of *African Catfish*, *Heterobranchus longifilis*, through Gynogenesis and Androgenesis. International Journal of Fisheries and Aquaculture Vol 3(4): 65-77.
- Puspowardoyo, H., dan A. Djarijah. 2003. Pembenihan dan Pembesaran Lele Dumbo Hemat Air. Kanisius : Yogyakarta. 61 hal.
- Rustidja. 1995. Gynogenesis Meiosis. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya : Malang. 50 hal.
- . 1999. Pemisahan Spermatozoa X dan Y Ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya : Malang. 76 hal.
- . 2004. Pemijahan Buatan Ikan - Ikan daerah Tropis. Bahtera Press : Malang. 178 hal.
- Sambara, S. 1989. Keberhasilan Penggunaan Sperma Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) pada Ginogenesis Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Skripsi. Institus Pertanian Bogor : Bogor. 31 hal. Tidak dipublikasikan.
- Santoso, B. 1994. Lele Dumbo dan Lele Lokal. Kanisius : Yogyakarta. 78 hal.
- Shahrani, A.R. 2003. Interaksi Antara Pestida Dan Infeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor. Tidak dipublikasikan.
- Shepherd, C.J., dan R.B. Niall. 1992. Intensive Fish Farming. Blackwell Sciencetific Publication Ltd. : UK. 416 hal.

- Soeprijanto, A., M. Fajar, S. Dalimunthe, A. Wilujeng, dan B.S. Widodo. 2005. Optimalisasi Waktu (Dipping) Kejutan Panas (Heat Shock) terhadap Triploidisasi Ikan Koi (*Cyprinus carpio* L.). Fakultas Perikanan. Laporan Penelitian. Universitas Brawijaya. Tidak dipublikasikan.
- Sucipto, A. 2000. Penerapan Teknik Pemurnian dan Hibridisasi Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor : Bogor. Tidak dipublikasikan.
- Sunarma. 2008. Pembenihan Lele Sangkuriang. Diambil dari <http://sunarma.net> . Diakses pada 16 Juli 2011.
- Suryabrata, S. 1992. Metode Ilmiah. Penerbit Rajawali : Jakarta. 180 hal.
- Thompson, D. 1983. The Efficiency of Induced Diploid Gynogenesis in Inbreeding. *Aquaculture*, 33: 237 - 244.
- Varadi, Laszlo, B. Istvan, V. Janos, dan H. Laszlo. 1999. Induction of Diploid Gynogenesis Using Interspecific Sperm and Production of Tetraploids in African Catfish, *Clarias gariepinus* Burchell (1822). *Aquaculture* 173: 401 - 411.
- Yulintine. 1995. Pengaruh Umur Zygot pada Saat Kejutan Panas terhadap Keberhasilan ginogenesis Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.). Skripsi. Institut Pertanian Bogor : Bogor. 30 hal. Tidak dipublikasikan.
- Yuniarti, R.A., dan T.B. Damar. 2003. Efikasi Kombinasi *Bacillus thuringiensis israelensis* dan *Mesocyclops aspericornis* sebagai Pengendali Hayati *Aedes aegypti* di Gentong Air. Artikel Ilmiah. Balai Besar Penelitian dan pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) : Salatiga. 7 hal.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian



Kotak Radiasi UV



Kotak mika dalam inkubator



Mikroskop



Peralatan pengamatan



Wadah dan Air Kejutuan Panas



Sperma untuk Diradiasi

Lampiran 2. Data Fertilization Rate (FR)

Perlakuan		Jumlah Telur pada Periode Pembuahan (butir)		FR (%)
		Awal tebar	Terbuahi	
A	1	138	76	55.07
	2	169	105	62.13
	3	115	73	63.48
	4	214	118	55.14
Rata-rata A				58.96
B	1	194	149	76.80
	2	181	132	72.93
	3	162	109	67.28
	4	173	132	76.30
Rata-rata B				73.33
C	1	185	129	69.73
	2	144	77	53.47
	3	139	94	67.63
	4	92	46	50.00
Rata-rata C				60.21
D	1	187	137	73.26
	2	118	90	76.27
	3	163	142	87.12
	4	131	99	75.57
Rata-rata D				78.06
KN	1	129	119	92.25
	2	144	137	95.14
	3	112	105	93.75
	4	146	136	93.15
Rata-rata KN				93.57
KUV	1	201	142	70.65
	2	182	127	69.78
	3	219	105	47.95
	4	136	83	61.03
Rata-rata KUV				62.35

Perlakuan	Nilai FR (%) Ulangan				Rata - Rata
	1	2	3	4	
A	55,07	62,13	63,48	55,14	58,96
B	76,80	72,93	67,28	76,30	73,33
C	69,73	53,47	67,63	50,00	60,21
D	73,26	76,27	87,12	75,57	78,06
KN	92,25	95,14	93,75	93,15	93,57
KUV	70,65	69,78	47,95	61,03	62,35

Lampiran 3. Data Hatching Rate (HR) Larva Total

Perlakuan		Jumlah Larva pada Periode Penetasan (ekor)		HR(%)		
		Haploid	Diploid	Haploid	Diploid	Total
A	1	4	11	5.26	14.47	19.74
	2	9	9	8.57	8.57	17.14
	3	7	7	9.59	9.59	19.18
	4	10	13	8.47	11.02	19.49
Rata-rata A				7.97	10.91	18.89
B	1	13	12	8.72	8.05	16.78
	2	8	8	6.06	6.06	12.12
	3	9	14	8.26	12.84	21.10
	4	9	10	6.82	7.58	14.39
Rata-rata B				7.47	8.63	16.10
C	1	1	34	0.78	26.36	27.13
	2	2	18	2.60	23.38	25.97
	3	4	27	4.26	28.72	32.98
	4	3	15	6.52	32.61	39.13
Rata-rata C				3.54	27.77	31.30
D	1	3	35	2.19	25.55	27.74
	2	2	17	2.22	18.89	21.11
	3	4	32	2.82	22.54	25.35
	4	2	29	2.02	29.29	31.31
Rata-Rata D				2.31	24.07	26.38
KN	1		48	-	40.34	40.34
	2		60	-	43.80	43.80
	3		59	-	56.19	56.19
	4		71	-	52.21	52.21
Rata-rata KN				-	48.13	48.13
KUV	1	6	1	4.23	0.70	4.93
	2	14	0	11.02	-	11.02
	3	19	1	18.10	0.95	19.05
	4	17	2	20.48	2.41	22.89
Rata-rata KUV				13.46	1.02	14.47

Perlakuan	Ulangan				Rata-Rata
	1	2	3	4	
A	19.74	17.14	19.18	19.49	18.89
B	16.78	12.12	21.10	14.39	16.10
C	27.13	25.97	32.98	39.13	31.30
D	27.74	21.11	25.35	31.31	26.38
KN	40.34	43.80	56.19	52.21	48.13
KUV	4.93	11.02	19.05	22.89	14.47

Lampiran 4. Perhitungan Data Hatching Rate (HR) Larva Haploid

Nilai HR Larva Haploid

Perlakuan	Nilai HR Larva Haploid (%) Ulangan				Rata - Rata
	1	2	3	4	
A	5,26	8,57	9,59	8,47	7,97
B	8,72	6,06	8,26	6,82	7,47
C	0,78	2,60	4,26	6,52	3,54
D	2,19	2,22	2,82	2,02	2,31
KN	-	-	-	-	-
KUV	4,23	11,02	18,10	20,48	13,46

Uji Sidik ragam

Anova : Single Factor

Grup	Jumlah	Total	Rata - Rata	Keragaman
A	4	31.90	7.97	3.52
B	4	29.86	7.47	1.53
C	4	14.15	3.54	5.98
D	4	9.25	2.31	0.12

Sumber Keragaman	JK	db	KT	Fh	F5%	F1%
Perlakuan	95.49	3.00	31.83	11.41**	3.49	5.95
Acak	33.47	12.00	2.79			
Total	128.96	15.00				

Uji BNT

- SED $= \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$
= 1,18
- BNT 5% = T table 5% x SED
= 2,179 x 1,18
= 2,57
- BNT 1% = T table 1% x SED
= 3,055 x 1,18
= 3,61

Perlakuan	D	C	B	A	Notasi
D	-				a
C	1.23	-			a
B	5.15**	3.93**	-		b
A	5.66**	4.44**	0.51	-	b

Lampiran 4 (Lanjutan)

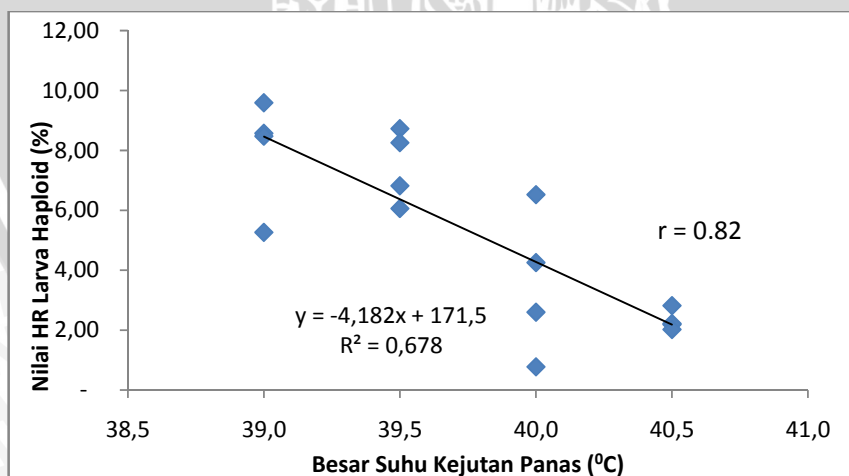
Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	31.90	(3.00)	1.00	(1.00)
B	29.86	(1.00)	(1.00)	3.00
C	14.15	1.00	(1.00)	(3.00)
D	9.25	3.00	1.00	1.00
Q = $\sum Ci \cdot Ti$	-	(83.66)	(2.86)	24.48
Kr = $(\sum Ci^2) \cdot r$	-	80.00	16.00	80.00
JK reg = Q^2 / Kr	-	87.48	0.51	7.49

Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fh	F 5%	F 1%
Perlakuan	5.00	-				
Linier	1.00	87.48	87.48	4.75**	2.78	4.25
Kuadratik	1.00	0.51	0.51	0.03	2.78	4.25
Kubik	1.00	7.49	7.49	0.41	2.78	4.25
Acak	7.00	128.96	18.42			
Total	15.00					

Nilai Regresi Linear lebih besar dari nilai regresi kuadratik dan kubik, sehingga didapatkan hubungan:



Lampiran 5. Perhitungan Data *Hatching Rate* (HR) Larva Diploid

Nilai HR Larva Diploid

Perlakuan	Nilai HR Diploid (%) Ulangan				Rata - Rata
	1	2	3	4	
A	14,47	8,57	9,59	11,02	10,91
B	8,05	6,06	12,84	7,58	8,63
C	26,36	23,38	28,72	32,61	27,77
D	25,55	18,89	22,54	29,29	24,07
KN	40,34	43,80	56,19	52,21	48,13
KUV	0,70	-	0,95	2,41	1,02

Uji Sidik Ragam

Anova : *Single Factor*

Grup	Jumlah	Total	Rata - Rata	Keragaman
A	4.00	43.65	10.91	6.64
B	4.00	34.53	8.63	8.60
C	4.00	111.07	27.77	15.21
D	4.00	96.26	24.07	19.55

Sumber Keragaman	JK	db	KT	Fh	F5%	F1%
Perlakuan	1,080.17	3	360.06	28.80**	3.49	5.95
Acak	150.01	12	12.50			
Total	1,230.18	15				

Uji BNT

- SED

$$= \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$$

$$= 2.5$$

- BNT 5%

$$= T \text{ table } 5\% \times \text{SED}$$

$$= 2,179 \times 2,5$$

$$= 5,45$$

- BNT 1%

$$= T \text{ table } 1\% \times \text{SED}$$

$$= 3,055 \times 2,5$$

$$= 7,64$$

Perlakuan	B	A	D	C	Notasi
B	-				a
A	2.28	-			a
D	15.43**	13.15**	-		b
C	19.13**	16.85**	3.70	-	b

Lampiran 5 (Lanjutan)

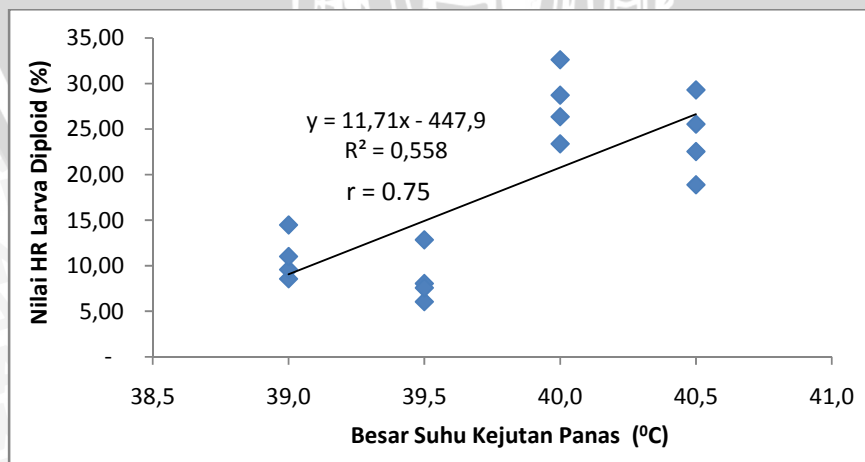
Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	43.65	(3.00)	1.00	(1.00)
B	34.53	(1.00)	(1.00)	3.00
C	111.07	1.00	(1.00)	(3.00)
D	96.26	3.00	1.00	1.00
$Q = \sum Ci \cdot Ti$	-	234.37	(5.68)	(176.98)
$Kr = (\sum Ci^2) \cdot r$	-	80.00	16.00	80.00
$JK \text{ reg} = Q^2 / Kr$	-	686.62	2.02	391.53

Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fh	F 5%	F 1%
Perlakuan	5.00	-				
Linier	1.00	686.62	686.62	3.91*	2.78	4.25
Kuadratik	1.00	2.02	2.02	0.01	2.78	4.25
Kubik	1.00	391.53	391.53	2.23	2.78	4.25
Acak	7.00	1,230.18	175.74			
Total	15.00					

Nilai Regresi Linier lebih besar dari nilai regresi kuadratik dan kubik, sehingga didapatkan hubungan:



Lampiran 6. Perhitungan Data *Survival Rate* Hari Ketujuh (SR7)

Nilai SR7

Perlakuan		Jumlah Larva pada Hari ke-7 (ekor)		SR7 (%)
		Haploid	Diploid	Diploid
A	1	0	0	-
	2	0	1	0.95
	3	0	0	-
	4	0	1	0.85
Rata-rata A				0.45
B	1	0	2	1.34
	2	0	0	-
	3	0	3	2.75
	4	0	1	0.76
Rata-rata B				1.21
C	1	0	4	3.10
	2	0	8	10.39
	3	0	2	2.13
	4	0	4	8.70
Rata-Rata C				6.08
D	1	0	5	3.65
	2	0	0	-
	3	0	4	2.82
	4	0	2	2.02
Rata-Rata D				2.12
KN	1	0	33	27.73
	2	0	39	28.47
	3	0	28	26.67
	4	0	32	23.53
Rata-rata KN				26.60
KUV	1	0	0	-
	2	0	0	-
	3	0	0	-
	4	0	0	-
Rata-rata KUV				-

Perlakuan	Nilai SR7 Ulangan				Rata - Rata
	1	2	3	4	
A	-	0,95	-	0,85	0,45
B	1,34	-	2,75	0,76	1,21
C	3,10	10,39	2,13	8,70	6,08
D	3,65	-	2,82	2,02	2,12
KN	27,73	28,47	26,67	23,53	26,60
KUV	-	-	-	-	-

Uji Sidik Ragam
Anova : Single Factor

Grup	Jumlah	Total	Rata - Rata	Keragaman
A	4	1.80	0.45	0.27
B	4	4.85	1.21	1.35
C	4	24.31	6.08	16.64
D	4	8.49	2.12	2.44

Sumber Keragaman	JK	db	KT	Fh	F5%	F1%
Perlakuan	75.21	3	25.07	4.84*	3.49	5.95
Acak	62.12	12	5.18			
Total	137.33	15				

Uji BNT

- SED $= \sqrt{\frac{2 KT acak}{\mu}}$
 $= 1,61$
- BNT 5%
 $= T \text{ table } 5\% \times SED$
 $= 2,179 \times 1,61$
 $= 3,51$
- BNT 1%
 $= T \text{ table } 1\% \times SED$
 $= 3,055 \times 1,61$
 $= 4,92$

Perlakuan	A	B	D	C	Notasi
A	-				a
B	0.76	-			a
D	1.67	0.91	-		a
C	5.63**	4.87*	3.96*	-	b

Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	1.80	(3.00)	1.00	(1.00)
B	4.85	(1.00)	(1.00)	3.00
C	24.31	1.00	(1.00)	(3.00)
D	8.49	3.00	1.00	1.00
$Q = \sum Ci \cdot Ti$	-	39.52	(18.88)	(51.70)
$Kr = (\sum Ci^2) \cdot r$	-	80.00	16.00	80.00
$JK \text{ reg} = Q^2 / Kr$	-	19.53	22.28	33.41

Lampiran 6 (Lanjutan)

Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fh	F 5%	F 1%
Perlakuan	5.00	-				
Linier	1.00	19.53	19.53	1.00	2.78	4.25
Kuadratik	1.00	22.28	22.28	1.14	2.78	4.25
Kubik	1.00	33.41	33.41	1.70	2.78	4.25
Acak	7.00	137.33	19.62			
Total	15.00					

Berdasarkan hasil Uji Polinomial Orthogonal tidak ditemukan F hitung yang berbeda nyata baik untuk linier, kuadratik, maupun kubik. Namun berdasarkan pola nilai rata - rata SR7 masing - masing perlakuan, maka dapat diasumsikan bahwa grafik hubungan cenderung berbentuk kurva kuadratik.

