

**PENGARUH LAMA PEMBEKUAN TELUR PADA PROSES KRIOPRESERVASI  
TELUR IKAN LELE DUMBO (*Clarias sp.*) DENGAN PEMBERIAN DMSO  
(*Dimethyl sulfoxide*) SEBAGAI KRIOPROTEKTAN TERHADAP DAYA  
FERTILISASASI DAN DAYA TETAS TELUR**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**MOH. SYAMSU ROFIQI AHSAN  
145080500111037**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

**PENGARUH LAMA PEMBEKUAN TELUR PADA PROSES KRIOPRESERVASI  
TELUR IKAN LELE DUMBO (*Clarias* sp.) DENGAN PEMBERIAN DMSO  
(*Dimethyl sulfoxide*) SEBAGAI KRIOPROTEKTAN TERHADAP DAYA  
FERTILISASASI DAN DAYA TETAS TELUR**

**SKRIPSI**

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

Oleh:

**MOH. SYAMSU ROFIQI AHSAN  
145080500111037**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

## SKRIPSI

PENGARUH LAMA PEMBEKUAN TELUR PADA PROSES KRIOPRESERVASI  
TELUR IKAN LELE DUMBO (*Clarias sp.*) DENGAN PEMBERIAN DMSO  
(*Dimethyl sulfoxide*) SEBAGAI KRIOPROTEKTAN TERHADAP DAYA  
FERTILISASASI DAN DAYA TETAS TELUR

Oleh:

MOH. SYAMSU ROFIQI AHSAN  
145080500111037

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I

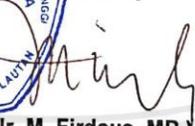
  
(Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS.)  
NIP. 1959080 719860 1 100  
Tanggal: 12 APR 2019

Dosen Pembimbing II

  
(Fani Fariedah, SPI., MP.)  
NIK. 2012088203082001  
Tanggal: 12 APR 2019

Mengetahui,  
Ketua Jurusan  
Manajemen Sumberdaya Perairan



  
(Dr. Ir. M. Firdaus, MP.)  
NIP. 19680919 200501 1 001  
Tanggal: 12 APR 2019

**IDENTITAS TIM PENGUJI**

Judul : **PENGARUH LAMA PEMBEKUAN PADA PROSES KRIOPRESERVASI TELUR IKAN LELE DUMBO (*Clarias sp.*) DENGAN PEMBERIAN DMSO (DIMETHY SULFOXIDE) SEBAGAI KRIOPROTEKTAN TERHADAP DAYA FERTILISASI DAN DAYA TETAS TELUR**

Nama Mahasiswa : Moh. Syamsu Rofiqi Ahsan

NIM : 145080500111037

Prigram Studi : Budidaya Perairan

**PENGUJI PEMBIMBING**

Dosen Pembimbing 1 : Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS.

Dosen Pembimbing 2 : Fani Fariedah, S.Pi, MP.

**PENGUJI BUKAN PEMBIMBING**

Dosen penguji 1 : Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si

Dosen penguji 2 : Wahyu Endra Kusuma, S.Pi., MP., D.Sc

Tanggal Ujian : 15 Maret 2019

## RIWAYAT HIDUP



MOH. SYAMSU ROFIQI AHSAN adalah nama penulis skripsi ini. Penulis mempunyai orang tua bernama Hadi Sunarso Wibowo dan Syamsiah sebagai anak kedua dari 2 bersaudara. Penulis dilahirkan di Malang, pada tanggal 29 Mei 1995. Penulis menempuh Pendidikan dimulai dari SDN Pucangsongo Pakis, Kabupaten Malang (lulus tahun 2008), melanjutkan ke MTsN 2 Kota Malang, (lulus tahun 2011), kemudian ke MAN 1 Kota Malang (lulus tahun 2014) dan Universitas Brawijaya, Malang, hingga akhirnya bisa menempuh masa kuliah Strata 1 di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Program Studi budidaya Perairan. Dengan ketekunan, motivasi tinggi untuk terus belajar dan berusaha, penulis telah berhasil menyelesaikan pengerjaan skripsi ini. Semoga dengan penulisan skripsi ini mampu memberikan kontribusi positif bagi dunia Pendidikan.

Akhir kata penulis mengucapkan rasa syukur yang sebesar-besarnya atas terselesaikannya skripsi yang berjudul “Pengaruh Lama Pembekuan Telur Pada Proses Kriopreservasi Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) Dengan Pemberian DMSO (*Dymethyl Sulfoxide*) Sebagai Krioprotektan Terhadap Daya Fertilisasi Dan Daya Tetas Telur.”

## RINGKASAN

**Moh. Syamsu Rofiqi A.** Skripsi tentang Pengaruh Lama Pembekuan Telur Pada Proses Kriopreservasi Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Dengan menggunakan DmsO (*Dimethyl Sulfoxide*) Sebagai Krioprotektan Terhadap Daya Fertilisasi Dan Daya Tetas Telur (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS.** dan **Fani Fariedah, SPi., MP.**)

---

Dalam budidaya ketersediaan benih ikan merupakan suatu keharusan, namun kematangan gonad jantan kadang-kadang tidak sinkron dengan gonad betina. Salah satu solusi yang tepat untuk menyelesaikan masalah ini adalah dengan melakukan kriopreservasi (Arfah *et al.*, 2006). Kriopreservasi adalah teknik penyimpanan dan pengawetan materi genetik makhluk hidup dengan cara pembekuan ekstrim yang dapat mereduksi aktivitas metabolisme tanpa merusak dan mempengaruhi fungsi morfologis, fisiologis dan biologis makhluk hidup (Suhendra *et al.*, 2014). Keberhasilan proses pengawetan telur ditentukan oleh bahan pengencer (*ekstender*), bahan pengawet (*chryoprotectant*), rasio pengencer (*dilution ratio*), laju pembekuan dan pencairan kembali (*freezing dan thawing rate*) dan larutan pengencer pada pembuahan (Sutarjo, 2014). Tentunya pengaruh lama pembekuan telur akan memberikan dampak perkembangan yang berbeda terhadap daya fertilitas dan daya tetas telur karena laju pembekuan merupakan salah satu faktor keberhasilan dalam proses kriopreservasi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama pembekuan telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) pada proses kriopreservasi dengan menggunakan lama waktu yang berbeda berpengaruh terhadap fertilisasi dan daya tetas telur Ikan Lele Dumbo. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan gedung D lantai 1 Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Februari sampai April 2018.

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian adalah metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang dilakukan yakni lama pembekuan: A (5 menit), B (10 menit), C (15 menit), D (20 menit) dan Perlakuan K (0 menit).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa lama pembekuan telur pada proses kriopreservasi telur ikan Lele dumbo (*Clarias* sp.) dengan pemberian DMSO sebagai krioprotektan terhadap daya fertilisasi dan daya tetas telur yaitu pada perlakuan A dengan lama pembekuan telur selama 5 menit menunjukkan perlakuan dengan daya fertilisasi tertinggi sebesar 71,50% dan daya tetas telur sebesar 17,5%. Sedangkan pada perlakuan kontrol didapatkan hasil daya fertilisasi telur dan daya tetas telur sebesar 96% dan 61,67%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada perlakuan lama pembekuan dengan waktu yang berbeda berpengaruh terhadap daya fertilisasi telur ikan Lele dumbo dengan perlakuan kontrol memperoleh hasil  $R^2$  sebesar 0,96, sedangkan pada daya teteas telur ikan Lele dumbo didapatkan hasil yang tidak berpengaruh. Berdasarkan hasil penelitian, belum adanya lama waktu pembekuan yang optimal pada proses kriopreservasi. Sehingga disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh lama pembekuan dengan waktu yang lebih optimal terhadap fertilisasi telur dan daya tetas telur ikan Lele dumbo. Selain itu diharapkan pada penelitian selanjutnya kebersihan media lebih dijaga untuk menghindari kerusakan telur.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dalam penyelesaian laporan skripsi ini. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan nikmat serta perlindungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tua dan kakak tercinta yang telah mencurahkan segala kasih sayang dengan tulus serta selalu memberikan dorongan dan semangat kepada penulis.
3. Bapak Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS. selaku selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan arahan dan bimbingan sejak penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Fani Fariedah, SPi., MP. selaku selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan dan bimbingan sejak penyusunan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP. selaku Ketua Jurusan MSP
6. Bapak Dr. Ir. M. Fajar, MSc. selaku Ketua Program Studi BP
7. Teman-teman TIM Kriopreservasi dan teman-teman Budidaya Perairan angkatan 2014 "Aquaforce" yang telah memberikan semangat, motivasi dan do'a selama ini.
8. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama pembuatan laporan skripsi ini.

Malang, Maret 2019

Penulis

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, berkah, karunia, hidayah serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul: “Pengaruh lama pembekuan telur pada proses kriopreservasi telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) dengan pemberian DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) sebagai krioprotektan terhadap daya fertilisasasi dan daya tetas telur”. Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Penulis sangat menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan keterbatasan dalam penulisan laporan skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun.

Malang, Maret 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>IDENTITAS TIM PENGUJI</b> .....	<b>iii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>iv</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>v</b>
<b>UCAPAN TERIMAKASIH</b> .....	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xv</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan .....	4
1.4 Hipotesis .....	5
1.5 Kegunaan .....	5
1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan .....	6
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
2.1 Biologi Ikan Lele Dumbo ( <i>Clarias sp.</i> ).....	7
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	7
2.1.2 Habitat.....	9
2.1.3 Reproduksi .....	9
2.1.4 Karakteristik Induk Matang Gonad .....	10
2.2 Telur Ikan .....	11
2.3 Fertilisasi .....	12
2.4 Oogenesis.....	14
2.5 Embriogenesis.....	15
2.5.1 Fase Pembelahan Zigot ( <i>Cleavage</i> ) .....	16

2.5.2	Fase Morula.....	17
2.5.3	Fase Blastula.....	18
2.5.4	Fase Gastrula.....	19
2.5.5	Organogenesis.....	20
2.6	Daya Tetas.....	20
2.7	Kriopreservasi .....	21
2.7.1	Krioprotektan .....	23
2.7.2	DMSO ( <i>Dimetyle Sulfoxide</i> ) .....	24
2.7.3	Sukrosa .....	25
2.7.4	Lama Pembekuan.....	26
2.8	Kualitas Air .....	27
2.8.1	Suhu .....	27
2.8.2	Derajat Keasaman (pH) .....	28
2.8.3	Oksigen Terlarut (DO) .....	28
<b>3.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>30</b>
3.1	Materi Penelitian .....	30
3.1.1	Alat Penelitian .....	30
3.1.2	Bahan Penelitian .....	32
3.2	Metode Penelitian .....	33
3.3	Rancangan Penelitian.....	33
3.4	Prosedur Penelitian.....	35
3.4.1	Persiapan dan Pemeliharaan Induk .....	35
3.4.2	Persiapan Wadah Inkubasi Telur.....	35
3.4.3	Persiapan dan Pembuatan Larutan Krioprotektan .....	36
3.4.4	Persiapan dan Pembuatan Larutan Ekstender.....	37
3.4.5	Proses Pemijahan.....	38
3.4.6	Proses Pembekuan (Vitrifikasi) .....	39
3.4.7	Fertilisasi .....	39
3.4.8	Perkembangan Embrio.....	39
3.5	Parameter Uji.....	40
3.5.1	Parameter Utama.....	40
3.5.2	Parameter Penunjang .....	41
3.6	Analisa Data .....	42
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>43</b>
4.1	Fertilisasi Telur Ikan Lele Dumbo ( <i>Clarias sp.</i> ) .....	43
4.2	Perkembangan Embrio Ikan Lele Dumbo ( <i>Clarias sp.</i> ).....	47
4.3	<i>Hatching Rate</i> .....	51
4.4	Kualitas Air .....	54
<b>5.</b>	<b>PENUTUP .....</b>	<b>56</b>
5.1	Kesimpulan.....	56
5.2	Saran .....	56
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>58</b>

<b>GLOSARIUM.....</b>	<b>63</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>68</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2. 1 Ikan Lele Dumbo ( <i>Clarias</i> sp) (Fatimah dan Sari, 2015). ....	7
Gambar 2. 2 Ikan Lele Dumbo ( <i>Clarias</i> sp) matang gonad (Ngugi <i>et al.</i> , 2016.....	11
Gambar 2. 3 Telur ikan Lele dalam kantung telur (Mahyuddin, 2008). ....	12
Gambar 2. 4 Proses Oogenesis pada gamet betina (Manuaba <i>et al.</i> , 2007). ....	15
Gambar 2. 5 Embriogenesis pada ikan diamati miroskop dengan perbesaran 400 kali (Gunawan, 2009).....	16
Gambar 2. 6 Telur ikan Lele ( <i>Clarias</i> sp.) pada fase <i>Cleavage</i> (a) pembelahan <i>blastodic</i> , (b) pembelahan 2 sel, (c) pembelahan 4 sel, (d) pembelahan 8 sel, (e) pembelahan 16 sel, (f) pembelahan 32 sel diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Iswanto <i>et al.</i> , 2015).....	17
Gambar 2. 7 Telur ikan Lele ( <i>Clarias</i> sp.) pada fase morula mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Iswanto <i>et al.</i> , 2015).....	18
Gambar 2. 8 Telur ikan Lele ( <i>Clarias</i> sp.) pada fase <i>Blastula</i> diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Iswanto <i>et al.</i> , 2015).....	18
Gambar 2. 9 Telur ikan Lele ( <i>Clarias</i> sp.) pada fase <i>Gastrula</i> (a) fase awal <i>Gastrula</i> , (b) fase akhir <i>Gastrula</i> diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Iswanto <i>et al.</i> , 2015).....	19
Gambar 2. 10 Telur ikan Lele ( <i>Clarias</i> sp.) pada fase <i>Organogenesis</i> (a) fase awal <i>Organogenesis</i> , (b) fase akhir <i>Organogenesis</i> (saat sebelum menetas) diamati dengan mikroskop perbesaran 400 kali (Iswanto <i>et al.</i> , 2015).....	20

Gambar 2. 11 Molekul Sukrosa (Sumbono, 2015). ..... 26

Gambar 3. 1 Denah Peletakan Hasil Pengacakan ..... 34

Gambar 4. 1 Diagram perbandingan *fertilization rate* antara masing-masing  
perlakuan. .... 44

Gambar 4. 2 Grafik Lama Pembekuan terhadap Daya Fertilisasi..... 46

Gambar 4. 3 Gambar Telur Rusak Selama Penelitian diamati dengan mikroskop  
perbesaran 400x..... 50

Gambar 4. 4 Diagram Hasil Rata-Rata Daya Tetas pada masing-Masing Perlakuan  
..... 52



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 3. 1 Alat – alat penelitian.....	30
Tabel 3. 2 Bahan Penelitian.....	32
Tabel 4. 1 Data Fertilisasi Telur Ikan Lele ( <i>Clarias</i> sp.) (%). ....	43
Tabel 4. 2 Uji sidik ragam .....	45
Tabel 4. 3 Uji Beda Nyata Terkecil.....	45
Tabel 4. 4 Perkembangan Embrio Ikan Lele Dumbo ( <i>Clarias</i> sp.).....	48
Tabel 4. 5 Data Daya Tetas Telur Ikan Lele (%) .....	51
Tabel 4. 6 Uji Sidik Ragam .....	53
Tabel 4. 7 Kisaran Nilai Kualitas Air.....	54

**DAFTAR LAMPIRAN**

1. Dokumentasi Alat dan Bahan.....	68
2. Perhitungan Larutan .....	71
3. Perkembangan Telur Ikan Lele Dumbo.....	72
4. Data Analisis Fertilitation Rate Telur Ikan Lele Dumbo ( <i>Clarias</i> sp.) .....	75
5. Data Perhitungan Hatching RateTelur Ikan Lele Dumbo ( <i>Clarias</i> sp.).....	80



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tahun 2010, produksi akuakultur Indonesia mencapai 5,3 juta ton, yang terdiri dari 2,6 juta ton rumput laut dan 2,7 juta ton berupa ikan, udang, kerang, kepiting dan sebagainya. Produksi sebesar 5,3 juta ton ini hanya termanfaatkan sebesar 9,1% dari total potensi produksi akuakultur Indonesia yang mencapai 57,7 juta ton/tahun. Potensi budidaya air tawar (*freshwater aquaculture*) mencapai 5 juta ton/tahun pada kurun waktu lima tahun terakhir. Produksi budidaya air tawar dengan media kolam mencapai 17,82 % dari total semua produksi yang diperoleh dari budidaya air tawar. Salah satu komoditas dengan penggunaan media kolam adalah ikan Lele dumbo (*Clarias sp.*) Ikan berkumis keluarga catfish ini merupakan salah satu komoditas perikanan penting, khususnya budidaya air tawar, Lele merupakan salah satu ikan air tawar yang paling banyak dibudidayakan dan menduduki urutan ketiga setelah ikan mas (*Cyprinus carpio*) dan nila (*Oreochromis nilotica*). Tahun 2009, produksi Lele nasional sekitar 200 ribu ton, tahun 2010 meningkat menjadi 270 ribu ton, dan tahun 2011 ditargetkan mencapai produksi 366 ribu ton. Produksi Lele diharapkan terus meningkat hingga mencapai sekitar 900 ribu ton pada tahun 2014. Banyaknya masyarakat membudidayakan ikan Lele karena permintaan masyarakat akan kebutuhan daging ikan Lele meningkat. Ikan Lele merupakan jenis ikan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat (Kordi, 2015).

Salah satu aspek penting yang perlu dikuasai dalam kegiatan budidaya ikan, adalah aspek reproduksi. Aspek reproduksi merupakan ujung tombak keberhasilan usaha budidaya ikan untuk setiap memasuki periode tanam. Usaha budidaya aspek reproduksi yang mana aspek reproduksi masuk pada tahap pembenihan memiliki

posisi yang sangat penting. Namun dalam pelaksanaan, keberhasilan pada aspek reproduksi bukan hanya ditentukan oleh kemampuan daya dukung lingkungan saja, tetapi juga kemampuan akuakultoris dalam penguasaan ilmu dan teknologi. Salah satu faktor kunci yang menjadi pembatas pada kegiatan budidaya perairan adalah ketersediaan benih baik dalam kualitas maupun kuantitas yang merupakan salah satu syarat keberhasilan dalam upaya peningkatan produksi ikan (Affandi dan Tang, 2017).

Perkembangan teknologi saat ini sangat cepat tak terkecuali pada bidang perikanan. Teknologi digunakan untuk mendukung perikanan budidaya secara intensif. Intensifikasi bidang perikanan memberikan hasil yang lebih optimal daripada system budidaya intensif. Intensifikasi dibidang perikanan menuntut adanya ketersediaan benih secara kontiniu. Kontiniunitas ketersediaan benih tersebut membutuhkan kegiatan pembenihan yang intensif pula. Sehingga perlu dilakukan upaya perbaikan stok benih unggul ikan budidaya (Allawi dan Tang, 2017).

Pemenuhan benih ikan Lele sampai saat ini masih mengandalkan teknik konvensional yang membutuhkan waktu lama dan bergantung keadaan lingkungan. Sehingga untuk mengimbangi permintaan benih yang semakin meningkat perlu mengembangkan teknologi pemijahan secara buatan yang tidak bergantung dengan musim. Adanya pemijahan buatan atau *stripping* juga menimbulkan banyak permasalahan diantaranya dapat menyebabkan terjadinya pematangan telur yang tidak merata. Hal ini dapat disebabkan telur pada beberapa induk terlalu matang ataupun terlalu muda untuk dipijahkan sehingga presentasi telur yang terbuahi sedikit. Ketersediaan benih ikan dalam budidaya merupakan suatu keharusan, namun kematangan gonad jantan kadang–kadang tidak sinkron dengan gonad

betina. Salah satu solusi yang tepat untuk menyelesaikan masalah ini adalah dengan melakukan kriopreservasi (Arfah *et al.*, 2006).

Kriopreservasi adalah teknik penyimpanan dan pengawetan materi genetik makhluk hidup dengan cara pembekuan ekstrim yang dapat mereduksi aktivitas metabolisme tanpa merusak dan mempengaruhi fungsi morfologis, fisiologis dan biologis makhluk hidup (Suhendra *et al.*, 2014). Materi genetik yang dapat dilakukan teknik kriopreservasi antara lain sel sperma, sel telur dan embrio (Harahap *et al.*, 2015). Krioprotektan dan larutan pengencer dibutuhkan saat proses kriopreservasi untuk mempertahankan fertilitas telur (Novianto *et al.*, 2014). Penyimpanan gamet juga memudahkan proses pengangkutan (tidak harus mengangkut induk yang akan diambil gametnya, tetapi cukup mengangkut gametnya) dari satu tempat ke tempat lain dan mengurangi jumlah induk yang dipelihara, menghindari gamet mengalami *overripening* (lewat matang), memungkinkan untuk memproduksi benih sepanjang tahun, dan memudahkan melakukan pemijahan dari induk yang diinginkan dengan pematangan gonad induk jantan dan betina pada saat yang berbeda (Davy dan Chouinard., 1980).

Keberhasilan proses pengawetan telur ditentukan oleh bahan pengencer (*ekstender*), bahan pengawet (*chryoprotectant*), rasio pengencer (*dilution ratio*), laju pembekuan dan pencairan kembali (*freezing dan thawing rate*) dan larutan pengencer pada pembuahan (Sutarjo, 2014). Tentunya pengaruh lama pembekuan telur akan memberikan dampak perkembangan yang berbeda terhadap daya fertilitas dan daya tetas telur karena laju pembekuan merupakan salah satu faktor keberhasilan dalam proses kriopreservasi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Salah satu cara untuk memperbaiki stok ikan Lele adalah dengan menggunakan teknologi penyimpanan gamet dalam hal ini penyimpanan sel telur (Allawi dan Tang, 2017). Teknologi Kriopreservasi telah dikembangkan secara ekstensif untuk tujuan memperpanjang kemampuan hidup gamet. Pada temperatur sangat rendah seperti pada nitrogen cair (-196 °C) semua aktivitas biologi berhenti, pada temperatur -196 °C gamet dapat bertahan untuk waktu yang tidak terbatas meskipun akibat pengaruh radiasi sebelumnya (Tiersch, 2006). Keberhasilan pembekuan embrio tergantung dari beberapa faktor antara lain konsentrasi krioprotektan, percepatan derajat pembekuan, pengaturan suhu selama pemaparan. Lama Pembekuan tentu akan memberikan pengaruh terhadap perkembangan embrio ikan Lele.

Berdasarkan rumusan yang telah dipaparkan, maka didapatkan permasalahan sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh lama pembekuan telur pada proses kriopreservasi dengan menggunakan waktu yang berbeda terhadap daya fertilisasi dan daya tetas telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*)?
- Berapa waktu lama pembekuan telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) yang tepat pada proses kriopreservasi untuk menghasilkan daya fertilisasi dan daya tetas telur yang tinggi?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian yang berjudul “Pengaruh Lama Pembekuan Telur Pada Proses Kriopreservasi Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) Dengan Pemberian

DMSO (*Dimethyl sulfoxide*) Sebagai Krioprotektan Terhadap Daya Fertilisasi Dan Daya Tetas Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) adalah :

- Untuk mengetahui pengaruh lama pembekuan telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) pada proses kriopreservasi terhadap fertilisasi dan daya tetas telur Ikan Lele Dumbo.
- Untuk mengetahui lama waktu pembekuan telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) yang tepat pada proses kriopreservasi untuk menghasilkan daya fertilisasi dan daya tetas telur yang tinggi.

#### 1.4 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, didapatkan suatu hipotesis yaitu:

H0 : Diduga perbedaan waktu lama pembekuan telur tidak berpengaruh terhadap fertilisasi dan daya tetas telur ikan Lele dumbo pada proses kriopreservasi.

H1 : Diduga perbedaan waktu lama pembekuan telur berpengaruh terhadap fertilisasi dan daya tetas telur ikan Lele dumbo pada proses kriopreservasi.

#### 1.5 Kegunaan

Penelitian ini berguna untuk mengetahui pengaruh lama pembekuan yang berbeda pada proses kriopreservasi telur dengan menggunakan krioprotektan DMSO (*dimethyl sulfoxide*) terhadap keberhasilan fertilisasi dan daya tetas telur, sehingga kualitas telur dan daya tetas telur ikan Lele (*Clarias sp.*) dapat ditingkatkan pada proses kriopreservasi. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat

digunakan di lapangan untuk meningkatkan efisiensi penggunaan telur maupun digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

### **1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan, Divisi Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada bulan Januari - April 2018.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan Lele dumbo (*Clarias sp.*) menurut Darseno (2010) berdasarkan taksonominya sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Pisces</i>
Ordo	: <i>Ostariophysi</i>
Subordo	: <i>Silariidae</i>
Famili	: <i>Clariidae</i>
Genus	: <i>Clarias</i>
Spesies	: <i>Clarias sp.</i>

Adapun bentuk dari ikan Lele dumbo dapat dilihat pada gambar 2.1



**Gambar 2. 1** Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) (Fatimah dan Sari, 2015).

Menurut Khairuman dan Amri (2012), ikan Lele dumbo memiliki tubuh memanjang, licin tidak bersisik dan kepalanya pipih. Pada bagian kepala hingga punggung berwarna coklat kehitaman serta terdapat bercak berwarna putih. Menurut Kordi (2015), ikan Lele dumbo sama dengan ikan Lele yang lainnya yakni bersifat nokturnal, artinya aktif mencari makanan pada malam hari atau lebih menyukai tempat yang gelap. Ikan Lele dumbo memiliki mulut yang relatif lebar yaitu kurang lebih seperempat dari panjang total tubuhnya dan mempunyai alat yang disebut *aborescent* organ, yaitu membran yang berlipat penuh dengan kapiler darah, yang terletak dibagian atas lengkung insang kedua dan ketiga, *aborescent* organ mempunyai bentuk yang mirip dengan bunga-bunga.

Hartono (1997), berpendapat bahwa pemakaian kata dumbo berasal dari kata jumbo yang berarti besar karena ikan ini mempunyai keunggulan dan kemampuan untuk tumbuh besar dalam waktu singkat. Menurut Kordi (2015), ikan Lele dumbo memiliki bentuk tubuh memanjang dan bentuk kepalanya pipih (*depressed*), bagian belakang tubuhnya memipih kesamping (*compressed*). Kepala bagian atas dan bawah tertutup oleh tulang pelat. Tulang pelat ini membentuk ruangan rongga diatas insang. Di sinilah terdapat alat pernapasan tambahan yang tergabung dengan busur insang kedua dan keempat. Mulut terletak pada ujung moncong (*terminal*) dengan dihiasi 4 sungut kumis. Lubang hidung yang depan merupakan tabung pendek berada dibelakang bibir atas, lubang hidung sebelah belakang merupakan celah yang kurang lebih bundar berada di belakang sungut nasal. Mata berbentuk kecil dengan tepi orbital yang bebas. Sirip ekor membulat, tidak bergabung dengan sirip punggung maupun sirip anal. Sirip perut membulat dan panjangnya sampai mencapai sirip anal. Ikan Lele dumbo dapat tumbuh hingga lebih dari 15 kg/ekor dengan panjang lebih dari 1 meter.

### 2.1.2 Habitat

Ikan Lele dumbo merupakan Lele dari hasil persilangan antara Lele kelamin jantan lokal Afrika yang mempunyai nama latin *Clarias mosambicus* dan Lele yang berkelamin betina lokal Taiwan yang mempunyai nama latin *Clarias Fuscus*. Masuk ke Indonesia pertama kali Tahun 1985 (Suyanto, 1999). Awal kedatangan Lele dumbo adalah sebagian ikan hias, namun kemudian masuk sebagai ikan konsumsi. Selanjutnya ikan ini terus menyebar di wilayah Indonesia. Di Indonesia penyebaran Lele dumbo meliputi Jawa, Sumatera, Bangka-Belitung, Kalimantan dan Sulawesi (Khairuman dan Amri, 2002).

Habitat Lele adalah semua perairan tawar. Ikan ini dapat ditemukan di sungai yang airnya tidak deras atau perairan yang tenang seperti danau, waduk, rawa-rawa serta genangan-genangan air lainnya, seperti kolam buatan merupakan lingkungan hidup ikan Lele. Pada tempat kelokan air sungai yang arusnya lambat ikan Lele sering tertangkap. Ikan ini tidak menyukai tempat-tempat yang tertutup rapat bagian atasnya oleh tanaman air, tetapi lebih menyukai tempat yang terbuka. Ini mungkin berhubungan sifatnya yang sewaktu-waktu dapat mengambil oksigen langsung dari udara. Lele hidup dengan baik didataran rendah sampai pada ketinggian sekitar 700 meter diatas permukaan air laut dengan suhu 25-30°C (Kordi, 2015).

### 2.1.3 Reproduksi

Secara alami ikan Lele memijah pada musim penghujan pada waktu sore hari. Ikan jantan dan betina akan berpasangan ketika matang gonad. Ikan Lele dumbo membuat sarang berupa lubang di kedalaman 20-30 cm di bawah permukaan air saat akan memijah. Telurnya akan ditempelkan pada dinding sarang. Kemudian Induk jantan akan mengurut perut induk betina untuk mengeluarkan telur ketika

perkawinan berlangsung. Telur yang dikeluarkan induk betina akan dibuahi secara eksternal oleh induk jantan. Induk betina dapat menghasilkan 1000-4000 butir telur (Suyanto, 2008).

Lele yang dipelihara di kolam dapat memijah sepanjang tahun ketika diberi pakan yang sesuai dan cukup serta kondisi air optimum. Pemijahan Lele dapat dilakukan secara alami dan buatan atau kawin suntik dengan kelenjar hipofisa atau hormon sintesis. Ikan Lele yang dipijahkan harus dipilih yang telah mencapai bobot 300 gr untuk ikan betina dan 200 gr untuk induk jantan (Kordi, 2015).

#### **2.1.4 Karakteristik Induk Matang Gonad**

Menurut Affandi dan Tang (2017), tiap-tiap spesies ikan pada waktu pertama kali matang gonad memiliki ukuran yang tidak sama. Demikian juga dengan ikan dengan spesies yang sama. Faktor utama yang mempengaruhi kematangan gonad antara lain: suhu dan makanan, selain faktor keberadaan hormon. Pengetahuan perkembangan gonad tidak akan sempurna apabila tidak diiringi dengan pengetahuan anatomi, histologi alat reproduksi baik jantan maupun betina. Demikian juga proses-proses pembentukan sel kelamin sampai terjadinya kematangan gonad sangat diperlukan informasi.

Induk jantan yang matang gonad memiliki ciri-ciri, yaitu pergerakan aktif, tubuh ramping, papila memanjang melewati pangkal sirip ekor dan berwarna kemerahan pada ujungnya. Pengecekan gonad pada induk jantan dapat memakai karteter. Induk betina yang matang gonad memiliki ciri-ciri pergerakan lambat, perut membuncit dan terasa lembek, apabila perut ikan ditekan akan keluar telur, warna pudar, lubang urogenital membulat dan memerah. Berat badan ikan Lele dumbo yang siap memijah berkisar 400-600 gram dan dengan panjang tubuh 40-65 cm (Zulfania *et al.*, 2015).

Ikan Lele dumbo yang siap memijah berumur antara 8 - 24 bulan untuk induk ikan Lele jantan dan 12 - 24 bulan untuk induk ikan Lele betina. Induk ikan Lele jantan matang gonad ditandai dengan bentuk tubuh ramping berwarna kehitaman diimbangi dengan pergerakan aktif dan lincah. Bentuk alat kelamin akan meruncing, menonjol dan membengkak kemerahan. Induk betina matang gonad ditandai dengan bentuk tubuh yang gemuk berwarna pudar dan pergerakan lambat. Perut terlihat menggebung dan terasa lembek bila disentuh, serta mengeluarkan telur saat *distripping*. Daerah urogenital akan membulat dan membengkak kemerahan. Induk Lele yang baik memiliki pergerakan aktif dan tubuh tidak cacat (Gunawan, 2009).



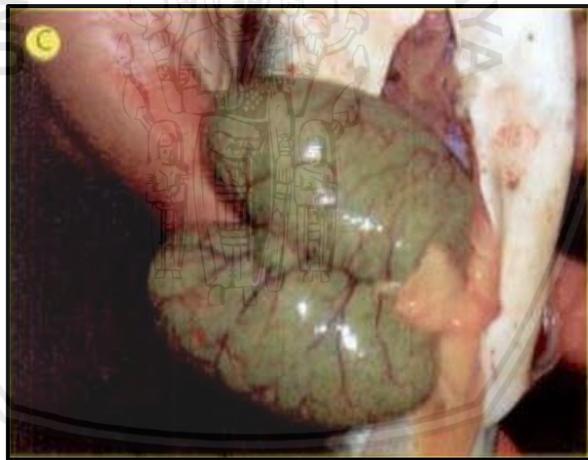
**Gambar 2. 2** Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp) matang gonad (Ngugi *et al.*, 2016)

## 2.2 Telur Ikan

Telur merupakan cikal bakal suatu makhluk hidup. Telur sangat dibutuhkan sebagai nutrient atau sumber makanan selama perkembangan embrio. Telur tersebut diperlukan pada saat proses *endogenous feeding* dan *exogenous feeding*. Proses pembentukan telur dimulai dari fase differensiasi dan oogenesis, yaitu proses terjadinya akumulasi vitelogenin kedalam folikel. Proses pembentukan

tersebut lebih dikenal dengan istilah vitelogenesis. Selain itu, telur juga dipersiapkan untuk dapat menerima spermatozoa sebagai awal perkembangan embrio. Anatomi telur atau ovum sangat berkaitan dengan anatomi spermatozoa (Affandi dan Tang, 2017).

Telur ikan Lele yang telah dibuahi, akan terbentuk lapisan protein yang terdapat pada selaput vitelin. Hal ini menyebabkan telur ikan Lele menjadi lengket terhadap substrat. Telur ikan Lele berwarna kehijauan dengan ukuran 1,1-1,4 mm. Setelah dibuahi telur ikan Lele Dumbo akan menetas sekitar 24-30 jam pada suhu perairan berkisar antara 25-26°C. Sifat yang adhesif menyebabkan telur menempel satu sama lain dan menyebabkan telur menumpuk sehingga telur yang berada di dalam mendapat suplai oksigen yang rendah yang menyebabkan telur gagal menetas (Baharuddin *et al.*, 2016).



**Gambar 2. 3** Telur ikan Lele dalam kantung telur (Mahyuddin, 2008).

### 2.3 Fertilisasi

Fertilisasi adalah proses bergabungnya inti sperma dan inti sel telur dalam sitoplasma yang akan menghasilkan zigot. Fertilisasi terbagi menjadi fertilisasi eksternal yang terjadi diluar tubuh dan fertilisasi internal yang terjadi di dalam tubuh

ikan. Ikan yang melakukan fertilisasi secara internal biasanya memiliki organ khusus (*copulatory organ*). *Copulatory organ* tersebut hanya terdapat pada ikan jantan (Campbell, *et al.*, 2004). Sedangkan pada ikan betina, induksi pemijahan dilakukan pada akhir oogenesis untuk menginduksi *germinal vesicle breakdown* (GVBD) yang merupakan tahap akhir dari pematang sel telur dan ovulasi serta pemijahan (Fujaya, 2008).

Menurut Djarijah (2001) proses fertilisasi mempunyai 2 aspek penting, yaitu aspek embriologi dan aspek genetik. Proses embriologi ditandai dengan pengaktifan ovum yang diaktifkan oleh sperma. Aspek genetik merupakan proses masuknya faktor hereditas induk jantan kedalam ovum induk betina. Proses pembuahan telur ikan bersifat *adhesive* (lengket) maka perlu diperhatikan banyaknya cairan yang digunakan sebagai larutan pendukung fertilisasi. Larutan yang diberikan secara berlebihan dapat menyebabkan sperma sulit untuk menembus lubang mikروفil ovum karena membuat sperma terlalu aktif bergerak. Sedangkan, jumlah larutan yang sedikit juga menyebabkan butiran telur saling menempel karena sifatnya yang *adhesive* sehingga menyebabkan lubang mikروفil sulit ditembus sperma hal tersebut diakibatkan karena tertutupnya kulit luar telur oleh lendir.

Menurut Faqih (2011), daya fertilisasi menunjukkan berapa presentase sel telur yang terbuahi oleh sperma. Pada proses fertilisasi terjadi penggabungan inti dari spermatozoa dengan inti sel telur dalam sitoplasma sehingga membentuk zigot. Telur yang terbuahi dan telur yang tidak terbuahi tersebut dihitung kemudian dilanjutkan dengan menghitung presentase fertilitas telur dengan rumus sebagai berikut:

$$FR = \frac{\text{Jumlah Telur Terbuahi}}{\text{Jumlah Keseluruhan Telur}} \times 100\%$$

## 2.4 Oogenesis

Oogenesis adalah proses terbentuknya gamet betina. Oogenesis dimulai pada epitel dari sel-sel primordial diploid atau oogonia yang satuannya dinamakan oogonium. Oogonia ditemukan tersebar dalam ovary dan mengalami pembelahan meiosis secara berturut-turut. Selanjutnya akan mengalami pembelahan meiosis yang bertahan pada peringkat diploten (*diploten stage*) pada profase pertama meiosis. Dari tahapan ini sel gamet lebih dikenal dengan oosit primer. Selanjutnya oosit primer ini akan mengalami periode panjang pertumbuhan yang terdiri dari beberapa fase. Fase utama adalah proses vitelogenesis. Menjelang fase ini, bagaimana oosit primer bertambah ukurannya tanpa akumulasi material yolk dan fase ini disebut fase previtelogenesis. Selama fase ini terjadi pertumbuhan yang sama pada sitoplasma atau nukleus besar ditemui pada bagian perifer dan tersebar pada nukleus. Melalui proses previtelogenesis, dua lapisan sel yang berbeda muncul mengelilingi oosit dan membentuk folikel. Lapisan paling dalam berupa sel-sel berbentuk kubus. Sel tersebut adalah bagian dari granulosa dan sel teka. Selama proses oogenesis ada dua hal penting yaitu pertumbuhan dan pematangan (Affandi dan Tang, 2017).

Sel-sel telur (oosit primer) membesar dan folikel akan tumbuh. Oosit primer akan mereplikasi DNA dan berlanjut pada profase meiosis 1. Proses oogenesis pada ovarium berbeda dengan spermatogenesis pada testis. Selama pembelahan meiosis, oogenesis dan sitokenesis didominasi oleh satu anak sel yang disebut dengan oosit sekunder, sel oosit terus berkembang hingga menjadi ovum. Selain oosit sekunder, terdapat badan polar yang mengalami degenerasi. Saat lahir ovarium punya semua sel yang dapat menjadi telur dan memiliki fase istirahat (Chapbell *et al.*, 2004).

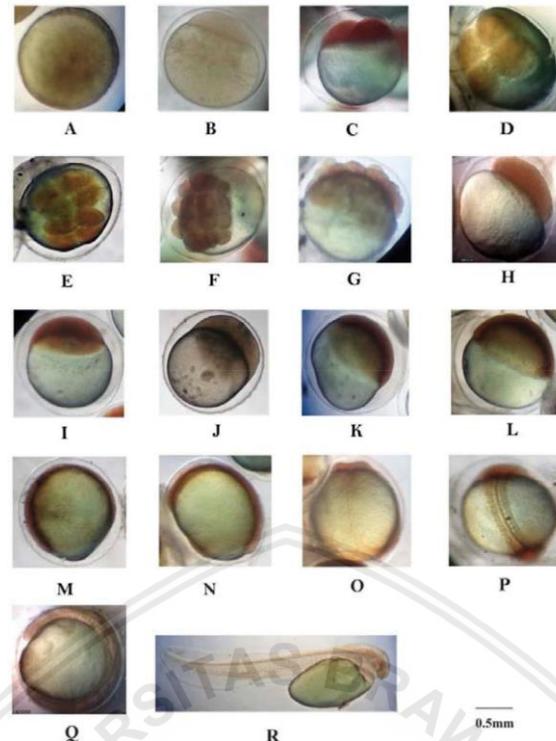


**Gambar 2. 4** Proses Oogenesis pada gamet betina (Manuaba et al., 2007).

## 2.5 Embriogenesis

Embriogenesis merupakan proses perkembangan telur terbentuk embrio. Pertumbuhan awal embriogenesis adalah pelepasan hormon gonadotropin yang dicirikan dengan bertambahnya ukuran nukleus dan jumlah nukleolus. Tahap pembentukan kantung kuning telur ditandai terbentuknya kantung atau vesikel. Tahap vitelogenesis, dicirikan bertambahnya volume sitoplasma dari luar sel yaitu kuning telur atau vitelogenin. Selanjutnya tahap pematangan akhir, terjadi pergerakan inti telur ke tepi dan melebur, telur diovolasi dan dipijahkan. Kuning telur yang dibentuk dalam sel telur ini berguna sebagai makanan embrio (Fujaya, 2008).

Proses embriogenesis berlangsung selama masa inkubasi. Perkembangan zigot ini terjadi setelah bertemunya antara dua sel kelamin. Tahap-tahap perkembangan embriogenesis menjadi sebuah larva dimulai dari fase *cleavage* (pembelahan sel), differensiasi sel, organogenesis sel, morfogenesis sel (Lesmana, 2017).

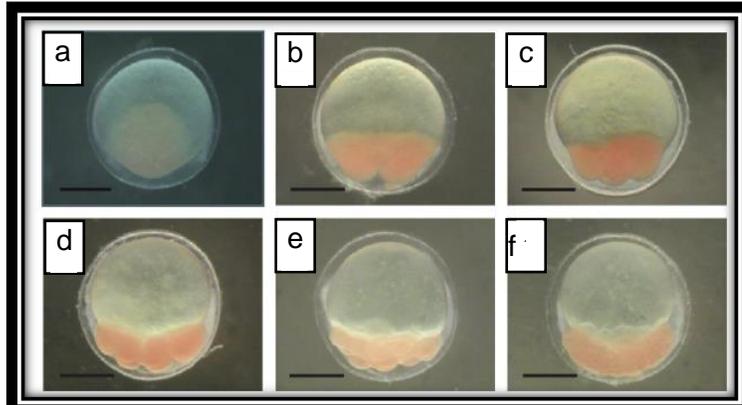


**Gambar 2. 5** Embriogenesis pada ikan diamati miroskop dengan perbesaran 400 kali (Gunawan, 2009)

### 2.5.1 Fase Pembelahan Zigot (*Cleavage*)

Proses ini merupakan pembelahan sel tanpa disertai penambahan massa sel atau ekspresi gen. Pembelahan atau *cleavage* disebut juga segmentasi, terjadi setelah pembuahan. Zigot membelah berulang kali sampai menjadi puluhan sel kecil yang disebut blastomer. Pembelahan itu dapat meliputi seluruh bagian atau hanya sebagian kecil zigot. Pembelahan ini terjadi secara mitosis, kadang diikuti pembelahan inti terus menerus tanpa diikuti sitoplasma (Soenardirahardjo, 2011).

Pembelahan Telur telolechital disebut meroblastic, dimana hanya keping protoplasman yang mengalami pembelahan. Pembelahan pertama meridian, diikuti pembelahan kedua tegak lurus bidang pembelahan pertama. Pembelahan ketiga terjadi dua kali dengan arah sama. terus terjadi pembelahan hingga membentuk 64 sel sampai pembelahan mitosis selesai (Effendie, 2002).

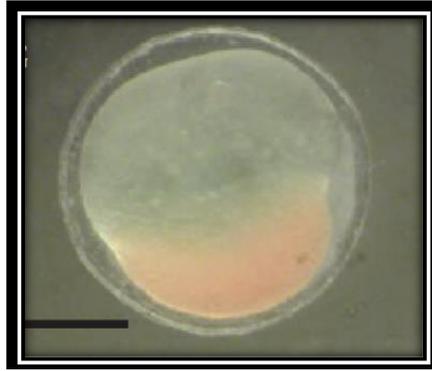


**Gambar 2. 6** Telur ikan Lele (*Clarias* sp.) pada fase *Cleavage* (a) pembelahan *blastodisc*, (b) pembelahan 2 sel, (c) pembelahan 4 sel, (d) pembelahan 8 sel, (e) pembelahan 16 sel, (f) pembelahan 32 sel diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Iswanto *et al.*, 2015).

### 2.5.2 Fase Morula

Pembelahan yang telah mencapai 32 sel selanjutnya akan terjadi fase morula, yang ditandai dari bentuk telur yang terlihat seperti murbei dengan ukuran sel yang beragam. Jumlah sel dalam telur fase ini antara 32-128 sel. Pembelahan sel pada stadia ini terjadi secara melintang dan membentuk lapisan kedua yang terlihat samar pada bagian kutub anima. Ukuran sel blastomer mulai seragam namun dengan ukuran yang lebih kecil. Sel tersebut memadat untuk menjadi blastodisk kecil yang membentuk 2 lapisan sel (Balinsky, 1970).

Morula merupakan pembelahan sel yang terjadi setelah sel berjumlah 32 dan berakhir ketika sel sudah menghasilkan blastomer yang berukuran sama tapi ukurannya lebih kecil. Stadia morula ditandai dengan menyatunya blastomer pada kutub anima (Nawir *et al.*, 2016).

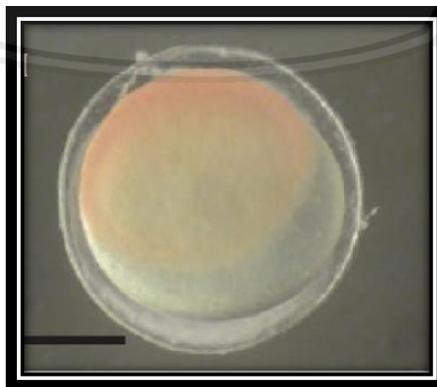


**Gambar 2. 7** Telur ikan Lele (*Clarias* sp.) pada fase morula mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Iswanto *et al.*, 2015).

### 2.5.3 Fase Blastula

Blastulasi adalah proses yang menghasilkan blastula yaitu campuran sel blastoderm yang membentuk rongga penuh cairan sebagai blastocoel. Sel blastoderm terdiri dari neural, epidermal, notochordal, mesodermal dan endodermal yang merupakan bakal pembentukan organ yang dicirikan dengan dua lapisan yang sangat nyata dari sel dasar membentuk blastocoel dan blastodik berada dilubang vegetal berpindah menutupi sebagian besar kuning telur. (Gusrina, 2018).

Perkembangan blastula, ditandai dengan terbentuk rongga kosong Blastomer membelah beberapa kali membentuk blastomer dengan ukuran kecil, hingga tempat pada stadia morula blastomer yang semula padat terbentuk ruangan kosong disebut blastosul yang ditutupi blastoderm. Sisi luar terdapat *epiblast*. Antara blastosul dan blastoderm dipisahkan *hypoblast primer* (Ardhardhiansyah *et al.*, 2017)

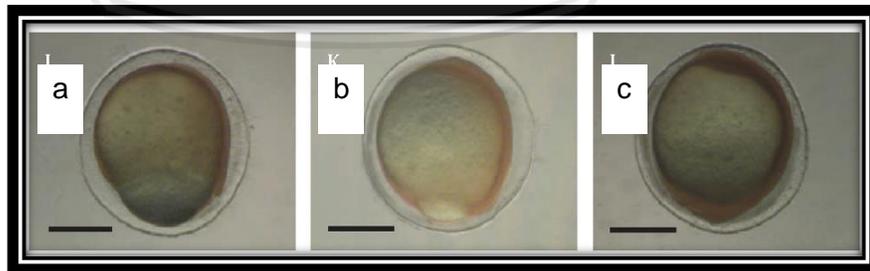


**Gambar 2. 8** Telur ikan Lele (*Clarias* sp.) pada fase *Blastula* diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Iswanto *et al.*, 2015).

### 2.5.4 Fase Gastrula

Gastrula adalah proses pembelahan bakal organ yang telah terbentuk pada stadia blastula. Bagian-bagian yang terbentuk nantinya akan menjadi organ atau suatu bagian organ. Lapisan stadia gastrula berkembang dari satu menjadi dua lapis sel. Proses pembelahan sel berjalan lebih cepat dimana proses pergerakan dalam stadia gastrula ada dua macam yaitu epiboly dan emboli. Epiboly adalah salah satu pergerakan sel yang kelak dianggap menjadi epidermis, dimana pergerakannya ke depan, ke belakang juga ke samping dari sumbu bakal embrio. Sedangkan emboli merupakan pergerakan sel yang arahnya menuju ke bagian dalam terutama di bagian sumbu bakal embrio (Sedjati, 2002).

Fase gastrula (gastrulasi) adalah proses perkembangan embrio, dimana sel bakal organ yang telah terbentuk pada stadia blastula telah mengalami perkembangan yang lebih lanjut. Proses perkembangan sel bakal organ ini sendiri terdiri dari dua macam proses pergerakan sel, yaitu epiboli dan emboli. Gastrulasi berakhir pada saat kuning telur telah tertutupi oleh lapisan sel. Beberapa jaringan mesoderm yang berada disepanjang kedua sisi notochord juga telah disusun menjadi segmen-segmen yang disebut somit yaitu ruas yang terdapat pada embrio (Gusrina, 2018).

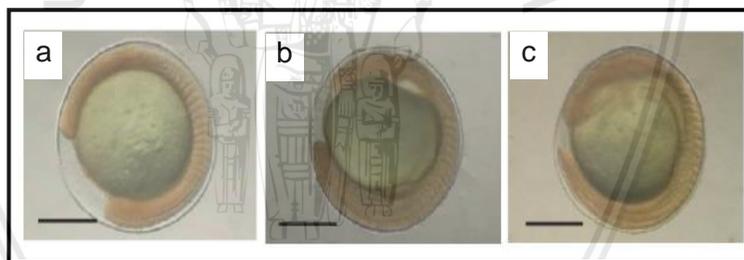


**Gambar 2. 9** Telur ikan Lele (*Clarias* sp.) pada fase *Gastrula* (a) fase awal *Gastrula*, (b) fase akhir *Gastrula* diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Iswanto *et al.*, 2015).

### 2.5.5 Organogenesis

Organogenesis adalah suatu proses pembentukan organ pada makhluk hidup. Organogenesis berlangsung setelah stadium gastrula. Pada proses organogenesis ini terbentuk bakal-bakal organ antara lain seperti syaraf, notochorda, mata, somit, rongga kuffer, kantung olfaktori, rongga ginjal, usus, tulang subnothord, linea lateralis, jantung, aorta, insang, infundibulum dan lipatan-lipatan sirip ikan (Tang dan Affandi, 2007).

Organogenesis, diawali dengan terbentuknya bakal kepala dan ekor, ruas-ruas tulang belakang, bakal mata, otolith, jantung serta organ lainnya, pigmentasi kantung kuning telur dan penetasan menghasilkan larva. Proses organogenesis ini berlangsung lebih lama dibanding dengan stadia lainnya. Hasil pengamatan embrio selama fase organogenesis menunjukkan adanya pergerakan dari embrio (Ardhardiansyah *et al.*, 2017).



**Gambar 2. 10** Telur ikan Lele (*Clarias* sp.) pada fase *Organogenesis* (a) fase awal *Organogenesis*, (b) fase akhir *Organogenesis* (saat sebelum menetas) diamati dengan mikroskop perbesaran 400 kali (Iswanto *et al.*, 2015).

### 2.6 Daya Tetas

Menurut Aidil *et al.* (2016), *hatching rate* adalah daya tetas telur atau jumlah telur yang menetas. Penetasan telur dapat disebabkan oleh gerakan telur, perubahan suhu, intensitas cahaya, dan kadar oksigen terlarut. Perhitungan nilai *hatching rate* dapat menggunakan metode sampling telur yang menetas untuk

menentukan jumlah total larva yang menetas. Nilai *hatching rate* dinyatakan dalam persen (%). Menurut Prabowo *et al.* (2016), persentase daya tetas dapat diperkirakan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$HR = \frac{\text{Jumlah Telur Menetas}}{\text{Jumlah Keseluruhan Telur}} \times 100\%$$

Faktor yang dapat mempengaruhi daya tetas telur meliputi kualitas air seperti suhu, oksigen terlarut dan pH. Suhu yang tinggi dapat membuat daya tetas semakin cepat, sebaliknya suhu yang rendah menyebabkan perkembangan telur lambat bahkan tidak menetas. Kondisi telur dan sperma yang baik serta didukung dengan kualitas air yang optimal dapat memperbesar daya tetas telur (Mahyuddin, 2008).

Proses penetasan telur terjadi karena dua hal. Pertama karena adanya aktivitas dan gerakan embrionik, dan kedua adanya aktivitas enzim Ca-chorionase. Enzim Ca-chorionase berperan dalam proses *embrittlement* dan pelunakan lapisan cangkang (*Chorion*) pada telur untuk membantu embrio terlepas dari chorion pada waktu yang tepat (Heryastuti *et al.*, 2016). Enzim chorionase adalah enzim yang terdiri dari *pseudokeratine* yang berfungsi untuk mereduksi lapisan *chorion* hingga lunak (Nurasnih, 2012). Enzim chorionase dikeluarkan oleh kelenjar endodermal di daerah *pharynx* embrio. Bagian cangkang yang tipis dan terkena enzim *chorionase* akan pecah dan ekor embrio keluar dari cangkang diikuti tubuh dan kepala. Semakin aktif embrio bergerak maka semakin cepat penetasan terjadi (Faridah *et al.*, 2016).

## 2.7 Kriopreservasi

Teknik kriopreservasi merupakan teknik penyimpanan sel hewan, tumbuhan ataupun materi genetik lain (termasuk semen dan sel telur dalam keadaan beku). Dalam hal ini, teknik kriopreservasi dilakukan pada suhu yang sangat rendah (-196

°C) dalam nitrogen cair. Teknik kriopreservasi dapat dibedakan menjadi 2 yaitu teknik konvensional (pembekuan lambat terkontrol) dan teknik pembekuan cepat. Teknik kriopreservasi konvensional dapat juga disebut dengan teknik pembekuan dua tahap. Sedangkan teknik pembekuan cepat, sebagian besar air yang berada di dalam sel dikeluarkan sebelum terjadi pembekuan intraseluler dan digantikan dengan krioprotektan, sehingga pada saat pembekuan tidak terjadi Kristal es (Valerdi *et al.*, 2009). Proses kriopreservasi meliputi:

1. Dehidrasi, yaitu proses pergantian cairan bebas yang ada dalam sel (sitoplasma) dengan larutan krioprotektan melalui proses difusi ke dalam sel.
2. Pembekuan, tahapan pada saat sel atau organ dan larutan berada dalam nitrogen cair (-196 °C) membentuk padatan *solid glass*.
3. *Warming*, yaitu tahap terjadinya perubahan kembali bentuk padatan menjadi cair.
4. *Rehidrasi*, yaitu proses masuknya kembali cairan bebas ke dalam sel untuk menggantikan kedudukan krioprotektan.

Kelebihan kriopreservasi secara umum yaitu bahan atau materi dapat disimpan dalam waktu tidak terbatas, dapat digunakan setiap saat, dapat dikoleksi setiap saat, melestarikan plasma nutfah dan tidak perlu mengimpor atau memelihara induk-induk unggul serta tidak membutuhkan ruangan yang besar karena tabung nitrogen cukup memadai untuk menyimpan bahan dalam ragam dan jumlah yang banyak. Sementara itu, kekurangan adalah biaya pelaksanaan yang cukup mahal, memerlukan tenaga yang terampil, nitrogen cair perlu tersedia secara kontinyu dan hanya materi genetik yaitu termasuk sel telur yang berkualitas baik yang dapat dan layak dibekukan (Toelihere, 1985).

### 2.7.1 Krioprotektan

Krioprotektan ialah zat kimia nonelektrolit yang berperan dalam mengurangi pengaruh mematkan selama pembekuan baik berupa pengaruh larutan maupun adanya pembekuan kristal es sehingga viabilitas sel dapat dipertahankan. Berdasarkan cara kerjanya krioprotektan dikelompokkan mejadi *penetrating* (bekerja di dalam dan di luar sel), seperti etilen glikol dan propilen glikol dan non-penetrating (hanya di luar sel), seperti sukrosa, glukosa, atau fruktosa (Berdasarkan bahan aktif yang dikandungnya. Berdasarkan bahan yang terkandung didalamnya krioprotektan dikempokkan menjadi dua golongan yaitu kelompok alkohol (etilen glikol, gliserol, dan lain-lain) dan kelompok amida (dimetilformamid, asetamid, metilformamid, dan lain-lain) (Alvarenga *et al.*, 2005).

Penambahan larutan krioprotektan pada proses kriopreservasi bertujuan untuk memelihara keutuhan membran sel serta meningkatkan potensial osmotik media sehingga cairan di dalam sel mengalir keluar dan sel mengalami dehidrasi. Kemampuan proteksi krioprotektan terhadap membrane sel merupakan indikasi dan interaksi berjalan baik antara krioprotektan dan membran sel. Interaksi ini dapat mengurangi kerusakan membran sel pada saat terjadi perubahan keadaan dari relatif cair ke struktur relatif padat dan juga pada saat perubahan sebaliknya yaitu kembali ke stuktur yang relatif cair selama proses pencairan (Kostaman dan Setioko, 2011).

Menurut Squires *et al.* (2004), dasar pemilihan jenis krioprotektan untuk pembekuan materi genetik selain mengandung bahan yang bekerja melindungi sel pada saat pembekuan juga harus mempunyai bobot molekul yang lebih kecil agar lebih mudah dan cepat penetrasi ke dalam sel, sehingga mengurangi toksisitas akibat osmolaritas yang tinggi dan mudah larut dalam air. Pengaruh Krioprotektan

dalam melindungi sel pada saat kriopresrvasi selain dari cara kerjanya, juga dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasinya. Krioprotektan yang umumnya digunakan adalah *dimethylsulfoxide* (DMSO), *dimethylformamide* (DMF), *dimethylacetamide* (DMA) dan gliserol.

### 2.7.2 DMSO (*Dimetyle Sulfoxide*)

DMSO atau (*Dimetyle Sulfoxide*) merupakan campuran organosulfur dengan rumus kimia  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$  dan memiliki berat molekul 78,3 gr/mol berasal dari produk sampingan pengolahan kayu untuk pembuatan kertas (Fahy *et al.*, 2004). DMSO adalah bahan pelarut polar aprotik yang penting. DMSO juga dikenal sebagai krioprotektan konvensional yang ditambahkan ke media sebagai sel untuk mencegah kematian sel selama proses pembekuan. DMSO memiliki titik beku yang tinggi, suhu kamar merupakan suhu padatan yang dapat membatasi kegunaan DMSO dalam proses kimia (seperti kristalisasi pada waktu *cooling*) (Han *et al.*, 2005).

DMSO merupakan krioprotektan yang sering dipakai untuk pembekuan sel secara umum serta pembekuan ovarium secara konvensional. DMSO merupakan salah satu krioprotektan yang bersifat intraseluler. Pemakaian DMSO bertujuan untuk memelihara membran, menjaga keutuhan membran serta meningkatkan potensial osmotik media sehingga cairan dalam sel mengalir keluar dan terjadi dehidrasi (Bebas dan Laksmi, 2014). Proteksi krioprotektan terhadap membran sel merupakan indikasi dari interaksi yang berjalan baik antara krioprotektan dan membran sel. Interaksi ini dapat mengurangi kerusakan membran sel ketika terjadi perubahan keadaan dari relatif cair ke struktur relatif padat dan juga sebaliknya

perubahan keadaan dari relatif padat kestruktur relatif cair selama proses pencairan (*thawing*).

DMSO sebagai krioprotektan penetrasi dalam sel memiliki mekanisme kerja sebagai berikut, DMSO akan masuk kedalam sel telur menggantikan sejumlah air bebas, selanjutnya mendesak atau mendorong keluarnya elektrolit intraseluler sampai pada titik konsentrasi yang tidak membahayakan bagi struktur sel telur selama proses penyimpanan sel telur pada suhu yang rendah (Sutarjo, 2014).

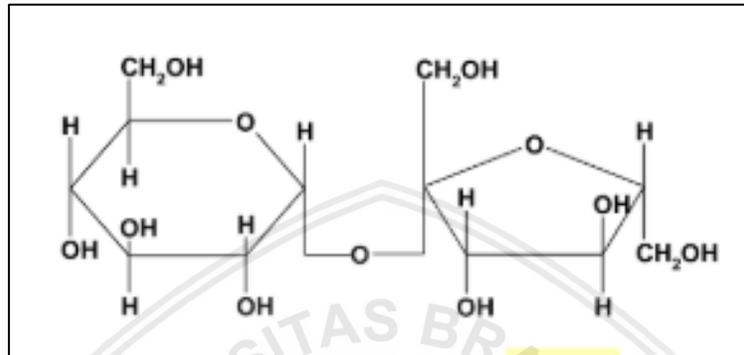
### 2.7.3 Sukrosa

Sukrosa adalah pemecahan dua unit disakarida, apabila dihidrolisis berubah menjadi molekul monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa dengan rumus kimia  $C_{12}H_{22}O_{11}$  yang berhubungan dengan ikatan glikolisis atau siklus krebs. Siklus krebs tersebutlah yang menghasilkan ATP dan ADP. Dimana ATP serta ADP tersebut yang digunakan sebagai sumber cadangan energi untuk telur ikan (Anwar *et al.*, 2014).



Sukrosa berperan sebagai ekstender yang bersifat tidak penetrasi ke dalam sel telur ikan. Peran ATP (*Adenonin phosphate*) tercermin oleh status metabolisme dan pemeliharaan. Penurunan dan kurangnya akan ATP akan mempengaruhi kelangsungan hidup. Hal ini berkaitan dengan aktivitas mitokondria yang bertanggung jawab untuk memproduksi ATP dan akumulasi energi. Mitokondria sel sangat rentan terhadap proses pembekuan. Sukrosa akan bekerjasama dengan krioprotektan seperti DMSO yang bekerja melindungi telur dari dalam. Selain

memberikan energi untuk mitokondria sukrosa juga bertugas melindungi lapisan telur bagian luar. Sukrosa merupakan ekstender yang tahan terhadap tekanan osmotic. Sukrosa ini berfungsi untuk mengontrol peningkatan volume sel dan membatasi gerakan air dalam melintasi membran sel (Leibo dan Mazur, 1978).



**Gambar 2. 11** Molekul Sukrosa (Sumbono, 2015).

Sukrosa melindungi membrane sel telur selama pendinginan dan pembekuan dengan cara membentuk ikatan hidrogen pada sisi O2 dan O3 atau O3 dan O4 dari glukosa penyusun sukrosa dengan kelompok fosfat dan karbonil dari lipid bilayer, serta membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino penyusun protein membrane sel telur. Dengan terbentuknya ikatan ini maka stabilitas membran sel telur bisa dipertahankan (Sum, Faller dan de Pablo, 2003). Selain itu sukrosa juga berperan sebagai anti oksidan yang membersihkan radikal bebas (Banaroudj, Lee dan Goldberg, 2001), sehingga stres oksidatif yang bisa menurunkan kualitas sel telur akan ditekan.

#### 2.7.4 Pembekuan

Pembekuan pada dasarnya adalah suatu proses pengeringan fisik di bawah titik beku suatu larutan atau cairan. Bilamana suatu larutan dibekukan, maka zat pelarutnya yang berupa air akan membeku dan membentuk kristal-kristal es

sedangkan bahan terlarutnya tidak dapat bersatu dengan kristal-kristal es tersebut, melainkan berakumulasi dan semakin pekat. Kristal-kristal es yang terdapat di dalam sel ini dapat merusak secara mekanik, sedangkan konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipoprotein pada dinding sel (Windiastika, 2013).

Lama pembekuan mengakibatkan sel terdehidrasi sejalan dengan lama waktu pemaparan bahan kriopreservasi terhadap pembekuan dengan nitrogen cair. Sel yang terdehidrasi terlalu kuat dapat mengalami plasmolisis yang kuat pula sehingga berakibat terhadap perubahan pH, interaksi mikromolekuler, dan peningkatan konsentrasi zat elektrolit. Pada saat pelelehan, kontraksi osmotik dapat menyebabkan endositotik vesikulasi irreversibel yang mengakibatkan sel lisis karena bahan membran yang baru tidak mampu memfasilitasi deplasmolisis (Rostika dan Mariska, 2003).

## **2.8 Kualitas Air**

### **2.8.1 Suhu**

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi proses embriogenesis pada telur ikan Lele dumbo (*Clarias sp.*) adalah suhu. Suhu wadah inkubasi telur berpengaruh terhadap perkembangan organ larva pada stadia organogenesis, daya tetas telur, tingkah laku larva, dan abnormalitas tubuh larva. Setiap jenis ikan memiliki rentang suhu optimal yang berbeda dalam perkembangan dan daya tetas telurnya. Umumnya ikan yang hidup diperairan sub-tropis mampu tumbuh dan berkembang dengan baik pada kisaran suhu antara 25-31 °C (Wahyuningtyas *et al.*, 2015).

Lama waktu penetasan telur pada setiap spesies ikan dipengaruhi oleh suhu. Ketika terjadi kenaikan suhu dalam kisaran yang toleran, maka metabolisme dalam

telur akan berkembang lebih cepat. Telur dengan suhu yang optimal dapat berkembang dengan baik dan mengoptimalkan pemanfaatan kuning telur dengan maksimal. Perkembangan telur ikan Lele dumbo (*Clarias sp.*) optimal pada suhu 28-30°C. Cara untuk menjaga kestabilan suhu perairan inkubator dapat dilakukan dengan cara meletakkan inkubator dalam ruangan bersuhu hangat dan tertutup. Umumnya ruangan inkubator memakai fiberglass sebagai atap. Cara sederhana yang dapat dilakukan adalah dengan meletakkan heater akuarium dengan suhu yang sudah ditentukan pada akuarium inkubator (Aer *et al.*, 2015).

### **2.8.2 Derajat Keasaman (pH)**

Derajat keasaman perairan sangat menentukan kualitas perairan budidaya. Pada umumnya derajat keasaman perairan yang sesuai untuk semua jenis ikan, terutama Lele berada pada kisaran 6,7-8,6. Derajat keasaman yang relatif rendah dapat menurunkan laju pertumbuhan dan dapat menyebabkan peningkatan kadar amonia di perairan (Mambrasar *et al.*, 2015).

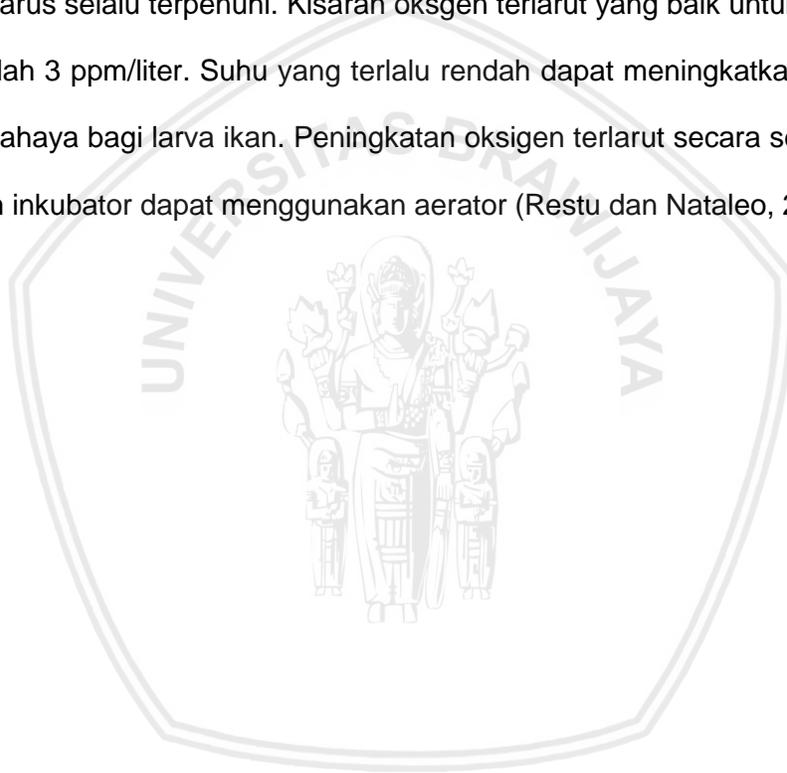
Batas toleransi organisme perairan terhadap derajat keasaman sangatlah bervariasi dan berbeda-beda. pH yang berada dibawah normal akan bersifat asam dan pH yang berada di atas batas normal bersifat basa. Kisaran pH yang baik untuk perikanan adalah berkisar antara 6,5 – 8,5. Derajat pH yang terlalu asam hingga kurang dari 4 atau terlalu basa diatas 11 dapat menyebabkan kematian pada telur ikan Lele dumbo (*Clarias sp.*). Pengaturan pH secara sederhana pada akuarium inkubator dapat dilakukan dengan memberi tambahan soda kue dan diendapkan (Murni *et al.*, 2015).

### **2.8.3 Oksigen Terlarut (DO)**

Kandungan oksigen air merupakan oksigen yang terlarut didalam perairan. Sumber oksigen di perairan dapat berasal dari tanaman, aliran air serta difusi

oksigen dari udara ke perairan. Tanaman menghasilkan oksigen diperairan melalui proses fotosintesis. Pada perairan oksigen terlarut tertinggi berada pada kisaran antara 6 - 8 mg/l. Peningkatan kadar oksigen terlarut secara buatan pada aquarium inkubator dapat dilakukan menggunakan pompa air atau blower (Amri dan Khairuman, 2008).

Kadar oksigen terlarut merupakan faktor pembatas yang penting untuk perkembangan dan pertumbuhan ikan terutama pada larva. Kebutuhan oksigen terlarut harus selalu terpenuhi. Kisaran oksigen terlarut yang baik untuk pertumbuhan ikan adalah 3 ppm/liter. Suhu yang terlalu rendah dapat meningkatkan metabolisme dan berbahaya bagi larva ikan. Peningkatan oksigen terlarut secara sederhana pada akuarium inkubator dapat menggunakan aerator (Restu dan Nataleo, 2016).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian disajikan pada Tabel 3.1 sebagai berikut:

**Tabel 3. 1 Alat – alat penelitian**

No.	Alat	Fungsi
1.	Kolam Beton ukuran 2x1x1 m <sup>3</sup>	Untuk tempat pemeliharaan induk ikan Lele dumbo ( <i>Clarias sp.</i> )
2.	Akuarium inkubator ukuran 1,5 m x 0,5 m	Untuk wadah pemeliharaan telur dan larva ikan Lele dumbo ( <i>Clarias sp.</i> )
3.	<i>Stopwatch</i>	Untuk membantu menghitung waktu pengamatan
4.	Termometer Hg	Untuk menunjukkan indikator suhu
5.	Pompa filter	Untuk mendukung kebersihan air akuarium
6.	DO meter	Untuk mengukur derajat oksigen terlarut perairan
7.	pH meter Lovibond	Untuk mengukur derajat keasaman perairan
8.	Seser	Untuk membantu dalam pengambilan ikan
9.	Mikroskop Binokuler Olympus CX-21	Untuk membantu dalam pengamatan embrio
10.	Pipet volume	Untuk mengambil DMSO yang sudah ditentukan volumenya
11.	Timbangan Oz	Untuk menimbang ikan dengan ketelitian 10 <sup>-1</sup>
12.	<i>Object glass</i>	Untuk meletakkan sampel telur yang diamati
13.	Meteran kain	Untuk membantu mengukur panjang ikan
14.	Pipet tetes 1 ml	Untuk membantu mengambil larutan dalam skala kecil
15.	Lap basah	Untuk membantu pengondisian ikan agar tidak stress
16.	Saringan teh	Untuk meletakkan sampel telur yang dibuahi
17.	<i>Beaker glass</i> PYREX® 500 ml	Untuk meletakkan dan larutan

Tabel 3.1 Lanjutan

No.	Alat	Fungsi
18.	Inkubator	Untuk meletakkan telur yang sudah dibuahi
19.	Gelas ukur PYREX® 50 ml	Untuk membantu menakar volume larutan
20.	<i>Heater</i>	Untuk membantu menaikkan suhu perairan di akuarium
21.	Cawan petri	Untuk menampung dan mensortir telur
22.	Spatula	Untuk menghomogenkan larutan pengencer
23.	Botol timbang	Untuk meletakkan larutan DMSO yang sudah dihomogenkan
24.	Gelas arloji	Untuk membantu dalam pemberian perlakuan dengan larutan DMSO
25.	<i>Tube appendorf</i>	Untuk menampung telur yang akan dibekukan
26.	Kamera digital	Untuk membantu mendokumentasikan pengamatan
27.	Meteran jahit	Untuk mengukur panjang induk ikan
28.	Termos kaca kapasitas 5,8 L	Untuk wadah nitrogen cair
29.	Termos kaca kapasitas 1 L	Untuk meletakkan telur yang akan dibekukan
30.	Pipa akuarium	Untuk mengalirkan dengan merata
31.	Paranet	Untuk menutup dan menyangga wadah inkubator akuarium agar terhindar dari predator
32.	<i>Sprayer</i>	Untuk tempat alkohol 70%
33.	<i>Washing bottle</i>	Untuk tempat aquadest
34.	Spons	Untuk membersihkan akuarium
35.	Bak plastik	Untuk membantu memindahkan indukan ke kolam beton dan alas penimbangan induk ikan
36.	Penggaris	Untuk mengukur panjang larva ikan
37.	Nampan	Untuk menempatkan alat dan bahan penelitian
38.	Bola hisap	Untuk membantu mengambil larutan pada pipet volme
39.	Mangkok plastic	Untuk wadah telur dan sperma ikan Lele dumbo ( <i>Clarias</i> sp.)
40.	Handtally counter merk KW-triO 2410	Untuk alat bantu menghitung telur
41.	Termometer akuarium	Untuk mengetahui suhu dalam akuarium
42.	Selang cateter ukuran 10	Untuk mengetahui tingkat kematangan gonad induk ikan Lele dumbo ( <i>Clarias</i> sp.) betina
43.	<i>refrigerator</i>	Untuk menyimpan bahan dalam suhu rendah

### 3.1.2 Bahan Penelitian

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini telah disajikan pada

Tabel 3.2 sebagai berikut:

**Tabel 3. 2 Bahan Penelitian**

No.	Bahan	Fungsi
1.	Induk ikan Lele dumbo ( <i>Clarias</i> sp.) jantan dan betina matang gonad	Sebagai bahan yang akan diamati untuk diambil telur dan spermanya
2.	Akuades	Sebagai bahan yang digunakan untuk melarutkan DMSO dan sukrosa
3.	<i>Dymetyle sulfoxide</i>	Sebagai bahan yang digunakan untuk krioprotektan
4.	Hormon ovaprim merk syndel 10 ml	Sebagai perangsang pematangan gonad
5.	Sukrosa	Sebagai bahan yang digunakan untuk ekstender
6.	Tisu	Sebagai bahan untuk membantu membersihkan alat dan bahan pengamatan
7.	Alkohol	Sebagai bahan untuk membantu pengondisian aseptis
8.	Aluminium foil	Sebagai bahan untuk membungkus larutan DMSO agar suhu tetap stabil
9.	Alkohol 70%	Sebagai bahan untuk pengondisian aseptis
10.	Air	Sebagai media hidup ikan
11.	Kertas label	Sebagai bahan untuk membantu memberi tanda perlakuan
12.	Pelet	Sebagai pakan buatan untuk induk
13.	Sabun cuci	Sebagai bahan untuk membersihkan akuarium
14.	Nitrogen cair	Sebagai pembeku telur pada proses kriopreservasi
15.	<i>Metylen blue</i>	Sebagai larutan untuk mencegah jamur pada telur
16.	Bulu ayam	Sebagai alat untuk menghomogenkan telur dan sperma
17.	NaCl 0,9 %	Sebagai larutan pengencer telur dan ovaprim
18.	Tube appendorf	Sebagai wadah telur saat dibekukan
19.	Benang jahit	Untuk menandai sampel telur saat pembekuan

### 3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian adalah metode eksperimental. Menurut Kadji (2016), metode eksperimental adalah salah satu metode kuantitatif yang sering digunakan. Metode eksperimental menggunakan alat tertentu dan dilakukan lebih dari satu kali percobaan. Tujuan metode eksperimental adalah untuk mendapatkan hasil yang menunjukan sebab akibat.

Menurut Simamora (2009), kelebihan metode eksperimental adalah sebagai berikut:

1. Memperjelas dan perkuat kesimpulan berdasarkan percobaan
2. Mengembangkan sikap studi eksplorasi tentang ilmu dan teknologi
3. Menciptakan terobosan atau penemuan terbaru yang dapat berkelanjutan.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Menurut Sastosuspadi (2000), RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen. Metode RAL banyak digunakan pada laboratorium, rumah kaca, perikanan dan peternakan. percobaan RAL telah disajikan sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

$$i=1, 2, \dots, t$$

$$j = 1, 2, \dots, r$$

Keterangan:

- $Y_{ij}$  = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j  
 $\mu$  = nilai tengah umum  
 $T_i$  = Pengaruh perlakuan ke-1  
 $e_{ij}$  = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-1 dan ulangan ke-j

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sutarjo (2014), Lama pembekuan yang digunakan pada kriopreservasi telur ikan mas (*Cyprinus carpio*) yakni dilakukan selama 10 menit sehingga pada penelitian ini dilakukan pra penelitian untuk menemukan rentang lama waktu pembekuan yang baik dan dapat digunakan pada telur ikan Lele. Lama pembekuan yang digunakan sebagai pra penelitian yaitu dengan lama waktu 0 menit, 10 menit, 20 menit, 30 menit, dan 40 menit. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dan diletakkan secara acak dengan penggunaan larutan krioprotektan DMSO 0,75 M dan konsentrasi sukrosa yang digunakan 0,25 M. Pada hasil pra penelitian ini menunjukkan bahwa daya fertilisasi dan daya tetas telur ikan Lele yang paling banyak berada pada lama pembekuan selama 10 menit, sehingga diperoleh dan digunakan rentang lama pembekuan untuk telur ikan Lele dumbo yang digunakan pada penelitian sebagai berikut:

- Perlakuan A : Lama pembekuan 5 menit
- Perlakuan B : Lama pembekuan 10 menit
- Perlakuan C : Lama pembekuan 15 menit
- Perlakuan D : Lama pembekuan 20 menit
- Perlakuan K : Tanpa pembekuan



**Gambar 3. 1** Denah Peletakan Hasil Pengacakan

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Persiapan dan Pemeliharaan Induk**

Pemeliharaan induk pada penelitian dilakukan selama 2 minggu. Induk yang digunakan dalam penelitian berasal dari UPT Sumber Pasir, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Induk yang digunakan adalah induk matang gonad dengan ciri-ciri induk jantan, memiliki tubuh yang ramping, bergerak aktif, alat kelamin kemerahan dan membengkak dan memiliki berat tubuh sekitar 2 kg. Sedangkan, induk betina memiliki ciri-ciri perutnya buncit, pergerakan cenderung pasif, alat kelamin berwarna merah dan membengkakan dan memiliki berat tubuh sekitar 2 kg.

Wadah yang digunakan untuk perawatan induk adalah kolam beton berukuran 2x1x1 m<sup>3</sup> (induk jantan dan betin terpisah). Kolam beton dikuras dan digosok dinding serta dasar kolamnya untuk menghilangkan lumut dan kotoran. Kolam beton yang telah bersih dikeringkan selama kurang lebih 2 hari. Kolam kemudian diisi air 2/3 bagian dan dimasukkan induk ikan Lele. Selama pemeliharaan induk ikan Lele diberi pakan pelet setiap 2 kali sehari secara adlibitum. Pemeliharaan induk diharapkan dapat menjaga kualitas telur dan sperma ikan Lele dan mencegah Lele stress saat penanganan.

#### **3.4.2 Persiapan Wadah Inkubasi Telur**

Akuarium yang digunakan pada penelitian untuk wadah ikubasi telur serta penetasan telur memiliki ketebalan 5 mm yang diisi dengan air setinggi 10 cm. Akuarium tersebut diberi *heater* dan ditempel termometer akuarium untuk mengetahui dan menjaga suhu air. Akuarium juga diberi pompa akuarium untuk mensuplai oksigen dan menjaga agar air tetap mengalir. Selain itu, akuarium diberi paranet besi berlapis plastik untuk menyangga kotak inkubasi agar tidak tenggelam.

Ketika suhu pada wadah inkubasi telur ikan Lele dumbo mengalami fluktuasi maka yang dilakukan adalah dengan mengontrol suhu menggunakan thermometer. ketika suhu dalam wadah inkubasi telur mengalami penurunan maka skala suhu pada heater dinaikkan dengan cara memutar skala suhu pada heater yang digunakan sesuai suhu yang diinginkan, begitu pula sebaliknya saat suhu dalam inkubasi tinggi.

Kotak inkubasi telur menggunakan kotak plastik yang diberi lubang berdiameter 4 cm di bagian dinding dan ditutup dengan kain saring untuk mencegah telur bercampur dan sebagai saluran pergantian air. Kotak inkubasi disusun sejajar di atas paranet dan diisi air. Masing-masing kotak diberi label sesuai perlakuan menggunakan kertas label.

### 3.4.3 Persiapan dan Pembuatan Larutan Krioprotektan

Krioprotektan yang digunakan dalam penelitian adalah DMSO (*Dimetil Sulfoxida*) dengan konsentrasi perlakuan sebesar 0,75 M. DMSO diencerkan dengan aquades sesuai dengan nilai molar yang dibutuhkan, pengenceran DMSO menggunakan rumus sebagai berikut:

$$M = \frac{1000 \times \rho \times \%massa}{Mr}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

- Keterangan :
- M : molaritas
  - 1000 : konversi L ke ml
  - $\rho$  : massa jenis pelarut
  - Mr : Molekul Relatif DMSO (78,13 g. mol<sup>-1</sup>)
  - M1 : molaritas DMSO pekat (14,1 M)
  - V1 : volume DMSO yang ditambahkan (ml)
  - M2 : molaritas DMSO yang dicari (0,75 M)
  - V2 : Volume larutan yang dibutuhkan (20 ml)

DMSO dituangkan sesuai volume yang telah ditentukan ke dalam gelas ukur kemudian dituang ke dalam *beaker glass*. Aquades ditambahkan sesuai volume yang telah ditentukan ke dalam *beaker glass* lalu homogenkan larutan dengan cara dikocok secara perlahan. Larutan dimasukkan ke dalam botol bening dan bungkus dengan *aluminium foil* untuk menstabilkan suhu dan mencegah paparan sinar matahari secara langsung.

#### 3.4.4 Persiapan dan Pembuatan Larutan Ekstender

Ekstender yang digunakan dalam penelitian adalah sukrosa dengan konsentrasi 0,25 M. Sukrosa yang digunakan berbentuk bubuk dan diencerkan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$m = \frac{\text{gram} \times 1000}{Mr \times \rho}$$

Keterangan: m : molalitas  
 1000 : konversi L ke ml  
 gram : massa zat terlarut  
 $\rho$  : massa jenis pelarut  
 Mr : Molekul Relatif DMSO (78,13 g. mol<sup>-1</sup>)

Serbuk sukrosa yang telah ditentukan beratnya dituang ke dalam *beaker glass* dan ditambah aquades sesuai volume yang telah ditentukan. Larutan kemudian dihomogenkan dengan cara dikocok secara perlahan. Larutan yang telah homogen kemudian dipindahkan ke dalam botol bening dan bungkus menggunakan *aluminium foil* untuk menstabilkan suhu dan mencegah paparan sinar matahari secara langsung.

### 3.4.5 Proses Pemijahan

Pemijahan induk Lele yang digunakan pada penelitian adalah pemijahan buatan. Proses yang dilakukan yaitu, induk jantan dan betina yang akan dipijahkan diperiksa kembali kondisi tubuh dan tingkat kematangan gonad serta dilakukan penimbangan berat tubuh. Induk betina dilakukan pengecekan dengan menggunakan selang kateter ukuran 10. Selang kateter dimasukan kedalam anus. Disedot kateter hingga telur keluar sebagian dan dicek tingkat kematangan telurnya.

Sebelum induk ikan Lele betina *distripping*, dilakukan penyuntikan ovaprim untuk merangsang ovulasi. Dosis ovaprim yang diberikan sebanyak 0,5 ml/1 kg berat tubuh induk ikan Lele. Ovaprim diencerkan menggunakan NaCl fisiologis 0,9 % dengan perbandingan 1:1. Ovaprim disuntikkan pada bagian *intra muscular* kanan dan kiri dengan proporsi ovaprim yang sama. Induk ikan Lele betina kemudian dimasukan kembali ke kolam perawatan dan ditunggu kurang lebih 6-8 jam. Induk ikan Lele betina kemudian *distripping* dengan mengurut bagian perut secara perlahan dan searah dari belakang *opercullum* menuju anus. Kemudian, telur induk ikan Lele betina yang didapat ditampung ke dalam baskom plastik dan ditutup dengan kain basah.

Pada induk ikan Lele dumbo jantan, pengambilan sperma dilakukan dengan cara membedah gonad jantan. Hal ini disebabkan karena ukuran kantung sperma ikan Lele kecil dan bergerigi, sehingga sperma tidak dapat *distripping*. Prosedur pengambilan sperma induk ikan Lele dumbo jantan, yaitu ditutup bagian kepala ikan dengan kain basah agar ikan tetap tenang. Kepala dipotong dari belakang *opercullum* hingga putus. Selanjutnya perut dibedah menggunakan gunting *sectio* mulai dari anus keatas. Kemudian, sperma induk jantan diambil dan dilarutkan dengan NaCl fisiologis 0,9%.

#### 3.4.6 Proses Pembekuan (Vitrifikasi)

Proses pembekuan dilakukan menggunakan nitrogen cair dengan derajat pembekuan sebesar  $-196^{\circ}$  C. Langkah pembekuan telur, yaitu diambil telur ikan Lele dumbo sebanyak 60-80 butir dan diletakan ke cawan petri. Telur direndam dengan larutan DMSO 0,75 M sebanyak 4-5 tetes (0,22 ml) selama 10 menit. Ditiriskan telur dan dibilas menggunakan NaCl 4-5 tetes (0,22 ml) sebanyak 3 kali selama 2 menit untuk menghilangkan sisa DMSO yang tersisa. Diberi larutan sukrosa 0,25 M sebanyak 4-5 tetes (0,22ml) dan direndam telur selama 2 menit. Telur dimasukkan ke dalam tube dan diberi label dengan menggunkan benang jahit dan kertas label. tube berisi telur dimasukkan ke dalam nitrogen cair sesuai dengan perlakuan masing-masing yaitu perlakuan A selama 5 menit, perlakuan B selama 10 menit, perlakuan C selama 15 menit, perlakuan D selama 20 menit dan perlakuan kontrol 0 menit dengan suhu  $-196^{\circ}$  C. Kemudian setelah telur dibekukan telur dibiarkan dalam suhu ruang selama 5 menit. Kemudian dilakukan proses *thawing*, yaitu dengan cara telur di taruh di cawan petri kemudian cawan petri yang berisi telur diletakkan ke air yang bersuhu  $30^{\circ}$  C selama 10 menit

#### 3.4.7 Fertilisasi

Fertilisasi dilakukan dengan cara, mencampur telur dengan sperma dan diaduk secara perlahan menggunakan bulu ayam. Telur yang telah difertilisasi diletakan ke dalam kotak inkubasi yang telah diberi tanda sesuai perlakuan. Telur yang telah terfertilisasi sempurna apabila dilihat telur berwarna hijau bening dan dilihat dibawah mikroskop akan membentuk zigot pada telur.

#### 3.4.8 Perkembangan Embrio

Pengamatan perkembangan telur ikan Lele yang telah terfertilisasi pada penelitian ini dilakukan mulai dari fertilisasi hingga menjadi larva. Telur yang

menetas ditandai dengan gerakannya memutar dipermukaan air, sedangkan telur yang tidak menetas berwarna hijau keruh dan tenggelam didasar kotak inkubator.

### 3.5 Parameter Uji

#### 3.5.1 Parameter Utama

##### a. Daya Fertilisasi

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah perkembangan embrio ikan Lele dumbo (*Clarias sp.*) mulai dari pembuahan telur sampai telur menetas tersebut (fertilisasi) yang diberi perlakuan kriopreservasi menggunakan krioprotektan dengan dosis yang telah ditentukan. Waktu pemaparan yang dilakukan selama perlakuan yakni selama 10 menit. Pengamatan tingkat fertilisasi dilakukan dengan melihat warna telur setelah dibuahi. Telur ikan yang telah dibuahi memiliki ciri-ciri warna bening dan sudah terlihat inti telur pada bagian tengah telur. Jumlah telur yang terbuahi kemudian dihitung dan dicatat. Perhitungan daya fertilisasi (FR) dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$FR = \frac{\text{Jumlah Telur yang terbuahi}}{\text{Jumlah Keseluruhan Telur}} \times 100\%$$

##### a. Perkembangan Embrio

Pengamatan perkembangan embrio dilakukan di bawah mikroskop. Pengamatan dilakukan setiap 2 jam sekali selama 24 jam. Pengamatan dilakukan untuk mengetahui bagaimana perkembangan embrio mulai fertilisasi hingga menetas serta dapat mengetahui adaya kemungkinan embrio tidak berkembang.

##### b. Hatching rate

Pengamatan daya tetas dilakukan dengan melihat apabila selaput korion telur telah pecah dan larva aktif bergerak. Jumlah telur yang menetas kemudian dicatat

dan dihitung. Menurut Aidil el al. (2016), perhitungan daya tetas dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$HR = \frac{\text{Jumlah Telur Menetas}}{\text{Jumlah Keseluruhan Telur}} \times 100\%$$

### 3.5.2 Parameter Penunjang

Adapun pengamatan parameter penunjang yang dilakukan pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

#### Kualitas Air

Pengamatan kualitas air perlu diperhatikan untuk mendukung kemampuan daya tetas telur ikan dan perkembangan embrio. Kualitas air yang diukur pada media inkubasi telur dan larva ikan Lele dumbo (*Clarias sp.*) diantaranya sebagai berikut:

##### 1. Suhu

Pengamatan parameter penunjang suhu perairan pada akuarium inkubasi telur dilakukan dengan cara menempatkan termometer pada dinding akuarium selama proses inkubasi telur sampai dengan menetas. Pengamatan dilakukan setiap 2 jam sekali mulai dari telur pertama kali dibuahi sampai dengan menetas. Dalam mempertahankan suhu pada perairan inkubasi dapat dibantu dengan water heater menggunakan heater akuarium yang dipasang pada dinding akuarium.

##### 2. Derajat Keasaman (pH)

Pengamatan parameter penunjang derajat keasaman (pH) perairan media inkubasi telur diukur dengan menggunakan pH meter. Pengamatan ini juga dilakukan setiap 2 jam sekali selama proses inkubasi telur ikan Lele dumbo (*Clarias sp.*) mulai dari telur pertama kali diberi dibuahi sampai dengan menetas.

### 3. Oksigen Terlarut (DO)

Pengamatan parameter penunjang oksigen terlarut (DO) pada media inkubasi telur diukur dengan menggunakan DO meter. Pengamatan ini juga dilakukan setiap 2 jam sekali selama proses inkubasi telur ikan Lele dumbo (*Clarias sp.*) mulai dari telur pertama kali diberi dibuahi sampai dengan menetas.

#### 3.6 Analisa Data

Teknik pengambilan data dilakukan dengan cara observasi langsung yaitu dengan cara mengadakan pengamatan secara langsung terhadap subjek yang diamati. Dilanjutkan dengan menganalisa grafik dan tabel waktu fase perkembangan embrio telur ikan Lele dari setiap perlakuan lama perendaman yang diberikan. Berdasarkan analisa grafik tersebut maka akan diketahui telur manakah yang mengalami reaksi setelah perlakuan berdasarkan lama perendaman yang berbeda. Semua analisis dihitung dan diuji secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ) dengan menggunakan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh nyata atau berbeda sangat nyata ( $F_{hitung} > F_{Tabel}$ ) maka untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dan Uji Polinomial Orthogonal. Uji polynomial orthogonal dilakukan untuk mengetahui kurva regresi atau bentuk hubungan antara lama pembekuan pada proses kriopreservasi terhadap daya fertilisasi telur ikan Lele.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Fertilisasi Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*)

Fertilisasi adalah proses bergabungnya inti sperma dan inti sel telur dalam sitoplasma yang akan menghasilkan zigot (Campbell, 2004). Telur yang terbuahi akan berwarna hijau bening dan transparan cerah karena oolema masih utuh sehingga rongga perivitelin tampak jernih dan terdapat inti sel berwarna kekuningan. Telur yang mati atau tidak terbuahi warnanya menjadi putih dan keruh dengan demikian, tingkat fertilitas telur dan derajat tetas telur tersebut bisa diperkirakan.

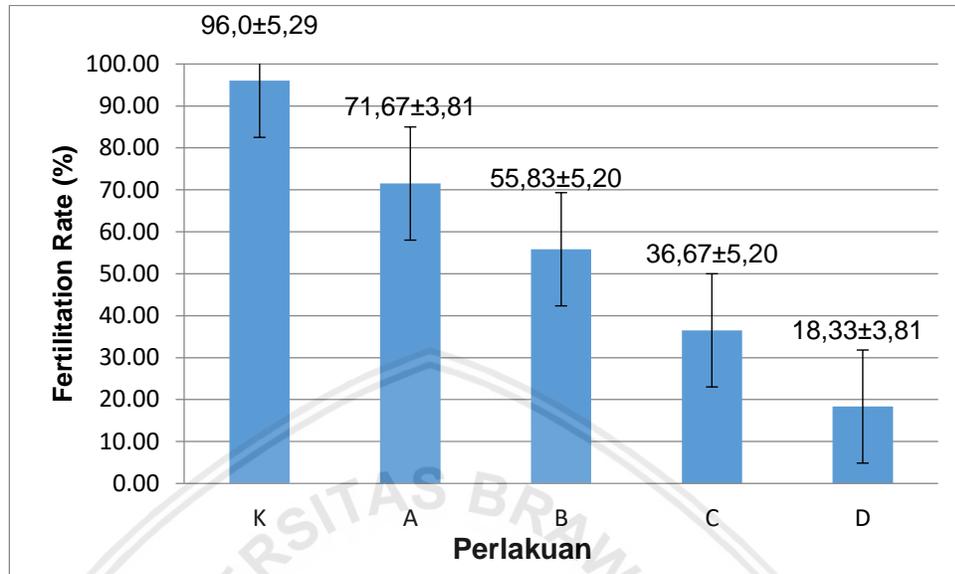
Perlakuan yang diberikan selama penelitian yaitu lama waktu pembekuan telur yang berbeda-beda pada proses kriopreservasi. Perlakuan ini memberikan hasil nilai rata rata yang berbeda terhadap keberhasilan fertilisasi telur. Hasil perhitungan daya fertilisasi disajikan pada tabel 4.1 berikut:

**Tabel 4. 1** Data Fertilisasi Telur Ikan Lele (*Clarias sp.*) (%).

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STDEV
	1	2	3		
A	75	72,5	67,5	215	71,67 $\pm$ 3,81
B	60	57,5	50	167,5	55,83 $\pm$ 5,20
C	35	32,5	42,5	110	36,67 $\pm$ 5,20
D	15	22,5	17,5	55	18,33 $\pm$ 3,81
Total				547,5	

Berdasarkan hasil pengamatan persentase daya fertilisasi telur ikan Lele dumbo setelah 24 jam pengamatan, diperoleh hasil rata-rata persentase pada perlakuan K (0 menit) 96%, perlakuan A (5 menit) 71,67%, perlakuan B (10 menit) 55,83%, perlakuan C (15 menit) 36,67% dan perlakuan D (20 menit) 18,33%. Data tabel diatas menunjukkan bahwa nilai fertilisasi tertinggi dimiliki oleh perlakuan A (5 menit) sebesar 71,67% dan nilai fertilisasi terendah dimiliki oleh perlakuan D (20

menit) sebesar 18,33%. Perbandingan hasil dari tiap perlakuan dapat dilihat pada gambar 4.1, berikut:



**Gambar 4. 1** Diagram perbandingan *fertilization rate* antara masing-masing perlakuan.

Hasil tertinggi daya fertilisasi diperoleh pada perlakuan K (0 menit) dengan dengan nilai rata-rata daya fertilisasi sebesar 96,00±5,29%. Hasil terendah diperoleh pada perlakuan D (20 menit) dengan nilai rata-rata daya fertilisasi sebesar 16,67±3,82%. Pada perlakuan kontrol menunjukkan bahwa perlakuan kontrol memperoleh hasil lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya. Hasil tersebut dapat saja disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya proses pembekuan yang terjadi dengan cepat dapat menyebabkan terganggunya sistem fungsi sel, sehingga sel dapat mengalami kerusakan seiring dengan berjalannya lama waktu penyimpanan.

Pembentukan kristal es selama proses kriopreservasi sel gamet seperti telur menyebabkan terjadinya penumpukan elektrolit dalam sel. Hal tersebut mengakibatkan terjadi kerusakan sel secara mekanik. Pembentukan Kristal es dapat

menyebabkan kerusakan organel seperti lisosom dan mitokondria sehingga dapat menyebabkan kematian pada sel (Gazali dan Tambing, 2002).

Data daya fertilisasi setiap perlakuan kemudian dilakukan uji sidik ragam untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing perlakuan. Hasil perhitungan sidik ragam disajikan pada Tabel 4.2 sebagai berikut:

**Tabel 4. 2** Uji sidik ragam

SK	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	4822,39	1607,46	77,15**	4,07	7,59
Acak	8	166,66	20,83			
Total	11	0,388				

Keterangan : \*\* (berbeda sangat nyata)

Hasil perhitungan analisis sidik ragam pada *Tabel* menunjukkan nilai F hitung lebih besar daripada F Tabel 5% dan F Tabel 1%. Ini menunjukkan bahwa lama pembekuan yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap daya fertilisasi telur ikan Lele dumbo.

Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui beda nyata terkecil dari setiap perlakuan. Data telah disajikan pada Tabel 4.3 sebagai berikut:

**Tabel 4. 3** Uji Beda Nyata Terkecil

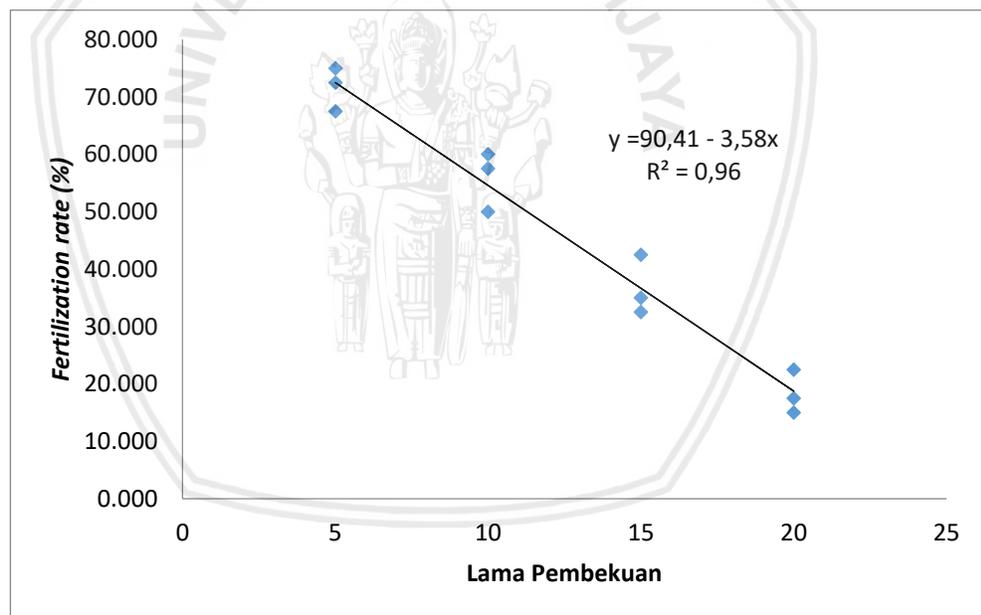
Perlakuan		D	C	B	A	Notasi
		18,33	36,66	55,83	71,66	
D	18,33	-	-	-	-	A
C	36,66	18,33**	-	-	-	B
B	55,83	37,50**	19,16**	-	-	C
A	71,66	53,33**	35,00**	15,83**	-	D

Keterangan : \*\* (berbeda sangat nyata ns ( tidak berbeda nyata)

Dari Tabel 4.3 Uji BNT diketahui bahwa perlakuan B berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A. Perlakuan C berbeda sangat nyata terhadap perlakuan B dan A. Perlakuan D berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A, B dan C. Hal ini dapat

dikarenakan lama pembekuan yang semakin lama dapat memungkinkan terjadinya dehidrasi yang berlebihan sehingga merusak sel-sel yang ada pada telur ikan Lele dumbo. Kerusakan akibat pengaruh lama pembekuan yang lama yaitu keseimbangan potensial air akan terganggu dan air intraseluler akan membeku. Pada derajat penurunan suhu yang sangat cepat akan terbentuk kristal es yang halus didalam sel yang mempunyai energi permukaan yang besar dan tidak stabil serta cenderung membentuk kristal es yang besar. Kondisi ini akan mengakibatkan kerusakan dan kematian sel (Parks dan Graham, 1992).

Uji polynomial orthogonal dilakukan untuk mengetahui kurva regresi atau bentuk hubungan antara lama pembekuan pada proses kriopreservasi terhadap daya fertilisasi telur ikan Lele.



**Gambar 4. 2** Grafik Lama Pembekuan terhadap Daya Fertilisasi

Berdasarkan grafik hubungan antara perbedaan lama pembekuan terhadap daya fertilisasi pada gambar 4.2, dapat diketahui bahwa terbentuk pola kurva linier dengan persamaan  $y = 90,41 - 3,58x$  dengan nilai yang dihasilkan adalah korelasi negatif. Nilai  $R^2$  (koefisien determinasi) = 0,96. Nilai  $R^2$  dapat dikatakan bahwa

pemberian perlakuan lama pembekuan yang berbeda memberikan pengaruh sebesar 96% terhadap daya fertilisasi telur dan 4% dipengaruhi oleh faktor lain seperti kemungkinan masuknya hama dan kotoran selama penelitian. Grafik tersebut menunjukkan bahwa semakin lama pembekuan telur yang diberikan maka nilai fertilisasi akan semakin rendah.

Lama pembekuan sel mengakibatkan sel terdehidrasi sejalan dengan lama waktu pemaparan bahan kriopreservasi terhadap pembekuan. Sel yang terdehidrasi terlalu kuat dapat mengalami plasmolisis yang kuat pula sehingga berakibat terhadap perubahan pH, interaksi mikromolekuler, dan peningkatan konsentrasi zat elektrolit. Pada saat pelelehan, kontraksi osmotik dapat menyebabkan endositotik vesikulasi irreversibel yang mengakibatkan sel mengalami lisis karena bahan membran yang baru tidak mampu memfasilitasi deplasmolisis (Rostika dan Mariska, 2003).

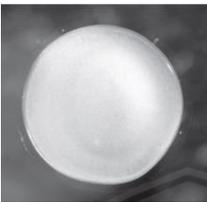
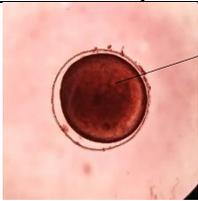
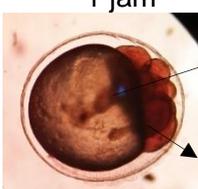
#### **4.2 Perkembangan Embrio Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)**

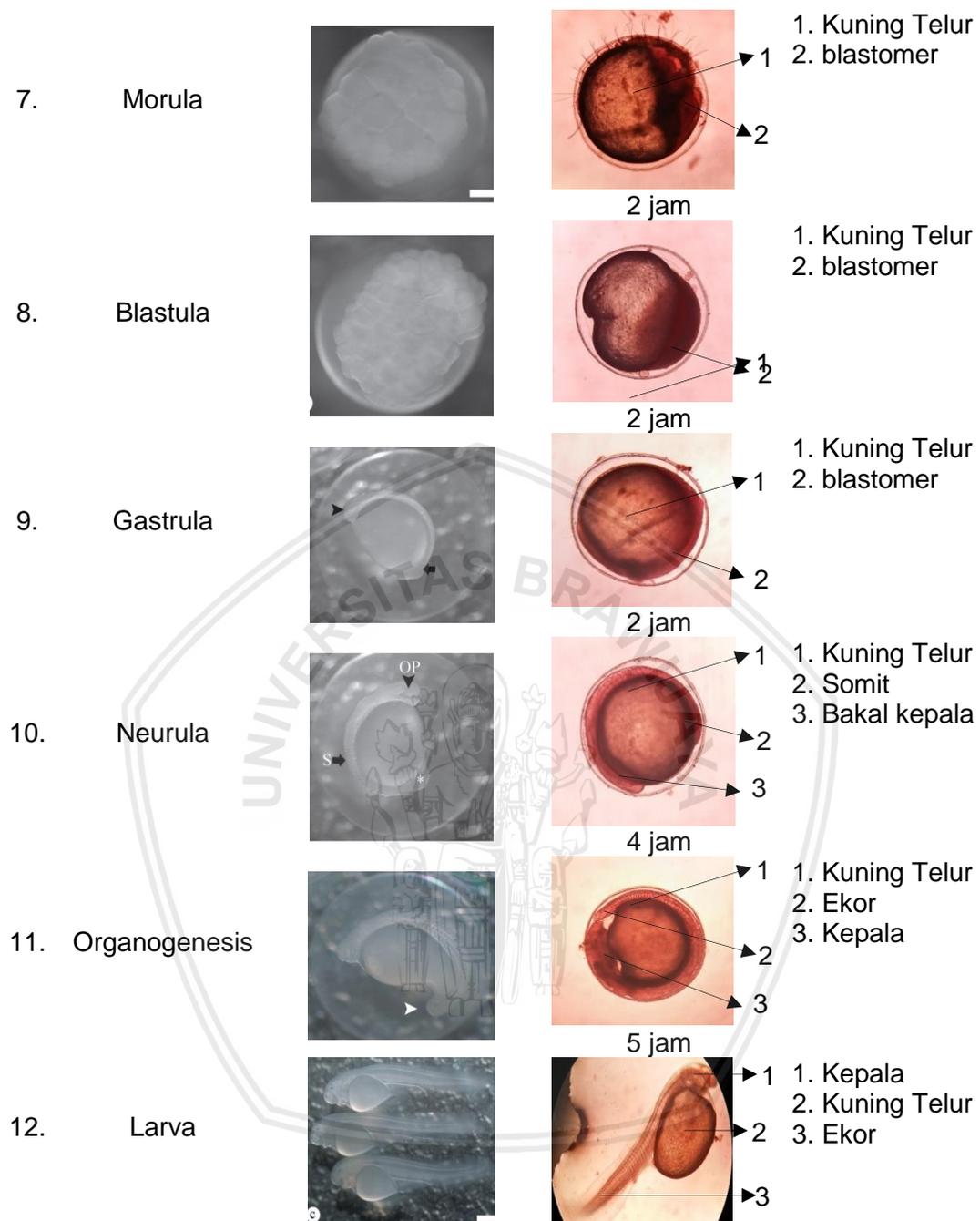
Pengamatan embrio dilakukan setelah perlakuan dan pembuahan. Pengamatan pada fase pembelahan dilakukan setiap 5 menit sekali. Pengamatan dilakukan mulai dari telur fase morula, blastula, gastrula, neurula, organogenesis hingga penetasan dilakukan setiap 2 jam sekali. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.

Pengamatan perkembangan embrio dilakukan setelah telur telah mengalami fertilisasi. Pembuahan terjadi ketika spermatozoa berhasil masuk ke dalam sel telur melewati lubang mikrofil kemudian berkembang menjadi zigot untuk berkembang lebih lanjut yang disebut embriogenesis. Menurut Haviz (2014), embriogenesis merupakan proses pembentukan dan pertumbuhan secara progresif dari sebuah sel

menuju periode organ yang sering juga disebut dengan organogenesis. Proses *embryogenesis* telur ikan Lele dumbo selama penelitian yang disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 4. 4 Perkembangan Embrio Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*)**

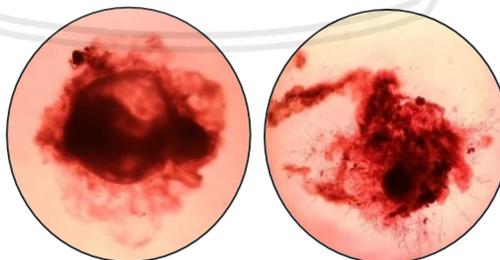
No	Fase	Gambar Litelatur (Honji <i>et al.</i> , 2012) (Perbesaran 400 kali)	Gambar Pengamatan (Perbesaran 400 kali)	Keterangan
1.	Zygot		 0 menit	1. Kuning Telur
2.	1 sel		 15 menit	1. Kuning Telur 2. blastomer
3.	2 sel		 30 menit	1. Kuning Telur 2. blastomer
4.	4 sel		 30 menit	1. Kuning Telur 2. blastomer
5.	8 sel		 1 jam	1. Kuning Telur 2. blastomer
6.	16 sel		 1 jam	1. Kuning Telur 2. blastomer



Pada tabel 4.4 diatas menunjukkan bahwa telur yang telah terfertilisasi dapat tumbuh dan mengalami *embryogenesis* seperti telur normal tanpa perlakuan kriopreservasi. Gambar pada tabel tersebut menunjukkan pola pertumbuhan embrio ikan Lele dumbo (*Clarias sp*), mulai dari setelah pembuahan sampai telur menetas.

Telur umumnya mengalami proses embriogenesis, yaitu proses perkembangan telur hingga menjadi larva definitif. Embriogenesis akan berlangsung pada saat inkubasi dimulai dari proses pembelahan sel telur (*cleavage*), morulasi, blastulasi, gastrulasi, dan dilanjutkan dengan organogenesis yang selanjutnya telur akan menetas. *Cleavage* merupakan proses pembelahan sel pada perkembangan embrio, ukuran sel tersebut semakin lama akan semakin mengecil atau menjadi unit-unit kecil yang disebut blastomer (Affandi *et al.*, 2005).

Selain itu, adapun kerusakan yang terjadi pada telur ikan Lele dumbo yang ditemukan selama dilakukannya penelitian yang dapat dilihat pada gambar 10. Kerusakan telur yang terjadi bisa saja disebabkan ketika proses kriopreservasi diduga terjadinya dehidrasi sel yang berlebihan sehingga menyebabkan telur rusak, dehidrasi tersebut kemungkinan disebabkan oleh lama pembekuan yang dilakukan terlalu lama dan tidak diimbangi dengan dosis krioprotektan DMSO serta ekstender sukrosa yang dapat dikatakan optimal. Selain itu, kerusakan yang lainnya juga dapat disebabkan oleh kesalahan saat proses fertilisasi buatan, salah satunya pada saat proses pencampuran telur dengan sperma menggunakan bulu ayam, dimana bulu ayam yang mempunyai ujung yang tajam dapat menggores dan menyebabkan kerusakan pada telur.



**Gambar 4. 3** Gambar Telur Rusak Selama Penelitian diamati dengan mikroskop perbesaran 400x

Proses pembekuan yang semakin lama dapat memungkinkan terjadinya dehidrasi yang berlebihan sehingga merusak sel yang ada pada telur ikan Lele dumbo. Kerusakan akibat pengaruh proses pembekuan yang lama yaitu keseimbangan potensial air akan terganggu dan air intraseluler akan membeku. Pada derajat penurunan suhu yang sangat cepat akan terbentuk kristal es yang halus didalam sel yang mempunyai energi permukaan yang besar dan tidak stabil serta cenderung membentuk kristal es yang besar. Kondisi ini akan mengakibatkan kerusakan dan kematian sel (Parks dan Graham, 1992).

#### 4.3 *Hatching Rate*

Pengukuran daya tetas telur yang diberi perlakuan kriopreservasi pada suatu proses kriopreservasi sangat perlu untuk dilakukan untuk mengetahui tingkat keberhasilan dari proses kriopreservasi itu sendiri. Pada penelitian ini pengukuran dan perhitungan daya tetas telur dilakukan setelah 24 jam telur di inkubasi. Data hasil pengukuran dan perhitungan daya tetas telur dapat dilihat pada Tabel 7, sebagai berikut:

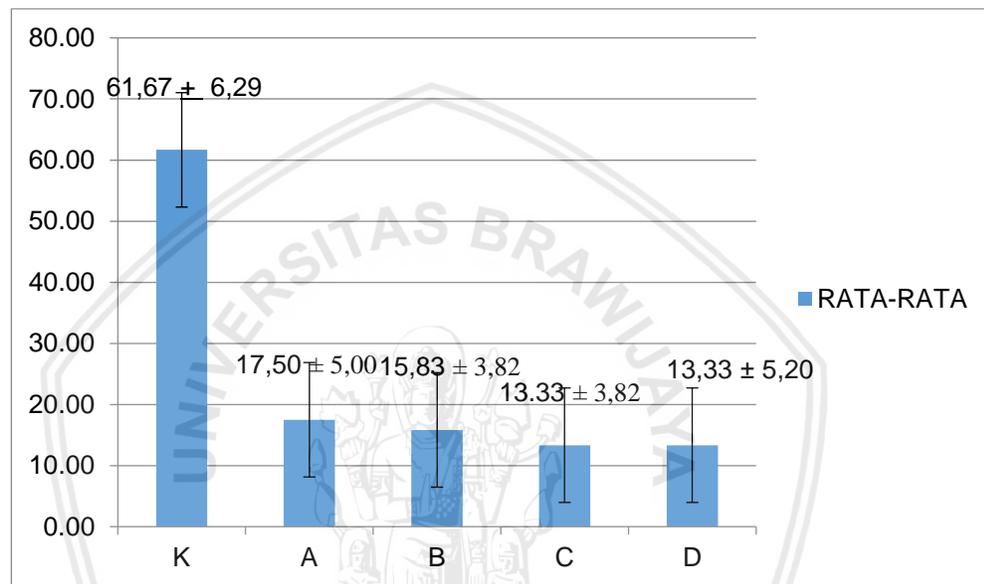
**Tabel 4. 5 Data Daya Tetas Telur Ikan Lele (%)**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STDEV
	1	2	3		
A	17,5	12,5	22,5	52,5	17,50 $\pm$ 5,00
B	15,5	20,0	12,5	47,5	15,83 $\pm$ 3,82
C	17,5	10,0	12,5	40,0	13,33 $\pm$ 3,82
D	7,5	15,0	17,5	40,0	13,33 $\pm$ 5,20
Total				180,00	

Berdasarkan hasil pengamatan persentase daya tetas telur ikan Lele dumbo yang diberi perlakuan lama pembekuan yang berbeda, setelah 24 jam perlakuan, diperoleh hasil rata-rata pada perlakuan perlakuan A (5 menit) 17,50%, perlakuan B (10 menit) 15,83%, perlakuan C (15 menit) 13,33% dan perlakuan D (20 menit) 13,33%. Sedangkan pada Perlakuan kontrol (tanpa pembekuan) diperoleh

persentase daya tetas sebesar 61,67%. Tabel 7 menunjukkan bahwa nilai daya tetas tertinggi dimiliki oleh perlakuan A (5 menit) sebesar 17,50% sedangkan fertilisasi terendah dimiliki oleh perlakuan C (15 menit) dan D (20 menit) sebesar 13,33%.

Perbandingan hasil daya tetas (*hatching rate*) telur ikan Lele dumbo dari setiap perlakuan lama pembekuan dapat dilihat pada Gambar 11, sebagai berikut ini:



**Gambar 4. 4** Diagram Hasil Rata-Rata Daya Tetas pada masing-Masing Perlakuan

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa hasil tertinggi daya tetas (*hatching rate*) pada perlakuan lama pembekuan diperoleh pada perlakuan A (5 menit) dengan dengan nilai sebesar 17,50%. Hasil terendah diperoleh pada perlakuan C (15 menit) dan D (20 menit) dengan nilai sebesar 13,33%. Sedangkan pada perlakuan kontrol (tanpa pembekuan), didapatkan hasil rata-rata daya tetas telur (*hatching rate*) ikan Lele dumbo sebesar 61,67%, hasil tersebut menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol memperoleh hasil lebih tinggi dibanding perlakuan A, hal ini bisa saja terjadi

karena diduga pada perlakuan pembekuan energi internal telur telah habis selama proses pembekuan.

Guna mengetahui pengaruh lama perendaman telur ikan Lele dumbo terhadap daya tetas telur ikan Lele dumbo, dilakukan uji sidik ragam yang dapat dilihat pada tabel 4.6 sebagai berikut:

**Tabel 4. 6 Uji Sidik Ragam**

Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	37.50	12.50	0.62 <sup>ns</sup>	4.07	7.59
Acak	8	162.50	20.31			
Total	11	200.00				

Keterangan <sup>ns</sup> = Tidak Berbeda Nyata

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa nilai F hitung lebih kecil dari F Tabel 5% dan F Tabel 1%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa lama pembekuan dengan waktu yang berbeda tidak berbeda (*not significant*) nyata terhadap daya tetas (*HR*) telur ikan Lele dumbo. Sehingga tidak dilanjutkan uji beda nyata terkecil (BNT).

Rendahnya daya tetas pada telur perlakuan dapat dipengaruhi oleh kurangnya ketersediaan energi pada telur perendaman yang dilakukan. Menurut Guan *et al.*, (2008), ketika melakukan penelitian pada kriopreservasi ikan zebra diketahui bahwa ATP intraseluler mulai menurun seiring dengan lamanya proses pembekuan. Sutarjo (2014) berpendapat bahwa penurunan dan kurangnya ATP akan mempengaruhi kelangsungan hidup. Hal ini berkaitan dengan aktivitas mitokondria yang bertanggung jawab untuk memproduksi ATP dan akumulasi energi karena mitokondria sel sangat rentan terhadap aktivitas pembekuan.

Menurut Gazali dan Tambing (2001) adanya pengaruh buruk akibat lama pembekuan yaitu adanya senyawa peroksida lipid, peroksida lipid terjadi karena

adanya radikal bebas, yaitu senyawa kimia yang memiliki pasangan elektron yang tidak berpasangan. Radikal-radikal bebas tersebut antara lain superoksida ( $O_2$ ), hidroksil (OH) dan peroksil (ROO). Radikal bebas sangat reaktif akan menyebabkan kerusakan pada sel. Efek toksik yang ditimbulkan dari peroksida lipid terhadap sel mencakup penghambatan metabolisme oksidatif, oksidasi sulfhidril, dan penghambatan kerja enzim, modifikasi protein dan asam amino sehingga menyebabkan gangguan pada saat telur akan menetas.

Menurut Lee dan Donaldson (1999), keberhasilan suatu proses kriopreservasi sangat dipengaruhi oleh kombinasi yang tepat antara molalitas krioprotektan dan ekstender untuk mengurangi kerusakan akibat pengaruh lama pembekuan telur, selain itu setiap jenis ikan membutuhkan kombinasi optimal krioprotektan dan ekstender yang berbeda terhadap daya tetas telur.

#### 4.4 Kualitas Air

Ikan Lele merupakan salah satu ikan konsumsi yang digemari masyarakat, selain mempertahankan kualitas sel telurnya yang dihasilkan, perkembangan embrio ikan Lele juga sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Lingkungan yang optimal dapat mendukung perkembangan dan pertumbuhan benih ikan dengan baik. Menurut Khairuman dan Amri (2012), faktor eksternal yang berpengaruh terhadap daya tetas telur adalah lingkungan diantaranya adalah temperatur air, oksigen terlarut, dan pH. Kisaran kualitas air yang didapatkan selama penelitian disajikan pada Tabel 9.

**Tabel 4. 7 Kisaran Nilai Kualitas Air**

Parameter	Kisaran	Literatur (Khairuman dan Amri, 2012)
Suhu ( $^{\circ}C$ )	29 – 30	20 – 30
Oksigen Terlarut (ppm)	3,39 – 4,39	3 – 5
pH	7,15 – 8,39	6,5 – 8

Kisaran kualitas air selama penelitian tersebut diketahui masih sesuai dengan kriteria media inkubasi telur ikan Lele. Disebabkan parameter kualitas air baik suhu, oksigen terlarut dan pH dikontrol selama penelitian berlangsung.



## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini yaitu

- Lama pembekuan telur ikan Lele dumbo yang berbeda berpengaruh terhadap daya fertilisasi (*Fertilization rate*) dan perkembangan embrio namun tidak berpengaruh nyata terhadap daya tetas (*Hatching rate*). semakin lama waktu perendaman telur pada proses kriopreservasi maka akan mempengaruhi daya fertilisasi dan daya tetas telur.
- Pada parameter fertilisasi didapatkan nilai rata-rata terbaik pada perlakuan A (5 menit) sebesar 71,67% dan nilai terendah diperoleh pada perlakuan D (20 menit) yakni sebesar 18,33% dengan nilai koefisien  $R^2$  sebesar 0,96. Sedangkan pada parameter daya tetas telur didapatkan nilai tertinggi pada perlakuan A (5 menit) sebesar 17,50% dan nilai tertinggi pada perlakuan D (20 menit) sebesar 13,33% .

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan hasil semakin lama waktu perendaman telur pada proses kriopreservasi maka akan mempengaruhi daya fertilisasi dan daya tetas telur. Namun belum adanya lama waktu pembekuan yang optimal pada proses kriopreservasi. Sehingga disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh lama perendaman dengan waktu yang lebih optimal, menggunakan rentang waktu yang lebih panjang, menggunakan rentang dosis DMSO yang berbeda, disarankan juga untuk melakukan pengamatan telur sebelum dan sesudah proses *thawing* serta melakukan penelitian yang lebih detail

lagi. Selain itu diharapkan pada penelitian selanjutnya kebersihan media lebih dijaga untuk menghindari kerusakan telur.



## DAFTAR PUSTAKA

- Aer. C. V. S., W. M. Mingkid., and O. J. Kalesaran. 2015. Kejutan suhu pada penetasan telur dan sintasan hidup larva ikan Lele (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Budidaya Perairan*. **3**: 13-18.
- Affandi, Ridwan dan U. M. Tang. 2017. Fisiologi Hewan Air. Intimedia. Malang. 255 hlm.
- Aidil, D., I. Zulfahmih dan Muliani. 2016. Pengaruh suhu terhadap derajat penetasan telur dan perkembangan larva ikan Lele sangkuriang (*Clarias sp. var. sangkuriang*). *JESBIO*. **5** (1): 30 – 34.
- Alawi, H. dan U. M Tang. 2017. Dasar-dasar Budidaya Perikanan Buku 1. Intimedia. Malang. 172 hlm.
- Alvarenga, M. A., F. O. Papa., F. C. Landim-Alvarenga and A. S. L. Medeiros. 2005. Amides as cryoprotectants for freezing stallion semen: A. Review Anim. Reprod. Sci. **89**: 105 – 113.
- Amri, K dan Khairuman, 2008. Buku Pintar Budidaya 15 Ikan Konsumsi. PT. Agro Media Pustaka. Jakarta. 358 hlm.
- Anwar. P., Y. S. Ondho dan D. Samsudewa. 2014. Pengaruh pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi bali. *Jurnal Peternakan*. **11** (2): 48 – 58.
- Ardhardiansyah., U. Subulan dan A. Yustiati. 2017. Embriologi dan karakteristik larva persilangan ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) jantan dengan baung (*Hemibagrus nemurus*) betina. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **8** (2): 17-27.
- Arfah, H., L. Matuch dan O. Carman. 2006. Pemijahan secara buatan pada ikan gurame *Osphronemus gouramy* lac. dengan penyuntikan ovaprim. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **5** (2) : 103-112.
- Baharudin, A., M. B. Syakirin dan T. Y. Mardiana. 2016. Pengaruh perendaman larutan teh terhadap daya tetas telur ikan Lele sangkuriang (*Clarias sp.*). *PENA Akuatika Volume*. **14** (1): 9 – 17.
- Balinsky, S. 1970. An Introduction to embryology. W. B. *International Review of Cytology*. **12**: 219-253. Saunders Company. London.
- Bebas, W dan I. Iaksmi. 2014. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Dimethylsulfoxide terhadap Kualitas Semen Beku Ayam Hutan Hijau Post Thawing. *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan*. **2** (2): 105 – 115.

- Campbell, N. A., J. B. Reece dan L. G. Mitcheli. 2004. Biologi Edisi ke-5 Jilid 3. Penerbit Erlangga. Jakarta. 501 hlm.
- Darseno. 2010. Buku Pintar Budidaya dan Bisnis Lele. PT. Agro Pustaka. 158 hlm.
- Davy, F. B and A. Chouinard. 1980. Induced fish breeding in Southeast Asia. *IDRC-178*. 17-20.
- Djarajah, A. S. 2001. Budidaya Ikan Bawal. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 97 hlm.
- Effendie, M.I. 1978. Metoda Biologi Perikanan. Yayasan Dewi Sri. Bogor. 112 hlm.
- Effendie. 2002. Biologi Perikanan (Edisi Revisi). Yogyakarta: Yayasan Pustaka Nusatama: 163 hlm.
- Fahy, G. M., B. Wowk., J. Wu and S. Paynter. 2004. Improved vitrification solution based on the predictability of vitrification solution toxicity. *Cryobiology*. **1**: 22-35.
- Faqih, A. R. 2011. Penurunan Motilitas dan Daya Fertilisasi Sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias spp*) Pasca Perlakuan Stress Kejutan Listrik. *J.Exp. Life Sci*. **1(2)** 56-110
- Faridah, Rachmini dan Andrianus. 2016. Pengaruh suhu yang berbeda terhadap waktu penetasan dan kelangsungan hidup larva ikan biawan (*Helostoma temmincki*). *Jural Ruaya*. **4 (2)**: 63-69.
- Fatimah, E. N dan M. Sari. 2015. Kiat Sukses Budidaya Ikan Lele. Bibit Publisher. Jakarta. 132 hlm.
- Fujaya, Y. 2008. Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknik Perikanan. Jakarta: PT. Rineka Cipta. 179 hlm.
- Gazali, M dan S. N. Tambing. 2002. Kriopreservasi sel spermatozoa. *Hayati*. **9(1)**: 27-32.
- Guan, Mo., D. M. Rawson dan T. Zhang. 2008. Cryopreservation of zebra fish (*Danio rerio*) oocytes using improved controlled slow cooling protocols. *Journal of Cryobiology*. **56** : 204–208.
- Gunawan, S. 2009. Kiat Sukses Budidaya Lele di Lahan Sempit. PT. Agro Media Pustaka. Jakarta. 148 hlm.
- Gusrina. 2018. Genetika dan Reproduksi Ikan. Deepublish Publisher. Yogyakarta. 254 hlm.
- Han, X. F., Z. Y. Niu., F. Z. Liu and C. S. Yang. 2005. Effects of diluents, cryoprotectants, equilibration time and thawing temperature on cryopreservation of duck semen. *Int. J. Poult. Sci*. **4**: 197–201.

- Harahap, A. A., Hayanti dan L. A. M. Siregar. 2015. Pengaruh jenis dan lama perendaman krioprotektan terhadap viabilitas benih rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) secara kriopreservasi. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. **3** (3): 1140 – 1146.
- Harder, W. 1975. *Anatomy of Fish Histology. Normal dan Phatological Features*. Kodansha.
- Hartono, A. H. S. 1997. *Pembudidaya Ikan Lele Lokal dan Ikan Lele Dumbo secara Tradisional*. Gunung Mas: Pekalongan. 85 hlm.
- Honji, R. M., C. E. Tolusi., P. H. Mello., D. Camepelle and R. G. Moreira. 2012. Embryonic development and larval stages of *Steindachneridion parahybae* (*Siluriformes: Pimelodidae*) - implications for the conservation and rearing of this endangered Neotropical species. *J. Neotropical Ichthyology*. **10**(2): 313-327.
- Iswanto, B., Imron., R. Suprpto, and H. Marnis. 2015. Embryonic and larval development of a red strain of the egyptian African Catfish (*Clarias sp.* Burchell, 1822). *Indonesian Aquaculture Journal*. **10**(1): 19-31.
- Kadji, Y. *Metode Penelitian Ilmu Admnistrasi*. Deepublish. Yogyakarta. 176 hlm.
- Khairuman dan K. Amri. 2002. *Budidaya Lele Lokal Secara Intensif*. Jakarta: Agromedia Pustaka: Jakarta. 64 hlm.
- Khairuman dan K. Amri. 2012. *Pembesaran Lele di Berbagai Jenis Kolam*. PT. Agro Media Pustaka. Jakarta. 92 hlm
- Kordi, M. G. H. 2015. *Budidaya Lele di Kolam Terpal*. Lily Publisher. Yogyakarta. 114 hlm.
- Kostaman, T. dan A. R. Setioko. 2011. Perkembangan Penelitian Teknik Kriopreservasi untuk Penyimpanan Semen Unggas. *WARTAZOA*. **21**(3): 145-152.
- Lee, Cheng-Sheng dan E.M. Donaldson. 1999. *Reproductive Biotechnology of Finfish Aquaculture*. Elsevier Science: Amsterdam.
- Leibo, S. P., and P. Mazur. 1978. Methods for the preservation of mammalian embryos by freezing in mapletofit history and bovine embryo transfer. *Anim. Reprod.* **10**(3): 168-173.
- Lesmana, D. S. 2015. *Ensiklopedia Ikan Hias Air Tawar*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta. 316 hlm.
- Mahyuddin, K. 2008. *Panduan Lengkap Bisnis Lele*. Penebar Swadaya. Jakarta. 169 hlm.

- Mambrasar, P., R. Monijung., O. Kalesaran dan J. Ch. Watung. 2015 Sintasan dan pertumbuhan larva ikan ikan Lele (*Clarias* sp.) hasil penetasan telur melalui penambahan madu dalam pengenceran sperma. *Jurnal Budidaya Perairan*. **3** (1): 101-107.
- Murni, N. Insnan dan A. H. Sumbu. 2015. Optimasi dosis yang berbeda terhadap daya tetas (*hatching rate*) dan sintasan pada telur ikan Lele dumbo (*Clarias* sp.) yang diberi ekstrak meniran (*Phyllanthus Niruri*). *OCTOPUS Jurnal Ilmu Perikanan*. **4** (2): 410 – 416.
- Ngugi, C. C., J. R. Bowman and B. O. Omolo. 2007 (2016). *Aquaculture CRSP: USA*. 93 hlm.
- Novianto, B. R. 2014. Pengaruh perbedaan konsentrasi gliserol dalam susu skim kuning telur untuk proses penyimpanan sperma beku terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius pangasius*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **6** (1): 1 – 6.
- Park, J. E and J. K. Graham. 1992. Effect of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology*. **38**: 209-222.
- Prabowo, B. T., T. Susilowati dan R. A. Nugroho. 2016. Analisis karakter reproduksi ikan nila pandu (f6) (*oreochromis niloticus*) persilangan strain nila merah singapura menggunakan sistem resiprokal pada pendederan I. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **5**(1): 54-63.
- Restu dan P. Nataleo. 2016. Perkawinan silang antara keli jantan (*clarias nieuhofii*) dan Lele lokal betina (*clarias batrachus*) dengan perbandingan bobot induk yang berbeda. *Jurnal Ilmu Hewani Tropika*. **5**(2): 101-104.
- Roostika, I. T dan I. Mariska. 2003. Pemanfaatan teknik kriopreservasi dalam penyimpanan plasma nutfah tanaman. *Bul Plasma Nutfah*. **9**(2):10-18.
- Sastosuspadi. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 165 hlm.
- Sedjati, I. F. 2002. Embriogenesis dan Perkembangan Larva Ikan Redfin Shark (*Labeo erythropterus* C. V). *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Simamora, R. H. 2009. Buku Ajar Pendidika dalam Keperawatan. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 167 hlm.
- Soenardihardjo, B. P. 2012. Buku Ajar Embriologi. Surabaya: Airlangga University Press.
- Squires, E. L., S. L. Keith and J. K. Graham. 2004. Evaluation of alternative cryoprotectants for preserving stallion spermatozoa. *Theriogenology* **62**:1056–1065.

- Suhendra, D., Haryati dan L. A. M. Siregar. 2014. Pengaruh metode stratifikasi suhu rendah, krioprotektan dan kriopreservasi terhadap viabilitas benih rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Jurnal Online Agroekoteknologi*. **2** (4): 1511 - 1517.
- Sumbono, A. 2015. Biokimia Pangan Dasar. EGC. Jakarta. 156 hlm.
- Sutarjo, G. A. 2014. Pengaruh konsentrasi sukrosa dengan krioprotektan dimethyl sulfoxide terhadap kualitas telur ikan mas (*Cyprinus carpio linn.*) Pada proses kriopreservasi. *JURNAL GAMMA*. **9** (2): 20 – 30.
- Suyanto, S. R. 1999. Budidaya Ikan Lele. Penebar Swadaya. Jakarta. 105 hlm.
- Suyanto, S. R. 2008. Budidaya Ikan Lele. Penebar Swadaya. Jakarta. 92 hlm.
- Tang, U.M dan R. Affandi. 2007. Biologi Reproduksi Ikan. Instiitut Pertanian Bogor. Bogor
- Tiersch, T.R. 2006. Fish Sperm Cryopreservation for Genetic Improvement and Conservation in Southeast Asia. *Fish for the People*, **4** (2):21-33.
- Toelihere, M. R. 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Valerdi, M.R., P. Eftekhari-Yazdi., L. Karimian., F.Hassani and B. Movaghar. 2009. Vitrification versus slow freezing gives excellent survival, post warming embryo morphology and pregnancy outcomes for human cleaved embryos. *J. Assist. Reprod. Genet.* **26**: 347–354.
- Wahyuningtyas, I., R. Diatar dan O. Z. Arifin. 2015. Pengaruh suhu terhadap perkembangan telur dan larva ikan tambakan (*Helostoma temminckii*). *E Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **4** (1): 439 – 448.
- Windiastika, G. 2013. Konservasi Plasma Nuttah Tanaman Dengan Teknik Kriopreservasi. Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan Surabaya. Surabaya.
- Zulfalina, P., M. Z. Junior, Alimudi dan A. Sunarman. 2015. Performa reproduksi induk dan benih hibrida *Clarias* sp. strain sangkuriang dan Mesir. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **14** (2): 179–191.

## GLOSARIUM

### B

**Blastosol** : Sejenis rongga yang terdapat pada fase blastula yang terbentuk ketika sel embrio (struktur blastomer) terus membelah, bergerak, dan membentuk rongga pada bagian dalam (membentuk struktur bola berongga).

**Blastomer** : Tahap pembelahan embrio awal. Sel telur yang dibuahi (zigot) terbelah untuk membuat dua sel blastomer yang pada gilirannya membelah empat dan seterusnya.

**Blastofor** : Lubang paling luar dari arkenteron (pelekukan lapisan luar blastula membentuk suatu rongga yang akan menjadi saluran pencernaan)

**Blastula** : Bentuk lanjutan dari morula yang terus mengalami pembelahan. Bentuk blastula ditandai dengan mulai adanya perubahan sel dengan mengadakan pelekukan yang tidak beraturan.

### C

**Chorion** : Membran terluar pada embrio.

### E

**Ectoderm** : Lapisan tubuh bagian luar yang akan berkembang menjadi lapisan luar pelindung tubuh (pada hewan tertentu menjadi susunan saraf pusat).

*Endogenous Feeding* : proses penyerapan kuning telur selama fase embrio pemerolehan nutrisi selama ikan pada fase embrio diperoleh dari menyerap kuning telur.

Emboly : Gerakan menyusup, terjadi disebelah dalam embryo, berlangsung pada daerah-daerah bakal mesoderm, notochord, dan pre-chorda dan endoderm. Daerah – daerah itu bergerak diarah blastocel.

Embrionik : Jaringan yang sel penyusunnya mampu terus menerus membelah diri untuk membentuk jumlah sel tubuh.

*Embryogenesis* : Proses pembentukan dan perkembangan embrio.

Endoderm : Lapisan tubuh bagian luar yang akan berkembang menjadi saluran pencernaan dan hati.

Epiboly : Gerakan melingkup terjadi disebelah luar embrio. Berlangsung pada bakal ectoderm, epidermis dan saraf. Gerakan yang besar berlangsung menurut poros bakal anterior-posterior tubuh. Sementara bakal mesoderm dan endoderm bergerak, epiboli menyesuaikan diri sehingga ectoderm terus menyelaputi seluruh embrio

Epidermis : Lapisan jaringan paling luar yang berfungsi sebagai pelindung atau menutupi seluruh organ.

*Exogenous feeding* : perolehan nutrisi pada fase transisi ikan dari embrio menuju larva hingga dewasa diperoleh melalui mulut dan dicerna dalam usus.

**F**

Fertil : Istilah untuk menandakan kesuburan dari suatu organ reproduksi.

**G**

Gastrula : Bentuk lanjutan dari blastula yang pelekukan tubuhnya sudah semakin nyata dan mempunyai lapisan dinding tubuh embrio serta rongga tubuh.

Gonad : Organ reproduksi yang menghasilkan gamet (telur/sperma).

**H**

*Hormone gonadotropin* : Hormon yang merangsang keluarnya gonadotropin.

**K**

Kriopreservasi : prose yang dilakukan untuk mengawetkan sel hidup melalui proses pembekuan.

Kuning Telur : cadangan makanan untuk embrio agar dapat berkembang.

**L**

Linea lateralis : Indera peraba yang di temui pada hewan-hewan vertebrata akuatik, terutama pada ikan.

**M**

Mesoderm : Lapisan tubuh bagian tengah yang akan berkembang antara usus dan lapisan pelindung luar seperti otot dan system peredaran darah.

Mikropil : Lubang kecil tempat masuknya sperma ke dalam telur pada waktu terjadi pembuahan

**Mitosis** : Pembelahan sel somatis dari satu sel induk menjadi dua sel anak dengan jumlah dan susunan kromosom yang sama.

**Morula** : Pembelahan sel yang terjadi setelah sel berjumlah 32 sel dan berakhir bila sel sudah menghasilkan sejumlah blastomer yang berukuran sama akan tetapi ukurannya lebih kecil.

## **N**

**Notochord** : Tali saraf dorsalis pada saat perkembangan embrio.

## **O**

**Oosit** : Sel telur di dalam ovarium (calon telur).

**Organogenesis** : Proses pembentukan organ atau alat tubuh.

**Ovarium** : Tempat pembentukan sel telur.

## **P**

**Protoplasma** : Substansi di dalam sel yang berisi air, mineral, material, termasuk vakuola besar.

**Pronukleus** : Inti sel pada sperma maupun sel telur yang terbentuk selama proses fertilisasi.

## **S**

**Sitoplasma** : Bagian sel yang terbungkus membran sel.

**Sitokinesis** : Bagian dari pembelahan sel dari satu sel induk menjadi dua sel anak

**Somit** : Salah satu dari untaian segmen longitudinal seperti blok dimana mesoderma di kedua sisi tulang belakang embrio melakukan diferensiasi.

**Spermatozoa** : Sel sperma atau gamet pada ikan jantan.

**V**

Vitelogenin : Prekursor kuning telur

Vitelogenesis : Terjadinya akumulasi material kuning telur yang disintesis oleh hati, kemudian dibebaskan ke darah dan di bawa ke dalam oosit secara mikropinositosis

**Z**

Zigot : Perkembangan awal embrio (sel telur yang sudah terbuahi) pada organisme bersel banyak (multisel) atau merupakan hasil fusi dari dua gamet (jantan dan betina).



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Dokumentasi Alat dan Bahan

#### Alat-Alat Penelitian





Spatula



Hand Tally Counter



Paranet



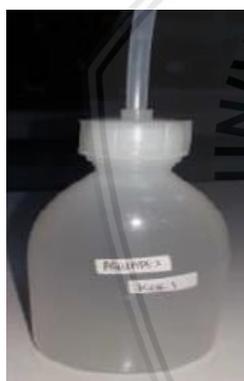
Karet Gelang



Bak Besar



Sendok Kecil dan Besar



Washing Bottle



Botol Air Mineral



Heater Aquarium

### Bahan-Bahan Penelitian



## Lampiran 2. Perhitungan Larutan

### a. Rumus pengenceran DMSO

$$m1 \times v1 = m2 \times v2$$

$$v1 = \frac{m2 \times v2}{m1}$$

Keterangan: m1 = Molalitas DMSO  
 v1 = Volume DMSO  
 v2 = Volume Pelarut (Akuades)  
 m2 = Molalitas pelarut (akuades)

### b. Rumus Pengenceran Sukrosa

$$M = \left(\frac{w}{mr}\right) \times \left(\frac{1000}{p}\right)$$

$$w = \frac{(mr \times M \times p)}{1000}$$

Keterangan : w = Berat sukrosa yang dibutuhkan (gr)  
 M = Molalitas larutan sukrosa  
 Mr = Mr Sukrosa  
 1000 = konversi liter ke mili liter  
 P = Volume pelarut

### Perhitungan molalitas DMSO (molalitas 0,75 M)

$$v1 = \frac{m2 \times v2}{m1}$$

$$v1 = \frac{0,75 \times 20}{14,079}$$

$$= 1,06 \text{ ml}$$

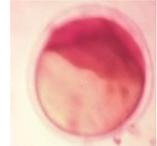
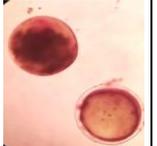
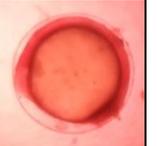
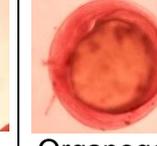
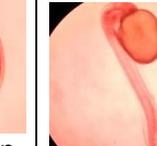
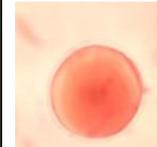
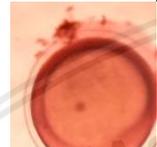
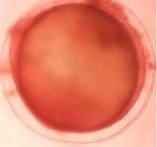
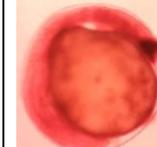
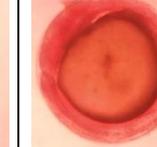
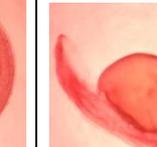
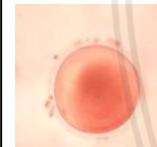
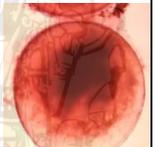
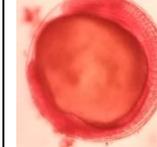
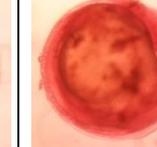
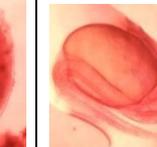
### Rumus perhitungan molalitas Sukrosa (molalitas 0,25 M)

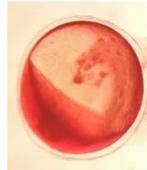
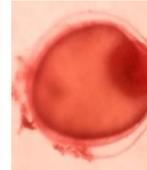
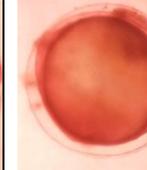
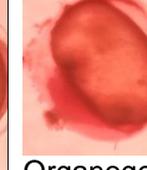
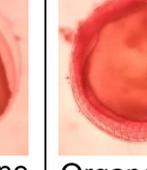
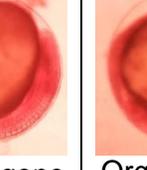
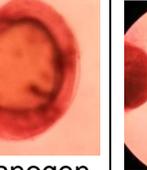
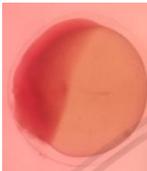
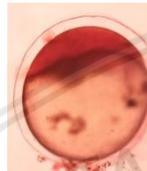
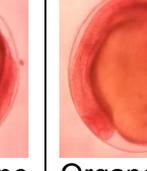
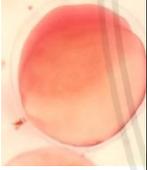
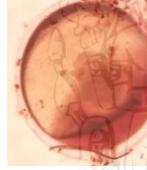
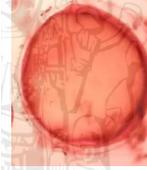
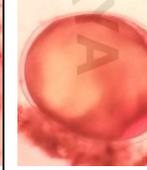
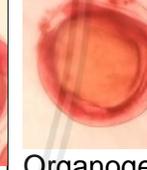
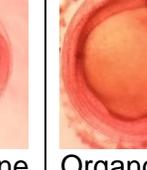
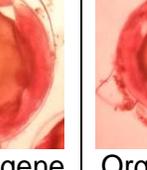
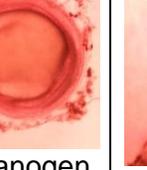
$$w = \frac{(mr \times M \times p)}{1000}$$

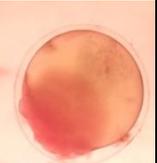
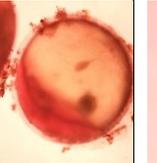
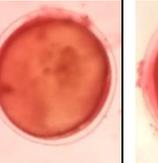
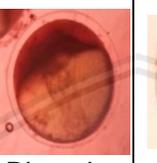
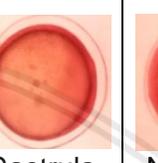
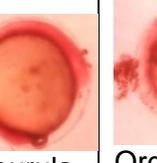
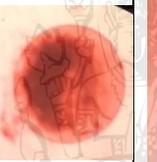
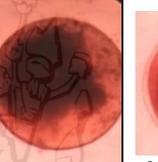
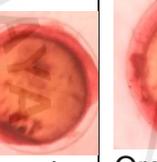
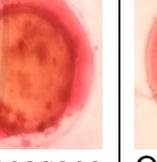
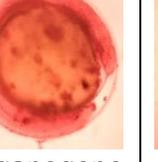
$$w = \frac{(342 \times 0,25 \times 50)}{1000}$$

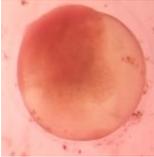
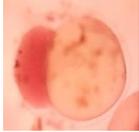
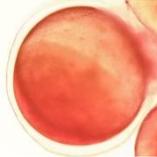
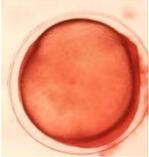
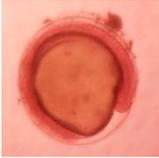
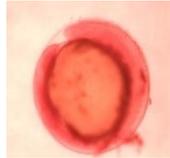
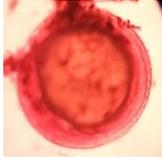
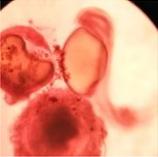
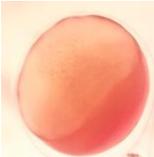
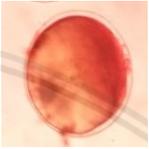
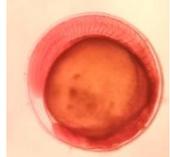
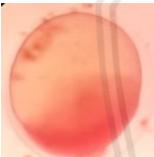
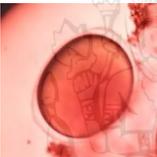
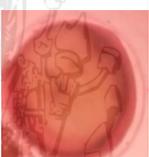
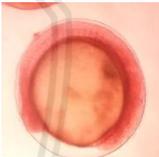
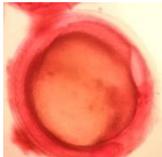
$$w = 4,275 \text{ gr}$$

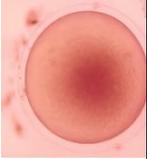
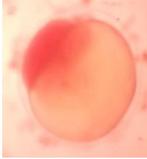
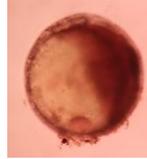
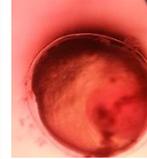
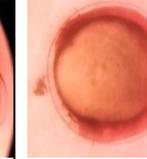
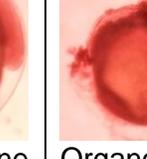
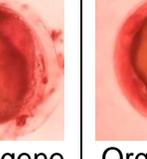
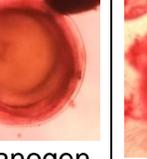
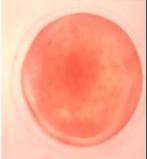
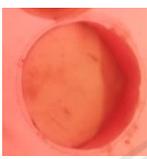
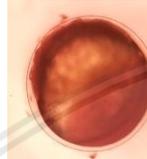
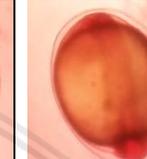
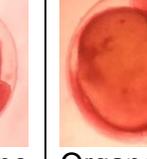
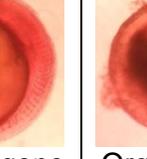
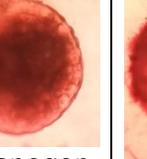
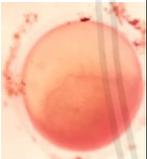
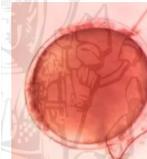
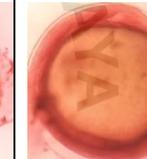
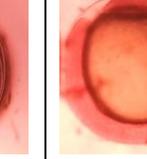
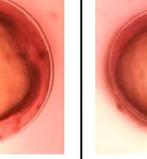
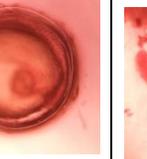
Lampiran 3. Perkembangan Telur Ikan Lele Dumbo (Pengamatan Menggunakan Mikroskop Perbesaran 400 Kali)

Perlakuan	13.00	15.00	17.00	19.00	21.00	23.00	01.00	03.00	05.00
A1	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogenesis	 Organogenesis	 Organogenesis	 Larva
A2	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogenesis	 Organogenesis	 Organogenesis	 Larva
A3	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogenesis	 Organogenesis	 Organogenesis	 Larva

Perlakuan	13.00	15.00	17.00	19.00	21.00	23.00	01.00	03.00	05.00
B1	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogenesis	 Organogenesis	 Organogenesis	 Larva
B2	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogenesis	 Organogenesis	 Organogenesis	 Larva
B3	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogenesis	 Organogenesis	 Organogenesis	 Larva

Perlakuan	13.00	15.00	17.00	19.00	21.00	23.00	01.00	03.00	05.00
C1	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogene sis	 Organogene sis	 Organogen esis	 Larva
C2	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogene sis	 Organogene sis	 Organogen esis	 Larva
C3	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogene sis	 Organogene sis	 Organogen esis	 Larva

Perlakuan	13.00	15.00	17.00	19.00	21.00	23.00	01.00	03.00	05.00
D1	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogenesis	 Organogenesis	 Organogenesis	 Larva
D2	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogenesis	 Organogenesis	 Organogenesis	 Larva
D3	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogenesis	 Organogenesis	 Organogenesis	 Larva

Perlakuan	13.00	15.00	17.00	19.00	21.00	23.00	01.00	03.00	05.00
K1	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogene sis	 Organogene sis	 Organogen esis	 Larva
K2	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogene sis	 Organogene sis	 Organogen esis	 Larva
K3	 Zygot	 Morula	 Blastula	 Gastrula	 Neurula	 Organogene sis	 Organogene sis	 Organogen esis	 Larva

**Lampiran 4. Data Analisis *Fertilisation Rate* Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*)**

• **Data Rata - Rata *Fertilisation Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

Perlakuan	JTT	JTK	FR(%)
A1	30	40	75
A2	29	40	72,5
A3	27	40	67,5
B1	24	40	60
B2	23	40	57,5
B3	20	40	50
C1	14	40	35
C2	13	40	32,5
C3	17	40	42,5
D1	6	40	15
D2	9	40	22,5
D3	7	40	17,5

$$FR = \left( \frac{\text{Jumlah telur terbuahi}}{\text{Jumlah telur keseluruhan}} \right) * 100\%$$

• **Rerata *Fertilisation Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	75	72,5	67,5	215	71,67 ± 3,81
B	60	57,5	50	167,5	55,83 ± 5,20
C	35	32,5	42,5	110	36,67 ± 5,20
D	15	22,5	17,5	55	18,33 ± 3,81
Total				547,5	

• **Perhitungan Sidik Ragam Rerata *Fertilisation Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{\text{Total}^2}{n \times r} = \frac{547,5^2}{4 \times 3} = 24979,68$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total} = (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + \dots + (D3)^2 - \text{FK}$$

$$= (75)^2 + (72,5)^2 + (67,5)^2 + \dots + (17,5)^2 - 24979,68$$

$$= 4989,06$$

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - \text{FK}$$

$$= \frac{215^2 + 167,5^2 + 110^2 + 55^2}{3} - 24979,68$$

$$= 4822,39$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK perlakuan}$$

#### Lampiran 4. (Lanjutan)

$$= 4989,06 - 4822,39$$

$$= 166,66$$

$$\text{Derajat bebas (db) Total} = (n \times r) - 1 = (4 \times 3) - 1 = 11$$

$$\text{Db Perlakuan} = n - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$\text{Db Acak} = \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 11 - 3 = 8$$

$$\text{❖ Kuadrat Tengan Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{4822,39}{3} = 1607,46$$

$$\text{❖ Kuadrat Tengah Acak} = \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{166,66}{8} = 20,83$$

$$\text{❖ F Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{1607,46}{20,83} = 77,15$$

- **Sidik Ragam Rerata *Fertilitation Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

SK	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	4822,39	1607,46	77,15**	4,07	7,59
Acak	8	166,66	20,83			
Total	11	0,388				

Keterangan \*\* = Berbeda Sangat Nyata

F hitung > F 5% > F 1%, maka *fertilitation rate* telur ikan Lele menunjukkan berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan ke uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

- **Menghitung nilai BNT *Fertilitation Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{ulangan}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,028}{3}} = 3,72$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times SED = 2,30 \times 3,72 = 8,59$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times SED = 3,35 \times 3,72 = 12,50$$

- **Uji BNT *Fertilitation Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

Perlakuan	A	B	C	D	Notasi
	18,33	36,66	55,83	71,66	
A	18,33	-	-	-	a
B	36,66	18,33**	-	-	b
C	55,83	37,50**	19,16**	-	c
D	71,66	53,33**	35,00**	15,83**	d

Keterangan \* = Berbeda nyata, \*\* = Berbeda sangat nyata

## Lampiran 4. (Lanjutan)

- Uji *Polynomial Orthogonal Fertilitation Rate* Telur Ikan Lele Dumbo

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	1,42	-3	1	-1
B	1,99	-1	-1	3
C	2,33	1	-1	-3
D	2,85	3	1	1
Q= $\sum(TiCi)$		-537,5	-7,5	12,5
Kn= $(\sum Ci^2)*r$		60	12	60
JK=Q2/Kn		4815,10	4,68	2,60

- Sidik Ragam Regesi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	4822,39				
Linier	1	4815,10	4815,10	231,12**	5,32	11,26
Kuadratik	1	4,68	4,68	0,22		
Kubik	1	2,60	2,60	0,12		
Acak	8	166,66	20,83			

Karena yang berbedanya nyata maupun sangat berbeda nyata hanya Linier, maka regesi yang digunakan untuk  $R^2$  adalah Linier.

Menghitung R Square ( $R^2$ )

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{4815,10}{4815,10 + 166,66} = 0,96$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{4,68}{4,68 + 166,66} = 0,03$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{2,60}{2,60 + 166,66} = 0,01$$

#### Lampiran 4. (Lanjutan)

Persamaan regresi linier yang diperoleh  $y = -3,58x + 90,41$  dengan perhitungan :

Perlakuan	X	y	Xy	x <sup>2</sup>
A1	5	75,000	375	25
A2	5	72,500	362,5	25
A3	5	67,500	337,5	25
B1	10	60,000	600	100
B2	10	57,500	575	100
B3	10	50,000	500	100
C1	15	35,000	525	225
C2	15	32,500	487,5	225
C3	15	42,500	637,5	225
D1	20	15,000	300	400
D2	20	22,500	450	400
D3	20	17,500	350	400
Jumlah	150	547,500	5500,000	2250
Rerata	12,500	45,625	527,083	188

Mencari Persamaan :

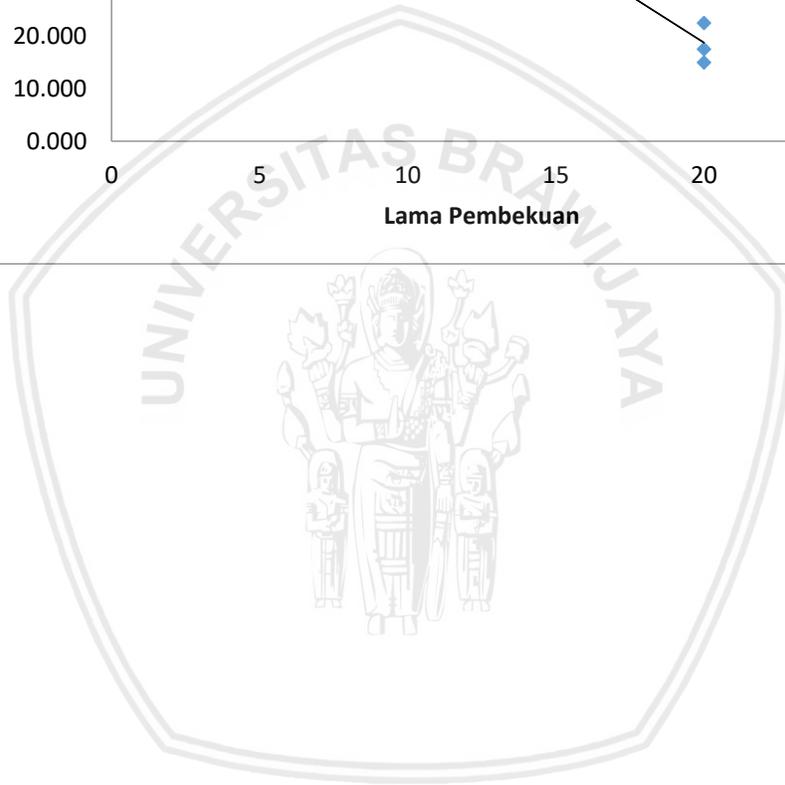
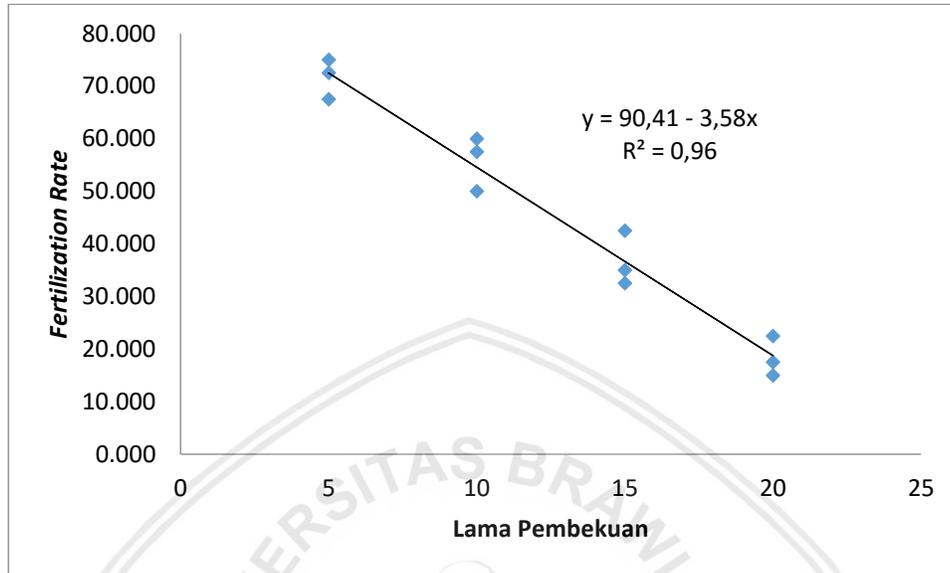
$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{5500 - \left(\frac{150 \times 547,5}{12}\right)}{2250 - \frac{150^2}{12}} = -3,58$$

$$\begin{aligned} b_0 &= \bar{y} - (b_1 \cdot \bar{x}) \\ &= 45,62 - (-3,58 \cdot 15) \\ &= 90,41 \end{aligned}$$

Persamaan regresi linier negatif adalah  $y = b_0 + b_1x$  sehingga dapat ditulis dengan persamaan  $y = -3,58x + 90,41$ .

**Lampiran 4. (Lanjutan)**

- **Grafik Hubungan Lama Pembekuan Telur Ikan Lele Dumbo pada Proses Kriopreservasi**



**Lampiran 5. Data Perhitungan Hatching Rate Telur Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)**

• **Data Rata - Rata *Hatching Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

Perlakuan	JTM	JTK	HR(%)
A1	26	40	65
A2	24	40	60
A3	27	40	67,5
B1	22	40	55
B2	21	40	52,5
B3	17	40	42,5
C1	13	40	32,5
C2	11	40	27,5
C3	14	40	35
D1	4	40	10
D2	9	40	22,5
D3	7	40	17,5

$$HR = \left( \frac{\text{Jumlah telur menetas}}{\text{Jumlah telur keseluruhan}} \right) * 100\%$$

• **Rerata *Hatching Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	65,0	60,0	67,5	192,5	64,17 ± 3,82
B	55,0	52,5	42,5	150,	50,00 ± 6,61
C	32,5	27,5	35,0	95,	31,67 ± 3,81
D	10,0	22,5	17,5	50,	16,67 ± 6,29
Total				487,50	

• **Perhitungan Sidik Ragam Rerata *Hatching Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{\text{Total}^2}{n \times r} = \frac{487,5^2}{4 \times 3} = 19804,69$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total} = (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + \dots + (D3)^2 - \text{FK}$$

$$= (65)^2 + (60)^2 + (67,5)^2 + \dots + (17,5)^2 - 24979,68$$

$$= 4114,06$$

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{\sum A1^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - \text{FK}$$

$$= \frac{192,5^2 + 150^2 + 95^2 + 50^2}{3} - 19804,69$$

$$= 3889,06$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK perlakuan}$$

### Lampiran 5. (Lanjutan)

$$= 4114,06 - 3889,06$$

$$= 225,00$$

$$\text{Derajat bebas (db) Total} = (n \times r) - 1 = (4 \times 3) - 1 = 11$$

$$\text{Db Perlakuan} = n - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$\text{Db Acak} = \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 11 - 3 = 8$$

$$\text{❖ Kuadrat Tengan Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{4114,06}{3} = 1296,35$$

$$\text{❖ Kuadrat Tengah Acak} = \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{225,00}{8} = 28,13$$

$$\text{❖ F Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{1607,46}{20,83} = 46,09$$

- **Sidik Ragam Rerata *Hatching Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

SK	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	4822,39	1296,35	46,09**	4,07	7,59
Acak	8	225,00	28,13			
Total	11	4114,06				

Keterangan \*\* = Berbeda Sangat Nyata

F hitung > F 5% > F 1%, maka *Hatching Rate* telur ikan Lele menunjukkan berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan ke uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

- **Menghitung nilai BNT *Hatching Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 28,13}{3}} = 4,33$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times SED = 2,30 \times 4,33 = 9,99$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times SED = 3,35 \times 4,33 = 14,53$$

- **Uji BNT *Hatching Rate* Telur Ikan Lele Dumbo**

Perlakuan		A	B	C	D	Notasi
		16,66	31,66	50,00	64,16	
A	16,66	-	-	-	-	a
B	31,66	15,00**	-	-	-	b
C	50,00	33,33**	18,33**	-	-	c
D	64,16	47,50**	32,50**	14,16*	-	d

Keterangan \* = Berbeda nyata, \*\* = Berbeda sangat nyata

## Lampiran 5. (Lanjutan)

- Uji *Polynomial Orthogonal Hatching Rate* Telur Ikan Lele Dumbo

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	192,50	-3	1	-1
B	150,00	-1	-1	3
C	95,00	1	-1	-3
D	50,00	3	1	1
Q= $\sum(TiCi)$		-482,5	-2,5	22,5
Kn= $(\sum Ci^2)*r$		60	12	60
JK=Q2/Kn		3880,10	0,52	8,43

- Sidik Ragam Regesi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3889,06				
Linier	1	3880,10	3880,10	137,95	5,32	11,26
Kuadratik	1	0,52	0,520	0,018		
Kubik	1	8,44	8,43	0,3		
Acak	8	225,00	28,12			

Karena yang berbedanya nyata maupun sangat berbeda nyata hanya Linier, maka regesi yang digunakan untuk  $R^2$  adalah Linier.

Menghitung R Square ( $R^2$ )

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{3880,10}{3880,10 + 225,00} = 0,945$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,52}{0,52 + 225,00} = 0,002$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{8,44}{8,44 + 225,00} = 0,036$$

### Lampiran 5. (Lanjutan)

Persamaan regesi linier yang diperoleh  $y = -3,21x + 80,83$  dengan perhitungan :

Perlakuan	X	y	Xy	x <sup>2</sup>
A1	5	65,000	325	25
A2	5	60,000	300	25
A3	5	67,500	337,5	25
B1	10	55,000	550	100
B2	10	52,500	525	100
B3	10	42,500	425	100
C1	15	32,500	487,5	225
C2	15	27,500	412,5	225
C3	15	35,000	525	225
D1	20	10,000	200	400
D2	20	22,500	450	400
D3	20	17,500	350	400
Jumlah	150	487,50	4887,50	2250
Rerata	12,500	40,62	407,70	188

Mencari Persamaan :

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{4887,50 - \left(\frac{150 \times 487,50}{12}\right)}{2250 - \frac{150^2}{12}} = -3,21$$

$$\begin{aligned} b_0 &= \bar{y} - (b_1 \cdot \bar{x}) \\ &= 40,62 - (-3,21 \cdot 15) \\ &= 80,83 \end{aligned}$$

Persamaan regesi linier negatif adalah  $y = b_0 + b_1x$  sehingga dapat ditulis dengan persamaan  $y = -3,21x + 80,83$  .

**Lampiran 5. (Lanjutan)**

- **Grafik Hubungan Lama Pembekuan Telur Ikan Lele Dumbo pada Proses Kriopreservasi**

