

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 herediter 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

H_0 : Diduga pemberian besar kejutan suhu yang berbeda tidak berpengaruh terhadap keberhasilan teknik mitoginogenesis ikan lele dumbo (*Clarias* sp.).

H_1 : 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
- Phyllum : Chordata
- Sub phylum : Vertebrata
- Class : Pisces
- Sub class : Teleostei
- Ordo : Ostariophysoidei
- Sub Ordo : Siluroidea
- Family : Claridae
- Genus : *Clarias*
- Spesies : *Clarias sp.*

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).

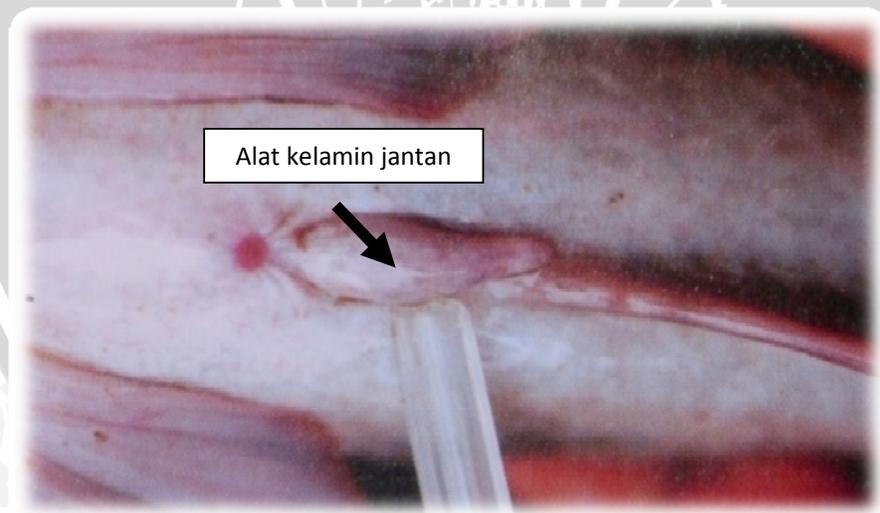
Menurut Najiyati (2003), lele dumbo termasuk ikan air tawar yang menyukai genangan air yang agak tenang. Di alam, ikan ini lebih banyak dijumpai di sungai - sungai memiliki aliran air tidak begitu deras. Ikan lele dumbo memiliki organ pernapasan tambahan yang dapat digunakan bila mengambil oksigen langsung 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 menyemprotkan 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 untu 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, penggunaannya 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. Aktivasinya sama dengan GnRH apabila diberikan kepada ikan yaitu dapat menstimulasi perkembangan

ovarium dan testis. LhRH telah dapat dibuat secara sintesis 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 sepertibuah 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 |
| 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) Cherfas dan Truveller (1978) | Karper | Sinar gamma |
| | | 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 peloncatan 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 $20-30^{\circ}\text{C}$ 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 guncangan atau tekanan mekanis.

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada saat penelitian yaitu :

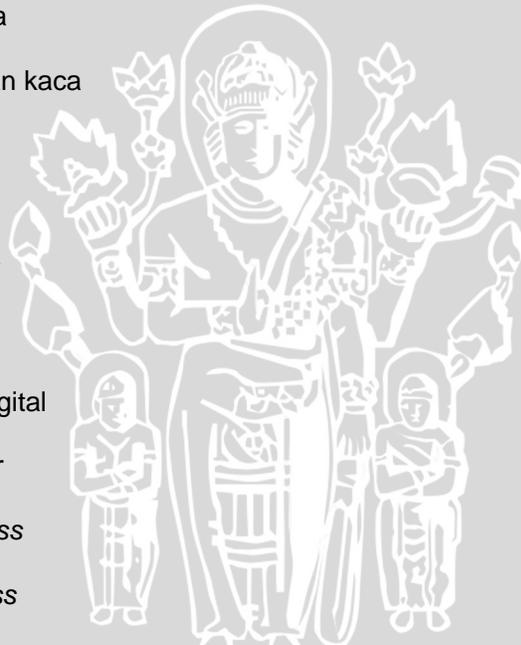
- Induk lele dumbo (*Clarias sp.*) jantan dan betina
- Telur lele dumbo (*Clarias sp.*)
- Sperma lele dumbo (*Clarias sp.*)
- Larutan Fisiologis (NaCl)
- *Ovaprim*
- Bulu ayam
- *Methylene Blue*
- Kertas tisu
- Benang kasur
- Pelet lele
- *Artemia salina*
- *Tubifex sp.*
- Bulu ayam
- Air
- Eosin

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 = 39⁰C

B = 39,5⁰C

C = 40⁰C

D = 40,5⁰C

KN = fertilisasi normal tanpa perlakuan (kontrol normal)

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

Pemberian rentang suhu 39⁰ - 40,5⁰C pada perlakuan kejutan panas mengacu pada beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Dalam penelitiannya, Varadi *et al.* (1999) menggunakan kejutan panas dengan suhu 40,5⁰ 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 40⁰C selama 1 menit dan 39⁰C selama 15 - 20 - 37 menit setelah fertilisasi. Berdasarkan acuan tersebut, maka penelitian ini dilakukan dengan memilih kisaran suhu 39⁰ - 40,5⁰C 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 0.5⁰C.

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

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

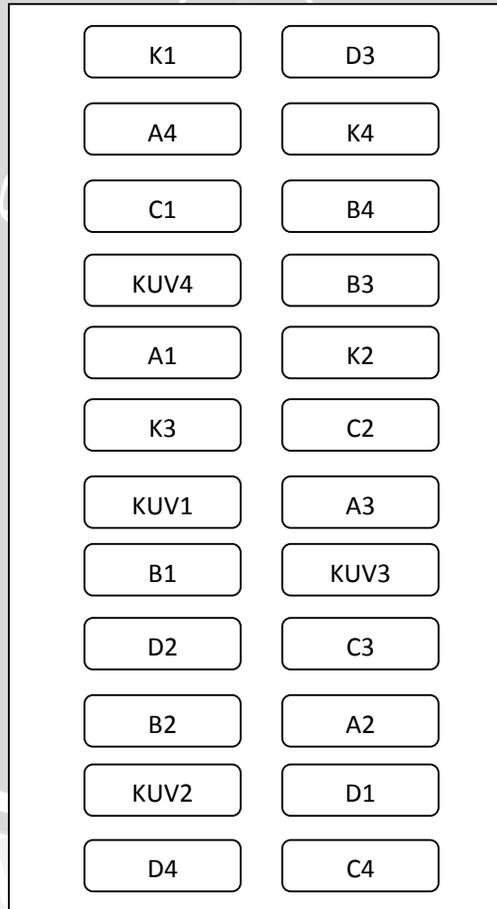
Ket: n : besar ulangan
t : jumlah perlakuan dan kontrol, sehingga ;

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

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



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 ;

$$\text{Motilitas} = \frac{b}{a} \times 100\%$$
$$\text{Viabilitas} = \frac{c}{a} \times 100\%$$

- 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 ($25^0 - 26^0\text{C}$). 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 dietakkan 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 testisnya. 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, dan 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°C - 27°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 *Arthemia 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 efektifitas 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

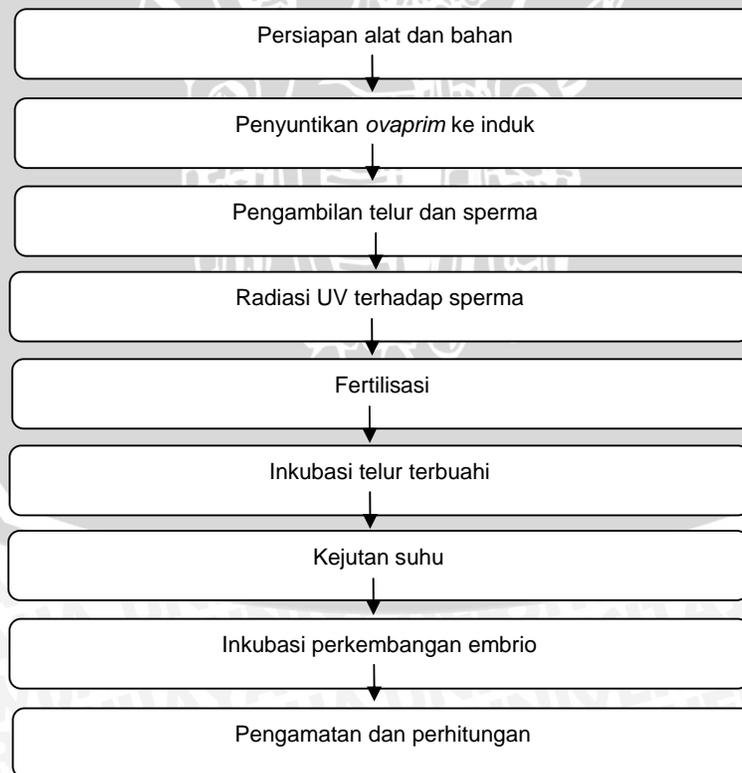
pada suhu mendekati 0°C (Boyd, 1990 *dalam* Shahrani, 2003). Termometer diikat dengan benang kasur kemudian dicelupkan ke dalam air. Benang kasur digunakan untuk menghindari kontaminasi suhu tangan pada termometer.

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