

3. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Aktivasi Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Data hasil penelitian pengaruh variasi waktu perendaman terhadap aktivasi sel telur pada pembentukan embrio partenogenesis ikan mas (*Cyprinus carpio*) dapat dilihat pada tabel 1 dan selengkapnya pada lampiran 7.

Tabel 1. Data Persentase Aktivasi Sel Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
A	99,25	98,95	99,85	298,05	99,35
B	98,74	97,85	98,25	294,84	98,28
C	97,75	96,95	97,35	292,05	97,35
D	95,45	94,95	95,85	286,25	95,42
E	92,75	93,65	92,85	279,25	93,08
Total				1450,44	
Kontrol -	0	0	0	0	0
Kontrol +	99,89	99,68	99,46	299,03	99,68

Keterangan:

- A : Perendaman pada etanol 7% selama 2 menit
- B : Perendaman pada etanol 7% selama 2,5 menit
- C : Perendaman pada etanol 7% selama 3 menit
- D : Perendaman pada etanol 7% selama 3,5 menit
- E : Perendaman pada etanol 7% selama 4 menit

Dari tabel data persentase aktivasi sel telur ikan mas di atas dapat dilihat bahwa nilai rata-rata pada kontrol negatif (tanpa perlakuan) adalah 0%, sedangkan untuk kontrol positif (kontrol normal atau terfertilisasi oleh sperma) memiliki nilai rata-rata sebesar 99,68%. Pada perlakuan A memiliki nilai rata-rata sebesar 99,35%, perlakuan B memiliki nilai rata-rata sebesar 98,28%, perlakuan C memiliki nilai rata-rata sebesar 97,35%, perlakuan D memiliki nilai rata-rata sebesar 95,42%, dan perlakuan E memiliki nilai rata-rata sebesar 93,08%. Dari data di atas terlihat pula adanya kecenderungan makin menurunnya tingkat

persentase aktivasi sel telur. Tingkat persentase aktivasi semua sel telur perlakuan masih di berada di bawah kontrol positif akan tetapi berada di atas kontrol negatif.

Selanjutnya dilakukan perhitungan sidik ragam sehingga didapatkan hasil pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Sidik Ragam Persentase Aktivasi Sel Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	74	18,5	92,5**	3,48	5,99
Acak	10	2	0,2			
Total	14	76				

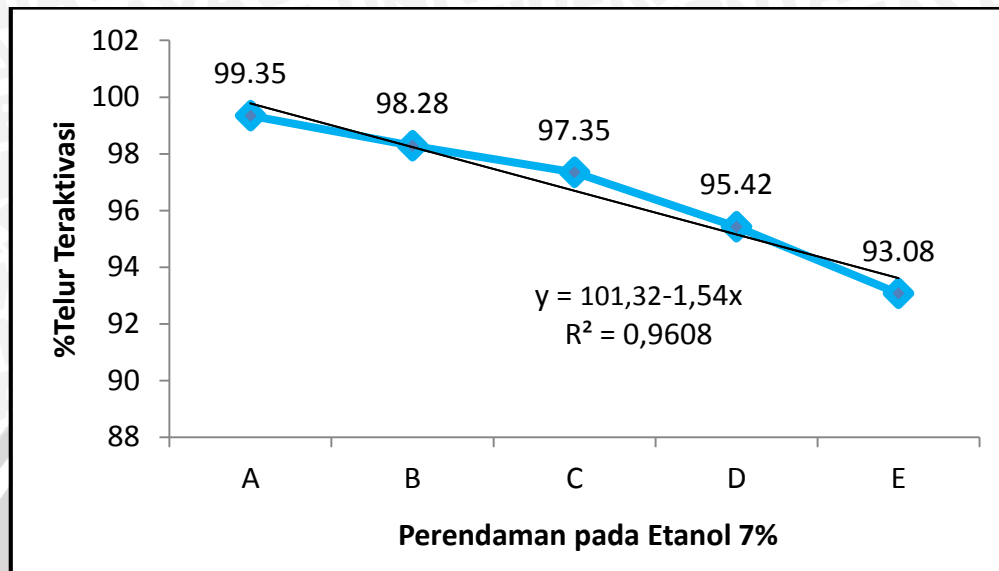
Dari hasil perhitungan sidik ragam di atas dapat disimpulkan bahwa F hitung lebih besar dari F 1%, ini membuktikan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh yang sangat nyata. Sehingga dilanjutkan dengan perhitungan uji beda nyata terkecil (BNT) dan hasilnya dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	E	D	C	B	A	Notasi
Rata-rata	93,08	95,42	97,35	98,28	99,35	
E	93,08	-	-	-	-	a
D	95,42	2,34**	-	-	-	b
C	97,35	4,27**	1,93**	-	-	c
B	98,28	5,20**	2,86**	0,93*	-	d
A	99,35	6,27**	3,98**	2**	1,07**	e

Dari hasil perhitungan uji beda nyata terkecil (BNT) dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang terbaik terdapat pada perlakuan A yaitu dengan perendaman pada etanol 7% selama 2 menit dan kejutan suhu 40°C selama 4 menit. Grafik hubungan antara perlakuan lama waktu perendaman sel telur pada

etanol 7% dan kejutan suhu terhadap aktivasi sel telur dapat dilihat pada gambar 4 berikut ini.

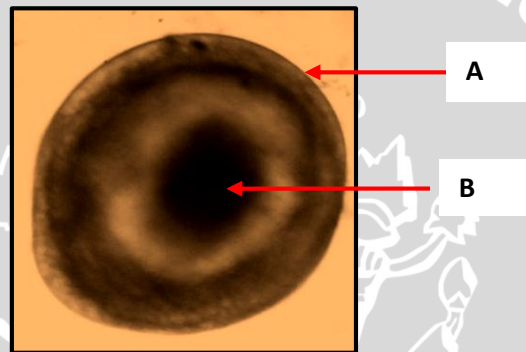


Gambar 6. Grafik Persentase Aktivasi Sel Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) dengan Perendaman Etanol 7%

Dari gambar grafik di atas terlihat bahwa jumlah telur teraktivasi ada kecenderungan terus menurun seiring dengan lama waktu perendaman pada etanol 7%, hal ini diduga disebabkan oleh perendaman pada etanol yang terlalu lama sehingga proses aktivasi yang seharusnya tepat namun menjadikan telur mengalami penurunan kemampuan sistemik sel walaupun tidak memberikan perbedaan yang sangat nyata pada setiap perlakuan. Hal ini sesuai dengan pendapat Kurniawan (2010), terdapat kecenderungan nilai persentase sel telur yang teraktivasi yang semakin menurun sesuai dengan lamanya waktu perendaman etanol dan lama waktu pemberian kejutan panas. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama perendaman etanol dan semakin lama waktu pemberian kejutan panas, menyebabkan viabilitas (kelangsungan hidup) sel telur rendah.

Dari grafik 6 di atas bisa dikatakan bahwa perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan A, dimana pada perlakuan tersebut jumlah telur teraktivasi paling

banyak terjadi dan mendekati nilai rata-rata kontrol positif yaitu sebesar 99,35%. Sedangkan pada penelitian Kurniawan (2010), sebelumnya didapatkan nilai rata-rata perlakuan yang tertinggi terdapat pada perlakuan perendaman pada etanol 7% selama 1 menit yaitu dengan nilai rata-rata 100%. Diperkuat oleh pendapat Minamihashi *et al.*, (1993) yang melakukan penelitian pada hewan ternak yaitu laju tertinggi dari oosit (90%) telah diamati setelah pencelupan oosit lembu ke etanol 7% selama 2 menit. Dari hasil perbandingan di atas dapat diketahui bahwa konsentrasi etanol 7% merupakan konsentrasi optimal untuk digunakan sebagai aktivator.



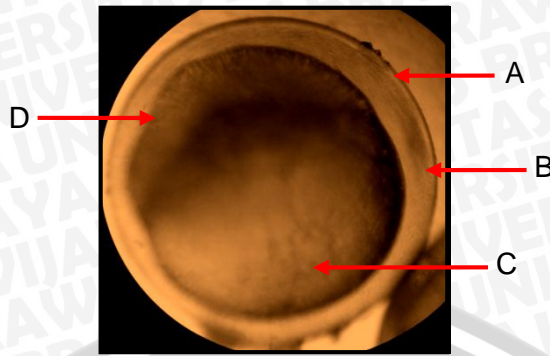
Gambar 7. Sel Telur Kontrol Negatif yang Mati

Keterangan

A : Dinding sel telur

B : Inti sel telur

Pada sel telur kontrol negatif tampak seperti terjadi perkembangan embrio, namun sebenarnya sel telur tersebut tidak berkembang karena tidak terdapat perlakuan untuk aktivasi sel telur. Jika telur ikan mas terlalu lama berada di air maka telur tersebut akan menyerap banyak air mengingat konsentrasi telur lebih pekat daripada air. Menurut pendapat Woynarovict dan Horvart (1980), telur ikan mas apabila telah menyentuh air maka 45 sampai 60 detik kemudian telur akan mengembang dan mikrofilnya menutup. Ditambahkan juga oleh Hijriyati (2012), faktor yang mempengaruhi pembuahan adalah berat telur ketika terjadi pembengkakan oleh air, pH cairan ovary dan konsentrasi protein.



Gambar 8. Sel Telur yang Teraktivasi

Keterangan :

A : Dinding sel telur

B : Ruang perivitelline

C : Inti sel telur

D : Blastomer

Pada gambar 6 di atas dapat dilihat bahwa telur tersebut telah teraktivasi dan berkembang. Hal yang paling mudah untuk menandai bahwa telur telah teraktivasi yaitu terdapatnya ruang perivitelin atau terdapatnya jarak antara inti sel telur dan dinding sel telur. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Murtidjo (2001), yaitu pembuahan telur ikan berupa masuknya kepala spermatozoa ke dalam sel telur dan ekor spermatozoa tertinggal di luar. Jika sudah demikian, sitoplasma dan khorion melebar dan semacam sumbat segera menutup mikropil untuk menghalangi masuknya spermatozoa yang lain. Ditambahkan oleh Ducibella *et al.*, (2002) dalam Hasbi *et al.*, (2012) bahwa oosit yang teraktivasi ditandai oleh adanya beberapa kejadian antara lain reaksi korteks, pembentukan pronukleus, dan pembelahan sel. Ditambahkan pula oleh Campbell *et al.* (2010), bahwa dalam beberapa detik setelah sperma berikatan ke sel telur, vesikel-vesikel ini, disebut granula korteks (*cortical granule*), berfusi dengan membran plasma sel telur, menginisiasi reaksi korteks (*cortical reaction*). Granula-granula korteks mengandung simpanan molekul-molekul yang kini disekresikan ke dalam ruang perivitelin (*perivitelline space*), yang terletak di antara membran plasma dan lapisan vitelin. Enzim-enzim yang disekresikan dan makromolekul-

makromolekul lain secara bersamaan mendorong lapisan vitelin menjauhi sel telur dan memperkeras lapisan tersebut, sehingga membentuk selubung fertilisasi (*fertilization envelope*) pelindung yang menolak masuknya nukleus sperma tambahan.

4.2. Perkembangan Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) setelah Diaktivasi

Data hasil penelitian pengaruh variasi waktu perendaman terhadap aktivasi sel telur pada pembentukan embrio partenogenesis ikan mas (*Cyprinus carpio*) dapat dilihat pada tabel 4 dan selengkapnya pada lampiran 8.

Tabel 4. Data Persentase Perkembangan Sel Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
A	53,89	55,95	53,23	163,07	54,36
B	23,23	22,86	21,56	67,65	22,55
C	3,68	2,92	3,23	9,83	3,28
D	0,17	0,76	0,46	1,39	0,46
E	0,35	0,17	0,17	0,69	0,23
Total				242,63	
Kontrol -	0	0	0	0	0
Kontrol +	87,12	82,29	77,08	246,49	82,16

Keterangan:

- A : Perendaman pada etanol 7% selama 2 menit
- B : Perendaman pada etanol 7% selama 2,5 menit
- C : Perendaman pada etanol 7% selama 3 menit
- D : Perendaman pada etanol 7% selama 3,5 menit
- E : Perendaman pada etanol 7% selama 4 menit

Dari tabel data persentase perkembangan sel telur ikan mas di atas dapat dilihat bahwa nilai rata-rata pada kontrol negatif (tanpa perlakuan) adalah 0%, sedangkan untuk kontrol positif (kontrol normal atau terfertilisasi oleh sperma) memiliki nilai rata-rata sebesar 82,16%. Pada perlakuan A memiliki nilai rata-rata sebesar 54,36%, perlakuan B memiliki nilai rata-rata sebesar 22,55%, perlakuan

C memiliki nilai rata-rata sebesar 3,28%, perlakuan D memiliki nilai rata-rata sebesar 0,46%, dan perlakuan E memiliki nilai rata-rata sebesar 0,23%. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan pada setiap perlakuan. Perlakuan yang memiliki nilai rata-rata mendekati nilai rata-rata kontrol normal adalah perlakuan A dan terlihat adanya kecenderungan penurunan nilai persentase.

Selanjutnya dilakukan perhitungan sidik ragam sehingga didapatkan hasil sebagai berikut ini.

Tabel 5. Hasil Perhitungan Sidik Ragam Persentase Perkembangan Sel Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	6497,84	1624,46	2684,08**	3,48	5,99
Acak	10	6,05	0,61			
Total	14	6503,89				

Dari hasil perhitungan sidik ragam di atas dapat disimpulkan bahwa F hitung lebih besar dari F1%, ini membuktikan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan hasil yang berbeda sangat nyata. Sehingga dilanjutkan dengan perhitungan uji beda nyata terkecil (BNT) dan hasilnya dapat dilihat pada tabel berikut.

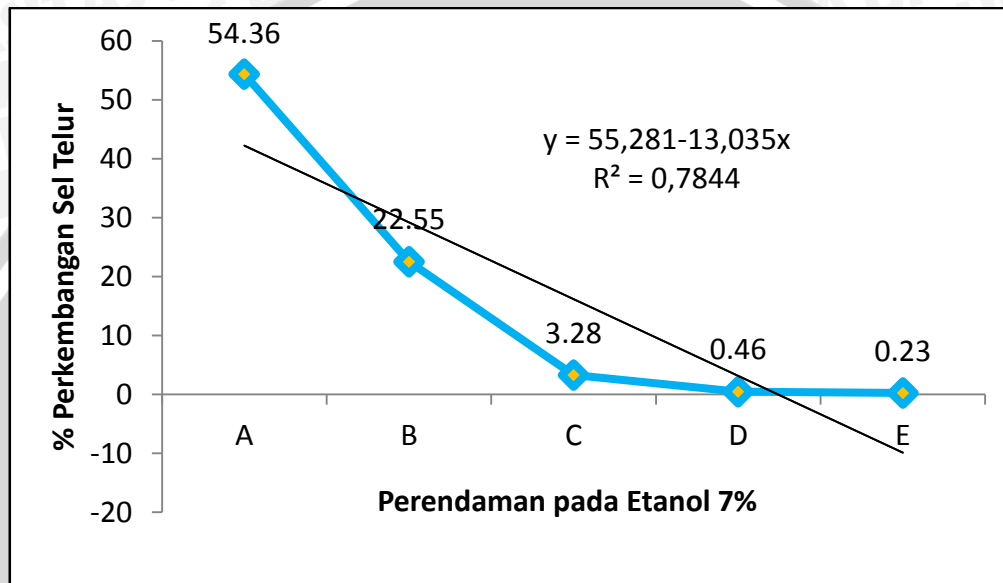
Tabel 6. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	E	D	C	B	A	Notasi
Rata-rata	0,23	0,46	3,28	22,55	54,36	
E	0,23	-	-	-	-	a
D	0,46	0,23 ^{ns}	-	-	-	a
C	3,28	3,05**	2,82**	-	-	b
B	22,55	22,32**	21,86**	19,27**	-	c
A	54,36	54,13**	53,9**	51,08**	31,81**	d

Dari hasil perhitungan uji beda nyata terkecil (BNT) dapat dikatakan bahwa perlakuan yang terbaik terdapat pada perlakuan A yaitu dengan perendaman

pada etanol 7% selama 2 menit kemudian diikuti perlakuan B, lalu perlakuan C, D dan E.

Grafik hubungan antara perlakuan lama waktu perendaman sel telur pada etanol 7% dan kejutan suhu terhadap aktivasi sel telur dapat dilihat pada gambar 7 berikut ini.



Gambar 9. Grafik Persentase Perkembangan Sel Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) dengan Perendaman Etanol 7%

Dari gambar grafik 7 terlihat bahwa jumlah telur yang berkembang terus menurun seiring dengan lama waktu perendaman pada etanol 7%, hal ini diduga disebabkan oleh menurunnya kemampuan sistemik sel karena terlalu lama mendapatkan perlakuan perendaman pada etanol pada saat proses aktivasi, mengingat larutan etanol 7% mengandung air sebesar 93% dan semakin singkatnya kejutan suhu. Proses aktivasi akan mempengaruhi perkembangan sel telur. Hal ini sesuai dengan pendapat Kurniawan (2010), rusaknya komponen-komponen sel telur menyebabkan sel telur tidak dapat melanjutkan pembelahan dan sel tersebut akhirnya mengalami kematian.

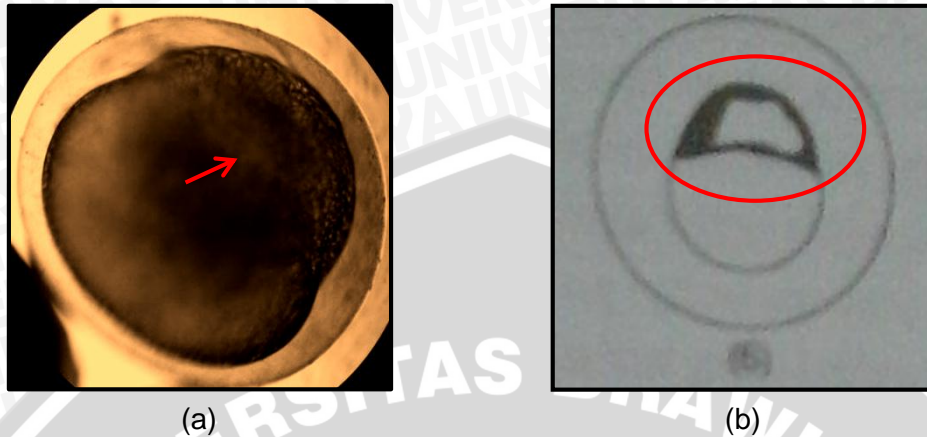
Perlakuan A memiliki perkembangan sel telur paling baik yaitu fase blastula sebesar 54,36%, hal ini diduga disebabkan oleh lama waktu perendaman etanol 7% yang pas yaitu selama 2 menit dan mendapatkan waktu kejutan suhu yang cukup sehingga mampu membelah dan berkembang dengan cukup baik. Perlakuan B memiliki perkembangan sel telur pada fase morula sebesar 22,55%, hal ini diduga disebabkan oleh lama waktu perendaman etanol 7% yang lebih lama dari perlakuan A yaitu selama 2,5 menit dan mendapatkan waktu kejutan suhu yang kurang sehingga mampu membelah dan berkembang dengan jumlah yang lebih sedikit daripada perlakuan A. Perlakuan C memiliki perkembangan sel telur pada fase morula sebesar 3,28%, hal ini diduga disebabkan oleh lama waktu perendaman etanol 7% yang cukup lama yaitu selama 3 menit dan mendapatkan waktu kejutan suhu yang kurang sehingga kemampuan sistemik sel menurun yang menyebabkan jumlah sel yang mampu membelah dan berkembang lebih sedikit dari perlakuan B. Perlakuan D memiliki perkembangan sel telur pada fase morula sebesar 0,46%, hal ini diduga disebabkan oleh lama waktu perendaman etanol 7% yang cukup lama yaitu selama 3,5 menit dan mendapatkan waktu kejutan suhu yang kurang sehingga kemampuan sistemik sel menurun yang menyebabkan jumlah sel yang mampu membelah dan berkembang lebih sedikit dari perlakuan C. Perlakuan E memiliki perkembangan sel telur hanya pada tahap teraktivasi sebesar 0,23%, hal ini diduga disebabkan oleh lama waktu perendaman etanol 7% yang sangat lama yaitu selama 4 menit sehingga kemampuan sistemik sel menurun dan sebagian besar rusak yang menyebabkan sel telur tidak mampu membelah dan berkembang bahkan menyebabkan kematian.

Hal lain yang diduga mampu mempengaruhi penurunan persentase perkembangan embrio yaitu apabila proses aktivasi tidak sempurna dimana proses pembelahan kromosom masih berlangsung kemudian diberi kejutan suhu

maka perkembangan sel telur akan terganggu atau mengalami kelainan dalam perkembangan embrio bahkan bisa mengakibatkan sel telur mati. Selain itu, apabila sel mengalami penurunan kerja sistemik sel maka sel tidak mampu berkembang dengan baik. Proses kejutan suhu juga mempengaruhi dalam memblokir terjadinya polar bodi II atau menahan keluarnya polar bodi II. Apabila kejutan suhu terjadi pada telur yang masih dalam proses pembelahan kromosom maka akan mengakibatkan telur tersebut mengalami kelainan perkembangan karena kromosom belum sempurna membelah menjadi dua polar bodi. Dimana yang dimaksudkan dalam hal ini adalah pembentukan polar bodi selama waktu inisiasi berlangsung yang terjadi tepat setelah teraktivasi sampai 3 menit setelah teraktivasi. Apabila sel telur yang teraktivasi dan pembentukan polar bodi terjadi kurang dari 3 menit dan mendapatkan kejutan suhu dengan waktu yang cukup maka polar bodi tetap tertahan di dalam sel telur sehingga sel telur tersebut akan mampu berkembang dengan baik dan memiliki kromosom $2n$ (diploid). Dan apabila sel telur yang teraktivasi lebih dari 3 menit dan mendapatkan kejutan suhu maka polar bodi yang terbentuk akan keluar dari sel telur sehingga menyebabkan sel telur memiliki kromosom n (haploid). Pernyataan tersebut didukung oleh pendapat dari Rustidja (1995), maksud dari kejutan ini adalah untuk menahan keluarnya polar body karena tidak semua telur serentak waktunya dalam keluarnya polar body untuk itu diperlukan waktu untuk menahan keluarnya polar body semua telur yang sama.

Dari grafik 7 di atas bisa disimpulkan bahwa perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan A, dimana pada perlakuan tersebut jumlah telur berkembang paling banyak terjadi dan memiliki nilai rata-rata di bawah kontrol normal namun memiliki nilai rata-rata di atas kontrol negatif yaitu sebesar 54,36%. Sedangkan pada penelitian Kurniawan (2010) sebelumnya didapatkan nilai rata-rata perlakuan yang tertinggi terdapat pada perlakuan perendaman pada etanol 7%

selama 3 menit yaitu dengan nilai rata-rata 0,007% dan perkembangan sel maksimal yang mampu dicapai yaitu tahap pembelahan 8 sel.



Gambar 10. Perbandingan Fase Perkembangan Embrio Maksimal (a) dengan Fase Perkembangan Embrio Menurut Djariah (2001) (b).

Perkembangan embrio maksimal yang mampu dicapai hanya sampai pada tahap blastula dengan ciri-ciri jumlah blastoderm lebih banyak, berukuran lebih kecil dari fase sebelumnya dan tampak seperti menyatu. Pernyataan tersebut didukung oleh Woynarovich dan Horvarth (1980), yaitu memasuki fase banyak sel atau blastoderm, yang dimulai dengan satu selaput sel. Jumlah blastomer meningkat, ukurannya menjadi semakin kecil. Dalam sel terbentuk sebuah ruang yang berukuran kecil antara kuning telur dan massa sel yang disebut *sigmenlation cavity*. Embryo pada stadia ini disebut blastula.

Perkembangan maksimal pada fase blastula karena waktu yang dibutuhkan oleh sel telur ikan mas berbeda-beda pada proses aktivasi dan kejutan suhu pada waktu yang kurang tepat (sel telur masih dalam tahap pembelahan kromosom) dapat menjadi faktor yang menghambat perkembangan sel telur sehingga telur tidak dapat berkembang secara maksimal atau bahkan mati. Menurut Woynarovich dan Horvarth (1980), waktu yang diperlukan untuk perkembangan telur berbeda pada tiap spesies. Waktu yang dibutuhkan juga tergantung dari suhu selama inkubasi dan suplai oksigen pada awal perkembangannya. Kekurangan O_2 pada masa perkembangan embrio dapat

mematikan embrio. Ditambahkan oleh Grupen *et al.* (2002), yaitu perlakuan aktivasi buatan (dengan menggunakan etanol) tidak dapat meniru secara tepat pola isolasi kalsium sebagaimana yang diinduksi oleh fertilisasi yang menggunakan sperma. Diduga meningkatnya kalsium yang diinduksi oleh etanol belum mampu mengaktifkan sistem seluler yang mampu menyebabkan sel telur berkembang secara normal sebagaimana yang terjadi pada fertilisasi oleh sperma (Kurniawan, 2010). Perlakuan pemberian kejutan panas menurunkan viabilitas sel. Pemberian kejutan panas yang melebihi 44°C menyebabkan kerusakan pada zigot (Volckaert *et al.*, 1997). Pada mamalia ada dua penyebab tidak berkembang lebih dari jauhnya embrio partenot yaitu pertama karena pada oosit yang diaktivasi pada kebanyakan spesies kekurangan *centriole* sehingga *centrosome* tidak berfungsi dengan maksimal dan menyebabkan terhentinya fase-fase awal pembelahan. Kedua karena adanya *imprinting* (Johnson dan Everitt, 2000).

