

EFEKTIVITAS TETRAPLOIDISASI IKAN NILEM (*Osteochilus hasselti* Valenciennes 1842) DENGAN KEJUT TEMPERATUR DINGIN 4°C**THE EFFECTIVENESS OF SHARK MINNOW (*Osteochilus hasselti* Valenciennes 1842) FISH BY 4°C COLD SHOCK****Citra Dina Febrina¹, Yulia Sistina², Isdy Sulisty²**¹Program Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar²Program Studi Biologi, Fakultas Biologi Universitas Soedirman, Purwokerto

Korespondensi : citradinafebrina@utu.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini melaporkan efektivitas tetraploidisasi nilem kejut dingin 4°C pada waktu (15, 20 atau 20 menit) dan lama kejut (10 atau 20 menit) berbeda pada telur nilem terfertilisasi membuktikan bahwa persentase fertilitas telur, persentase penetasan dan persentase kelangsungan hidup antar perlakuan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) sedangkan Hasil pengukuran dimensi sel darah merah benih nilem tetraploid hasil perlakuan membuktikan efektivitas tetraploidisasi kejut dingin yang diperlakukan, yaitu bahwa panjang sel darah merah berbeda nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan; lebar sel darah merah berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan semua perlakuan; luas dan volume sel darah merah berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan semua perlakuan lainnya dipengaruhi oleh perlakuan kejut dingin. Dengan demikian dapat menjadi dasar pengembangan bioteknologi rekayasa reproduksi akuakultur untuk diterapkan dalam skala yang lebih besar dalam rangka memenuhi target peningkatan produksi yang ditetapkan KKP.

Kata Kunci: Sel Darah Merah, Kejut Dingin, Lama Kejut, Tetraploidisasi, Waktu Kejut.**ABSTRACT**

This study reports on shark minnow tetraploidization effectiveness from treatment of 4°C cold shocked at different time (15, 20 or 25 minutes) and different duration time (10 or 20 minutes) of fertilized eggs result showed that fertility percentage, hatching rate and survival rate were highly significantly different ($P < 0.01$) among treatments; Effectiveness of tetraploidization detection results, shown by red blood cell dimension proven that the length of red blood cells were significantly different ($P < 0.05$) among treatments; the width of the cells from fry treatment was highly significantly different ($P < 0.01$) with all treatments; Fries's red blood cells surface area and volume from treatment were highly significant different ($P < 0.01$) with all other treatments. This was the first report on nilem tetraploid applied cold shock 4°C, ready for application in the development of aquaculture reproductive biotechnology resulted in tetraploid fish for larger scale to meet KKP targets in increasing nilem production.

Keyword : Red Blood Cells, Shock Duration, Cold Shock, Shock Time, Tetraploidization

¹ Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar

Korespondensi: Jurusan Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar, Kampus UTU Meulaboh, Alue Peunyareng 23615, Telp: 085260001018, email: citradinafebrina@utu.ac.id

PENDAHULUAN

Salah satu jenis ikan yang banyak dibudidayakan dan diminati adalah jenis ikan Cyprinidae khususnya ikan nilem (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842). Ikan nilem merupakan ikan air tawar yang menjadi target produksi Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). Peningkatan jumlah produksi yang ingin dicapai dari tahun 2009 sampai dengan tahun 2014 mencapai ±864.600 Ton (KKP, 2010). Perkembangan data terbaru dari Kementerian Kelautan dan Perikanan Indonesia 2011 dilaporkan bahwa tingkat konsumsi ikan di Indonesia 2010 mencapai 30,47 Kg/kapita/tahun, meningkat 29% dibanding tingkat konsumsi 2009. Sesuai data dari Dinas Peternakan dan Perikanan Kab. Banyumas tahun 2011 diketahui bahwa ikan tawes merupakan ikan dengan jumlah tertinggi kedua setelah ikan gurami, dengan jumlah produksi ikan dari tahun 2006-2010 sebesar 358.421 ekor. Juga diketahui terjadi peningkatan produksi ikan nilem dari tahun 2006-2010 sebesar 227.389 ekor (Dinas Peternakan dan Perikanan Kab. Banyumas, 2011). Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman telah berhasil menginduksi ikan nilem poliploid dengan metode kejut panas (Sistina *et al.*, 2000; 2011a;b; Purnomo dan Sistina 2012; Asmarany *et al.*, 2012) dan metode kejut dingin (Susanti *et al.*, 2012)

Berbagai teknologi dilakukan untuk meningkatkan produksi ikan nilem ini misalnya melalui program seleksi dan manipulasi kromosom (Mukti, 2001), termasuk poliploidisasi. Induksi tetraploid pada ikan minimum memiliki dua tujuan yaitu untuk menghasilkan triploid steril dengan pertumbuhan yang cepat melalui hibridisasi dengan diploid normal dan untuk menghasilkan ikan yang ukurannya relatif lebih besar dari diploid normalnya (Thorgaard *et al.*, 1981). Teknik manipulasi kromosom diharapkan mampu menghasilkan ikan dengan kualitas genetik unggul seperti pertumbuhan cepat, toleransi tinggi terhadap lingkungan,

kebal terhadap penyakit, dan kandungan daging yang tinggi dapat diperoleh dengan cara manipulasi kromosom (Sumantadinata, 1987). Poliploid merupakan organisme dengan lebih dari dua set kromosom (Piferrer *et al.*, 2006). Manipulasi poliploidisasi dapat menghasilkan individu triploid, tetraploid, hexaploid dan poliploid yang lebih tinggi (Kadi, 2007).

Poliploidisasi pada ikan dapat diperoleh dengan perlakuan fisik berupa perlakuan kejutan (*shocking*) baik pada temperatur panas maupun pada temperatur dingin, pemberian tekanan (*hydrostatic pressure*) untuk menggagalkan peloncatan *polar body* II atau menggunakan bahan kimiawi (Thorgaard, 1983). Bahan kimiawi yang biasa digunakan yaitu kolsikin atau kolsemit, zat ini menimbulkan kerusakan mikrotubul yang menyebabkan terjadinya kerusakan pembentukan tahapan meiosis atau mitosis (Adisoemarto, 1988). Tetraploid merupakan poliploidisasi yang memiliki empat set kromosom (Zou *et al.*, 2004). Individu tetraploid memiliki keturunan dengan sifat fertil (Zou *et al.*, 2004). Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses poliploidisasi yaitu lama kejut, temperatur kejutan (dingin atau panas) pada awal pelaksanaan (Carman, 1990). Dengan demikian maka keunggulan dari ikan poliploid dapat menjadikan solusi terhadap kesediaan benih ikan air tawar dalam menunjang kegiatan budidaya serta dapat meningkatkan produktivitas perikanan bioteknologi reproduksi manipulasi kromosom. (Tave, 1993; Gheyas, 2001; Mukti 2001, Dunham, 2004).

Keberhasilan poliploidisasi dengan berbagai kejut panas maupun dingin merupakan dasar dalam melakukan tetraploidisasi dengan kejut dingin yang pertama kali dilaporkan keberhasilannya oleh Febrina *et al.*, (2012) dilihat dari fertilitas, penetasan dan kelangsungan hidup dengan kombinasi waktu kejut (15,20 atau 25 menit) dan lama kejut (10 atau 20 menit) pada

temperatur dingin 4°C untuk menghasilkan ikan nilam tetraploid dengan deteksi sel darah merah (panjang, lebar, luas dan volume) yang dihasilkan dari ikan tetraploid.

METODE PENELITIAN

Prosedur Penelitian

Induk-induk diinduksi melalui injeksi intramuskular dengan GnRH-analog dan anti dopamin domperidon (Syndel, Vancouver, Canada) dengan dosis 0,2 mL/Kg bobot pejantan dan 0,3 mL/Kg bobot betina, dalam rangka memperoleh spermatozoa dan telur segar untuk fertilisasi *in vitro*. Kemudian zigot dikejut temperatur 4°C dengan menggunakan chiller (Nema type-4x). Telur dan spermatozoa terfertilisasi, pada 15, 20 atau 25 menit pasca fertilisasi, dikejut dingin 4°C selama 10 atau 20 menit dengan rincian perlakuan sebagai berikut fertilisasi tanpa kejut/kontrol (P0), fertilisasi 15 menit lama kejut 10 menit (P1), fertilisasi 15 menit lama kejut 20 menit (P2), fertilisasi 20 menit lama kejut 10 menit (P3), fertilisasi 20 menit lama kejut 20 menit (P4), fertilisasi 25 menit lama kejut 10 menit (P5), fertilisasi 25 menit lama kejut 20 menit (P6). Selesai dikejut maka zigot ditempatkan kedalam wadah kultur yang telah diberi aerasi dan dipelihara dengan metode yang sama. Penentuan tetraploidisasi dievaluasi setelah 3 jam dari fertilisasi dihitung persentase fertilitasnya, kemudian 25 jam kultur dihitung persentase penetasan dan 21 hari pemeliharaan dihitung persentase kelangsungan hidup benih. Keberhasilan tetraploidisasi dievaluasi berdasarkan hasil pengukuran dimensi sel darah merah benih umur 21 hari melalui pengukuran panjang, lebar, luas dan volumenya.

Cara pengukuran dimensi sel darah merah ini sesuai dengan laporan penelitian Sistina *et al.* (2000), Sistina *et al.* (2001a), Purnomo dan Sistina (2012) dan penghitungan luas dan volume sel darah merah sesuai dengan laporan penelitian Gheyas *et al.* (2001) dan Alawi *et al.* (2009). Ikan sampel diambil dari

wadah kultur sebanyak 3 ekor untuk setiap perlakuan. Tiap ekor ikan dilukai untuk diambil darahnya, kemudian darah diteteskan di atas kaca objek, lalu kaca objek lainnya diletakkan dengan sudut 45° terhadap kaca objek di depan tetes darah, kemudian ditarik ke belakang membuat apusan darah, hingga darah menyebar pada kaca sampai terbentuk apusan sepanjang 3-4 cm pada kaca objek. Lalu apusan darah difiksasi menggunakan methanol absolute, selama 3 menit dan apusan dibiarkan mengering pada temperatur ruang. Preparat apusan darah diwarnai dengan pewarna giemsa dengan cara apus darah ditetesi larutan giemsa, dibiarkan selama 20 menit. Kemudian preparat dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Setelah kering maka dilakukan pengamatan ukuran panjang dan lebar sel darah merah menggunakan mikroskop cahaya (Olympus CH-20) dengan lensa obyektif 40x lensa okuler 10x yang dilengkapi mikrometer okuler.

Parameter

Panjang dan lebar sel darah merah yang diamati minimal 100 butir per slide. Luas dan volume sel darah merah dihitung dengan menggunakan rumus Gheyas *et al.* (2001):

$$\text{Surface Area (S)} = \frac{a \cdot b \cdot \pi}{4}$$

$$\text{Volume (V)} = \frac{4}{3} \pi (a/2)(b/2)^2$$

Keterangan:

a : *Mean Values of Major Axes* (Panjang)

b : *Mean Values of Minor Axes* (Lebar)

Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan data yang signifikan dilanjutkan dengan uji beda nyata, bila data terbukti homogen maka dilanjutkan dengan Uji Tukey atau Beda Nyata Jujur dan bila data terbukti heterogen maka dilanjutkan dengan Uji LSD atau Beda Nyata Terkecil (Sokal dan Rohlf,

1997). Analisis menggunakan program SPSS versi 17. Data kualitas air dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil induksi tetraploidisasi ikan nilam (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) dengan kejut temperatur 4°C pada 15, 20 atau 25 menit dari waktu fertilisasi dengan lama kejut 10 atau 20 menit secara keseluruhan menunjukkan bahwa rerata persentase fertilitas, persentase penetasan, dan persentase kelangsungan hidup umur 21 hari larva bervariasi (Tabel 1) dan hasil analisis statistiknya menunjukkan perlakuan tetraploidisasi yang diteliti berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) menentukan persentase fertilitas, persentase penetasan, dan persentase kelangsungan hidup umur 21 hari larva (Tabel 1).

mengukur dimensi sel darah merah berupa pengukuran panjang, lebar, luas (*Surface area*) dan volume sel darah merah yang terbukti secara sangat nyata ($P < 0,01$) lebih besar dimensi sel pada benih perlakuan tetraploid daripada kontrol diploid (Tabel 2).

Secara keseluruhan hasil perlakuan kejut dingin 4°C dengan lama kejut 10 atau 20 menit pada 15, 20 atau 25 menit pasca fertilisasi berhasil menginduksi ikan nilam tetraploid dari data dimensi sel darah merah perlakuan waktu kejut 25 pasca fertilisasi dengan lama kejut 10 dan 20 menit memiliki hasil analisis lebih besar secara sangat nyata ($P < 0,01$) berbeda dari kelompok nilam kontrol diploid (Tabel 2).

Hasil pengamatan dan pengukuran sel darah merah benih nilam hasil perlakuan, selengkapnya disajikan dalam Tabel 2 yang membuktikan adanya efektifitas tetraploidisasi kejut dingin yang dilakukan. Deteksi ploidisasi secara tidak langsung

Tabel 1. Rerata (\pm SD) Fertilitas telur, penetasan telur dan kelangsungan hidup larva nilam (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) perlakuan tetraploidisasi kejut dingin 4°C pada berbagai waktu dan lama kejut berbeda.

Waktu Kejut (menit)	Lama Kejut (menit)	Parameter		
		Fertilitas (%)	Penetasan (%)	Kelangsungan hidup (%)
0	0	75,66 \pm 6,51 ^a	68,33 \pm 8,50 ^a	61,66 \pm 7,09 ^a
15	10	73,33 \pm 7,09 ^a	65,33 \pm 13,57 ^a	53,00 \pm 13,40 ^a
15	20	87,00 \pm 2,00 ^b	84,66 \pm 2,51 ^b	71,66 \pm 11,24 ^a
20	10	82,33 \pm 4,73 ^a	80,33 \pm 3,05 ^b	81,00 \pm 8,00 ^b
20	20	100,00 \pm 0,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^b	0,00 \pm 0,00 ^c
25	10	96,66 \pm 2,52 ^c	50,00 \pm 10,81 ^c	47,66 \pm 6,43 ^a
25	20	96,66 \pm 1,53 ^c	64,33 \pm 10,96 ^c	68,66 \pm 9,61 ^b

Keberhasilan induksi tetraploid ikan nilam (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) dideteksi secara tidak langsung dengan

dengan pengukuran sel darah merah seperti ini, diklaim paling akurat dibandingkan cara deteksi tidak langsung lain seperti perhitungan

jumlah nukleolus (Dunham, 2004). Deteksi ploidisasi seperti ini sudah banyak dilaporkan

Ploidisasi yang meningkat dapat membuktikan bahwa perlakuan temperatur

Tabel 2. Rerata (\pm SD) panjang, lebar, luas dan volume sel darah merah benih nilam (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) hasil perlakuan tetraploidisasi kejut dingin 4°C pada berbagai waktu dan lama kejut berbeda.

Waktu Kejut (menit)	Lama Kejut (menit)	Parameter Sel Darah Merah			
		Panjang sel (μm)	Lebar sel (μm)	Luas (μm^2)	Volume (μm^3)
0	0	5,62 \pm 0,34 ^a	3,30 \pm 0,05 ^a	6,15 \pm 0,11 ^a	6,72 \pm 0,26 ^a
15	10	7,31 \pm 1,09 ^a	4,95 \pm 1,00 ^b	11,52 \pm 2,57 ^b	18,46 \pm 6,41 ^a
15	20	6,55 \pm 0,84 ^a	3,79 \pm 0,40 ^a	7,56 \pm 0,73 ^a	9,34 \pm 1,42 ^a
20	10	6,92 \pm 1,11 ^a	4,73 \pm 0,77 ^b	10,42 \pm 2,19 ^b	15,74 \pm 5,35 ^a
20	20	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^a
25	10	15,25 \pm 8,35 ^b	8,55 \pm 0,79 ^d	28,45 \pm 3,09 ^d	67,67 \pm 12,48 ^b
25	20	18,28 \pm 12,04 ^b	9,77 \pm 0,57 ^e	35,54 \pm 2,91 ^e	96,78 \pm 13,57 ^c

baik untuk nilam (Sistina *et al.*, 2011; Purnomo dan Sistina, 2012; Purnomo, 2012; Susanti, 2013) atau ikan lain (Dunham, 2004; Tiwary *et al.*, 2004; Pradeep *et al.*, 2011).

Menurut Thorgaard dan Gall (1979) bahwa eritrosit pada ikan triploid lebih besar. Laporan Fankhauser (1979) juga mengemukakan bahwa ukuran sel yang lebih besar terjadi karena adanya penambahan jumlah set kromosom ikan triploid sehingga mengakibatkan peningkatan ukuran diameter sel dan volume dari sitoplasma. Perlakuan triploidisasi juga dapat menambahkan ukuran sel darah merah dikarenakan adanya penambahan jumlah kromosom DNA di dalam sel darah merah (Suzuki *et al.*, 1994).

Peningkatan ukuran sel tidak hanya terjadi pada sel darah merah tetapi juga terjadi pada sel darah putih berupa peningkatan seluruh sel dari jaringan poliploid pada ikan triploid coho salmon dan atlantik salmon (Small dan Benfey, 1987).

Garcia-Abiado *et al.* (1999) juga melaporkan bahwa ukuran sel darah merah dan inti ikan Saugeyes triploid lebih besar dari diploid dengan persentase keakuratan 93,8%.

dingin terbukti meningkatkan ukuran eritrosit. ukuran tubuh ikan selama penelitian yang diberi kejut dingin juga dapat dijadikan pembandingan antara benih nilam ikan diploid

dan ikan tetraploid. Laporan Suzuki *et al.* (1984) mengemukakan bahwa ukuran panjang sel darah merah 1,2 sampai 1,3 kali lebih besar dari pada ikan diploid sedangkan untuk perlakuan triploidisasi memiliki volume sel darah merah 1,5 kali lebih besar daripada triploid (Purdom, 1983; Alawi *et al.*, 2009). Hasil penelitian ini juga membuktikan argumentasi tersebut bahwa keseluruhan hasil pengukuran dan perhitungan memiliki nilai ratio sel darah merah ikan tetraploid secara sangat nyata ($P < 0,01$) berbeda dari kelompok nilam kontrol diploid (Tabel 2).

Hasil induksi tetraploid nilam ini mengkonfirmasi efektifitas keberhasilan pencegahan *cleavage* pertama embrio sehingga dihasilkan nilam tetraploid kejut dingin pada waktu sesuai perlakuan penelitian ini, yaitu 25 menit paling efektif. Laporan sebelumnya kejut panas dilakukan pada waktu 15, 20 dan 25 menit terbukti efektif menahan *cleavage* pertama nilam dengan kejut panas

dari deteksi diameter sel darah merah (Sistina *et al.*, 2011a; Purnomo dan Sistina, 2012), dibandingkan waktu kejut pada 39,41 menit yang hasilnya tidak 100% dari deteksi jumlah nukleolus (Agustaman, 2012). Efektivitas waktu kejut temperatur panas 40°C pada 25 menit dari waktu fertilisasi juga efektif menahan *cleavage* pertama dalam mitoginogenesis nilem (Praninda *et al.*, 2012; Nurceha *et al.*, 2012) dan efektif untuk tetraploidisasi kejut panas nilem (Asmarany *et al.*, 2012). Efektivitas waktu kejut pada 20 menit dengan temperatur panas dilaporkan juga efektif menghasilkan tetraploid nilem (Asmarany *et al.*, 2012).

Tetraploid nilem kejut dingin ini merupakan laporan pertama, yang menghasilkan data sangat signifikan khususnya untuk kejut pada 25 menit, sesuai data volume sel darah merah dan dimensi sel lain (Tabel 2). Hasil uji lanjut membuktikan bahwa lama kejut dingin 10 atau 20 menit sama-sama efektif menghasilkan fertilitas, penetasan dan kelangsungan hidup umur-21 hari nilem tetraploid. Sudah dilaporkan bahwa nilem tetraploid hasil kejut panas sudah terbukti memiliki laju pertumbuhan secara mencolok lebih tinggi dari diploid dan triploid kejut panas akibat paling tidak laju metabolisme tetraploid lebih besar dari data konsumsi oksigennya (Purnomo dan Sistina, 2012; Purnomo 2012). Dengan demikian secara keseluruhan dapat dibuktikan hasil penelitian ini membuktikan bahwa hipotesis kejut dingin pada waktu dan lama kejut berbeda mempengaruhi fertilitas, penetasan, kelangsungan hidup benih dan dimensi sel darah.

Pengukuran kualitas air pada perlakuan kejut dingin 4°C nilem (*Osteochilus Hasselti* Valenciennes 1842) membuktikan bahwa selama kegiatan pengkulturan serta kesediaan materi (spermatozoa dan telur) berkualitas baik. Tingginya nilai persentase fertilitas, penetasan dan kelangsungan hidup umur 21 hari terbukti dipengaruhi kualitas air berupa temperatur, pH serta suplai oksigen yang diperoleh dari aerasi terus menerus pada

media kultur selama pemeliharaan. Menurut Gheyas *et al.* (2001) keberhasilan penetasan dan pengkulturan dipengaruhi kesesuaian kualitas air terutama temperatur. Temperatur merupakan faktor yang mempengaruhi laju metabolisme dan kelarutan gas dalam air (Zonneveld *et al.*, 1991).

Temperatur kultur selama penelitian memiliki kisaran 26-28°C dan masih berada pada kisaran optimum untuk penetasan dan pemeliharaan nilem. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Wijayanti *et al.* (2010) temperatur yang baik untuk kelangsungan hidup ikan nilem berkisar 26-29°C. Menurut Cahyono (2001), Sumantadinata (1981), dan Susanto (2001) memiliki temperatur berkisar 18-28°C sangat baik untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan, sedangkan untuk perkembangan embrio ikan nilem memiliki kisaran temperatur 27-29°C.

Selain temperatur, kualitas air yang memiliki peranan penting lainnya adalah pH. Menurut Wardoyo (1975) kualitas air pH 4 dan 11 merupakan titik lethal (*death point*) bagi ikan. Selama penelitian pH media kultur yang diperoleh berkisar 6-7, membuktikan bahwa nilai pH sangat baik untuk fertilitas, penetasan dan kelangsungan hidup ikan nilem. Laporan Wijayanti *et al.* (2010) pH yang baik untuk kelangsungan hidup larva ikan nilem berkisar antara 6-8 baik pada wadah berupa akuarium ataupun bak pemijahan. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Hariani (2008) terhadap kualitas air media penetasan telur ikan mas adalah pH 7,03-7,8, dan pH media inkubasi telur ikan mas berkisar antara 7,9-9,6 (Blaxter, 1969). Susanto (2001) juga melaporkan pH 6,7-8,6 merupakan nilai pH optimum selama pemeliharaan ikan nilem.

KESIMPULAN

Kejut dingin 4°C dengan waktu kejut 25 menit dan lama kejut 10 atau 20 menit terbukti efektif dalam menghasilkan nilem tetraploid yang juga dapat dilihat dari deteksi

sel darah merah berupa panjang, lebar, luas dan volumenya lebih besar dibandingkan dengan sel darah merah ikan nilam diploid (kontrol). Kejut dingin 4°C dengan waktu kejut 25 menit dan lama kejut 10 atau 20 menit terbukti efektif meningkatkan nilai persentase fertilisasi, penetasan dan kelangsungan hidup benih nilam tetraploid. Hasil penelitian ini dapat dijadikan acuan dasar untuk pengembangan selanjutnya yang lebih baik lagi sehingga dengan tersedianya protokol tetraploidisasi kejut dingin 4°C ini dapat dijadikan dasar untuk dilakukan kegiatan usaha budidaya atau proyek menghasilkan nilam unggul dalam pemenuhan target KKP berupa peningkatan produksi nilam. Dengan kata lain, tindak lanjut proses budidaya melalui penggunaan nilam hasil bioteknologi untuk pemijahan ikan tetraploid dengan diploid normal menghasilkan triploid serta dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan kebutuhan masyarakat dalam pemenuhan gizi yang berpotensi pada meningkatnya kesejahteraan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pristi, Desi, Boyng, Sastri, Syawalina, Reni, Mas Purnomo, Yusni, Ari dan Mas Eko serta semua pihak yang telah membantu dalam penelitian mengikuti proyek Hibah Pasca yang diketuai oleh ibu Dra. Yulia Sistina, M.Sc.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisoemarto, S. 1988. Genetika Jilid 1. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Agustaman. 2012. Evaluasi Jumlah Nukleoli untuk Menguji Efektivitas Poliploidisasi. *Tesis* (Tidak dipublikasi). Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Alawi, H., Nuraini dan Sapriana. 2009. Induksi Triploid Ikan Selais (*Kryptopterus lympok*) Menggunakan Kejut Panas. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 14, (1): 37-47.
- Asmarany, R; E. Yuwono; dan Y. Sistina. 2012. Fertilitas Telur Nilam (*Osteochillus hasselti* Valenciennes 1842) yang Dikejut Panas 40°C Lama Kejut Berbeda. Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Biologi FMIPA UNY, Yogyakarta.
- Blaxter, J.H.S. 1969. Development Eggs and Larvae. In : Fish Physiology. Vol III. (Eds. W.S. Hoar dan J.H. Randall). Academic Press Inc. New York. USA.
- Cahyono, B. 2001. *Budidaya Ikan di Perairan Umum*. Kanisius : Yogyakarta.
- Carman, O. 1990. Ploidy Manipulation in Some Warm Waterfish. *Master's Thesis*. Departement of Aquatic Biosciences, Tokyo University of Fisheries. Tokyo. 88p.
- Dinas Perikanan dan Peternakan Banyumas. 2011. Realisasi produksi ikan di kabupaten Banyumas. Banyumas.
- Dunham, R.A. 2004. *Aquaculture and Fisheries Biotechnology*. CABI Publishing, Wallingford.
- Fankhauser, G. 1945. The Effects of Changes in Chromosome Number on Amphibian Development. *Quarterly Review of Biology*: 20: 20-78.
- Febrina, C.D., Y. Sistina dan I. Sulisty. 2012. Kejut dingin 4°C pada Telur Nilam (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) Terbuahi dengan Lama Kejut Berbeda Berefek pada Fertilitas, Penetasan, dan Kelangsungan Hidup. Seminar Nasional Taksonomi Fauna IV dan Kongres Masyarakat Zoologi Indonesia ke I. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. November. Purwokerto.
- Garcia-Abiado, M.A.R., K. Dabrowski., J.E. Christensen, and S. Czesny. 1999. Use of Erythrocyte Measurements to Identify Triploid Saugeyes. *North American Journal of Aquaculture* 61: 319-325.
- Gheyas, A.A., M.F.A Mollah and M.G Hussain. 2001. Triploidy Induction in Stinging Catfish *Heteropneustes fossilis* Using Cold Shock. *Asian Fisheries Science* 14: 323-332.
- Hariani, D. 2008. Daya Tetas Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Hasil Triploid Menggunakan Larutan Kolkhisin. *WAHANA*, 51(2): 72-80.

- Kadi, A. 2007. Manipulasi Poliploididi Untuk Memperoleh Jenis Baru yang Unggul. *Oseana XXXII* 4: 1-11.
- KKP. 2010. Rencana Strategis Kementerian Perikanan dan Kelautan 2010-2014. Kementerian Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Mukti, A.T. 2005. Perbedaan keberhasilan tingkat poliploidisasi ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn.) melalui kejutan panas. *Berkala Penelitian hayati* : 10 133-138.
- Mukti, A.T., Rustidja., Sumitro, S.B. dan Djati M.S. 2001. Poliploidisasi Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). *Biosain*, 1 (1): 111-112.
- Nurceha, B., E. Yuwono dan Y. Sistina. 2012. Protokol Mitoginogenesis ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) Kejut Dingin. Seminar Nasional Taksonomi Fauna IV dan Kongres Masyarakat Zoologi Indonesia ke I. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. November. Purwokerto.
- Piferrer F, Beaumont A, Falguière J-C, and L, Colombo. 2006. I. Performance Improvements by Polyploidization in Aquaculture. *Dalam: Colombo L, Crosetti D, dan Svaasand T (Eds.) Performance Improvements by Polyploidisation, Gene Transfer and DNA Vaccination in Aquaculture.* GENIMPACT project: Evaluation of Genetic Impact of Aquaculture Activities on Native Populations. A European Network. WP1 Workshop Genetics of Domestication, Breeding and Enhancement of Performance of Fish and Shellfish”, Viterbo, Italy. 5.
- Pradeep, P.J. 2011. Production of Triploidy in Red Tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) X *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Disetasi*. University Malaysia Terengganu Malaysia. Malaysia.
- Praninda, P.Y; I. Sulistyoyo; dan Y. Sistina. 2012. Perbandingan Efektifitas Meioginogenesis dan Mitoginogenesis Ikan Nilem (*Osteochillus hasselti* Valenciennes 1842). Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Biologi FMIPA UNY. Oktober. Yogyakarta.
- Purdum, CE, 1983. Genetic Engineering by The Manipulation of Chromosomes. *Aquaculture*, 33: 287-300.
- Purnomo dan Y. Sistina. 2012. *Oxygen consumption of shark minnow (Osteochillus hasselti Valenciennes, 1842) polyploid fish.* Proceeding. International Seminar of Indonesian Ichthyological Society, Makassar.
- Sistina, Y; I. Setiadi and R. Widiastuti. 2000. Induced triploidy by heat shock in nilem (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) fish. Proceeding, ASRB 31th conference held in Canberra, Australia.
- Sistina, Y; N. Hidayati; Purnomo ; S. Oktavia; and E.T. Winarni. 2011b. Genome Multiplication by Heat Shocked Effects Quality of Shark Minnow (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) Fish Offspring Proceeding Regional Seminar and Workshop on Advances in Tropical Genomics : Conservation and Sustainable Utilization of Tropical Biodiversity, Bogor.
- Sistina, Y; Purnomo; N. Hidayati; and P.H. Tjahja. 2011a. Genome manipulation by heat shocked a Shark Minnow (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) to get polyploidy off spring. Proceeding Regional Seminar and Workshop on Advances in Tropical Genomics: Conservation and Sustainable Utilization of Tropical Biodiversity, Bogor.
- Small, S.A. and Benfey, T.J. 1987. Cell Size in Triploid Salmon. *Journal of Experimental Zoology*: 241, 339-342.
- Sokal, R.R and F.J Rohlf. 1997. *Biometry the Principle and Practise of Statistics in Biological Research.* Third Edition. W.H. Freeman and Company. New York. .
- Sumantadinata, K. 1981. *Perkembangbiakan Ikan-ikan peliharaan Indonesia.* Fakultas perikanan. Bogor.
- Sumantadinata, K. 1987. *Teknologi Gynogenesis, Percepatan Ikan Peliharaan.* Kompas 23 November 1988.
- Susanti, D., E. Yuwono dan Y.Sistina. 2012. Triploidisasi pada Telur Nilem (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) Kejut Dingin 4°C Dengan Lama Kejut Berbeda. Seminar Nasional

- Taksonomi Fauna IV dan Kongres Masyarakat Zoologi Indonesia ke I. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. November. Purwokerto.
- Susanto, H. 2001. *Budidaya Ikan di Pekarangan*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Suzuki, R., T. Nakjanishi dan T. Oshiro. 1984. Survival, Growth and Sterility of induced Triploids in the Cyprinid Roach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Bulletin of Japanese of Scientific Fisheries* 51 (6) : 889-894.
- Tave, D. 1993. *Genetics For Fish Hatchery Managers*. Avi. Publ. Co. Inc., Wesport, Connecticut. 368p.
- Thorgaard, G. H. And G.A.E.Gall. 1979. Adult Triploid in Rainbow Trout Family. *Genetics*, 98: 961-973.
- Thorgaard, G., Jazwin, M.E., Stier, A.R., 1981. Polyploidy Induced by Heat Shock in Rainbow Trout. *Trans. Am. Fish. Soc.* 110. 546-550.
- Thorgaard, G. H. 1983. *Chromosome Set Manipulation and Sex Control in Fish*. In "Fish Physiology" (W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson, eds.) Vol. IXB. Academic Press, New York. p.405-434.
- Tiwary, BK; R. Kirubakaran and AK. Kay. 1997. Induction of Triploidy by Cold Shock in Indian Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Asian Fisheries Science* 10 : 123-129.
- Tiwary.B.K., R. Kirubakaran, and Arun K. Ray. 2004. The Biology of Triploid fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 14: 391-402.
- Wardoyo, S.T.H. 1975. *Pengelolaan Kualitas Air*. Institute Pertanian Bogor. Bogor. 41p.
- Wijayanti, G.E., Sugiharto, P. Susatyo dan A. Nuryanto. 2010. Perkembangan Embrio dan Larva Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* CV) pada Berbagai Temperatur. 7th Basic science National Seminar Proceeding, Malang.
- Zonneveld, N.; E.A. Huisman and J.H. Boon, 1991. *Prinsip-prinsip Budidaya Ikan*. PT. Gramedia, Jakarta. 72 hal.
- Zou, S., S.Ca. Li., W. Zhou., J. Yang and Huaiyu. 2004. Establishment of Fertile Tetraploid Population of Blunt Snout Bream (*Megalobrama ambycephala*). *Aquaculture* 238, 155-164.