



Androgenesis Ikan Tawes (*Barbonymus Gonionotus* BLKR.) Dengan Iradiasi UV (λ 254 nm) Dan Kejut Panas 40°C

Romdah Romansyah
Universitas Galuh

Alamat: Jl. RE Martadinata No 150. Ciamis

Korespondensi Penulis: romdah1976@unigal.ac.id

Abstract: *This study aims to determine the effectiveness of inactivation treatment of silver barb eggs by UV irradiation for 30 seconds (the dose of 991,67 J/m²) or 50 seconds (the dose of 1652,79 J/m²) for damaging the genetic material of silver barb eggs as assessed by abnormal morphology or appearance of the larvae (or haploid), to determine the effectiveness of diploidization by heat shock at 40°C for 90 seconds to silver barb zygote at 10 or 15 minutes from fertilization time, in order to obtain diploid androgenetic of silver barb as assessed by normal morphological larvae (or diploid) similar to the positive control. Results showed that the average fertility among treatments were highly significant difference.*

Keyword : *Androgenesis, Tawes fish, UV irradiation, Heat Shock.*

Abstrak; *Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas inaktivasi telur ikan gabus dengan radiasi UV selama 30 detik (dosis 991,67 J/m²) atau 50 detik (dosis 1652,79 J/m²) terhadap kerusakan materi genetik. 10 atau 15 menit setelah pembuahan pada suhu 40°C selama 90 detik dengan kejutan panas 90 detik untuk menentukan efisiensi diploidisasi telur sirip perak yang dinilai berdasarkan morfologi atau penampilan larva yang abnormal (atau haploid). silverwood untuk mendapatkan nilai androgen diploid yang ditentukan menggunakan larva morfologi normal (atau diploid) yang mirip dengan kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata pada rata-rata kesuburan perlakuan.*

Kata kunci : *Androgenesis, Ikan tawes, Iradiasi UV, Kejut Panas*

LATAR BELAKANG

Androgen, yaitu bioteknologi reproduksi, menghasilkan keturunan dengan materi genetik hanya dari pihak jantan (Bhise dan Khan, 2002) atau hanya dari pihak jantan. Materi genetik betina di dalam sel telur rusak atau tidak aktif sebelum digunakan untuk membuahnya dengan sperma normal. Inaktivasi atau penghancuran materi genetik dalam telur telah terbukti efektif dengan penyinaran ultraviolet. Misalnya, dosis 5940 hingga 6930 erg/mm² terbukti efektif merusak genom telur ikan nila *Oreochromis niloticus* L (Marengoni dan Onoue, 1998) atau dosis 540 Jm⁻² terbukti efektif perkembangan androgen zigot ikan nila. parameter (Karayucel dan Karayucel, 2003). Prosedur penginduksi androgen tiga langkah telah dilaporkan untuk ikan nila (Windari dan Sistina, 2012), proses penginduksi androgen dua

langkah untuk menemukan dosis iradiasi efektif untuk ikan nila telah dilaporkan oleh Karayucel dan Karayucel (2003). Potensi bioteknologi androgen sebagai langkah strategis bagi ikan. Konservasi genom (Bhise dan Khan, 2002), menjadi hal yang menarik dan mendesak mengingat kondisi ekosistem yang terus memburuk terkait dengan perubahan iklim global. Bioteknologi untuk konservasi dalam kondisi saat ini, khususnya dengan perubahan iklim global, sedang mendesak diterapkan (Sistina, 2012). Nilem androgen telah dilaporkan, khususnya dosis penyinaran UV yang dianjurkan sebesar 9916/Jm², diikuti dengan kejutan panas 400 C selama 90 detik – 25 menit setelah pembuahan, sebagai prosedur yang menghasilkan benih diploid setinggi mungkin . meskipun kelompok kontrol tanpa diploid memiliki persentase larva haploid tertinggi yaitu 70%. 100% haploid (Windari dan Sistina, 2012). Laporan ini melanjutkan protokol androgen Tawes untuk mencari data kuantitatif untuk menemukan protokol yang efektif dari berbagai potensi yang diteliti, namun hanya data kualitatif yang dilaporkan (Sistina dan Sulisty, 2013).

KAJIAN TEORITIS

Gametogenesis yaitu proses pembentukan gamet (Yatim, 1994; Campbell, 2004; Sistina, 2008;). Proses gametogenesis dimulai dari sel gamet spermatogonium pada induk jantan (disebut spermatogenesis) menghasilkan sel spermatozoa, dan oogonium pada induk betina (disebut oogenesis) menghasilkan sel telur atau ovum (Yatim, 1994; Sistina, 2008). Gamet jantan disebut dengan spermatozoa dan gamet betina disebut dengan sel telur atau ovum (Sistina, 2008; Rahardjo *et al.*, 2010). Gamet bersifat haploid, dihasilkan dari proses yang disebut gametogenesis (Yatim, 1994; Campbell, 2004; Fujaya, 2004; Sistina, 2008). Jadi ada dua gametogenesis yaitu spermatogenesis dan oogenesis.

Fertilisasi adalah proses dimana dua sel haploid gamet berdifusi menjadi sel tunggal diploid untuk menghasilkan individu baru yang materi genetiknya berasal dari keduanya (Yatim, 1994; Gilbert, 2000; Campbell, 2004; Sistina, 2008). Proses fertilisasi pada ikan terjadi apabila spermatozoon masuk ke dalam sel telur melalui lubang micropyle yang terdapat pada korion (Yatim, 1994; Sistina, 2008). Pada kelompok mamalia, fertilisasi diawali dengan reaksi akrosom pada spermatozoa. Reaksi akrosom adalah proses keluarnya isi organel akrosom yang berupa enzim-enzim hidrolitik ke luar spermatozoa untuk mencernakan bungkus sel telur *zona pellucida* atau bungkus telur lain seperti *corona radiata* (Sistina, 2008).

Proses androgenesis dilakukan dengan cara memfertilisasikan spermatozoa dengan sel telur yang genetisnya sudah diinaktivasi, kemudian dilanjutkan dengan kejutan panas yang berfungsi untuk mencegah pembelahan pertama sehingga menghasilkan individu diploid

(Bongers *et al.*, 1994; Masaoka *et al.*, 1995; Gomelsky, 2003; Hou *et al.*, 2014). Tiga tahapan androgenesis, yaitu (1) inaktivasi materi genetik oosit dengan menggunakan iradiasi (ultra violet), dan (2) fertilisasi oosit tersebut dengan spermatozoa normal ; (3) proses diploidisasi zigot hasil fertilisasi dengan kejut temperatur untuk mencegah pembelahan mitosis pertama (Sistina, 2012).

Proses inaktivasi materi genetik sel telur dapat menggunakan iradiasi ultraviolet (UV), sinar X dan sinar Gamma (Bonger *et al.*, 1994; Galbusera *et al.*, 2000 ; Arai, 2001; Kocher dan Kole, 2008; Hou *et al.*, 2014). Terdapat 2 jenis sinar UV, yaitu UV dengan panjang gelombang 300-380 nm dan UV dengan panjang gelombang dibawah 300 nm (Harm, 1980). Bahan dasar asam nukleat yaitu purin dan pirimidin dapat menyerap energi gelombang sinar UV yang mengakibatkan kerusakan kromosom (Harm, 1980 ; Juliansyah, 2004). Radiasi UV dapat menyebabkan dimerisasi pirimidin dalam helix DNA, yang mencegah terjadinya replikasi genom (Li *et al.*, 2004). Inaktivasi materi genetik (DNA) dapat dioptimalisasi melalui variasi jarak antara lampu dengan sampel, dan intensitas cahaya dan lama iradiasi (Komen dan Thorgaard, 2007).

Iradiasi berfungsi untuk menonaktifkan materi genetik pada sel telur (Egami, 1980). Iradiasi menggunakan sinar UV lebih menguntungkan karena sinar UV lebih murah, mudah penggunaannya dan lebih aman digunakan (Lou dan Purdom, 1984; Hussain, 1996; Komen and Thorgaard, 2007). Iradiasi digunakan untuk merusak DNA kromosom sel telur baik sebagian atau seluruhnya (Harm, 1980; Parsons dan Thorgaard, 1985; Licht dan Grant, 1997; Li *et al.*, 2004), dapat merusak nukleotida (Bonger *et al.*, 1995), dan merusak sitoplasma telur, RNA sel telur atau DNA mitokondria (Corley-Smith *et al.*, 1996).

METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan berupa proses Androgenesis dengan masing-masing 3 kali ulangan yaitu : (1) Kontrol positif tanpa iradiasi UV dan tanpa kejut panas, (2) Kontrol negatif1: perlakuan telur diiradiasi UV 991,67 J/m² lalu difertilisasi, (3) Kontrol negatif2: telur diiradiasi UV 1652,79 J/m² lalu difertilisasi, (4) Androgenesis1: telur diiradiasi UV 991,67 J/m², difertilisasi, lalu pada 10 menit pasca fertilisasi zigot dikejut panas 40°C selama 90 detik, (5) Androgenesis2: telur diiradiasi UV 991,67 J/m², difertilisasi, lalu pada 15 menit pasca fertilisasi zigot dikejut panas 40°C, selama 90 detik, (6) Androgenesis3: telur diiradiasi UV 1652,79 J/m² difertilisasi lalu pada 10 menit pasca fertilisasi zigot dikejut panas 40°C, selama 90 detik , dan (7) Androgenesis4: telur

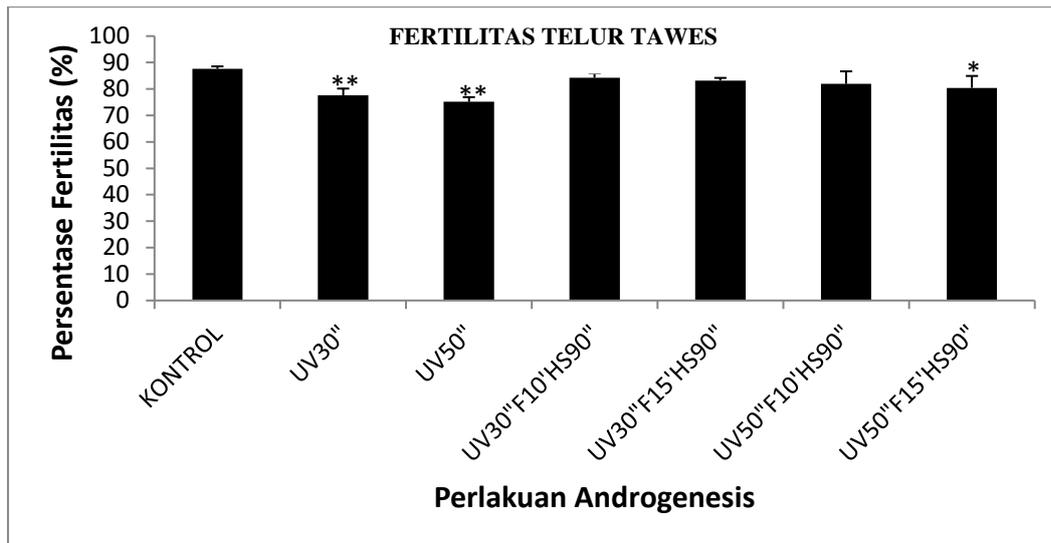
diiradiasi UV 1652,79 J/m² difertilisasi, lalu pada 15 menit pasca fertilisasi zigot dikejut panas 40⁰C, selama 90 detik.

Cara kerja telur dan milt segar diperoleh dari induk yang 6-8 sebelumnya diinduksi intramuskuler dosis 0,5 mL/kg bobot ikan GnRH-analog Domperidon (Syndel Vancouver Inc., Canada). Milt segera diencerkan 100x pengenceran dalam larutan ringer. Telur segar satu lapis dalam cawan petri diiradiasi lampu TL UV 254nm 15 Watt jarak 15 cm lama iradiasi sesuai dosis perlakuan. Telur diiradiasi lalu difertilisasi dengan milt encer, stopwatch dinyalakan bersamaan waktu milt mengenai telur (waktu fertilisasi), cawan petri digoyang lembut 2-3 detik memastikan percampuran lalu ditetesi air. Sesuai perlakuan, maka bisa dipindahkan ke kultur langsung atau dipindah ke kasa lembut berpegangan kawat seser kecil untuk dikejut temperature 40⁰C pada waktu stopwatch mencapai 10 atau 15 menit selama 90 detik sesuai perlakuan dipantau dengan stop watch. Selesai perlakuan zigot diinkubasi ke bak kultur beraerasi. Variabel yang diamati penelitian yaitu fertilitas telur, penetasan, kelangsungan hidup dan morfologi larva ikan tawes. Data kuantitatif yang diperoleh dianalisis dengan One Way Analysis of Variance (ANOVA) menggunakan Software SPSS, dilanjutkan dengan uji Beda (BNJ) atau uji Tukey HSD untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Fertilitas telur tawes

Hasil pengamatan dan perhitungan fertilitas telur tawes total jumlah diurutkan dari rerata fertilitas tertinggi ke terendah yaitu ; Ko (Kontrol) adalah 87,62 ± 0,93%, UV30”F10’HS90” (androgenesis1) 84,24 ± 1,71%, UV30”F15’HS90” (androgenesis2), 83,17 ± 1,01%, UV50”F10’HS90” (androgenesis3) 81,94 ± 4,73%, UV50”F15’HS90” (androgenesis4) 80,26 ± 2,87 %, kontrol negatif1 (UV30”) tanpa kejut 77,59 ± 2,57 %, dan kontrol negatif2 (UV50”) tanpa kejut = 75,13 ± 1,77 %. (Gambar 1.).

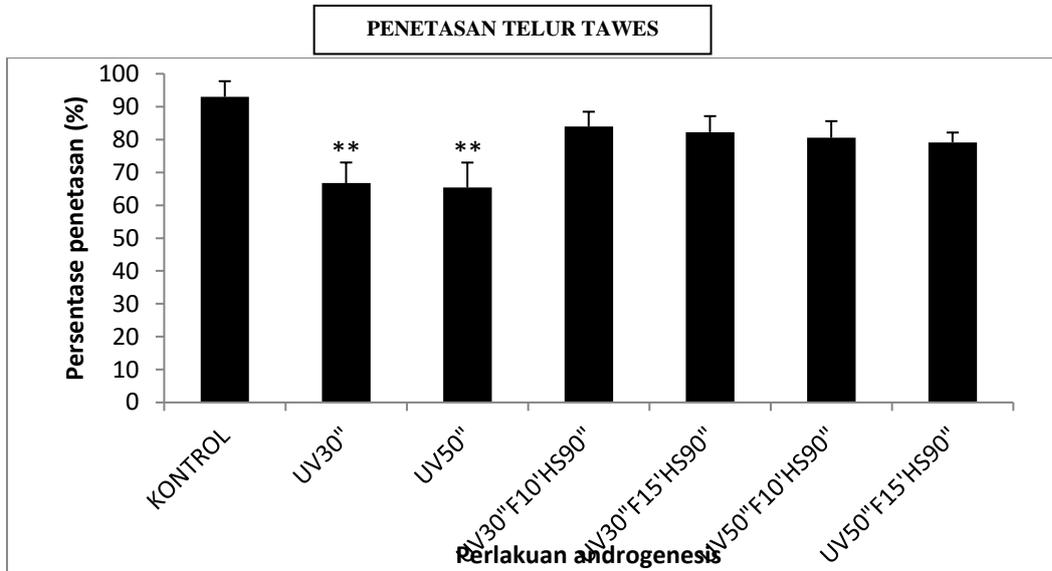


Gambar 1. Rerata (\pm SD) fertilitas telur tawes (*Barbonymus gonionotus* Blkr.) hasil perlakuan androgenesis. Dosis UV 30 atau 50 detik, fertilisasi pada 10 menit atau 15 menit, kejut panas 90 detik. * = ($P < 0,05$), ** = ($P < 0,01$).

Hasil analisis terhadap data fertilitas telur tawes menunjukkan bahwa perlakuan androgenesis berbagai dosis yang diberikan menentukan fertilitas telur tawes secara sangat nyata ($P < 0,01$).

Hasil Penetasan telur ikan tawes

Hasil pengamatan dan perhitungan penetasan telur ikan tawes diurutkan dari rerata penetasan tertinggi ke terendah yaitu ; K_0 (kontrol positif) adalah $92,99 \pm 4,76\%$, UV30''F10'HS90'' (androgenesis1) $83,93 \pm 4,53\%$, UV30''F15'HS90'' (androgenesis2) $82,24 \pm 4,88\%$, UV50''F10'HS90'' (androgenesis3) $80,51 \pm 5,08\%$, UV50''F15'HS90'' (androgenesis4) $79,14 \pm 2,99\%$, kontrol negatif1 UV30'' dan tanpa kejut $66,74 \pm 6,27\%$, kontrol negatif2 (UV50'') dan tanpa kejut $65,40 \pm 7,59\%$ (Gambar 2.).

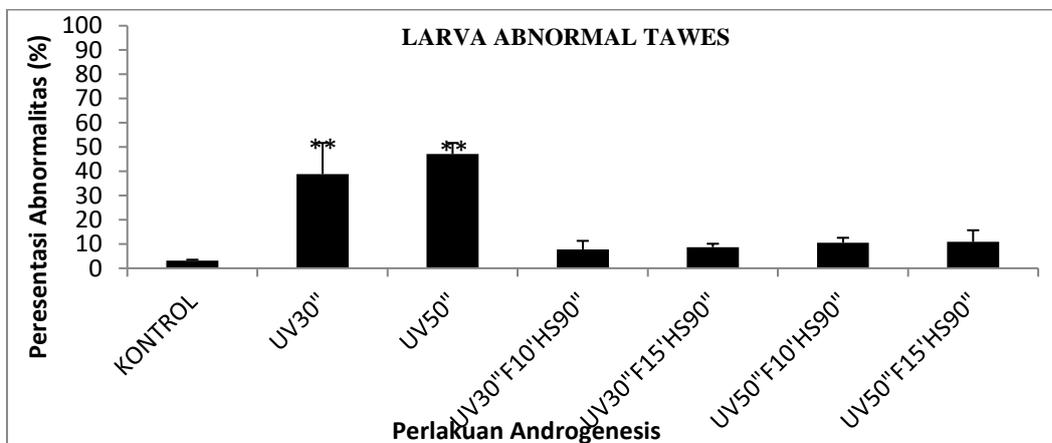


Gambar 2. Rerata (\pm SD) persentase penetasan telur tawes (*Barbonymus gonionotus* Blkr.) hasil perlakuan androgenesis. Dosis UV 30 atau 50 detik, fertilisasi pada 10 menit atau 15 menit, kejutan panas 90 detik. ** = ($P < 0,01$)

Hasil analisis terhadap data penetasan telur ikan tawes menunjukkan bahwa perlakuan androgenesis menentukan penetasan telur tawes secara sangat nyata ($P < 0,01$).

Hasil Morfologi larva abnormal

Hasil pengamatan dan perhitungan data persentase morfologi larva abnormal diurutkan dari tertinggi ke terendah yaitu ; UV50'' (kontrol negatif2) dan tanpa kejutan panas $47,11 \pm 4,57\%$, UV30'' (kontrol negatif1) dan tanpa kejutan $38,82 \pm 12,85\%$, UV50''F15'HS90'' (androgenesis4) $10,85 \pm 4,82\%$, UV50''F10'HS90'' (androgenesis3) $10,52 \pm 2,04\%$, UV30''F15'HS90'' (androgenesis2) $8,71 \pm 1,39\%$, UV30''F10'HS90'' (androgenesis1) $7,81 \pm 3,48\%$, dan kontrol positif (Ko) $3,20 \pm 0,32\%$ (Gambar 3.)

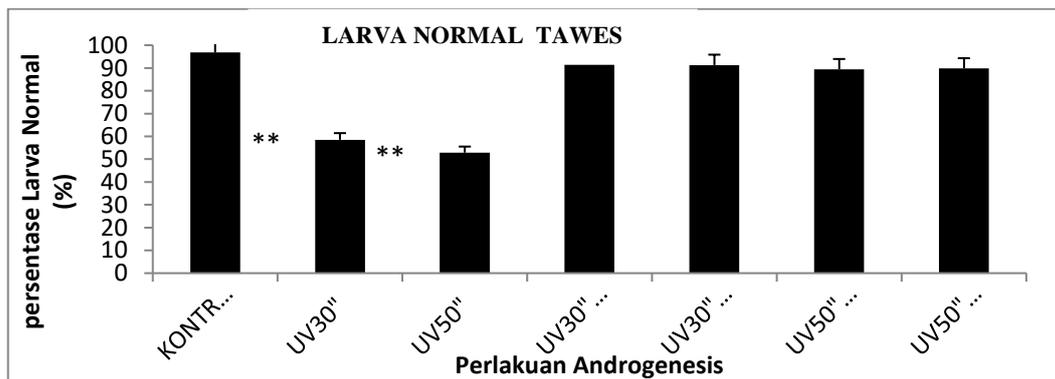


Gambar 3. Rerata (\pm SD) persentase morfologi larva abnormal tawes (*Barbonymus gonionotus* Blkr.) hasil perlakuan androgenesis. Dosis UV 30 atau 50 detik, fertilisasi pada 10 menit atau 15 menit, kejut panas 90 detik., ** = ($P < 0.01$)

Hasil analisis terhadap data persentase morfologi larva abnormal tawes menunjukkan bahwa perlakuan androgenesis menentukan morfologi abnormal larva ikan tawes secara sangat nyata ($P < 0.01$).

Hasil Morfologi larva normal

Hasil pengamatan dan perhitungan jumlah morfologi larva normal, dari total larva 100% dikurangi larva abnormal, diurutkan dari rerata tertinggi ke terendah yaitu ; Kontrol positif (tanpa iradiasi dan tanpa kejut) $96,80 \pm 0,32\%$, UV30”F10”HS90” (androgenesis1) $92,18 \pm 3,48\%$, UV30”F15”HS90” (androgenesis2) $91,29 \pm 1,38\%$, UV50”F15”HS90” (androgenesis4) $89,81 \pm 5,77 \%$, UV50”F10”HS90” (androgenesis3) $89,47 \pm 2,04\%$, UV30” (kontrol negatif1) dan tanpa kejut $58,51 \pm 17,05 \%$, UV50”(kontrol negatif2) dan tanpa kejut $52,89 \pm 4,56 \%$ (Gambar 4.).



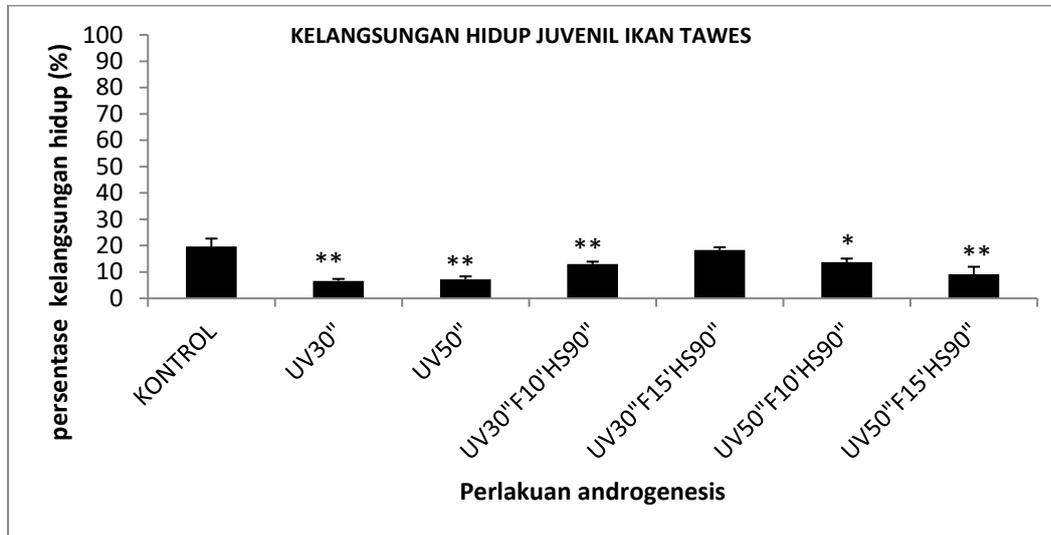
Gambar 4. Rerata (\pm SD) persentase morfologi larva normal tawes (*Barbonymus gonionotus* Blkr.) hasil perlakuan androgenesis. Dosis UV 30 atau 50 detik, fertilisasi pada 10 menit atau 15 menit, kejut panas 90 detik., ** = ($P < 0.01$)

Hasil analisis terhadap data persentase normalitas larva tawes menunjukkan bahwa perlakuan androgenesis yang diberikan menentukan morfologi larva normal ikan tawes secara sangat nyata ($P < 0.01$).

Hasil Kelangsungan hidup juvenil tawes

Hasil pengamatan dan perhitungan kelangsungan hidup pada juvenil dilakukan pada hari ke-28 pasca penetasan, Kontrol (Ko) $19,73 \pm 2,96 \%$, UV30”F15”HS90” (androgenesis2) $18,33 \pm 1,08\%$, UV50”F10”HS90” (androgenesis3) $13,71 \pm 1,39 \%$,

UV30''F10'HS90'' (androgenesis1) $13,03 \pm 0,92$, UV50''F15'HS90'' (androgenesis4) $9,17 \pm 2,82$ %, UV50'' (kontrol negatif2) dan tanpa kejut panas $7,23 \pm 1,12$ %, dan UV30'' (kontrol negatif1 dan tanpa kejut adalah $6,66 \pm 0,73$ % (Gambar 5.).



Gambar 5. Rerata (\pm SD) persentase kelangsungan hidup juvenil tawes (*Barbonymus gonionotus* Blkr.) hasil perlakuan androgenesis dosis UV 30 atau 50 detik, fertilisasi pada 10 menit atau 15 menit, lama kejut panas 90 detik. ** = ($P < 0.01$). * = ($P < 0.05$).

Hasil analisis terhadap data persentase kelangsungan hidup juvenil tawes menunjukkan bahwa perlakuan androgenesis yang diberikan menentukan kelangsungan hidup juvenil tawes secara sangat nyata ($P < 0.01$).

Hasil studi kesuburan menunjukkan bahwa perlakuan androgen1, penyinaran UV selama 30 detik (dosis $991,67 \text{ J/m}^2$) 10 menit setelah pembuahan memberikan zigot kejutan panas pada suhu 40°C selama 90 detik, memiliki efisiensi tertinggi dalam menciptakan kesuburan tertinggi ($84,23 \pm 1,77\%$), dimana yang terendah adalah kontrol negatif2, $75,13 \pm 1,77\%$. Tingginya kesuburan akibat perlakuan androgen membuktikan bahwa telur dan susu berarti kualitas induk yang digunakan baik dan sistem peternakan yang digunakan juga baik. Hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan yang dilaporkan oleh Lian (1999), dengan tingkat produksi androgen tertinggi pada tawes hanya 68%. Hasil ini juga lebih tinggi dibandingkan kadar androgen ikan nila yang sebesar 75% (Marengoni dan Onoue, 1998). Hasil pemijahan pada penelitian ini sedikit lebih rendah dibandingkan ikan Nilem, khususnya 90% (Oktavia, 2011; Sistina dkk, 2011b).

Tingkat hasil penetasan secara keseluruhan pada perlakuan androgen dalam penelitian ini adalah 79% lebih tinggi untuk perlakuan androgen dan kontrol, namun untuk perlakuan kontrol negatif rata-rata 70% lebih rendah. Hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan

dengan laju pembentukan androgen pada penetasan ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yaitu sebesar 15% (Pandian dan Kirankumar, 2003), juga lebih tinggi dibandingkan laporan Bhise dan Khan (2002), khususnya tertinggi kemungkinan tingkat penetasan adalah 19%, dan jauh lebih tinggi dari laporan (Sun et al, 2007) yang menyatakan tingkat penetasan tertinggi adalah 3,9%. Hasil penetasan ikan tawes pada penelitian ini juga lebih tinggi dibandingkan hasil androgenisasi ikan nila (*Oreochromis niloticus* L.) yang diberi perlakuan penyinaran UV dan heat shock, sehingga menghasilkan tingkat penetasan yang tinggi yaitu lebih dari 3% (Bhise dan Khan, 2002). Memang benar, hasil penelitian ini menunjukkan tingkat penetasan yang lebih rendah dibandingkan ikan mas biasa (*Cyprinus carpio* L.), dengan tingkat penetasan tertinggi yaitu 95,5% (Bonger dkk, 1994). Faktor penentu laju penetasan tidak hanya bergantung pada faktor internal seperti spesies, aktivitas embrio atau enzim yang dikeluarkan larva untuk inkubasi, tetapi juga ditentukan oleh faktor eksternal seperti suhu dan ketersediaan oksigen.

Studi androgenisitas dilaporkan efektif mengingat penampakan morfologi larva yang menetas dari empat proses androgenetik dimana larva tersebut normal. Morfologi larva yang normal menunjukkan keberhasilan (efektivitas) dan didukung oleh data morfologi larva dari kelompok kontrol negatif dimana proporsi larva yang abnormal jauh lebih tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kelainan morfologi larva tertinggi hanya sebesar 47,11% pada perlakuan kontrol negatif2 (dosis iradiasi UV 1652,79 J/m²), hal ini menunjukkan efektivitas dosis iradiasi yang diterapkan relatif rendah yaitu kurang dari 50%. Dapat dikatakan bahwa dari 89% androgen terendah (morfologi normal), lebih dari setengahnya mungkin merupakan androgen, individu homozigot, individu dengan kualitas lebih tinggi.

Hasil penelitian ini, khususnya penggunaan penyinaran UV, dosis yang diuji efektivitasnya rendah, dengan rata-rata tingkat kelainan tertinggi yang diperoleh hanya $47,11 \pm 4,56\%$ (kontrol negatif2), atau bahkan lebih rendah dari 50%. Idealnya adalah 100%. adalah bukti bahwa penyinaran UV secara efektif menghancurkan 100% materi genetiknya. Hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Lian (1999) yang menghasilkan 94% larva abnormal dengan dosis penyinaran yang jauh lebih tinggi, hampir 5 kali lebih besar. Rendahnya efektivitas dosis iradiasi ini mungkin juga disebabkan karena lapisan air mani yang diiradiasi kurang tipis, sperma terkonsentrasi di dasar cawan petri yang tidak diiradiasi, meskipun pada penelitian ini kami mencoba melakukan hal tersebut. setipis mungkin. . Berdasarkan data penelitian ini, dapat dikatakan juga bahwa dosis iradiasi yang digunakan kurang tinggi. Laporan lain mengenai ikan Nilem juga memiliki dosis iradiasi yang lebih

tinggi yang menghasilkan 65% morfologi larva abnormal dengan dosis iradiasi yang lebih tinggi (Oktavia, 2011 dan Sistina dkk., 2011b). Rendahnya efektivitas pengobatan morfologi larva abnormal pada penelitian ini sejalan dengan androgenogenesis pada ikan nila, dimana tingkat tertinggi larva abnormal hanya 5,8% (Karayucel dan Karayucel. , 2003), atau 14,9% (Myers et al., 1995). , atau 25% (Maringoni dan Onoue, 1998). Hasil penelitian ini tidak seefektif penelitian yang dilaporkan mengenai androgen pada ikan mas 82,7% (Bonger et al., 1994), atau 96,2% (Bonger et al., 1995) atau 43% (Bonger et al., 1995) atau 43% (Bonger et al., 1994). .

Hasil penelitian ini, dari deteksi morfologi larva normal pada perlakuan androgen 1-4 pada kisaran 89%, terendah, tertinggi, 2%, menunjukkan efektivitas regimen Androgen yang diuji, dosis iradiasi dikombinasikan dengan kejutan panas. Meskipun dosis iradiasi yang digunakan mungkin rendah, namun juga dapat efektif jika lapisan milt yang diencerkan tidak cukup tipis, jelas menunjukkan bahwa diploidisasi efektif pada tingkat morfologi larva normal yang tinggi. Morfologi normal juga dapat merujuk pada individu diploid atau tetraploid (Asmarany et al., 2012; Febrina et al., 2012; Sistina, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa di masa depan, uji poliploidisasi akan dilakukan berdasarkan hasil protokol androgen yang diuji, untuk melengkapi argumen mengenai morfologi larva.

Hasil studi pengobatan androgen yang berhasil atau efektif dapat dilihat kembali dari morfologi normal larva yang baru menetas, ditandai dengan bentuk tulang belakang dan ekor lurus serta bintik hitam pekat di atas mata. Hasil laju morfologi normal larva pada perlakuan induksi androgen pada penelitian ini secara umum tinggi. Semua perlakuan androgen efektif menginduksi morfologi larva normal, identik dengan kelompok perlakuan kontrol positif. Tingginya tingkat morfologi larva normal dalam penelitian ini menunjukkan bahwa penelitian tersebut berhasil dan protokol androgen yang diuji efektif. Selanjutnya jika dibandingkan, hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan penelitian ikan nila, tertinggi yaitu 87,4%. (Myers et al., 1995), atau 27,5% (Marengoni dan Onoue, 1998). Efektivitas hasil penelitian terhadap proses androgen ini tidak berbeda dengan hasil penelitian pada janggut Rosy yang menghasilkan 90% androgen normal (Kirankumar dan Pandian 2004). Hasil penelitian ini juga lebih tinggi dibandingkan pembentukan androgen normal pada ikan *Cyprinus carpio*, yaitu 43% (Bhise dan Khan, 2002) atau 82,7% (Bonger et al, 1994). Faktanya, hasil penelitian ini jauh lebih tinggi dibandingkan pada ikan zebra (*Danio rerio*) dengan androgen normal, 2,1% (Corley-Smith et al, 1996), pada ikan loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) memiliki androgen normal dan tertinggi. adalah 5% (Arai et al, 1992, atau 20% (Hou et al, 2014), dan hasil penelitian ini juga lebih tinggi dibandingkan ikan muskellunge (*Esox masquinongy*)

dengan konsentrasi androgen normal 10% (Lin dan Dabrowski , 1998). Hasil penelitian ini dapat dianggap sama atau membenarkan penelitian sebelumnya meskipun jenis ikannya berbeda, khususnya ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang memiliki androgen normal 96,2% (Bonger et al, 1995).

Perhatian pada data morfologi normal akan menunjukkan keefektifan prosedur induksi androgen, namun jika memperhatikan data morfologi abnormal maka perlakuan kontrol negatif menunjukkan dosis penyinaran. Radiasi yang digunakan tidak sepenuhnya akurat sehingga memberikan hasil abnormal kurang dari 50 %. morfologi larva, namun hal ini mungkin juga benar karena lapisan milt yang diencerkan tidak diiradiasi dengan cukup tipis. Morfologi normal yang dihasilkan dapat terjadi sejak tahap diploid, hal ini dibuktikan dengan laporan dampak kejutan panas terhadap produksi benih (Asmarany dkk., 2012; Febrina dkk. dkk., 2012; Sistina, 2015) atau kejutan dingin juga menginduksi morfologi normal (Susanti et al., 2012 ; Febrina et al., 2012 ; Untuk penelitian lebih lanjut, keberhasilan proses ini perlu segera dideteksi. pembentukan androgen, tidak hanya berdasarkan morfologi normal tetapi juga pada parameter lain misalnya deteksi molekuler untuk mengetahui sejauh mana kerusakan molekul DNA akibat perlakuan iradiasi, bentuk normal juga dapat menjadi indikasi individu diploid, triploid atau tetraploid (Asmarany et al., 2012; Febrina et al., 2012; Sistina, 2015). Mungkin juga morfologi normal pemrosesan androgen adalah diploid bipolar (Horvath dan Orban, 1995). Seperti dilansir Horvath dan Orban (1995), hal ini berarti efek iradiasi pada penelitian ini bisa dibilang kurang efektif, sehingga tetap menyediakan genom wanita (tanpa merusaknya sepenuhnya akibat iradiasi) pada sistem androgen. anak tawes pada penelitian ini mempunyai morfologi yang normal.

Hasil keseluruhan tingkat kelangsungan hidup remaja Tawes yang diberi androgen pada penelitian ini tergolong rendah, yaitu tertinggi sebesar 19,72%. Hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat kelangsungan hidup ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) sebesar 15% (Pandian dan Kirankumar, 2003). Hasil kelangsungan hidup penelitian ini jauh lebih tinggi dibandingkan ikan nila (*Oreochromis niloticus* L.), yaitu 5,3% (Myers et al, 1995), 7% untuk *Puntius tetrazona* (Kirankumar dan Pandian, 2003) dan 2% untuk ikan zebra . (Corley-Smith dkk., 1996).

Hasil kelangsungan hidup penelitian ini jauh lebih rendah dibandingkan hasil penelitian pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.), khususnya 41,3% (Sun et al, 2007), atau 89% (Bonger et al, 1994), atau 100%. % (Bonger et al, 1995), hingga minggu ke 4 dan 96% pada minggu ke 10 (Bonger et al, 1995).

Hasil penelitian androgen ini juga lebih rendah dibandingkan dengan ikan Nila (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842), yaitu 51,91% (Sistina, 2012), serta hasil penelitian pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* L.) pada umur 36 tahun kini mencapai 27% (Myers dkk, 1995) atau 25% (Marengoni dan Onoue, 1998). Penelitian ini juga lebih rendah dibandingkan tingkat kelangsungan hidup androgenogenesis pada perlakuan iradiasi gamma pada salmon Amago, yang dilaporkan tertinggi, 91,6% (Nagoya et al, 1996). Oleh karena itu, tingkat kelangsungan hidup ikan androgenik diketahui sangat bervariasi, dari 2% (Corley-Smith et al, 1996) hingga 100% (Bonger et al, 1995). Variasi data atau hasil kelangsungan hidup androgen dapat ditelusuri dari spesies ikan yang berbeda, jenis perlakuan atau prosedur pembentukan androgen, hingga sistem budidaya yang diterapkan, yang tidak sama antar penelitian yang dilaporkan.

Faktor eksternal yang berperan dalam menentukan kelangsungan hidup pertama-tama adalah kebudayaan atau sistem kebudayaan. Dalam penelitian ini, budidaya yang digunakan melibatkan pemeliharaan pasokan oksigen yang cukup dengan aerasi 24 jam. Oksigen penting bagi kehidupan, terutama selama tahap embrionik, larva dan benih (Wojnarovich dan Horvath, 1980). Kultur penelitian androgen dipertahankan pada suhu berkisar antara 27 hingga 29°C. Suhu penelitian ini dianggap sebagai suhu yang baik untuk pertumbuhan, namun menurut Kottelat dkk (1993), suhu tropis terbaik untuk tumbuh Tawes adalah 22 hingga 28°C. Ada kemungkinan bahwa faktor suhu ini berkontribusi terhadap berkurangnya tingkat kelangsungan hidup ikan remaja dalam penelitian ini. Faktor luar, kondisi budidaya, berperan berbeda, pH tidak diukur tetapi dehidrasi dilakukan secara rutin setelah pemberian pakan agar media budidaya selalu bersih. Oleh karena itu, idealnya pengukuran faktor fisikokimia media kultur harus dipantau dengan baik, namun hal ini tidak dilakukan dalam penelitian ini. Kondisi budidaya dipantau secara visual, aerasi berjalan baik, media budidaya bersih, nutrisi dan kepadatan baik karena kondisi budidaya pada penelitian ini seragam. Rendahnya tingkat kelangsungan hidup pada penelitian ini mungkin juga disebabkan oleh guncangan fisik akibat efek aerasi yang dimaksudkan untuk menjamin pasokan oksigen, namun memiliki efek samping berupa gangguan fisik pada jaringan androgenik selama perkembangan.

Faktor internal yang menentukan kelangsungan hidup ikan androgenik meliputi faktor genetik dari spesies ikan tersebut, termasuk kromosom. Kelangsungan hidup androgen yang buruk sering dilaporkan karena homozigositas androgen (Horvath dan Orban, 1995). Kita tahu bahwa secara genetis ada individu yang homozigot (sering disebut benih unggul dalam bahasa pertanian atau ilmu terapan) dan heterozigot. Produk dari proses androgen harus homozigot,

karena duplikasi kromosom yang timbul dari gamet jantan dihambat oleh pembelahan pertama atau pembelahan zigot, menghasilkan zigot diploid homozigot, yang menduplikasi seluruh genom. Hal ini disebabkan homozigositas produk androgen dengan viabilitas rendah. Oleh karena itu, kelangsungan hidup androgen rendah karena homozigositasnya. Pada penelitian ini tingkat kelangsungan hidup ikan tawe androgenik jauh lebih rendah dibandingkan dengan ikan mas, kemungkinan ikan mas memiliki daya adaptasi yang lebih baik dibandingkan ikan tawe sensitif, padahal keduanya termasuk dalam famili Cyprinidae.

Perlakuan heat shock pada penelitian ini terbukti efektif, dibuktikan dengan morfologi larva yang menetas normal. Secara keseluruhan, hasil penelitian Tawes mengenai pembentukan androgen berhasil sesuai dengan proses pembentukan androgen, dengan hasil morfologi larva normal mencapai 92,18%. Namun jika melihat data morfologi larva yang tidak normal pada perlakuan kontrol negatif menunjukkan bahwa dosis penyinaran UV yang digunakan belum sepenuhnya efektif. Hal ini dibuktikan dengan hasil kurang dari 50% larva yang menunjukkan kelainan. Keberhasilan androgenesis sekali lagi dapat diperoleh dari data tambahan, misalnya bukti poliploidisasi individu normal yang dihasilkan oleh protokol androgenesis. Oleh karena itu, penelitian selanjutnya dapat menambahkan parameter lain, yaitu mengkaji poliploidisasi juvenil ikan dengan membandingkan ukuran atau diameter atau lebar dan panjang sel (eritrosit paling mudah) juvenil Tawes akibat perlakuan androgen, mendukung data observasi morfologi juvenil antara lain perbandingan. dengan kelompok kontrol aktif, tentu saja.

KESIMPULAN DAN SARAN

Empat protokol pengembangan androgen diuji; perlakuan dengan penyinaran UV diikuti dengan inseminasi diikuti dengan heat shock pada suhu 40°C selama 90 detik dan 10 atau 15 menit setelah pembuahan terbukti efektif dalam produksi androgen tawes dari deteksi morfologi larva normal.

Dengan data morfologi larva yang tidak normal pada perlakuan kontrol negatif, hasilnya menunjukkan bahwa kurang dari 50% larva yang abnormal, yang tampaknya menunjukkan efisiensi yang rendah, namun hal ini mungkin disebabkan oleh kekentalan larutan yang di iradiasi dan di encerkan, sperma, sehingga diperlukan bukti pendukung.

DAFTAR REFERENSI

Arai, K., Masaoka, T., and Suzuki, R. 1992. Optimum Conditions of UV Ray Irradiation for Genetic Inactivation of Loach Eggs. *Nippon Suisan Gakkaishi* **58** : 1197–1201.

- Asmarany, R., E. Yuwono dan Y. Sistina. 2012. Fertilitas Telur Ikan Nilem (*O. hasselti* Valenciennes 1842) yang Dikejut Panas 40°C Lama Kejut Berbeda. *Prosiding: Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Biologi FMIPA UNY*, Yogyakarta.
- Bhise, M. P. and T. A. Khan. 2002. Androgenesis : the Best Tool for Manipulation Of Fish Genomes. *The Turk Journal Zoology*. **26** : 317-325
- Bongers, A.B.J., in't Veld, E.P.C., Abo-Hashema, K., Bremmer, I.M., Eding, E.H., Komen, J., and Richter, C.J.J. 1994. Androgenesis in Common carp (*Cyprinus carpio* L.) using UV Irradiation in a Synthetic Ovarian Fluid and Heat Shocks. *Aquaculture*. **122**:119–132.
- Bongers , A.B.J. Boza Abarca, B. Zandieh Doulabi, E.H. Eding, J. Komen, C.J.J. Richter. 1995. Maternal Influence on Development of Androgenetic Clones of Common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture*, **137** : 139-147
- Corley-Smith, G.E, C. J. Lim and B. P. Brandhorst , 1996. Production of Androgenetic Zebrafish (*Danio rerio*). *Genetics* . **142**: 1265-1276
- Febrina, C. I. Sulistyoy, Y. Sistina. 2012. Kejut dingin 4°C pada telur ikan nilem (*O. hasselti* Valenciennes 1842) terbuahi dengan lama kejut berbeda berefek pada fertilitas, penetasan, dan sintasan. *Seminar nasional masyarakat taksonomi hewan dan masyarakat zoologi Indonesia*.
- Hidayati, N. 2012. Viabilitas Telur Ikan Tawes (*Barbodes gonionotus*) dan Nilem (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) dibuahi yang Diberi Perlakuan Kejut Temperatur 40°C. *Skripsi*. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Horvath, L and Orban, L. 1995. Genome and gen manipulation in the comman carp. *Aquaculture*. **129** : 157-181.
- Hou, J., Taiju S., Takafuni, F., Etsuro, Y., Katsutoshi, A. 2014. Androgenetic Doubled Haploids Induced without Irradiation of Eggs in Loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Aquacultute*. **420** : 557-563
- Karayücel, I. and S. Karayücel. 2003. Optimisation of UV Treatment Duration to Induce Haploid Androgenesis in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Turk J Vet Anim Sci*. **27** : 401-407
- Kirankumar and Pandian. 2004. Interspecific Aandrogenesis Restoration of *Rosy barb* using Cadaveric Sperm. *Genome*. **47** : 66-73.
- Kottelat, M., J. A. Whitten., N. S. Kartikasari and S. Wirjoatmodjo, 1993. Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi. Dalhousie University. Canada.
- Lian, I. 1999. Fertilitas dan Daya Tetas Sel Telur Ikan Tawes yang Diiradiasi Ultraviolet. *Skripsi*. Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. (tidak dipublikasikan)

- Lin, F., and Dabrowski, K. 1998. Androgenesis and Homozygous Gynogenesis in muskellunge (*Esox masquinongy*): Evaluation using flow Cytometry. *Mol Reprod Dev.* **49**:10–18.
- Merengoni, NG. Onoue, Y. 1998. Ultraviolet-Induced Androgenesis in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), and Hybrid Nile x Blue tilapia, *O. aureus* (Steindachner). *Aquaculture.* **29** : 359-366
- Myers, J. 1993. Androgenesis Programme Working to Restore Fish stock from Frozen Gene Banks. *Aquaculture News* . **16**: 4-5.
- Myers, JM. Penman, DJ. Basavaraju, Y. Powel, SF. 1995. Induction of Diploid Androgenetic and Mitotic Gynogenetic Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L). *Theor Appl Genet.* **90**: 205-210.
- Nagoya, H., Okamoto, H., Nakayama, I., Araki, K., and Onozato, H. 1996. Production of Androgenetic Diploids in Amago salmon *Oncorhynchus masou ishikawae*. *Fisheries Sci* . **62** :380–383.
- Oktavia, S. 2011. Fertilitas Telur Ikan Tawes (*Barbonymus gonionotus* Blkr.) yang Diiradiasi Sinar Ultra Violet Berbagai Dosis. *Skripsi*. Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. (Tidak dipublikasikan)
- Pandian, T. J. and S. Kirankumar. 2003. Androgenesis and Conservation of Fishes. *Current Science.* **85** : 917-931.
- Sistina, Y. S. Oktavia; T. Windari dan S. Rukayah. 2011b. Genome Inactivation Affecticts Quality of Egg's and Offspring Shark Minnow Fish (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) *Proceeding Regional: Advances In Tropical Genomics:Conservation and Sustainable Utilization of Tropical Biodiversity*. Bogor.
- Sistina, Y. 2012. Genome Manipulation for Optimum Utilization and Conservation : Shark Minnow Fish (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) Model. *Proceeding International Seminar of Indonesian Ichthyological Society*. 12-13 Juni. Makassar
- Sistina Y, dan I, Sulistyو . 2013. Bioteknologi Reproduksi Cyprinidae Dengan Manipulasi Genom dan Hormon untuk Optimum Utilization dan Konservasi. *Laporan Hasil Penelitian Tim Pascasarjana*. Rupiah Murni/APBN.
- Sistina. Y. 2015. Bioteknologi reproduksi untuk konsevasi biodiversitas. Keynote speaker pada *Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia (MBI)*, UNDIP, Semarang. Mei 2015.
- Susanti, D. Yuwono, E. Y. Sistina. 2012. Deteksi Triploid Ikan Nilem Fish (*Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842) Hasil Kejut Dingin 4°C. *Biota.* **17**: 193-200.
- Woyrnarovich and Horvath. 1980. The Artificial Propagation of Warm Water Finfishes, A. Manual for Extesion. *FAO Fish. Tech. Pop.* No. 201 : 15-74.