

OPTIMASI WAKTU PEMBELAHAN SEL DAN SUHU KEJUTAN TERHADAP TINGKAT KEBERHASILAN TRIPLOID IKAN SERUKAN (*Osteochilus* sp.)

THE SUITABILITY OF CELL DIVISION TIME AND HEAT SHOCK TREATMENT FOR TRIPLOIDIZATION OF *Osteochilus* sp.

Ulfa Zaleha¹⁾, Yusran Ibrahim^{1)*}, Fazril Saputra¹⁾⁾

¹⁾Program Studi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar

*Korespondensi: yusranibrahim@utu.ac.id

ABSTRACT

This study aims to determine the optimization of cell division and temperature shock on the triploid success rate of the seurukan fish (*Osteochilus* sp.) By allowing different temperature shock on the degree of fertilization, the degree of hatching, the success rate of the triploid, the daily growth rate and the survival rate of the seurukan fish's (*Osteochilus* sp.). In this research, the age of the zygote used was 20 minutes old after fertilization, the shock duration was 2 minutes and the temperature shock were 40, 41, and 42°C. larvae were looked after for 14 days and fed with egg yolk and *Artemia* sp. using *Adlibitum* with a frequency of 2 times a day. The container used in this study was a 12-unit jar with a volume of 2.5 liters of water equipped with aeration with 15 larvae for each replication. The results showed that larvae that treated in different heat shocks had a significant effect ($P < 0.05$) on the fertilization degree $49.3 \pm 6.9\%$ with a temperature shock of 41°C, as for hatching degrees $49.2 \pm 11.1\%$ with a temperature shock of 41°C, and survival rate is $84.4 \pm 7.6\%$ at temperature shock of 41°C, while daily growth rate had no significant effect ($P > 0.05$) $5.15 \pm 1.0\%$ at temperature shock of 41°C, further 60% of triploid success rate with a temperature shock of 42°C.

Keywords: *Cell Division, Temperature Shock, Triploid, Osteochilus* sp.

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui optimasi pembelahan sel dan suhu kejutan terhadap tingkat keberhasilan triploid ikan seurukan (*Osteochilus* sp.) dengan pemberian suhu kejutan yang berbeda terhadap derajat pembuahan, derajat penetasan, tingkat keberhasilan triploid, laju pertumbuhan harian dan tingkat kelangsungan hidup larva ikan seurukan (*Osteochilus* sp.). Pada penelitian ini umur zigot yang digunakan 20 menit setelah fertilisasi, lama kejutan 2 menit dan suhu kejutan 40, 41, dan 42°C. larva dipelihara selama 14 dengan pemberian kuning telur dan *Artemia* sp. secara *Adlibitum* dengan frekuensi pemberian 2 kali sehari. Wadah penelitian yang digunakan toples dengan volume 2,5 Liter air sebanyak 12 Unit yang dilengkapi dengan aerasi. Jumlah larva sebanyak 15 ekor /ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa larva ikan yang diberi kejutan panas yang berbeda memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap derajat pembuahan $49,3 \pm 6,9\%$ dengan suhu kejutan 41°C, derajat penetasan $49,2 \pm 11,1\%$ dengan suhu kejutan 41°C, tingkat kelangsungan hidup $84,4 \pm 7,6\%$ dengan suhu kejutan 41°C, laju pertumbuhan harian tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) $5,15 \pm 1,0\%$ dengan suhu kejutan 41°C dan tingkat keberhasilan triploid 60% dengan suhu kejutan 42°C.

Kata kunci: Pembelahan sel, kejutan suhu panas, triploid, *Osteochilus* sp.

¹⁾ Progam Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar.
Jalan Kampus Alue Peunyang, Kec. Meureubo, Aceh Barat. Indonesia. Telpon 08116800980,
email: yusranibrahim@utu.ac.id

PENDAHULUAN

Ikan serukan *Osteochilus* sp. merupakan ikan lokal yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai salah satu komoditas budidaya. Ikan serukan memiliki keunggulan antara lain mudah dibudidayakan karena tahan terhadap serangan penyakit (Subagia *et al.* 2006). Rasanya gurih dan tekstur dagingnya yang lembut membuat ikan ini banyak diminati oleh masyarakat terutama di Aceh, hasil observasi dilapangan ikan ini dijual dengan harga yang relatif tinggi yaitu Rp. 40.000 – 50.000 /kg. Ditinjau dari sisi reproduksinya, ikan ini memiliki tingkat fekunditas tinggi mencapai 550 butir/gr induk, pembuahan dan penetasan masing-masing mencapai 95 dan 93% (Ibrahim *et al.* 2018). Ikan serukan di habitatnya mengkonsumsi alga, lumut dan tumbuhan yang menempel pada benda-benda yang mengapung sehingga tergolong sebagai ikan herbivora (Samsudin 2010).

Penelitian tentang ikan serukan telah banyak dilakukan diantaranya tentang penyimpangan genetik (Mulyasari *et al.* 2010), aspek reproduksinya di perairan Rawa Pening kecamatan Tuntang Kabupaten Semarang (Rochmatin *et al.* 2014), pemijahan (Muchlisin *et al.* 2014; Adami *et al.* 2015), kebutuhan protein yang optimum (Samsudin 2010), kebutuhan ransum harian (Asma *et al.* 2016), pemanfaatan ekstrak bawang merah, *Alium cepa* dalam pakan sebagai sumber prebiotik (Mayana *et al.* 2016) dan perkembangan post-larva dalam pemberian pakan berbeda (Yusuf *et al.* 2014).

Prinsip-prinsip modifikasi genetik metode yang digunakan untuk meningkatkan produksi dan kualitas benih yaitu dengan cara rekayasa genetik (Nurasni 2012). Upaya perbaikan performa pertumbuhan ikan dapat dilakukan dengan rekayasa genetik melalui beberapa metode, diantaranya seleksi, hibridisasi atau persilangan, rekayasa set kromosom dan transgenesis.

Triploidisasi merupakan salah satu bagian dari metode rekayasa kromosom. Triploidisasi adalah rekayasa jumlah ploidi pada set kromosom yaitu dari dua set (diploid) menjadi tiga set (triploid). Triploidisasi menghasilkan benih dengan karakter steril (gonad tidak berkembang), sehingga dapat mengontrol populasi di alam, meningkatkan sintasan dan pertumbuhan (Berrill *et al.* 2012). Produksi ikan triploid sangat penting dilakukan dalam kegiatan budidaya, karena dapat mengalihkan energi dari pematangan gonad ke pertumbuhan somatik dan dapat memperbaiki kualitas daging (Lawson dan Ishola 2010). Metode Triploid yang diinduksi adalah satu-satunya metode yang efektif saat ini tersedia untuk produksi massal ikan serukan.

Studi triploidisasi menggunakan suhu teknik kejut telah dilakukan pada beberapa ikan spesies seperti ikan Selais (Alawi *et al.* 2009), nila tilapia (Mukti *et al.* 2009), ikan mas (Mukti *et al.* 2001), lele afrika (Nurasni 2012) dan ikan patin (Ibrahim *et al.* 2017). Studi sebelumnya menunjukkan pertumbuhan kinerja ikan triploid lebih cepat daripada ikan diploid karena teknik triploidisasi sangat menjanjikan untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan serukan.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Setiap ulangan dipelihara sebanyak 15 ekor larva ikan uji sehingga total ikan uji yaitu 180 ekor.

P0 : Pemijahan normal (kontrol)

P1 : Umur zigot 20 menit pada suhu 40 °C lama kejut 2 menit

P2 : Umur zigot 20 menit pada suhu 41 °C lama kejut 2 menit

P3 : Umur zigot 20 menit pada suhu 42 °C lama kejut 2 menit

Pemijahan Ikan Uji

Pemijahan dilakukan secara buatan, induk betina ikan serukan diinjeksi Ovaprim dengan dosis 0,5 ml/kg sedangkan induk jantan dengan dosis 0,3 ml/kg. Penyuntikan dilakukan pada jam 23.00 WIB, setelah 10 jam ikan siap di-*stripping* dan dilakukan pembuahan.

Produksi Triploid (kejut suhu)

Sebelum melakukan induksi triploid menggunakan kejut suhu panas (*heatshock treatment*), terlebih dahulu dilakukan pengamatan waktu pembelahan sel telur. Hal ini dilakukan agar mendapatkan waktu yang tepat untuk diberikan kejut suhu yaitu saat pembelahan meiosis II atau saat pelepasan *polar body* II. Pada pengamatan pembelahan sel telur didapatkan umur zigot 20 menit saat pelepasan *polar body* II. Kemudian diberikan kejut suhu 40°C, 41°C dan 42°C selama 2 menit pada umur zigot 20 menit. Telur dan sperma dibuahi, selanjutnya induksi triploid dilakukan secara massal dengan kejut suhu 40°C, 41°C dan 42°C selama dua menit pada umur zigot 20 menit yang dilakukan di dalam *Styrofoam* ukuran 40 x 20 x 20 cm³. Telur di inkubasi bak penetasan dengan suhu 26-29°C dan menetas setelah 30-36 jam.

Identifikasi Triploid

Ikan uji dipelihara selama 14 hari dalam toples berukuran diameter 27,5 cm, tinggi 24 cm dan keliling 88 cm. Larva ikan diberikan pakan alami kuning telur dan artemia hingga berumur 14 hari. Pemberian pakan alami diberikan dengan frekuensi 2 kali sehari sekali secara *adlibitum*. Analisis ploidi dilakukan dengan preparasi nukleolus menggunakan modifikasi metode Howell dan Black (1980), yaitu dengan metode pewarnaan perak (*silver staining*). Pewarna yang digunakan dalam metode ini adalah perak nitrat yang berfungsi untuk mewarnai komponen-komponen protein pada nukleolus. Pewarnaan perak nitrat ini, dilakukan saat interfase, sel inti akan terlihat berwarna kuning sedangkan nukleolus berwarna hitam. pada saat metafase, kromosom berwarna kuning dan NOR berwarna hitam. Jumlah nukleolus ini bervariasi atau tetap tergantung pada spesies dan jumlah kromosom yang memiliki NOR.

Parameter yang Diamati

1. Derajat Pembuahan (DPH)

Derajat pembuahan dihitung setelah 6-8 jam fertilisasi, parameter ini untuk melihat kualitas telur merata atau tidak. Rumus yang digunakan sebagai berikut:

$$DPh (\%) = \frac{\text{Jumlah telur yang dibuahi}}{\text{Jumlah telur yang digunakan}} \times 100$$

Telur yang dibuahi dilihat dari warnanya yang hijau kecoklatan, sedangkan telur yang tidak dibuahi berwarna putih keruh.

2. Derajat Penetasan (DPH)

Derajat penetasan dihitung 3 jam setelah telur menetas, parameter ini untuk melihat perbedaan tingkat penetasan antar perlakuan pasca kejutan suhu panas. Dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$DPt (\%) = \frac{\text{Jumlah telur yang menetas}}{\text{Jumlah telur yang dibuahi}} \times 100$$

3. Laju Pertumbuhan

Laju pertumbuhan harian dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\alpha = 100 \times [\ln(W_t) - \ln(W_0)] / t$$

Keterangan:

- α : Laju Pertumbuhan Harian (% hari⁻¹)
 W_t : Bobot Akhir (gr)
 W_0 : Bobot Awal (gr)
 t : Lama Pemeliharaan (hari)

4. Persentase Triploid

Keberhasilan triploid dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$3n (\%) = \frac{\text{Jumlah ikan teridentifikasi } 3n}{\text{Jumlah ikan sampel}} \times 100$$

Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh akan ditabulasi menggunakan Microsoft Excel 2016 dan RAL (Rancangan Acak Lengkap) menggunakan SPSS versi 23 *windows* dan data kualitatif pembelahan sel, distribusi nukleolus dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Derajat pembuahan (DPh), derajat penetasan (DPt), tingkat keberhasilan triploid (TKT), laju pertumbuhan harian (LPH) dan tingkat kelangsungan hidup (TKH) ikan serukan (*Osteochilus sp.*) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil yang diperoleh dari parameter pengamatan

Parameter	Perlakuan			
	Kontrol	P1	P2	P3
DPh (%)	65 ± 3,5 ^d	33,7 ± 3,5 ^b	49,3 ± 6,9 ^c	22,3 ± 6,8 ^a
DPt (%)	86,9 ± 6,5 ^b	40 ± 1,8 ^a	49,2 ± 11,1 ^a	38,3 ± 17,7 ^a
TKT (%)	0%	50%	50%	60%
LPH (%/Hari)	3,28 ± 1,7 ^a	3,18 ± 2,6 ^a	5,15 ± 1,0 ^a	3,30 ± 1,2 ^a
TKH (%)	68,9 ± 10,1 ^{ab}	66,7 ± 13,3 ^{ab}	84,4 ± 7,6 ^b	57,7 ± 3,8 ^a

Keterangan: Huruf superscript dibelakang standart deviasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Derajat Pembuahan (DPH)

Fertilisasi atau pembuahan adalah pengabungan antara inti sel telur dan inti sel sperma sehingga membentuk zigot yang kemudian mengalami pembelahan 1 menjadi 2 sel. Hal ini dapat terjadi apabila sperma berhasil menembus mikrofil telur dan bersatu dengan inti telur (Lagler 1970). Tingkat keberhasilan derajat pembuahan pada ikan sangat ditentukan oleh faktor kualitas telur, spermatozoa, media dan penanganan manusia. Pengamatan perkembangan telur langsung yang diamati dapat

dilihat pada gambar dibawah, adapun waktu yang diamati dibawah mikroskop terjadinya pembelahan meiosis II pada telur ikan serukan yaitu umur zigot 15 menit sampai 25 menit.

Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kualitas induk ikan serukan yang digunakan berkualitas baik (Dunham 2006). Menurut Nuraini (2006) Menyatakan bahwa adanya rata-rata persentase telur yang berhasil dibuahi adalah tidak lepas dari kualitas telur dan spermatozoa yang berhasil dibuahi oleh masing-masing induk jantan dan betina. Dalam penelitian Dunham (2006) berpendapat bahwa presentase pembuahan pada ikan yang diberikan kejutan pada akan lebih rendah dari ikan tanpa perlakuan (kontrol) kejutan panas, salah satu faktornya karena kurang tepatnya penanganan dan perlakuan pada telur saat kejutan panas. Hal ini dapat merusak kualitas telur ikan serukan (*Osteochilus* sp.). Pada penelitian Zulhardi *et al.* (2016) pemberian kejutan panas sangat mempengaruhi presentase triploid, semakin tinggi presentase triploid jika dilakukan pada umur zigot sebelum terjadinya pelepasan polar body II dan mencapai presentase triploid 83%.

Derajat Penetasan (DPT)

Perhitungan derajat penetasan (DPT) adalah perhitungan derajat penetasan keseluruhan dimana semua larva yang menetas dihitung dibagi dengan telur terbuahi. Pada proses inkubasi terjadi proses-proses embryogenesis di dalam telur yaitu pembentukan organ-organ tubuh sehingga embrio berukuran kecil menjadi lebih panjang atau besar dari pada lingkaran kuning telurnya. Perbedaan waktu inkubasi pada telur faktor internal dan faktor eksternal (Effendie 1997).

Berdasarkan hasil perhitungan ANOVA menunjukkan bahwa pemberian kejutan panas yang berbeda pada ikan serukan berbedanya nyata ($P < 0,05$) terhadap derajat penetasan ikan serukan (*Osteochilus* sp). Derajat penetasan telur yang dikejutkan dengan suhu dingin dapat digolongkan masih lebih baik dari pada perlakuan yang dikejutkan dengan suhu panas (Carman 1992). Namun penelitian Hartono dan Witoko (2012) menyatakan derajat penetasan telur dengan kejutan panas akan menghasilkan individu triploid lebih cepat pada ikan patin berkisar antara 40-84% presentase ikan triploid (3n).

Persentase Ikan Triploid

Triploidi salah satu program pemuliaan ikan melalui manipulasi kromosom. Tujuannya adalah untuk menghasilkan sepenuhnya ikan steril yaitu ikan yang memiliki tiga set kromosom (Thorgaard and Allen 1987). Sterilisasi pada ikan dapat mengatasi pengaruh dari pematangan gonad dan dialihkan untuk pertumbuhan ikan.

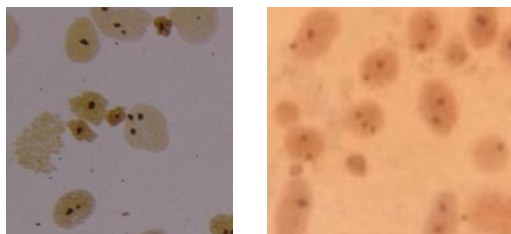
Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh pemberian kejutan panas terhadap keberhasilan triploid ikan serukan, hal ini di duga pada P1 dan P2 rendahnya suhu kejutan yang diberikan pada saat induksi triploid, pemberian kejutan panas berbeda mampu mempengaruhi kelangsungan hidup embrio ikan, namun mampu menghasilkan keturunan-keturunan ikan yang triploid (Sukarti *et al.* 2006).

Hal ini menunjukkan kejutan suhu panas mampu mencegah terjadinya pelepasan polar body II tanpa mengakibatkan kematian total pada zigot dan pemberian kejutan salah satu faktor utama dalam mengubah jumlah kromosom dari diploid (2n) menjadi triploid (3n) penambahan satu set kromosom diduga sebagai akibat dari penahanan kutub II (polar body II) pada saat diberi kejutan suhu (Hartono dan Witoko 2012). Gheyas *et al.* (2001) menyatakan semakin tinggi suhu dan semakin lama kejutan panas yang diberikan dapat mengakibatkan kecacatan pada larva yaitu membawa efek pada angka penetasan kelangsungan hidup. Pada penelitian Alawi *et al.* (2009) pemberian kejutan panas dengan suhu kejutan 40°C dan lama kejutan 1-5 menit dapat menginduksi triploid ikan selais (*Cryptopterus lympok*) dengan tingkat keberhasilan triploid mencapai 41,7-91,7%. Menurut Ibrahim *et al.* (2017) berpendapat bahwa pemberian kejutan panas pada suhu 42°C dan lama kejutan 2 menit mampu mendapatkan ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) dengan gejala sterilitas pada ikan patin

siam. Susilo *et al.* (2018) menambahkan rekayasa set kromosom dengan kejutan panas pada suhu 40 °C dan lama kejutan 1,5-2 menit mampu menghasilkan keberhasilan ikan triploid mencapai 43-53%.

Haloho (2015) menambahkan induksi triploid pada ikan ingir-ingir (*Mytus nigriceps*) dengan kejutan panas dapat menghasilkan ikan ingir-ingir yang memiliki kromosom 3n (triploid). Sastrawibawa (2003) berpendapat keberhasilan ginogenesis triploid selain dipengaruhi oleh kejutan panas juga dipengaruhi oleh tingginya rendahnya suhu yang berikan dan lama waktu yang dikejutkan. Zulhardi *et al.* (2016) menyatakan pertumbuhan ikan triploid lebih cepat berbanding ikan normal, pada ikan triploid diperoleh bobot dengan rata-rata 170,66-181,33 g sedangkan ikan normal 120,66 g.

Pada awal setelah fertilisasi diketahui umur zigot yang digunakan yaitu 20 menit dan suhu yang digunakan 40, 41 dan 42 °C yang sudah ditentukan. pada kejutan panas terdapatnya penambahan satu set kromosom yang diduga sebagai akibat dari penahanan kutub II (*polar body II*). Thorgaard (1983) menyatakan bahwa terbentuknya ikan-ikan triploid diakibatkan oleh adanya penambahan satu set kromosom pada saat sel diploid. Sedangkan sumber set kromosom dalam ikan triploid adalah badan kutub II yang terdapat dalam sel telur. Menurut Piferrer *et al.* (2000) pemberian kejutan panas berpengaruh terhadap rendahnya angka pembuahan, penetasan dan kelulushidupan ikan triploid yang disebabkan oleh beberapa faktor. Pada ikan turbot dan ikan sea bass, rendahnya angka-angka tersebut dikarenakan penanganan dan perlakuan terhadap pada saat induksi triploid.



Gambar 1. Hasil pengamatan sel setelah pewarnaan menunjukkan adanya 3 titik hitam yang menandakan ikan triploid (3n)

Laju Pertumbuhan Harian (LPH)

Laju pertumbuhan adalah perubahan bentuk akibat pertambahan panjang, bobot dan volume dalam periode tertentu (Effendi 1997). Laju pertumbuhan harian berhubungan erat dengan efisiensi pemakaian makanan yang dimakan oleh larva ikan. Berdasarkan hasil pengamatan larva ikan serukan setiap perlakuan yang berbeda selama 14 hari masa pemeliharaan, diketahui bahwa asupan larva ikan triploid lebih tinggi dibandingkan asupan ikan diploid sehingga menghasilkan larva ikan serukan dengan pertambahan bobot yang berbeda. Namun laju pertumbuhan harian pada setiap perlakuan tidak berbeda setiap harinya tetapi range nilai laju pertumbuhan harian tertinggi pada P2. Hal ini diduga masa pemeliharaan larva ikan serukan yang relatif singkat sehingga tidak ada pertambahan bobot yang signifikan.

Berdasarkan hasil perhitungan ANOVA menunjukkan bahwa pemberian kejutan panas yang berbeda tidak berberda nyata ($P > 0.05$) terhadap laju pertumbuhan harian bobot larva ikan serukan (*Osteochilus sp.*). Berdasarkan hasil pengamatan terlihat bahwa pertambahan bobot larva beragam pada keempat perlakuan. Pertambahan bobot tertinggi diperoleh P2 (umur zigot 20 menit, suhu kejut 41 °C dan lama kejut 2 menit) dengan nilai rata-rata 5,15% dan pertambahan bobot terendah pada P1 (umur zigot 20 menit, suhu kejut 40 °C dan lama kejut 2 menit) dengan nilai rata-rata 3,18%. sedangkan pada P3 (umur zigot 20 menit, suhu kejut 42 °C dan lama kejut 2 menit) dengan nilai rata-rata 3,30% dan PO kontrol dengan nilai rata-rata 3,28%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kejutan panas terhadap laju pertumbuhan harian ikan triploid lebih cepat berbanding ikan normal (Zulhardi *et al.* 2016), dilihat dari pertambahan bobot rata-rata larva ikan serukan 0,005-0,020 gr. Hal ini diduga ikan

triploid mampu mengalihkan pertumbuhan gonad ke pertumbuhan somatik. Semakin tinggi jumlah ikan triploid yang didapatkan pada populasi ikan serukan maka semakin meningkat rata-rata laju pertumbuhan pada ikan secara keseluruhan (Zulhardi *et al.* 2016).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian optimasi waktu pembelahan sel dan suhu kejutan terhadap tingkat keberhasilan triploid ikan serukan (*Osteochilus* sp.) dapat disimpulkan bahwa umur zigot dan suhu kejut mempengaruhi tingkat keberhasilan ginogenesis (triploidi) ikan serukan, dimana tingkat triploidi tertinggi diperoleh pada P3 (umur zigot 20 menit dan suhu kejut 42°C) setelah pembuahan dengan nilai rata-rata 60% dan berdampak positif terhadap laju pertumbuhan harian (LPH) ikan serukan (*Osteochilus* sp.).

DAFTAR PUSTAKA

- Alawi, Nuraini, H., & Sapriana. (2009). Induksi Triploid Ikan Selais (*Kryptopterus lympok*) Menggunakan Kejutan Panas. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 14(1): 37-47.
- Beaumont, A.R., & Hoare, K. (2003). *Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture*. Oxford [GB]: Blackwell Science. hlm 158-160.
- Berrill, I.K., MacIntyre, C.M., Noble, C., Kankainen, M., & Turnbull, J.F. (2012). Bio-economic Costs and Benefits of Using Triploid Rainbow Trout in Aquaculture: Reduced Mortality. *Aquacult Eco Mgmt*. 16(2):365-383.
- Carman, O., Oshiro, T., & Takashima, F. (1991). Estimation of effective condition for induction of triploidy in goldfish *Carassius auratus* Linnaeus. *J Tokyo Univ Fish*. 78(2):127-135.
- Carman, O. (1992). Chromosome Set Manipulation in Some Warm-Water Fish. *Doctoral Thesis*. Tokyo University of Fisheries. Tokyo. Hal 131.
- Dunham, R.A. (2006). *Aquaculture and Fisheries Biotechnology: Genetic Approaches*. Cambridge [US]: CABI. hlm 372-376.
- Effendi, M.I. (1997). *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta. Hal 134-187.
- Hartono, D.P., & Witoko, P. (2012). Pengaruh Jarak Waktu Pemberian Kejutan Dingin pada Pembentukan Individu Triploid Ikan Patin (*Pangasius* sp). *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. Politeknik Negeri Lampung. 12(3): 156-162.
- Gheyas, A.A., Mollah, M.F.A., & Hussain, M.G. (2001). Triploid Induction in Stinging Catfish *Heteropneustes fossilis* Using Cold Shock. *Asian Fisheries Science*. 14(3):323-332.
- Gjedrem, T., & Baranski, M. (2009). *Selective Breeding in Aquaculture: An Introduction*. London [GB]: Springer. hlm 221.
- Haloho, M.D.T. (2015). Efektivitas Triploidisasi dengan Penetasan dan Suhu Kejutan Yang Berbeda Pada Ikan Ingir-ingir (*Mystus nigriceps*). *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru. hlm 44-57.
- Howell, W.M., & Black, D.A., (1980). Controlled Silver Staining of Nucleolus Organizer Regions with Protective Colloidal Developer: a 1-step methods. *Experientia*. 36(2):1014-1015.
- Ibrahim, Y., Soelistyowati, D.T., & Carman, O. (2017). Triploid Striped Catfish *Pangasianodon hypophthalmus*: Growth Performance and Gonadal Development. *Jurnal Akuat Indonesia*. 16(1):76-82.
- Kligerman, A.D., & Bloom, S.E. (1977). Rapid Chromosome Preparations from Solid Tissues of Fishes. *J Fish Res Board Can*. 34(3):266-269.

- Lagler, K.F. (1970). *Freshwater Fishery Biology*. WM. C. Brown Comp. Publishers. Dubuque. Iowa. Hal 371-191.
- Liu, S.J., Qin, Q.B., Xioa, J., Lu, W.T., Shen, J.M., Li, W., Liu, J.F., Duan, W., Zhang, C., Tao, M., Zhao, R.R., Yan, J.P., & Liu, Y. (2007). The formation of the polyploid hybrids from different subfamily fish crossings and its evolutionary significance. *Genetics*. 176(2):1023-1034.
- Muchlisin, Z.A., Arfandi, G., Adlim, M., Fadli, N., & Sugianto. (2014). Induced Spawning of Seurukan Fish *Osteochilus vittatus* (Pisces: Cyprinidae) Using Ovaprim, Oxytocin and Chicken Pituitary Gland Extracts. *AACL Bioflux*. 7(5):412-418.
- Mulyasari, D.T., Soelistyowati, A.H., Kristanto, & Kusmini, I.I. (2010). Karakteristik Genetik Enam Populasi Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*) di Jawa Barat. *Jurnal Riset Akuakultur*. 5 (2):175-182.
- Mukti, A.T., Rustidja, Sumitro, S.B., & Djati, M.S. (2001). Poliploidisasi Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). *Jurnal Biosin*. 1(1): 17-25
- Myers, P.R., Espinosa, C.S.P., Jones, G.S., Hammond, & Dewey, T.A. (2014). The Animal Diversity Web (online). Accessed at <http://animaldiversity.org>.
- Nam, Y.K., Park, I.S., & Kim, D.S. (2004). Triploid hybridization of fast-growing transgenic mud loach *Misgurnus mizolepis* male to cyprinid loach *Misgurnus anguillicaudatus* female: the first performance study on growth and reproduction of transgenic polyploid hybrid fish. *Aquaculture*. 231:559-572.
- Nurasni, A. (2012). Pengaruh Suhu dan Lama Kejutan Panas Terhadap Triploidisasi Ikan Lele Sangkurian (*Clarias gariepinus*). *Tesis Universitas Padjadjaran. Sumedang*. Tidak Dipublikasikan. Hlm 34-41.
- Park, I., Nam, Y.K., & Kim, D.S. (2006). Growth performance, morphometric traits and gonad development of induced reciprocal diploid and triploid hybrids between the mud loach (*Misgurnus mizolepis* Günther) and cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus* Cantor). *Aquacult Res*. 37(5):1246-1253.
- Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J.C., Flajšhans, M., Haffray, P., & Colombo, L. (2009). Polyploid fish and shellfish: production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture*. 293(7):125-156.
- Sastrawibawa, S. (2003). Jumlah Kromosom dan Anak Inti Ikan Tawes Diploid (*Puntius gonionotus* Blkr). *Jurnal Bionatura*. 5(1):21-28.
- Subagia, J., Gustiano, L., & Winarlin. (2006). *Pelestarian Ikan Nilem (Osteochilus sp.) Melalui Teknologi Pembenihan*. Lokakarya Nasional Pengelolaan dan Pelindungan Sumber Daya Genetik di Indonesia. Hal:279-286.
- Sukarti, K., Djawat, I., & Fujaya, Y. (2006). Pengaruh Lama Kejutan Panas Terhadap Keberhasilan Triploidisasi Ikan Lele (*Clarias batrachus*). *Jurnal Sains dan Teknologi*. 6 (3):135-142.
- Susilo, R.H., Farikhah, F., & Rahim, R.A. (2018). Analisis Jumlah Kromosom Pada Triploidisasi Ikan Mas (*Cyprinus carpio linn*) Ras Punten Dengan Lama perendaman Kejut Suhu Panas Yang Berbeda. *Jurnal Perikanan Pantura*. Universitas Muhammadiyah Gresik. 1(1).76-88
- Syandri, H. (2004). The Use of *Osteochilus vittatus* and *Puntius javanicus* As an Agen of Biological in Maninjau Lake. *Journal of Natur Indonesia*. 6(2):87-91.
- Thorgaard, G.H., & S.K. Allen Jr. (1987). Chromosome manipulation and markers in fisheries management. In. Ryman, N., Utter, F. (Eds.), *Population Genetics and Fishery Management*. University of Washington. Washington. US.