

KOMBINASI SUHU DAN WAKTU KEJUT PANAS TERHADAP KEBERHASILAN TRIPLOID IKAN SEURUKAN (*Osteochilus sp.*)

TEMPERATURE AND DURATION OF THERMAL SHOCK ON THE SUCCESS OF TRIPLOID SERUKAN (*Osteochilus sp.*)

Taufik Akbar¹⁾, Yusran Ibrahim^{1)*}, Fazril Saputra¹⁾, Khaidir²⁾

¹⁾Jurusan Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar, Aceh Barat

²⁾UPR Mina Mandiri Beutong, Kabupaten Nagan Raya

*Korespondensi: sufaldiansyah@utu.ac.id

ABSTRAK

Penelitian bertujuan mendapatkan umur zigot terbaik untuk proses triploidisasi dengan menggunakan kejut suhu panas dan mengetahui performa pertumbuhan benih ikan seurukan triploidisasi. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan model Rancangan Acak Lengkap (RAL), 4 perlakuan, 3 kali ulangan. P0: Pemijahan normal (kontrol) P1: Suhu 42°C umur zigot 15 menit, lama kejut suhu 2 menit. P2: Suhu 42°C umur zigot 20 menit, lama kejut suhu 2 menit. P3: Suhu 42°C umur zigot 25 menit, lama kejut suhu 2 menit. Penetasan terbaik ditemukan pada perlakuan P3 dengan umur zigot 25 menit dan lama perendaman selama 2 menit sebesar 91,27%. kemudian tingkat kelangsungan hidup tertinggi ditemukan pada perlakuan kontrol yaitu sebesar 89,98% dan persentase keberhasilan triploid ditemukan pada P2 dengan umur zigot 20 menit dan lama perendaman selama 2 menit sebesar 60%. Dari hasil penelitian Triploidisasi ikan seurukan melalui kejutan suhu 42°C selama 2 menit pada umur zigot ke 20 menit setelah pembuahan berhasil menginduksi ikan triploid. Perlakuan optimum yang dapat menghasilkan triploid tertinggi (60%) dengan tingkat kelangsungan hidup 81,1% adalah kejutan suhu 42°C selama 2 menit pada umur zigot ke 20 menit setelah pembuahan.

Keywords: *Kejutan Suhu Panas, Triploid, Serukan*

ABSTRACT

The purpose of the research is to obtain the most desirable zygote age for the triploidization process using heat shock and to determine the growth performance of Seurukan fish breed as triploidized. The method used in this study is experimental method with a completely randomized design model, through 4 treatments, and 3 replications. P0: Normal spawning (control) P1: Temperature 42°C, zygote age 15 minutes old, temperature shock duration 2 minutes. P2: Temperature 42°C, zygote age 20 minutes old, temperature shock duration 2 minutes. P3: Temperature 42°C, zygote age 25 minutes old, temperature shock duration 2 minutes. The preferable hatching was found in P3 treatment with a zygote age of 25 minutes old and immersed duration for 2 minutes which was 91.27%. In addition, the highest survival rate was found in the control treatment which was 89.98% and the percentage of triploids successfulness was found in P2 with a zygote age of 20 minutes old and an immersed duration for 2 minutes which was 60%. The results present that the triploidization of Seurukan fish through a temperature shock of 42°C for 2 minutes at the zygote age of 20 minutes old after fertilization succeeded in inducing triploid fish. The optimum treatment that able to produce the highest triploid (60%) with a survival rate of 81.1% is a temperature shock of 42°C for 2 minutes at the zygote age of 20 minutes old after fertilization.

Keywords: *Thermal shock, Triploid, Osteochilus sp*

¹ Progam Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Teuku Umar
Jalan Kampus Alue Peunyareng, Kec. Meureubo, Kab. Aceh Barat, email: yusranibrahim@utu.ac.id

PENDAHULUAN

Ikan seurukan (*Osteochilus sp.*) merupakan spesies ikan air tawar yang paling banyak diminati saat ini oleh masyarakat, selama ini permintaan ikan seurukan untuk kebutuhan konsumsi masih mengandalkan hasil tangkapan dari alam yang ditangkap langsung oleh nelayan, bahkan dengan menggunakan cara yang tidak ramah lingkungan dan merusak. Hal tersebut menyebabkan populasi ikan seurukan yang terdapat di alam berangsur kurang baik dari segi jumlah maupun ukurannya. Oleh karena itu berkaitan dengan permasalahan yang terjadi perlu dilakukannya alternatif lain yakni sebuah usaha untuk membudidayakan ikan seurukan, sehingga perlu didapatkan informasi dukungan dalam melakukan usaha budidaya ikan seurukan diantaranya data-data bioekologi terkait ikan tersebut. Kajian tentang ikan seurukan telah dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya, diantaranya Arfandi *et al.* (2014) yang mengkaji tentang penggunaan hormon ovaprim, ekositosin dan ekstrak hipofisa ayam dalam pemijahan ikan seurukan.

Komoditas ikan ini sudah mulai dibudidayakan oleh beberapa petani di Kabupaten Nagan Raya. Berdasarkan laporan petani ikan masih terkendala pada laju pertumbuhan yang relatif lambat jika dibandingkan dengan komoditas budidaya lainnya. Upaya perbaikan performa pertumbuhan ikan dapat dilakukan dengan rekayasa genetik melalui beberapa metode diantaranya seleksi hibridisasi atau persilangan, rekayasa set kromosom dan transgenesis. Saat ini usaha budidaya ikan seurukan sebagian besar dikalangan pembudidaya masih dilakukan secara tradisional (klasik) baik dari segi pembenihan maupun pembesaran Samsudin *et al.* (2010). Selain dari pada itu ikan seurukan juga memiliki pertumbuhan yang relatif sangat lambat sehingga hasil produksinyamenurun. Beberapa usaha budidaya sudah pernah dilakukan dalam upaya untuk mempercepat pertumbuhan diantara lain menggunakan aplikasi probiotik dan pemberian pakan dengan kadar protein yang cukup optimum Yusuf *et al.* (2014) namun hasilnya belum memuaskan. Untuk mengantisipasi hal tersebut maka diperlukan aplikasi teknologi rekayasa genetik salah satunya melalui triploidisasi.

Triploidisasi merupakan salah satu program pemuliaan ikan melalui manipulasi kromosom. Tujuannya adalah untuk menghasilkan sebagian atau sepenuhnya ikan steril yaitu ikan yang memiliki tiga set kromosom. Thorgaard *et al.* (1987). Perkembangan gonad ikan dapat menghambat atau menjadi saingan dari pertumbuhan somatik karena sebagian dari nutrien atau energi dipakai untuk pematangan kelamin (Purdom 1973), Pandian *et al.* (1998). Oleh sebab itu sterilisasi pada ikan dapat mengatasi pengaruh pematangan gonad dan dialihkan untuk pertumbuhan ikan. Sterilasi pada ikan dapat dilakukan dengan cara yaitu rangsangan triploidisasi. Upaya triploidisasi dilakukan untuk mempersingkat waktu produksi dikarenakan individu triploid yang dihasilkan memiliki kemampuan tumbuh dan berkembang lebih cepat serta signifikan (Haloho *et al.* 2015). Sehingga induksi triploid adalah salah satu metode yang efektif saat ini tersedia untuk produksi massal ikan seurukan.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan model Rancangan Acak Lengkap (RAL), 4 perlakuan, 3 kali ulangan. Masing-masing ulangan dipelihara sebanyak 15 ekor larva ikan uji sehingga total ikan uji yaitu 180 ekor.

P0 : Pemijahan (kontrol/ tanpa perlakuan)

P1 : Suhu 42°C umur zigot 15 menit, lama kejut suhu 2 menit

P2 : Suhu 42°C umur zigot 20 menit, lama kejut suhu 2 menit

P3 : Suhu 42°C umur zigot 25 menit, lama kejut suhu 2 menit

Pemijahan

Pemijahan dilakukan secara buatan, induk betina ikan seurukan diinjeksi Ovaprim dengan dosis 0,5 ml/kg sedangkan induk jantan dengan dosis 0,3 ml/kg. disesuaikan dengan berat bobot ikan. Penyuntikan dilakukan pada jam 23:00 WIB, setelah 10- 12 jam, Penyuntikan dilakukan pada malam hari agar proses pengerjaan *striping* lebih muda dilakukan keesokan harinya. apabila *striping* belum berhasil pada jam tersebut makan tunggu beberapa jam lagi sekitar 1-2 jam ikan siap di *striping* dan dilakukan pembuahan namun apabila hal tersebut terjadi kegagalan dalam *striping* kemungkinan besar ikan tersebut belum sempurna kematangan gonadnya.

Pengamatan Embrio

Pengamatan embrio dilakukan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10x100 untuk mengamati telur yang telah diberi perlakuan dan juga telur kontrol. Pengamatan dilakukan dengan melihat perkembangan embrio dari telur dan mencatat tiap waktu yang dibutuhkan telur untuk sampai pada tahap-tahap perkembangan embrio hingga menetas menjadi larva.

Produksi Triploid

Kejut suhu panas dilakukan dalam 2 kotak *Styrofoam* yang diisi air dengan suhu masing-masing kotaka dalah 42°C yang diberi kejutan selama 2 menit kelompok telur yang telah disiapkan dalam saringan kasa kemudian dipindah kedalam kotak *Styrofoam* sesuai dengan perlakuan umur embrio, telur ditempatkan pada kotak *Styrofoam* selama 2 menit. Umu rembrio yang digunakan adalah meni tke 15 menit, 20 menit dan 25 menit perlakuan yang diberikan merupakan kombinasi dari kedua parameter tersebut. Kejut suhu dilakukan dengan memindahkan saringan kasa yang berisi telur kedalam kotak *Styrofoam* sesuai dengan perlakuan. Telur pada masing-masing perlakuan yang telah dikejut suhu panas diletakan kembali kedalam *Styrofoam* dengan suhu air normal (28°C selanjutnya diinkubasi selama 24 sampai 30 jam hingga telur menetas. Identifikasi ikan triploid dilakukan pada larva berumur 1 minggu menggunakan metode Howel & Black (1980).

Pemeliharaan

Ikan uji dipelihara selama 14 hari dalam toples volume 16 liter. Larva ikan yang berumur 4 hari diberikan pakan kuning telur hingga berumur 14 hari, Pemberian kuning telur dilakukan setiap 6 kali sehari secara *adlibitum*.

Parameter Uji

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:

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

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:

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

3. Tingkat Kelangsungan Hidup (TKH)

Perhitungan Kelangsungan hidup ikan menggunakan rumus menurut (Goddart 1996) dalam Effendi *et al.* (2006) sebagai berikut:

$$\text{TKH (\%)} = \frac{\text{Nt}}{\text{No}} \times 100$$

Keterangan:

TKH: Tingkat kelangsungan hidup (%)

No: Jumlah ikan pada awal pemeliharaan (ekor)

Nt: Jumlah ikan pada akhir pemeliharaan (ekor)

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 yang akan didapat berupa tingkat keberhasilan Triploidisasi (%), selanjutnya akan dianalisis secara ANOVA, menggunakan SPSS 22.0 pada selang kepercayaan 95%. Jika terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan, maka dilakukan uji lanjut (Duncan).

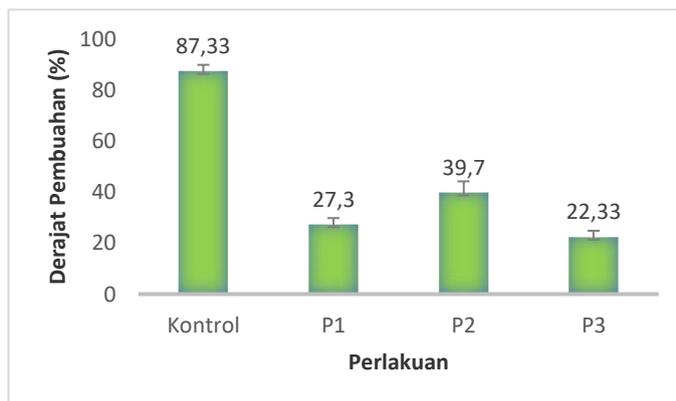
HASIL DAN PEMBAHASAN

Derajat Pembuahan

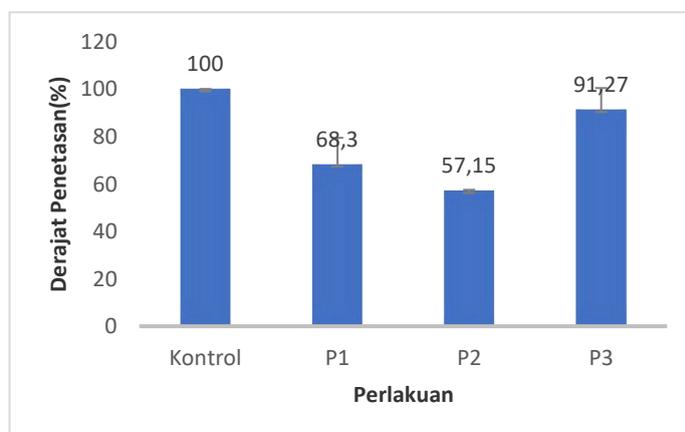
Berdasarkan hasil analisis sidik ragam ANOVA menunjukkan bahwa kombinasi suhu dan waktu kejutan panas berpengaruh nyata terhadap derajat pembuahan telur ikan seurukan ($P < 0,05$). Nilai DPH tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol yaitu 87,33% kemudian disusul perlakuan P2 yaitu 39,7%, sedangkan nilai DPH terendah terdapat pada perlakuan P3 yaitu 22,33% selanjutnya disusul perlakuan P1 yaitu 27,3%. Derajat pembuahan dapat dilihat pada Gambar 1.

Derajat Penetasan

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam ANOVA menunjukkan bahwa kombinasi suhu dan waktu kejutan panas berpengaruh sangat nyata terhadap derajat penetasan telur ikan seurukan ($P < 0,05$). Nilai DPT tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol yaitu 100% kemudian disusul perlakuan P3 yaitu 91,27%, sedangkan nilai DPT terendah terdapat pada perlakuan P2 yaitu 57,15% selanjutnya disusul perlakuan P1 yaitu 68,3%.



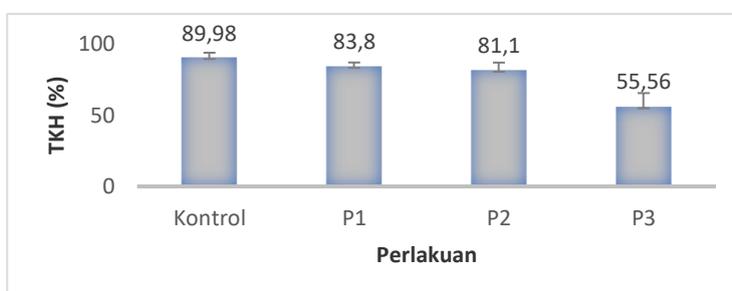
Gambar 1. Derajat Pembuaahan Ikan Serukan



Gambar 2. Derajat penetasan pasca kejut suhu panas

Tingkat Kelangsungan Hidup

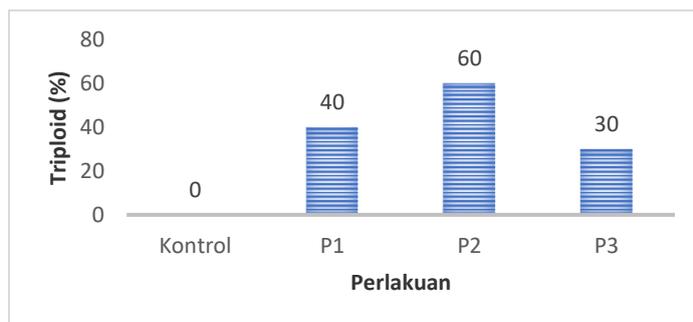
Berdasarkan hasil analisis sidik ragam ANOVA menunjukkan bahwa kombinasi suhu dan waktu kejut panas tidak berpengaruh nyata terhadap derajat penetasan telur ikan serukan ($P > 0.05$). Nilai TKH tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol yaitu 89,98% kemudian disusul perlakuan P1 yaitu 83,8%, sedangkan nilai TKH terendah terdapat pada perlakuan P2 yaitu 81,1% selanjutnya disusul perlakuan P3 yaitu 55,56%.



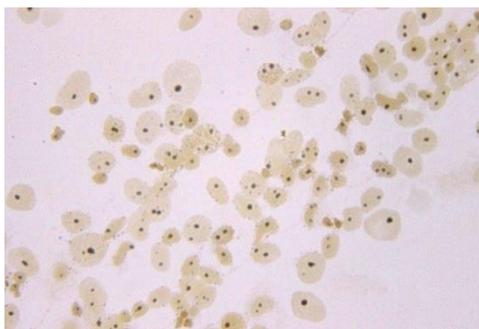
Gambar 3. Tingkat kelangsungan hidup ikan serukan pasca kejut suhu panas

Tingkat Keberhasilan Triploid

Persentase jumlah nukleolus pada ikan seurukan berdasarkan sel triploid bervariasi antar perlakuan. Hasil penelitian didapatkan bahwa persentase triploid tertinggi ditemukan pada perlakuan P2 dengan umur zigot 20 menit memiliki presentase sel triploid sebesar 60%, kemudian diikuti perlakuan P1 dengan umur zigot 15 menit 20 menit memiliki presentase sel triploid sebesar 40%, selanjutnya disusul perlakuan P3 dengan umur zigot 25 menit memiliki persentase sel triploid sebesar 30%, sedangkan nilai persentase terendah didapatkan pada perlakuan kontrol yaitu 0%.



Gambar 4. Tingkat keberhasilan triploidisasi ikan seurukan



Gambar 5. Sebaran 3 titik nukleolus (tanda panas) pada sel ikan seurukan triploid

Proses pembuahan pada sel telur sangat dipengaruhi oleh kualitas telur, sperma dan kecepatan sperma untuk bergerak spontan sehingga mampu masuk ke dalam lubang mikropil pada sel telur. Jumlah telur yang dimasukkan kedalam masing-masing wadah sebanyak 1 gram telur (1184 butir telur) Proses pengamatan pembuahan spermatozoa pada telur dilakukan setelah 6-8 jam setelah fertilisasi, sampel telur yang digunakan dan diamati sebanyak 100 butir telur yang diambil dari setiap perlakuan. Keberhasilan pembuahan telur ditandai dengan warna telur yang kecolatan sedangkan telur yang tidak terbuahi akan berwarna putih.

Kombinasi suhu dan kejutan panas, jika suhu yang terlalu tinggi dan panas mendadak diberikan pada telur, telur mengalami kerusakan sel-sel telur yang akan berkembang. Suhu menjadi sangat penting dalam *gametogenesis*, untuk menunjang keberhasilan dalam proses pemijahan dan daya tetas telur. Suhu memberi pengaruh terhadap perkembangan morfologi, nilai daya tetas dan tingkah laku larva suhu optimum menyebabkan daya tetas telur tinggi sehingga diharapkan dapat meningkatkan daya tetas telur (Yulianti 2016). Hal ini dibuktikan oleh Purdom (1933), perendaman pada telur dengan suhu yang tinggi dapat merusak protein-protein sitoplasma sehingga berpengaruh terhadap perkembangan telur. Suzuki *et al.* (1997) mengemukakan bahwa rendahnya derajat perkembangan telur akibat kejutan panas tersebut selain karena tidak meratanya telur yang sedang mengembang diduga juga karena adanya kejutan ganda yaitu kejutan yang disebabkan oleh adanya inkubasi secara langsung setelah diberi kejutan panas.

Tingkat penetasan telur merupakan persen dari jumlah telur yang menetas baik normal maupun tidak. Data tingkat penetasan yang digunakan dalam penelitian ini untuk mengetahui bagaimana pengaruh perlakuan terhadap daya tetas telur yang merupakan perbandingan antara tingkat penetasan setiap perlakuan dengan tingkat penetasan kontrol.

Apabila suhu dalam wadah penetasan berubah-ubah maka akan berpengaruh terhadap keberhasilan penetasan bahkan akan mengalami kematian. Hasil serupa juga dilaporkan pada beberapa spesies lainnya seperti ikan maskoki menghasilkan derajat penetasan 13% pasca kejutan suhu 42°C selama 2 menit Carman *et al.* (1991) *Salmo trutta* L. 9,4-47,9% Moffett *et al.* (1995) udang *Fenneropenaeus chinensis* 37,3-51,4% (Liu *et al.* (2007) dan ikan nila 3,4-28% (Mukti 2016). Pada ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) dengan suhu 42°C 28,66±1,35% Ibrahim *et al.* (2016). Suhu yang terlalu tinggi atau rendah dapat menghambat proses penetasan, bahkan suhu yang terlalu ekstrim (tinggi) atau berubah secara mendadak dapat menyebabkan kematian embrio dan kegagalan penetasan Andriyanto *et al.* (2013). Menyatakan bahwa perubahan fluktuasi suhu normal yaitu tidak melebihi 2°C. Efek fluktuasi suhu juga berpengaruh pada proses aklimasi terutama pada spesies ikan Kayfan *et al.* (2010).

Suhu air sangat memengaruhi perkembangan embrio, perlakuan kejutan suhu panas dapat mengakibatkan kerusakan pada mikrotubulus yang membentuk spindel selama meiosis Gervai *et al.* (1980), menyebabkan depolimerisasi pada polimer tubulin dalam mikrotubulus yang esensial untuk pembentukan spindel Bidwell *et al.* (1985). Perlakuan kejutan suhu panas memengaruhi kondisi telur dan dapat mengakibatkan kerusakan pada spindel yang terbentuk saat proses meiosis dalam telur (Mukti 2016). Namun kerusakan tersebut tidak terjadi pada keseluruhan telur, sebagian kecil telur tetap mampu berkembang dengan baik. Pandian *et al.* (1990) mengatakan beberapa embrio mati sebelum atau sesaat setelah menetas.

Keberhasilan persentase triploid pada ikan seurukan ditemukan pada umur zigot 20 menit dengan lama perendaman selama 2 menit, setiap ikan berbeda keberhasilan persentase triploid karena ukuran telur pada setiap ikan itu berbeda sehingga ketahannya pun juga berbeda dan pembentukan selnya rendah. Teori tersebut dikemukakan oleh Nurasni (2012) pembentukan sel triploid umumnya tidak mencapai 100%, pernyataan tersebut diperkuat oleh Sukarti *et al.* (2006) bahwa proses keberhasilan triploidisasi jarang mencapai 100%, semua mengacu pada lama kejutan suhu, ketepatan suhu dan ketepatan waktu awal pengejutan. Pada umumnya testis dan ovarium ikan triploid memiliki ukuran lebih kecil dibandingkan ikan diploid dan perkembangan gonadnya tidak normal (Carman 1992).

Peningkatan pertumbuhan ikan triploid tergantung pada spesies dan waktu pemijahannya. Pada beberapa spesies, efek triploidisasi terhadap performa pertumbuhan baru terlihat ketika gonad mulai berkembang hingga pematangan akhir, seperti pada ikan *Oncorhynchus mykiss*, pertumbuhan triploid lebih rendah dibandingkan diploid dari larva hingga perkembangan gonad awal, namun triploid lebih unggul ketika sudah memasuki tahap pematangan gonad akhir (Solar *et al.* 1984; Lincoln dan Scott 1984; Chourrout *et al.* (1986). Hasil serupa juga dilaporkan pada ikan *Misgurnus anguillicaudatus* Suzuki *et al.* (1985), *Salvelinus fontinalis* (Boulanger 1991), Tilapia Bramick *et al.* (1995); Pechsiri *et al.* (2005), *Silurus glanis* Linhart *et al.* (2001) dan *Scophthalmus maximus* (Cal *et al.* (2006). Perkembangan gonad ikan patin jantan lebih cepat dibandingkan betina, namun keduanya belum memasuki fase matang seksual. Tidak semua ikan bisa dilakukan proses triploidisasi dengan cara pemberian kejutan suhu hal tersebut, karena setiap jenis ikan memiliki ukuran telur yang bervariasi sehingga pemberian kejutan suhu baik panas maupun dingin belum tentu berhasil (Edriani 2009).

KESIMPULAN

Triploidisasi ikan seurukan (*Osteochilus* sp.) melalui kejutan suhu 42°C selama 2 menit pada umur zigot ke 20 menit setelah pembuahan berhasil menginduksi ikan triploid. Perlakuan optimum yang dapat menghasilkan triploid tertinggi (60%) dengan tingkat kelangsungan hidup 81,1% adalah kejutan suhu 42°C selama 2 menit pada umur zigot ke 20 menit setelah pembuahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arfandi, G., Muchlisin, Z.A., Adlim, M., Fadli, N., Sugianto S. (2014). Induced spawning of seurukan fish, *Osteochilus vittatus* (Pisces Cyprinidae) using ovaprim, oxytocin and chicken pituitary gland extracts. *AAFL Bioflux*, 7(5): 412-418.
- Andriyanto, W.B. Selamat dan I.M.D.J Ariawan. (2013). Perkembangan Embrio Dan Rasio Penetasan Telur Ikan Kerapu Raja Sunu (*plectropomaleavis*) pada Suhu Media Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, Vol. 5, No. 1, Hlm. 192-203.
- Beaumont, A.R., Hoare, K. (2003). *Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture*. Oxford Blackwell Science. hlm 158.
- 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*. 16:365-383.
- Bidwell, C.A., Chrisman, C.L., Libey, G.S. (1985). Polyploidy induced by heat shock in channel catfish. *Aquaculture*. 51:25-32.
- 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 warmwater fish doctoral thesis*. Tokyo JP: Tokyo University of Fisheries. hlm 131.
- Gervai, J., Marian T., Krasznai Z., Nagy, A., Csanyi, V. (1980). *Occurrence of aneuploidy in radiation gynogenesis of carp Cyprinus carpio L*. *J Fish Biol*. 16(4):435-439.
- Haloho, Mei, Dinar, T., Nuraini, Riauaty, M. (2015). Effectiveness of Triploidization On Ingir-Ingir (*Mystus Nigriceps*) With Different Fertilization and Heat Shock. *Fish Hatchery and Breeding Laboratory Faculty of Fisheries and Marine Sciences University of Riau*.
- 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., Saputra, F., Yusnita D., Karim, A. (2018). Evaluasi pertumbuhan dan perkembangan gonad ikan serukan *Osteochilus* sp yang diberi pakan tepung kunyit. *J Akuakultura*. 2 (2):7-14.
- Ibrahim, Y., Soelistyawati, T.D., Carman, O. (2017). Triploid striped catfish pangasianodon hypopythalmus: growth performance and gonadal development. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 16. (1), 76-82.
- Kayfan., Figen., Esin. (2010) *Heat Shock Protein Genes in Fish Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciense Departemen of Biology, Goztepe 34722 Istanbul, Faculty of Science and Arts, Marmara University Turkey*. 10:287-293.
- Liu, S. J., Qin QB., Xioa J., Lu WT., Shen JM, Li W, Liu JF., Duan W., Zhang C, Tao M., Zhao RR., Yan JP., Liu Y. (2007). *The formation of the polyploid hybrids from different subfamily fish crossings and its evolutionary significance*. *Genetics*. 176(2):1023-1034.
- Mukti, A.T. (2016). Triploidi dan dimorfismeseks, performa reproduksi dan produksinya pada ikan nila *Oreochromis niloticus* disertasi. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- 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.
- 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*. 37:1246-1253.

- Pandian, T.J., Varadaraj, K. (1990). *Techniques to produce 100% male tilapia. AGA.The Iclarm Quarterly.* 13(34):3-5.
- Piferre, 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.* 293:125-156.
- Purdom, C.E. (1993). *Genetics and Fish Breeding. Chapman dan hall* London fish and fisheries series 8.
- Nurasni, A. (2012). Pengaruh Suhu Dan Lama Kejutan Suu Panas Terhadap Triploidisasi Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*). *JAS.*2(1).1-10.
- Soviawati, E. (2004). Pengaruh Kejutan Suhu Panas (*Heat Shock*) Terhadap PenetasanTelur (Heatching Rate) dan Kelulusan Hidupan (Survival Rate) Larva Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Pada Proses Androgenesis *Mitosis*, Skripsi Universitas Jember, Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Sukarti, K.I., Djawad, dan Y. Fujaya. (2006). Pengaruh Lama Kejutan Suhu Panas Terhadap Keberhasilan Triploid Ikan Lele (*clarias batrachus*). *Sains & teknologi.* Vol. 6 No.3:135-142.
- Suzuki, R., Nakanishi, T., Oshiro, T. (1985). *Survival, growth and sterility of induced triploid in the cyprinid loach Misgurnus anguillicaudatus. Bull. Jpn Soc Sci Fish.* 51:889-894.
- Thorgaard, G.H.S.K., Allen, Jr. (1987). *Chromosome manipulation and markers in fisheries menagement. In: Ryman, N., Utter, F. (Eds.), Population Genetics and Fishery Mnagement. University of Washington.*
- Yusuf, D.H, Sugiharto, G.E. Wijayanti. (2014). Perkembangan post-larva ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V) dengan pola pemberian pakan berbeda. *Scripta Biologica,* 1(3): 7-14.
- Yulianti, B.E. (2016). Pengaruh Suhu Terhadap Perkembangan Telur Dan Larva Ikan Tor (Tor tambroides) Skripsi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung: Bandar Lampung.