

## Full Paper

**ANDROGENESIS DIHASILKAN DARI BERBAGAI LAMA IRADIASI ULTRAVIOLET DAN BERBAGAI WAKTU KEJUT PANAS PASCA FERTILISASI PADA TELUR IKAN NILEM (*Osteochilus hasselti* CV)**

**ANDROGENESIS PRODUCED BY IRRADIATION OF ULTRAVIOLET VARIOUS LENGTHS OF TIME AND HEAT SHOCK AFTER FERTILIZATION ON EGGS OF SHARK MINNOW FISH (*Osteochilus hasselti* CV)**

Tiwuk Windari

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan  
Universitas Palangkaraya  
Jl. Yos Sudarso, Kampus Tunjung Nyaho Palangka Raya, Kalimantan Tengah  
E-mail: tiwukwindari@yahoo.co.id

**Abstrak**

Androgenesis, bioteknologi yang melibatkan produksi individu-individu yang seluruh kromosomnya berasal dari induk jantan diargumentasikan sebagai upaya percepatan pemenuhan kualitas induk yang sangat dibutuhkan. Androgenesis meliputi 2 tahap, inaktivasi materi genetik telur, bisa dengan iradiasi sinar ultra violet (UV) dan tahap diploidisasi zigot, bisa dengan kejut panas 40°C. Penelitian ini melaporkan androgenesis ikan nilem melalui 2 tahap inaktivasi berbagai dosis iradiasi UV, dilanjutkan diploidisasi pada berbagai waktu kejut panas 40°C dari waktu setelah fertilisasi. Tujuan penelitian adalah mengetahui (1) efektifitas inaktivasi TUV 254 nm (Philips) 15 watt jarak 15 cm dengan lama iradiasi berbeda (sebagai dosis) yaitu 1 (1983 J/m<sup>2</sup>), 3 (5950 J/m<sup>2</sup>) atau 5 (9916 J/m<sup>2</sup>) menit pada telur ikan nilem dan (2) efektifitas diploidisasi dengan kejut temperatur 40°C selama 90 detik mulai berbagai waktu yaitu 15, 20 atau 25 menit setelah fertilisasi. Penelitian eksperimental ini menerapkan rancangan acak lengkap, terdiri dari 13 perlakuan yang masing-masing diulang 4 kali, terinci : 9 perlakuan androgenesis yaitu iradiasi UV (1, 3, atau 5 menit) dilanjutkan dengan kejut panas pada 15, 20, atau 25 menit dari waktu fertilisasi (A<sub>1</sub> – A<sub>9</sub>), dan 4 perlakuan sebagai kontrol terdiri atas, kontrol positif yaitu tanpa iradiasi dan tanpa kejut panas (K<sub>0</sub>) dan 3 kontrol negatif diiradiasi tanpa kejut panas (K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>). Variabel yang diamati adalah fertilitas telur, derajat penetasan, persentase larva haploid, persentase sintasan juvenil hingga hari ke-28. Data dianalisis dengan *One Way of Variance* (ANOVA) menggunakan program SPSS Versi 16.0 *Windows Software*. Hasil penelitian diperoleh bahwa dosis iradiasi UV yang dicobakan efektif menginaktivasi material genetik nilem, dengan data paling efektif yaitu 5 menit (9916 J/m<sup>2</sup>) iradiasi. Kejut panas 40°C selama 90 detik yang diperlukan terbukti efektif mencegah mitosis pertama embrio androgenesis diploid nilem dengan perlakuan paling efektif yaitu A<sub>9</sub>, iradiasi 5 menit dan kejut panas 40°C selama 90 detik pada waktu 25 menit setelah fertilisasi.

**Kata kunci: androgenesis, iradiasi UV, kejut panas, larva haploid, telur ikan nilem**

**Abstract**

Androgenesis, biotechnology involving the production of the whole individual chromosomes that derived from the male brood stock as efforts to meet the quality of brood stock fulfillment. Androgenesis involves two phases, the inactivation of the genetic material of eggs, can be irradiated using ultraviolet (uv) rays and diploidization of zygote stage using heat shock at 40°C. The study reported androgenesis of shark minnow fish through two stages of various doses of UV inactivation, followed by the diploidization at various lengths of times of heat shock at 40°C after fertilization. Objectives of the research were to determine: (1) the effectiveness of inactivation of TUV 254 nm phillips 15 watt with 15 cm distance using various time of irradiation (as the dose) i, e: 1, 3, or 5 minutes at shark minnow fish and 2) the effectiveness of diploidization by heat shock at 40°C for 90 seconds at the various of time i.e: 15. 20 or 25 minutes after fertilization. This experimental study was complete randomized block design, consisting of 13 treatment, i.e: 9 treatment androgenesis using UV irradiation (1, 3 or 5 minute) and then followed by heat shock at 15, 20 or 25 minutes after fertilization (A<sub>1</sub> - A<sub>9</sub>), and 4 treatment as a control that consisting of 1 positive control, ie, without irradiation and without heat shock (K<sub>0</sub>) and 3 negative controls were irradiated but not heat shock (K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>). Variables that be observed are the eggs fertilization, the degree of hatching, the percentage of haploid larvae, the percentage of juvenile survival rate after 28 days of culture. Data were analyzed with one way of variance (ANOVA) using SPSS

version 16.0 of Windows Software. The results showed that the UV irradiation dose was effectively activating the genetic material of shark minnow fish, where the most effective treatment was at 5 minutes (9916 J/m<sup>2</sup>). It proved that heat shock at 40°C for 90 seconds was effective to prevent the first embryonic mitosis diploid androgenesis of shark minnow fish and the most effective treatment was A<sub>9</sub> with irradiation for 5 minute and heat shock at 40°C for 90 seconds at 25 minutes after fertilization.

**Key words: androgenesis, haploid larvae, heat shock, UV irradiation, shark minnow fish eggs**

## Pengantar

Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* Valenciennes 1842) sangat diminati konsumen maupun pembudidaya karena harganya yang ekonomis dan mudah dibudidayakan (Sunarma *et al.*, 2007) serta tekstur ototnya halus, gurih rasanya. Di daerah Banyumas, Purbalingga dan Banjarnegara benih ikan nilem masih didatangkan dari daerah Tasikmalaya Jawa Barat karena ketersediaan benih ikan nilem semakin menurun dan sulit dicari benih yang berkualitas. Rahman *et al.* (2009) menjelaskan bahwa semakin menurun dan sulitnya dicari benih ikan yang berkualitas dikarenakan terjadinya ketidakmurnian genetik atau adanya variasi genetik akibat persilangan, seleksi negatif dan hibridisasi dengan strain berbeda. Salah satu cara perbaikan kualitas benih yaitu perbaikan genetik dengan pemurnian induk, dan cara yang praktis dilakukan yaitu memanfaatkan bioteknologi reproduksi misalnya androgenesis.

Androgenesis merupakan salah satu tekni reproduksi yang menghasilkan individu-individu yang seluruh kromosomnya berasal dari induk jantan. Androgenesis yang digunakan untuk produksi jantan super (YY), melalui 2 langkah yaitu eliminasi atau inaktivasi genom telur (*oosit*) dan diploidisasi oleh penekanan pembelahan mitosis pertama (Pandian & Kirankumar, 2003; Kirankumar *et al.*, 2003; Thorgaard *et al.*, 1990). Pemberian kejutan (panas/dingin) atau tekanan untuk mempertahankan diploidisasi embrio pada tahap awal perkembangannya dilakukan dengan cara menghambat pembelahan mitosis pertama (Chourrout, 1984). Penman (1993) menjelaskan bahwa diploidisasi akan mencegah pembelahan sel pertama dan menghasilkan duplikasi kromosom dari genom haploid paternal yang membelah menjadi dua.

Radiasi adalah proses penyinaran dengan menggunakan bahan mutagen (Cherfas, 1981), radiasi digunakan menginaktifkan bahan-bahan genetik pada telur dan spermatozoa. Salah satu bahan mutagen ialah sinar ultra violet (UV) dan sering digunakan karena penggunaannya menguntungkan yaitu murah, mudah dan aman (Lou & Purdom, 1984;

Whitson, 1972; Karayucel, 2003). Sasaran utama iradiasi adalah ADN, menyebabkan terbentuknya pirimidin dimer terutama pada residu basa timin yang berdekatan dalam satu untaian tinim dimer yang mengganggu replika ADN. Reaksi suatu obyek yang dikenai sinar UV tergantung pada jarak, sumber sinar dengan obyeknya, dan lama penyinaran (Ackerman *et al.*, 1979). Penelitian androgenesis pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L) yang dilakukan Kwiatkowski *et al.* (2008) menggunakan iradiasi UV dosis 384-5760 J/m<sup>2</sup> (lampu UV 30 Watt; 6,4 W/m<sup>2</sup>) dengan 4 variasi kejutan panas temperature (35, 38, 40 atau 42 °C dan 3 variasi lama kejutan panas (1, 2 atau 3 menit) pada waktu 5, 15, 30 atau 60 menit setelah fertilisasi. Cherfas (1981) dan Purdom (1983) menjelaskan bahwa akibat perlakuan iradiasi genetik gamet betina hasil individu bersifat haploid dengan ciri-ciri abnormal: bentuk punggung dan ekor bengkok, mata atau mulut tidak sempurna, ukuran tubuh kecil, sistem peredaran darah tidak normal dan ketidakmampuan melakukan aktivitas renang dan makan.

Beberapa dosis iradiasi sinar UV dengan kejutan panas pada temperatur bervariasi dilakukan beberapa menit setelah fertilisasi pada telur ikan mas telah diteliti. Untuk itu penelitian androgenesis perlu diterapkan pada ikan nilem (*Osteochilus hasselti* CV) yaitu dengan berbagai lama iradiasi UV (1, 3, atau 5 menit) panjang gelombang 254 nm daya 15 Watt dengan jarak 15 cm dan lama kejutan temperatur 40°C selama 90 detik pada waktu 15, 20 atau 25 menit setelah fertilisasi.

## Bahan dan Metode

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu 2 akuarium ukuran 35 x 60 x 40 cm<sup>3</sup> dilengkapi aerator (*Aquila* tipe Q-6) untuk pemeliharaan induk ikan nilem, kotak lampu TUV ukuran 30 x 30 x 50 cm<sup>3</sup>; *water bath* (Jeio Tech WB-20E no F 06.10, power 50 Watt, 10 A, 220 Volt, Korea); 4 *aqua heater* (Ak-01, 50 Watt, 230 Volt, 50 Hz), pompa air (Resum 75 Watt), mikroskop (*Olympus* CH-20), kamera digital (*Olympus* FE-5010 / X-915).

Bahan yang diperlukan adalah 4 pasang ikan nilam berkualitas dan matang gonad, berat ikan betina  $\pm$  160 g dan jantan  $\pm$  125 g; hormon LHRH analog/ovaprim; larutan Ringer (CV. Krabat Semarang); kertas indikator; larutan sera (60% methanol + 30% formaldehid + 10% asam asetat); *methylen blue* 3 ppm dan larutan Giemsa; 6 cawan petri diameter 8 cm, 10 cm / 12 cm, 3 baskom plastik diameter 25 cm, 9 saringan plastik diameter 8 cm, 9 boks plastik ukuran 40 x 60 x 50 cm<sup>3</sup>, 52 keranjang plastik diameter 20 cm, 52 kain jaring halus ukuran 30 x 30 cm<sup>2</sup>.

#### Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental menurut rancangan acak lengkap (RAL) dengan 13 perlakuan dengan rincian 9 perlakuan androgenesis ( $A_1 - A_9$ ) dan 4 perlakuan kontrol (1 kontrol tanpa iradiasi dan kejut panas/ $K_0$ , 3 kontrol tanpa kejut panas/ $K_1, K_2, K_3$ ) dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali.

Variabel yang diamati adalah persentase fertilitas telur ( $FR$ ), derajat penetasan ( $HR$ ), persentase larva haploid dan persentase kelangsungan hidup ( $SR$ ) juvenil umur 28 hari. Deteksi keberhasilan androgenesis diamati morfologi juvenil perlakuan umur 28 hari kemudian dibandingkan juvenil kontrol normal.

Pelaksanaan penelitian, penyediaan induk jantan dan betina ikan nilam yang berkualitas, induk jantan berat 125 g dan betina 160 g. keduanya matang gonad, agar segera memijah kedua induk diinduksi ovaprim (hormon LHRH analog, berupa GTH-I dan GTH-II diproduksi Syndel International Jnc) dosis 0,5 ml/ 1 kg BB, kemudian keduanya di tempatkan dalam satu akuarium berukuran 35x60x40 cm<sup>3</sup> yang telah diisi air sebanyak 30 l dilengkapi aerator. Setelah 8-10 jam salah satu dipisahkan ditempatkan pada akuarium berbeda, kemudian induk jantan jika siap memijah *distriping* lebih dahulu dan *milt* yang keluar diambil dengan spuit (1-3 ml) tanpa jarum selanjutnya diencerkan dengan larutan Ringer 100 kali. Induk betina juga *distriping* dan telur yang keluar ditampung pada cawan petri diameter 12 cm; telur yang diperoleh segera dibagi ke dalam 3 cawan petri diameter 8 cm untuk diiradiasi sinar UV selama 1, 3 atau 5 menit. Telur yang sudah diiradiasi segera pula dicampur *milt* encer selama 2 menit, kemudian diletakkan ke dalam saringan plastik  $\theta$  8 cm untuk dikultur selama 15, 20 atau 25 menit. Setelah (15, 20 atau 25 menit) pencampuran/fertilisasi langsung dikejut panas

temperatur 40°C selama 90 detik dan masing-masing dibagi 4 (sebagai ulangan) untuk dikultur.

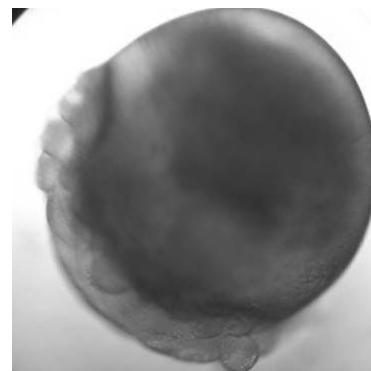
#### Analisis Data

Data diambil dari perhitungan embrio umur 3 jam setelah fertilisasi untuk diamati dan dihitung telur yang fertil (terbuahi) dilanjutkan larva hingga menetas (normal/abnormal) dihitung yang mati/hidup hingga umur 28 hari. Data yang diperoleh dihitung dan dipersentasekan  $FR$ ,  $HR$ , larva haploid dan persentase  $SR$  juvenil umur 28 hari. Data dianalisis dengan *one way Analysis of Variance* (ANOVA) menggunakan *software* SPSS versi 16.0 *Windows*. Hasil analisis yang nyata, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau uji *Tukey Honestly Significant Difference* (Tukey HSD) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan bertempat di laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto Jawa Tengah.

#### Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian dinyatakan bahwa terjadi penurunan persentase fertilitas telur ( $FR$ ), persentase daya tetas ( $HR$ ), persentase larva haploid dan persentase juvenil hidup ( $SR$ ) sampai umur 28 hari (Tabel 1).

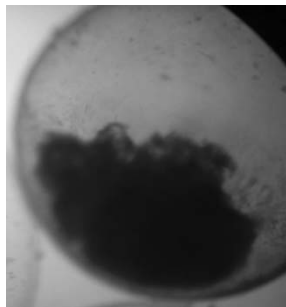
Hasil pengamatan 3 jam setelah fertilisasi (kecuali kontrol) terhadap telur yang terbuahi dan dikejut panaskan menunjukkan bahwa telur yang terbuahi bening dan transparan cerah karena oolema masih utuh sehingga rongga perivitelin tampak jernih (Gambar 1); sedangkan telur yang mati atau tidak terbuahi warnanya berubah menjadi putih dan keruh (Gambar 2).



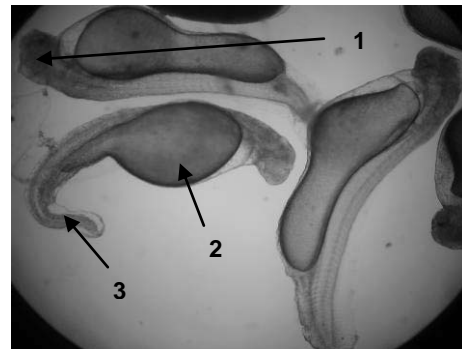
Gambar 1. Mikrograf telur ikan nilam (*Osteochilus hasselti* CV) terfertilisasi umur  $\pm$  3 jam dari waktu pencampuran telur dan milt tahap perkembangan morula. Difoto dengan perbesaran objektif 10 x.

Tabel 1. Rerata ( $\pm$ SD) persentase fertilitas, penetasan, larva haploid, dan persentase kelangsungan hidup juvenil hingga umur 28 hari pada ikan nilem (*Osteochilus hasselti* CV) perlakuan androgenesis dan kontrol.

Perlakuan	Fertilisasi (%)	Penetasan (%)	Larva Haploid	Kelangsungan Hidup Juvenil hari ke-28 (%)
K <sub>0</sub>	93,19 $\pm$ 2,40	95,58 $\pm$ 3,16	0 / nd	89,59 $\pm$ 4,50
K <sub>1</sub>	82,27 $\pm$ 14,03	59,53 $\pm$ 13,06	86,32 $\pm$ 2,88	7,34 $\pm$ 2,32
K <sub>2</sub>	78,78 $\pm$ 17,63	26,44 $\pm$ 12,02	88,62 $\pm$ 5,21	8,08 $\pm$ 1,79
K <sub>3</sub>	23,75 $\pm$ 4,27	33,53 $\pm$ 12,89	89,58 $\pm$ 3,06	3,39 $\pm$ 1,95
A <sub>1</sub>	73,36 $\pm$ 2,60	67,05 $\pm$ 8,41	4,98 $\pm$ 1,13	9,71 $\pm$ 6,16
A <sub>2</sub>	64,50 $\pm$ 10,70	54,08 $\pm$ 8,14	3,19 $\pm$ 0,71	7,51 $\pm$ 2,59
A <sub>3</sub>	66,50 $\pm$ 6,25	53,30 $\pm$ 6,21	6,22 $\pm$ 1,79	16,82 $\pm$ 9,48
A <sub>4</sub>	51,93 $\pm$ 9,44	28,73 $\pm$ 6,51	10,51 $\pm$ 1,95	22,03 $\pm$ 15,23
A <sub>5</sub>	57,81 $\pm$ 8,82	22,76 $\pm$ 1,55	7,71 $\pm$ 1,01	6,38 $\pm$ 0,86
A <sub>6</sub>	57,04 $\pm$ 6,37	13,33 $\pm$ 4,20	10,18 $\pm$ 2,98	12,11 $\pm$ 11,78
A <sub>7</sub>	40,53 $\pm$ 2,06	11,85 $\pm$ 0,54	12,25 $\pm$ 1,50	12,25 $\pm$ 1,50
A <sub>8</sub>	52,98 $\pm$ 3,36	7,21 $\pm$ 0,83	19,30 $\pm$ 3,05	26,80 $\pm$ 10,72
A <sub>9</sub>	44,58 $\pm$ 3,93	5,99 $\pm$ 0,54	24,94 $\pm$ 9,27	38,20 $\pm$ 17,15



Gambar 2. Mikrograf telur ikan nilem (*Osteochilus hasselti* CV) yang tidak terfertilisasi. Foto dari umur  $\pm$  3 jam setelah pencampuran sel telur dan milt, dengan perbesaran objektif 10 x.



Gambar 3. Mikrograf larva haploid nilem (*Osteochilus hasselti* CV) perlakuan androgenesis umur  $\pm$  1,5 jam setelah penetasan dengan obyektif 4 x. 1=Mata, 2= Yolk, 3= Ekor.

Pada Tabel 1 dapat dijelaskan bahwa persentase fertilitas tertinggi yaitu pada perlakuan tanpa iradiasi UV dan tanpa kejut panas (K<sub>0</sub>) diperoleh 93,19 $\pm$ 2,40%, sedangkan yang terendah pada perlakuan tanpa kejut panas dan diiradiasi selama 5 menit (dosis 9916 J/m<sup>2</sup>) diperoleh 23,75 $\pm$ 4,27%. Persentase penetasan tertinggi terdapat pada K<sub>0</sub> yaitu 95,58 $\pm$ 3,16%, sedangkan terendah pada perlakuan androgenesis dengan iradiasi 5 menit dan kejut panas 40°C selama 90 detik pada waktu 25 menit setelah fertilisasi (A<sub>9</sub>) diperoleh 5,99 $\pm$ 0,54%. Larva haploid yang diperoleh hanya dari kromosom paternal (Gambar 3), persentase tertinggi adalah K<sub>3</sub> yaitu perlakuan iradiasi selama 5 menit tanpa kejut panas sebesar 89,58 $\pm$ 3,06% dan persentase terkecil 3,19 $\pm$ 0,71% pada perlakuan androgenesis (A<sub>2</sub>) yaitu perlakuan iradiasi selama 1 menit (dosis



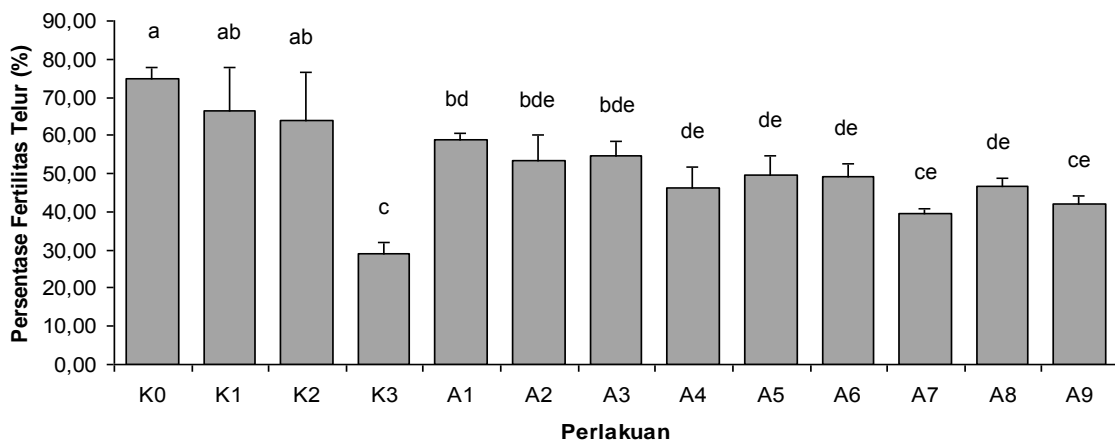
Gambar 4. Mikrograf larva normal ikan nilem (*Osteochilus hasselti* CV) perlakuan androgenesis iradiasi UV dengan kejut panas 40° C selama 90 detik obyektif perbesaran 4 x.

1983 J/m<sup>2</sup>) dengan kejut panas 40°C 90 detik pada waktu 20 menit setelah fertilisasi. Kelangsungan hidup juvenil umur 28 hari persentase tertinggi diperoleh pada K<sub>0</sub> dan terendah pada K<sub>3</sub> yaitu perlakuan tanpa kejut panas sebesar 3,39 ± 1,95% hal ini terjadi (diperoleh larva / juvenil normal) diduga dari hasil fertilisasi telur yang tidak teriradiasi sinar UV karena telur tersebut tertumpuk dengan telur lain (*overlap*), sehingga menetas menjadi prolarva normal. Hasil perlakuan androgenesis yang berhasil menjadi individu-individu normal (Gambar 4) dan diperoleh persentase kelangsungan hidup tertinggi hingga umur 28 hari yaitu perlakuan iradiasi selama 5 menit (dosis 9916 J/m<sup>2</sup>) dengan kejut panas 40°C selama 90 detik pada 25 menit setelah fertilisasi (A<sub>3</sub>) sebesar 38,20±17,15%, sedangkan yang terendah 6,38±0,86% pada perlakuan iradiasi selama 3 menit (dosis 5950 J/m<sup>2</sup>) dengan kejut panas 40°C selama 90 detik pada waktu 20 menit setelah fertilisasi (A<sub>5</sub>).

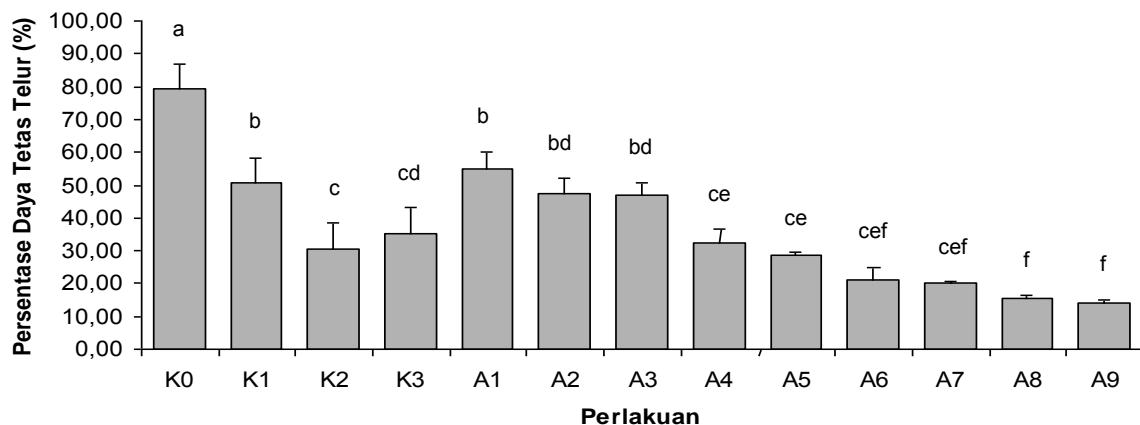
Hasil analisis variansi terhadap data persentase fertilisasi telur, daya tetas, larva haploid dan persentase kelangsungan hidup juvenil hingga umur 28 hari menunjukkan bahwa yang dicobakan memberikan pengaruh yang sangat nyata (P<0,01).

Untuk mengetahui perlakuan mana yang lebih baik dari hasil analisis variansi seluruh perlakuan yang memberi pengaruh berbeda sangat nyata, maka analisis dilanjutkan ke uji beda nyata jujur (BNJ) dan hasilnya disajikan pada Gambar 5, 6, 7 dan 8.

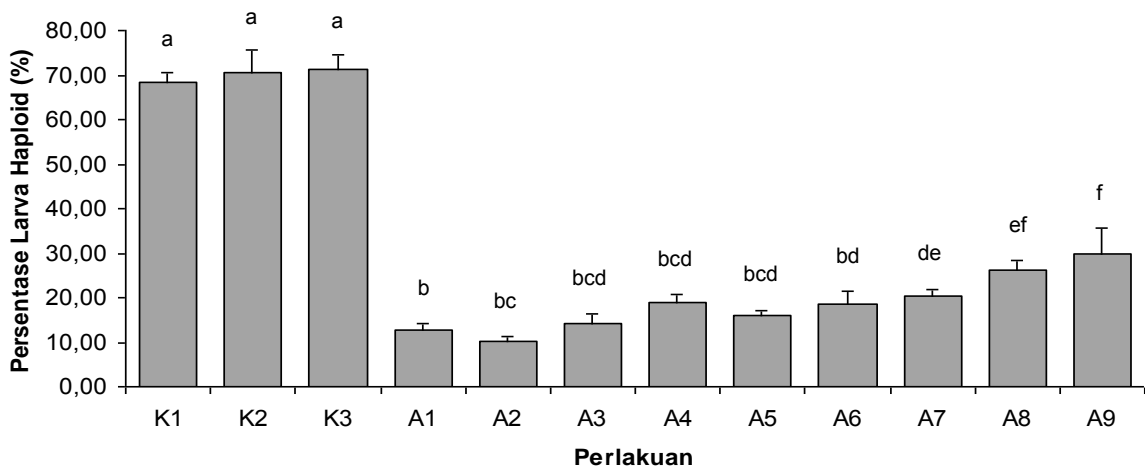
Hasil uji BNJ (Gambar 5) menunjukkan bahwa hampir semua perlakuan berbeda sangat nyata (P<0,01) dengan kontrol positif (K<sub>0</sub>), kecuali perlakuan iradiasi UV selama 1 menit dan kejut panas 40°C selama 90 detik pada telur 15 menit setelah fertilisasi (A<sub>1</sub>) berbeda nyata (P<0,05), juga terhadap kontrol negatif (perlakuan tanpa kejut panas) pada telur nilam diiradiasi selama 1 dan 3 menit (K<sub>1</sub> dan K<sub>2</sub>) tidak



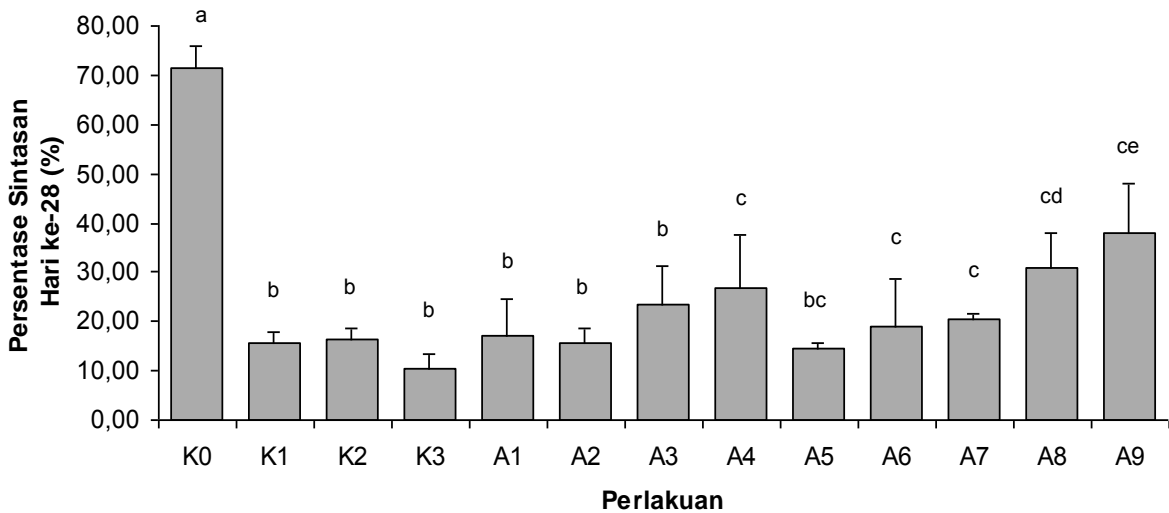
Gambar 5. Diagram uji BNJ terhadap fertilitas telur ikan nilam (*Osteochilus hasselti* CV) pada perlakuan androgenesis.



Gambar 6. Diagram uji BNJ terhadap daya tetas telur ikan nilam (*Osteochilus hasselti* CV) pada perlakuan androgenesis.



Gambar 7. Diagram uji BNJ jumlah larva haploid ikan nilem (*Osteochilus hasselti* CV) pada perlakuan androgenesis.



Gambar 8. Diagram uji BNJ sintasan juvenil umur 28 hari ikan nilem (*Osteochilus hasselti* CV) pada perlakuan androgenesis.

berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap fertilitas telur nilem. Hal ini membuktikan bahwa iradiasi sinar UV 254 nm, jarak 15 cm, dengan daya 15 Watt selama 5 menit ( $K_3 = 9916 \text{ J/m}^2$ ) adalah paling efektif merusak atau menurunkan fertilitas telur nilem, jika dibandingkan dengan perlakuan dosis iradiasi 1 menit ( $K_1 = 1983 \text{ J/m}^2$ ) atau 3 menit ( $K_2 = 5950 \text{ J/m}^2$ ).

Hasil penelitian membuktikan bahwa androgenesis iradiasi sinar UV dengan dosis yang menurunkan fertilitas paling rendah atau menghasilkan kerusakan terendah adalah lama iradiasi 1 menit ( $A_1$ ) menghasilkan fertilitas tinggi di atas 70% (Tabel 1). Hasil persentase fertilitas yang semakin menurun diperoleh dari perlakuan kontrol positif ( $K_0$ ),  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_5$ ,  $A_6$ ,  $A_8$ ,  $A_4$ ,  $A_9$ ,  $A_7$ , dan  $K_2$ . Kejut panas

( $40^\circ\text{C}$ , 90 detik) dilakukan pada telur yang diiradiasi 1 menit diperoleh persentase fertilitas lebih tinggi daripada perlakuan yang diiradiasi 3 menit dan 5 menit, sementara telur yang diiradiasi 5 menit dan dikejut panas pada waktu 20 menit setelah fertilisasi diperoleh persentase fertilitas lebih tinggi daripada kejut panas pada waktu 15 dan 25 menit setelah fertilisasi.

Analisis variansi terhadap data persentase penetasan telur menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ) diantara 13 perlakuan. Untuk mengetahui daya tetas yang terbaik dilanjutkan dengan analisis uji BNJ. Analisis uji BNJ menunjukkan bahwa semua perlakuan berbeda sangat nyata terhadap kontrol positif ( $K_0$ ) artinya, perlakuan iradiasi dan kejut

panas yang dilakukan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap daya tetas. Persentase penetasan yang semakin menurun diduga berhubungan dengan haploiditas embrio yang terbentuk. Pada perlakuan kontrol negatif ( $K_1$ ,  $K_2$ , dan  $K_3$ ) pembuahan spermatozoa dengan sel telur yang telah diiradiasi tidak dilanjutkan dengan pemberian kejut panas, sehingga menyebabkan embrio yang dihasilkan bersifat haploid. Pada perlakuan telur yang diiradiasi dan dilanjutkan kejut panas, diduga tidak berhasil mencegah mitosis pada pembelahan I; sehingga proses diploidisasi tidak berlangsung sempurna atau gagal. Harris (1974) melaporkan bahwa masa kritis embrio ikan nilam terjadi 6-9 jam dan 12 jam setelah fertilisasi yaitu pada fase gastrulasi dan juga proses pembentukan mata dan otak, sedangkan pada larva 60-90 jam yaitu fase penyerapan seluruh kuning telur. Menurut Effendi (1979) persentase telur yang menetas di atas 50% tergolong baik, sedangkan data persentase pada penelitian ini persentase penetasan di atas 50% yaitu pada kontrol ( $95,58 \pm 3,16\%$ ) dan pada telur yang diiradiasi 1 menit (dosis  $1983 \text{ J/m}^2$ ) dan dikejut panas dengan waktu 15, 20 atau 25 menit setelah fertilisasi. Kurcharzyk (2001) menambahkan bahwa telur ikan ide (*Leuciscus idus*) yang diiradiasi sinar UV dosis  $3456\text{-}4608 \text{ J/m}^2$  persentase penetasannya  $> 15\%$ .

Hasil analisis variansi data jumlah larva haploid menunjukkan bahwa perlakuan yang dilakukan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) dalam menghasilkan larva haploid. Hasil uji BNJ bahwa perlakuan terhadap telur yang diiradiasi dosis  $1983 \text{ J/m}^2$  ( $K_1$ ),  $5950 \text{ J/m}^2$  ( $K_2$ ) dan dosis  $9916 \text{ J/m}^2$  ( $K_3$ ) tanpa kejut panas berbeda sangat nyata dengan perlakuan telur yang diiradiasi dosis  $1983 \text{ J/m}^2$ ,  $5950 \text{ J/m}^2$ , dan dosis  $9916 \text{ J/m}^2$  dengan kejut panas ( $40^\circ\text{C}$ , 90 detik) pada waktu 15, 20 atau 25 menit setelah fertilisasi, dan hampir semua perlakuan yang diiradiasi dan kejut panas berbeda sangat nyata terhadap perlakuan  $A_9$  kecuali pada perlakuan  $A_8$  tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ). Pada Tabel 1 rerata persentase larva haploid menunjukkan bahwa semakin lama iradiasi semakin tinggi persentasenya, namun tidak berbeda nyata antara dosis  $1983 \text{ J/m}^2$ ,  $5950 \text{ J/m}^2$  dan  $9916 \text{ J/m}^2$  ini berarti penyerapan energi gelombang sinar UV pada perlakuan ini diduga dapat menonaktifkan material genetik telur ikan nilam dan yang efektif menghasilkan larva haploid tertinggi yaitu dosis  $9916 \text{ J/m}^2$  sebesar  $89,58 \pm 3,06\%$  atau karena material genetisnya tidak akan diturunkan / telah rusak akibatnya akan dihasilkan larva haploid yang material genetisnya

berasal dari spermatozoanya yang membuahi saja dan umur larva haploid mulai 18 hingga 70 jam setelah menetas. Hasil peneliti terdahulu yaitu Bongers *et al.* (1994) melaporkan bahwa iradiasi sinar UV pada telur ikan mas dosis  $1500\text{-}3000 \text{ J/m}^2$  dapat menghasilkan larva haploid 53,9%. Kucharczyk (2001) melaporkan bahwa dosis iradiasi yang diberikan pada telur ikan ide sebesar  $3456\text{-}4608 \text{ J/m}^2$  dapat menghasilkan hampir 100% larva haploid. Fujimoto *et al.* (2007) melaporkan bahwa dosis sinar UV optimum untuk menonaktifkan nukleus telur ikan botia adalah lebih dari  $1500 \text{ J/m}^2$ . Kwiatkowski *et al.* (2008) melaporkan bahwa dosis sinar UV pada semua kasus berkisar antara  $2000\text{-}10000 \text{ J/m}^2$ , sedangkan pada telur-telur ikan carp yang optimal adalah  $3840 \text{ J/m}^2$ . Felip *et al.* (1999) menjelaskan bahwa larva haploid dapat terbentuk karena penyerapan energi gelombang UV oleh telur tidak bersifat lethal.

Hasil analisis variansi data persentase kelangsungan hidup (sintasan) juvenil nilam hingga umur 28 hari menunjukkan bahwa seluruh perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap persentase sintasan juvenil nilam umur 28 hari. Hasil uji BNJ menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi UV  $1983 \text{ J/m}^2$ ,  $5950 \text{ J/m}^2$ , dan  $9916 \text{ J/m}^2$  dan perlakuan iradiasi UV dengan dikejut panas ( $40^\circ\text{C}$ , 90 detik) pada 15, 20 atau 25 menit setelah fertilisasi berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kontrol ( $K_0$ ). Persentase sintasan juvenil hingga umur 28 hari pada perlakuan iradiasi  $9916 \text{ J/m}^2$  dengan kejut panas pada 25 menit setelah fertilisasi diperoleh tertinggi  $38,20 \pm 17,15\%$  berbeda nyata ( $P < 0,01$ ) dengan  $A_7$  (perlakuan androgenesis iradiasi UV 5 menit, dikejut panas  $40^\circ\text{C}$  selama 90 detik pada waktu 15 menit setelah fertilisasi); namun tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dengan  $A_8$  (perlakuan androgenesis, iradiasi 5 menit dikejut panas pada 20 menit setelah fertilisasi).

Penelitian menghasilkan data bahwa perlakuan iradiasi sinar UV tanpa kejut panas juga ditemukan juvenil normal yang hidup hingga hari ke-28. Hasil ini selain membuktikan efektivitas dosis iradiasi, juga dimungkinkan akibat terdapat penumpukan beberapa telur, yang mengakibatkan telur tertumpuk tidak terkena iradiasi sinar UV dan terbuahi menghasilkan larva normal diploid yang didata tetap hidup hingga hari ke-28. Berdasarkan data hasil sintasan nilam androgenesis ini, perlakuan nonaktivasi melalui iradiasi sinar UV, dilanjutkan kejut panas setelah fertilisasi untuk diploidisasi yang diterapkan dalam penelitian ini terbukti efektif menduplikasikan seperangkat kromosom sehingga larva dan juvenil

diploid yang bersifat normal. Penerapan metode diploidisasi dalam penelitian mengkonfirmasi laporan sebelumnya. Purdom (1983) melaporkan bahwa tanpa proses diploidisasi embrio yang dihasilkan akan bersifat haploid dan berkarakter abnormal. Allendorf & Leary (1984) menyatakan bahwa duplikasi kromosom perlu dilakukan agar zigot yang terbentuk setelah fertilisasi tetap diploid dan berkarakter normal. Penman (1993), berargumentasi bahwa produksi benih diploid yang diperoleh tergantung pada keberhasilan kejut panas yang diberikan pada saat pembelahan mitosis I. Persentase normalitas juvenil pada hasil penelitian diperoleh tertinggi yaitu perlakuan iradiasi selama 5 menit dan kejut panas pada 25 menit setelah fertilisasi ( $A_9$ ) merupakan perlakuan androgenesis paling efektif menghasilkan *survival juvenil* tertinggi rata-rata persentase di atas 38%. Jadi waktu kejut panas pada 25 menit setelah fertilisasi pada perlakuan ini adalah yang paling tepat menahan pembelahan mitosis I zigot atau berhasil menghambat pembelahan mitosis I, sehingga menghasilkan embrio androgenesis yang bersifat diploid (tampak normal secara morfologi, Lampiran 1c). Pandian & Kirankumar (2003) mereview bahwa persentase kelangsungan hidup pada beberapa ikan *familia cyprinidae* dan *cichlidae* yang telurnya diinaktivasi sinar UV dan diploidisasi hasilnya sebagai berikut: *C. carpio* iradiasi 100 – 250  $J/m^2$  pada telur dalam cairan ova kelangsungan hidup hingga hari ke-24 sebesar 15%; *P. Chonchonius* kelangsungan hidup juvenilnya 7% dan *P. tetrazona* kelangsungan hidup 15% hingga dewasa, *Misgurnus anguilicandatus* iradiasi UV 7500  $erg/mm^2$  kelangsungan hidup 8%, *Oreochromis niloticus* kelangsungan hidup 3% *Hemigranmus candivittatus* kelangsungan hidup 7% dan *Acipenser ruthenus* kelangsungan hidup 7%.

## Kesimpulan dan Saran

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa androgenesis dengan iradiasi ultra violet panjang gelombang 254 nm (TUV merk Philips, 15 watt dan jarak 15 cm) selama 1-5 menit (dosis 1983  $J/m^2$  - 9916  $J/m^2$ ), efektif untuk inaktivasi material genetik telur ikan nilam dengan lama iradiasi 5 menit.

Kejut panas 40°C selama 90 detik pada 25 menit pasca fertilisasi paling efektif sebagai prosedur androgenesis tahap lanjut setelah inaktivasi materi genetik telur nilam.

## Saran

Untuk mendapatkan hasil yang lebih menarik perlu dilakukan penyediaan induk betina dan jantan yang berkualitas, berbeda jenis atau varietas dan juga berbeda warna indukannya agar diperoleh telur dan *milt* yang berkualitas.

## Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis mengucapkan kepada Ibu Dra. Yulia Sistina, M.Sc.Stud., Ph.D dan Bapak Dr. Ir. Isdy Sulisty, DEA yang telah memberikan bimbingan, dorongan dan pengarahan dalam penulisan makalah ini. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dra. Gratiana E. Wijayanti., M.Rep.Sc., Ph.D dan Bapak Prof. Dr. Ir. Mas Yedi Sumaryadi, M.S, sebagai penelaah yang banyak memberikan saran, petunjuk dan masukan untuk penyempurnaan makalah ini. Disamping itu, ucapan terima kasih dan penghargaan kepada staf pengelola Program Studi Biologi Pascasarjana, staf pengelola laboratorium Fisiologi Hewan yang telah memfasilitasi penulis selama proses pengumpulan data, Prof. Dr. Sulmin Gumiri, M.Sc, Bapak Noor Syarifuddin Yusuf, S.Pi, M.Si, Bapak Dr. Odang Carman, M.Sc dan Ibu Dr. Widanarni, M.Sc. yang telah banyak membantu memberi masukan sejumlah referensi guna membahas hasil penelitian dan semua pihak yang telah membantu terselesaikannya penyusunan tulisan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

## Daftar Pustaka

- Ackerman, E., L.B.M. Ellis, & L.E. Williams. 1979. Ilmu Biofisika. Diterjemahkan oleh Rodjani dan A. Basir. 1988. Airlangga University Press, Surabaya.
- Allendorf, F.W. & F. Leary. 1984. Heterozygosity in Gynogenetic Diploid and Triploids Estimated by Genecentromere Recombination Rates. *Aquaculture*, 43 : 413 – 420.
- Bongers, A.B.J., E.P.C. Veld, K.A. Hashema, I.M. Bremmer, E.H. Eding, J. Komen & C.J.J. Richter. 1994. Androgenesis in Common Carp (*Cyprinus carpio* L). Using UV-Irradiation in a Synthetic Ovarion Fluid and Heat Shock. *Aquaculture*, 122: 119 – 132.
- Cherfas, N.B. 1981. Ginogenesis in Fishes. V.S. Khirpichniko (eds): Genetic Bases of Fish Selection. Springer, Verlag, Berlin Heidelberg. New York. p. 223 – 273.



- Felip, A., F. Pirferrer, M. Carrillo & S. Zamy. 1999. The Relationship Between the Effects of UV Light and Thermal Shock on Gametes and the Viability of Early Developmental Stages in a Marine Teleost Fish, the Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Heredity* 83: 383-397.
- Fujimoto, T., S. Sakao, E. Yamaha, & K. Arai. 2007. Evaluation of Different Doses UV Irradiation Toach Egy for Genetic Inactivation of The Maternal Genome, *J. Exp. Zool.*, 307: 449 – 462.
- Kirankumar, S., V. Anathy & T.J. Pandian. 2003. Hormonal induction of supermale golden rosy barb and isolation of Y-chromosome specific molecular markers. *Gen Comp. Endocrinol.* 134: 62-71.
- Kucharczyk, D. 2001. Genetic Inactivation of *Leuciscus idus* L. (ide) UV Irradiation. *Cytobios*, 104 (407): 189–195.
- Kwiatkowski, M., D. Kocharczyk, A. Szczerbowski, M. Luczyński, A. Mamcarz, & M. Jamróż. 2008. Optimizing Conditions for Androgenesis Induction in Koi Carp. *J. PAU.* 11(2).
- Lou, Y.D. & Purdom. 1984. Diploid Gynogenesis Induced Hydrostatic Pressure In : Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* R). *J. Fish. Biol.* 24: 665-670.
- Pandian, T.J. & S. Kirankumar. 2003. Androgenesis and Conservation of fishes. *Curr. Sci.* 85 (7): 917-931.
- Penman, D.J. 1993. Genetic Manipulation. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland. 43 p.
- Purdom, C.E. 1983. Genetics Engineering by the Manipulation of Chromosomes. *Aquaculture.* 33: 287 – 300.
- Rahman, F., M.R.I. Sarder & M.A. Rouf. 2009. Comparison of Growth Performance between Cryopreserved and Fresh Sperm Originated Fry of *Barbonymus gonionotus*. *J. Banglades Agril. Univ.* 7 (1): 145-149.
- Sunarma, A., D.B. Hastuti & Y. Sistina, 2007. Penggunaan Ekstender Madu yang Dikombinasikan dengan Krioprotektan Berbeda Pada Pengawetan Sperma Ikan Nilem. <http://indoorcommunity.files.wordpress.com/2007/nilem-horneyfull.pdf> Diakses pada tanggal 19 Januari 2012.
- Thorgaard, G.H., P.D. Scheerer, W.K. Hersberger, & J.M. Myers. 1990. Androgenetic Rainbow Trout Produced Using Sperm from Tetraploid Males Show Improved Survival. *Aquaculture.* 85: 215-221.
- Whitson, G.L. 1972. Concepts in Radiation Cell Biology. Academic Press, New York.
- Wijayanti, G.R., Sugiharto., P. Susatyo & A. Nuryanto. 1998. Perkembangan Embrio dan Larva Ikan Nilem yang Diinkubasi Pada Media Dengan Berbagai Temperatur. Laporan Penelitian, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto (Tidak dipublikasikan).