

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**SKRIPSI**

**PENGARUH SUHU KEJUT DAN UMUR EMBRIO TERHADAP  
PERKEMBANGAN EMBRIO DAN KEBERHASILAN  
TRIPLOIDISASI PADA IKAN WADER  
*CAKUL *Puntius binotatus****

**THE EFFECT OF TEMPERATURE SHOCK AND EMBRYO AGE TO  
EMBRYONIC DEVELOPMENT AND SUCCESS OF  
TRIPLOIDIZATION OF SPOTTED BARB  
*Puntius binotatus***

**PROGRAM S-1 AKUAKULTUR**



Oleh :

**MAULANA FAJAR PRAYOGA  
JOMBANG – JAWA TIMUR**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2019**

SKRIPSI

PENGARUH SUHU KEJUT DAN UMUR EMBRIO TERHADAP  
PERKEMBANGAN EMBRIO DAN KEBERHASILAN  
TRIPLOIDISASI PADA IKAN WADER  
*CAKUL Puntius binotatus*

THE EFFECT OF HEAT SHOCK AND EMBRYO AGE TO  
EMBRYONIC DEVELOPMENT AND SUCCESS OF  
TRIPLOIDIZATION OF SPOTTED BARB  
*Puntius binotatus*

Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Perikanan pada Program Studi S-1 Akuakultur  
Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga

Oleh :


MAULANA FAJAR PRAYOGA  
NIM. 141411131136

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

  
Dr. Akhmad Taufiq M., S.Pi., M.Si.  
NIP.19740308 200112 1 000

  
Dr. Epy M. Luqman, M.Si., drh., PAvet  
NIP.19671213 199303 1 000

SKRIPSI

**PENGARUH SUHU KEJUT DAN UMUR EMBRIO TERHADAP  
PERKEMBANGAN EMBRIO DAN KEBERHASILAN  
TRIPLOIDISASI PADA IKAN WADER  
*CAKUL *Puntius binotatus****

**THE EFFECT OF HEAT SHOCK AND EMBRYO AGE TO  
EMBRYONIC DEVELOPMENT AND SUCCESS OF  
TRIPLOIDIZATION OF SPOTTED BARB  
*Puntius binotatus***

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Perikanan pada Program Studi S-1 Akuakultur  
Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga**

Oleh :

**MAULANA FAJAR PRAYOGA**  
**NIM. 141411131136**

Telah diujikan pada  
Tanggal : 1 Juli 2019

**KOMISI PENGUJI SKRIPSI**

Ketua : Dr. A. Shofy Mubarak, S.Pi., M.Si.  
Anggota : Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si.  
Dr. Rr. Juni Triastuti, S.Pi., M.Si.  
Dr. Akhmad Taufiq M., S.Pi., M.Si.  
Dr. Epy M. Luqman, M.Si., drh., PAvet

Surabaya

Fakultas Perikanan dan Kelautan  
Universitas Airlangga  
Dekan,

  
Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P.  
NIP. 19620116 199203 2 001

Surat Pernyataan Keaslian Karya Tulis Skripsi

Yang bertanda tangan di bawah ini :

N a m a : Maulana Fajar Prayoga  
N I M : 141411131136  
Tempat, tanggal lahir : Surabaya, 12 April 1996  
Alamat : Ds. Blimbing, Kec. Gudo, Kab. Jombang – Jawa Timur  
Telp./HP 085604884371  
Judul Skripsi : Pengaruh Suhu Kejut dan Umur Embrio terhadap Perkembangan Embrio dan Keberhasilan Triploidisasi Ikan Wader Cakul *Puntius binotatus*  
Pembimbing : 1. Dr. Akhmad Taufiq Mukti, S.Pi., M.Si.  
2. Dr. Epy Muhammad Lukman, M.Si., drh., PAvet

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa hasil tulisan laporan Skripsi yang saya buat adalah murni hasil karya saya sendiri (bukan plagiat) yang berasal dari Dana Penelitian : Mandiri / Proyek-Dosen / Hibah / PKM (*coret yang tidak perlu*).

Di dalam skripsi / karya tulis ini tidak terdapat keseluruhan atau sebagian tulisan atau gagasan orang lain yang saya ambil dengan cara menyalin atau meniru dalam bentuk rangkaian kalimat atau simbol yang saya aku seolah-olah sebagai tulisan saya sendiri tanpa memberikan pengakuan pada penulis aslinya, serta kami bersedia :

1. Dipublikasikan dalam Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga;
2. Memberikan ijin untuk mengganti susunan penulis pada hasil tulisan skripsi / karya tulis saya ini sesuai dengan peranan pembimbing skripsi;
3. Diberikan sanksi akademik yang berlaku di Universitas Airlangga, termasuk pencabutan gelar kesarjanaan yang telah saya peroleh (sebagaimana diatur di dalam Pedoman Pendidikan Unair 2010/2011 Bab. XI pasal 38 – 42), apabila dikemudian hari terbukti bahwa saya ternyata melakukan tindakan menyalin atau meniru tulisan orang lain yang seolah-olah hasil pemikiran saya sendiri

Demikian surat pernyataan yang saya buat ini tanpa ada unsur paksaan dari siapapun dan dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 24 Juli 2019  
Yang membuat pernyataan,

  
MAULANA FAJAR PRAYOGA  
NIM. 141411131136

## RINGKASAN

**MAULANA FAJAR PRAYOGA. Pengaruh Suhu Kejut dan Umur Embrio Terhadap Kecepatan Perkembangan Embrio dan Keberhasilan Triploidisasi ikan wader cakul *Puntius binotatus*. Dosen Pembimbing Dr. Akhmad Taufiq M., S.Pi., M.Si. dan Dr. Epy M. Luqman, M.Si., drh., Pavet**

Ikan wader cakul merupakan salah satu ikan yang memiliki nilai ekonomis penting. Sebagian besar produksi ikan wader cakul untuk memenuhi permintaan berasal dari tangkapan nelayan, karena masih sangat jarang pembudidaya ikan wader. Salah satu cara meningkatkan produksi ikan wader cakul adalah dengan triploidisasi, karena akan menghasilkan individu yang memiliki pertumbuhan yang cepat sehingga produksi dapat ditingkatkan. Suhu kejut dan umur embrio merupakan faktor yang sangat berpengaruh pada triploidisasi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu kejut dan umur embrio terhadap kecepatan perkembangan embrio ikan wader cakul dan keberhasilan triploidisasi ikan wader cakul. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap Faktorial yang terdiri dari sembilan perlakuan yaitu P1 (suhu kejut 39 °C, umur embrio 3 menit), P2 (suhu kejut 39 °C, umur embrio 4 menit), P3 (suhu kejut 39 °C, umur embrio 5 menit), P4 (suhu kejut 40 °C, umur embrio 3 menit), P5 (suhu kejut 40 °C, umur embrio 4 menit), P6 (suhu kejut 40 °C, umur embrio 5 menit), P7 (suhu kejut 41 °C, umur embrio 3 menit), P8 (suhu kejut 41 °C, umur embrio 4 menit), P9 (suhu kejut 41 °C, umur embrio 5 menit), masing – masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Parameter uji pada penelitian ini adalah kecepatan perkembangan embrio dan keberhasilan triploidisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi suhu kejut dan umur embrio yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang nyata pada kecepatan perkembangan embrio ikan wader cakul, dan keberhasilan individu triploid. Dalam penelitian ini kecepatan perkembangan embrio pada tiap perlakuan sama dan menetas pada waktu yang hampir bersamaan. Jumlah kromosom pada benih ikan wader cakul juga tak menunjukkan perbedaan dengan jumlah kromosom ikan wader cakul diploid.

## SUMMARY

**MAULANA FAJAR PRAYOGA. The Effect of Shock and Age of the Embryo on the Speed of Embryo Development and the Success of Triploidization of *Puntius binotatus* waders. Advisor Dr. Akhmad Taufiq M., S.Pi., M.Si. and Dr. Epy M. Luqman, M.Si., drh., Pavet**

Spotted barb is one of the fish that has important economic value. Most of the production of spotted barb to fulfill the demand comes from fishermen's catches, because it is still very rare for wader fish farmers. One way to increase the production of spotted barb is by triploidization, because it will produce individuals who have rapid growth so that production can be increased. Shock temperature and embryo age are very influential factors in triploidization.

The purpose of this study was to determine the effect of shock temperature and embryo age on the speed of embryonic spotted barb embryo development and the success of triploidization of spotted barb. This study used an experimental method with Factorial Completely Randomized Design consisting of nine treatments namely P1 (shock temperature 39 ° C, embryo age 3 minutes), P2 (shock temperature 39 ° C, embryo age 4 minutes), P3 (shock temperature 39 ° C, embryo age 5 minutes), P4 (shock temperature 40 ° C, embryo age 3 minutes), P5 (shock temperature 40 ° C, embryo age 4 minutes), P6 (shock temperature 40 ° C, embryo age 5 minutes), P7 (shock temperature 41 ° C, age of embryo 3 minutes), P8 (shock temperature 41 ° C, age of embryo 4 minutes), P9 (shock temperature 41 ° C, age of embryo 5 minutes), each treatment was repeated three times .

The test parameters in this study were the speed of development of the embryo and the success of triploidization. The results showed that the combination of shock temperature and the age of different embryos did not have a significant effect on the speed of spotted barb embryo development, and the success of triploid individuals. In this study the speed of embryo development in each treatment was the same and hatched at almost the same time. The number of chromosomes in spotted barb seeds also did not show differences with the number of diploid spotted barb chromosomes.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi tentang Pengaruh Suhu Kejut dan Umur Embrio Terhadap Kecepatan Perkembangan Embrio dan Keberhasilan Triploidisasi ikan wader cakul *Puntius binotatus* serta penyusunan laporannya dengan lancar. Laporan ini disusun sebagai salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi Akuakultur.

Penulis menyadari bahwa penulisan laporan ini masih memiliki banyak kekurangan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi perbaikan dan kesempurnaan laporan ini. Penulis berharap laporan ini bisa bermanfaat dan menjadi tambahan informasi bagi mahasiswa Program Studi S-1 Akuakultur Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya.

Surabaya, 26 Juli 2019

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyadari dalam penyelesaian Karya Ilmiah ini tidak terlepas dari dukungan moril dan material dari semua pihak, dengan ucapan syukur alhamdulillah atas terselesaikannya laporan skripsi ini, serta kepada:

1. Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP. selaku dekan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga.
2. Bapak Dr. Akhmad Taufiq M., S.Pi., M.Si. dan Bapak Dr. Epy M. Luqman, M.Si., drh., PAvet selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan dan saran yang membangun mulai dari penyusunan proposal penelitian, penelitian, hingga terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Bapak Dr. A. Shofy Mubarak, S.Pi., M.Si., Ibu Dr. Widjiati, drh., M.Si. dan Ibu Dr. Rr. Juni Triastuti, S.Pi., M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan saran untuk perbaikan proposal penelitian dan laporan skripsi ini.
4. Ibu, Ayah, Adik serta seluruh keluarga tercinta yang telah memberi dukungan moril, material dan doa.
5. Rekan satu tim penelitian, laboran, teman seperjuangan skripsi dan semua pihak yang membantu penyelesaian penelitian ini serta doa dan dukungannya.

Surabaya, 26 juli 2019

Penulis



**DAFTAR ISI**

	<b>HALAMAN</b>
RINGKASAN .....	IV
SUMMARY .....	V
KATA PENGANTAR .....	VI
UCAPAN TERIMAKASIH.....	VII
DAFTAR ISI.....	VIII
DAFTAR GAMBAR .....	X
DAFTAR TABEL.....	XI
DAFTAR LAMPIRAN.....	XII
I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Triploidisasi.....	4
2.2 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Wader Cakul. ....	6
2.3 Reproduksi.....	7
2.4 Perkembangan Embrio .....	8
2.5 Keberhasilan Triploidisasi .....	9
III KERANGKA KONSEPTUAL.....	10
3.1 Kerangka Konseptual .....	10

3.2	Hipotesis .....	11
IV METODOLOGI PENELITIAN.....		12
4.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	12
4.2	Materi Penelitian .....	12
4.2.1	Peralatan Penelitian.....	12
4.2.2	Bahan Penelitian.....	12
4.3	Metode Penelitian.....	13
4.3.1	Rancangan Penelitian.....	13
4.3.2	Prosedur Kerja .....	13
4.4	Variabel Penelitian .....	17
4.5	Parameter yang Diukur .....	17
4.6	Analisis Data .....	18
V HASIL DAN PEMBAHASAN.....		21
5.1	Hasil Penelitian.....	21
5.1.1	Perkembangan Embrio Ikan Wader Cakul <i>Puntius binotatus</i> .....	21
5.1.3	Keberhasilan Triploidisasi Ikan Wader Cakul <i>Puntius binotatus</i> ...	25
5.2	Pembahasan.....	25
VI KESIMPULAN DAN SARAN .....		28
6.1	Kesimpulan .....	28
6.2	Saran.....	28
DAFTAR PUSTAKA .....		29
LAMPIRAN .....		33

**DAFTAR GAMBAR**

<b>GAMBAR</b>	<b>HALAMAN</b>
1. Bagan Kerangka Konseptual.....	11
2. Langkah kerja induksi triploid .....	19
3. Pembuatan preparat dan pewarnaan kromosom.....	19
4. Diagram alir .....	20
5. Perkembangan telur ikan wader cakul.....	22

**DAFTAR TABEL**

<b>TABEL</b>	<b>HALAMAN</b>
1. Lama perkembangan embrio ikan wader cakul tiap stadia .....	22
2. Lama perkembangan embrio ikan wader cakul hingga menetas. ....	24

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>LAMPIRAN</b>	<b>HALAMAN</b>
1. Analisis lama perkembangan embrio ikan wader cakul.....	33
2. Analisis jumlah kromosom ikan wader cakul.....	37

## I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki potensi perairan tawar yang besar untuk dimanfaatkan sebagai lahan budidaya ikan. Ikan air tawar hasil budidaya masih belum maksimal jika dibandingkan dengan luas perairan tawar di Indonesia. Beberapa jenis ikan air tawar memiliki nilai ekonomis karena sangat diminati oleh masyarakat, tetapi tidak semua jenis-jenis ikan tersebut dibudidayakan secara luas. Salah satu ikan yang jarang dibudidayakan adalah ikan wader cakul *Puntius binotatus*. Ikan wader di pasaran hanya berasal dari penangkapan sehingga harga dan ketersediaan tidak stabil (Budiharjo, 2003). Penangkapan secara terus-menerus ikan wader ini akan mengancam kelestarian ikan tersebut. Pemenuhan permintaan ikan wader haruslah didukung dengan produksi dari budidaya agar ekosistem tidak terganggu karena kelestarian wader di habitat alami yang terancam (Budiharjo, 2002).

Ikan wader berpotensi untuk dibudidayakan karena memiliki harga jual yang lebih tinggi daripada beberapa jenis ikan konsumsi lain, masa pemeliharaan yang lebih pendek yaitu 6-8 minggu, ikan wader juga tidak memerlukan lahan yang luas dan memiliki toleransi tinggi terhadap lingkungan karena sangat adaptif (Budiharjo, 2002). Keunggulan ikan wader tersebut merupakan alasan agar masyarakat semakin banyak yang membudidayakan ikan tersebut, dan untuk membantu memenuhi permintaan pasar.

Peningkatan produksi ikan dapat dilakukan dengan memotong atau mempercepat waktu produksi, yakni dengan cara manipulasi genetik. Manipulasi genetik dapat dilakukan dengan perlakuan hormonal maupun manipulasi

kromosom (Mukti dkk., 2001). Poliploidi merupakan manipulasi kromosom yang akan menghasilkan individu triploid, dan tetraploid (Kadi, 2007). Individu yang dihasilkan dari poliploidi memiliki sifat yang berbeda, individu triploid bersifat steril, sedangkan individu tetraploid bersifat fertil. Triploidisasi dilakukan untuk mempersingkat waktu produksi, karena individu triploid yang dihasilkan memiliki kemampuan tumbuh lebih cepat (Haloho, 2015).

Perlakuan yang murah, mudah dan efisien dilakukan untuk mendapatkan individu triploid adalah dengan menggunakan perlakuan kejut suhu (Rustadija, 1991). Perlakuan yang paling umum untuk menghasilkan individu triploid adalah dengan kejutan panas, karena merupakan cara yang murah, mudah dan efisien untuk perlakuan telur dalam jumlah banyak sehingga lebih diminati pembudidaya (Don and Avtalion, 1986; Alawi, 2009). Kejut panas dilakukan untuk mencegah peloncatan polar body II, sehingga sel memiliki 3 set kromosom, dan akan mempengaruhi perkembangan embrio. Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian tentang pengaruh suhu kejut dan umur embrio yang berbeda terhadap perkembangan embrio ikan wader cakul.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan beberapa permasalahan dan latar belakang yang sebelumnya telah disampaikan, berikut rumusan masalah dari penelitian ini :

1. Apakah kejut panas dan umur embrio berpengaruh pada perkembangan embrio ikan wader cakul *Puntius binotatus*?
2. Apakah kejut panas dan umur embrio dapat menghasilkan ikan wader cakul *Puntius binotatus* triploid?

### 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yakni:

1. Untuk mengetahui pengaruh kejut panas dan umur embrio terhadap perkembangan embrio ikan wader cakul *Puntius binotatus*.
2. Untuk mengetahui pengaruh kejut panas dan umur embrio terhadap keberhasilan triploidisasi ikan wader cakul *Puntius binotatus*.

### 1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi peneliti ataupun mahasiswa perikanan mengenai perkembangan embrio hasil triploidisasi ikan wader cakul *Puntius binotatus*. Penelitian ini juga diharapkan bisa menjadi alternatif bagi pembudidaya ikan wader untuk meningkatkan produksi ikan wader.



## II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Triploidisasi

Triploidisasi adalah rekayasa jumlah ploidi pada set kromosom yaitu dari dua set menjadi tiga set, dan dapat menghasilkan individu dengan karakteristik steril (Ibrahim, 2016). Individu yang steril memiliki pertumbuhan yang lebih cepat, karena energi yang seharusnya digunakan untuk perkembangan gonad dan gametogenesis dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan somatik (Mukti, 2016). Triploidisasi dilakukan dengan pemberian kejutan dengan suhu panas atau dingin, pemberian tekanan, pemberian bahan kimiawi pada embrio ikan agar tidak terjadi peloncatan *polar body II*.

Penggunaan bahan kimia bertujuan untuk merusak mikrotubula yang akan menyebabkan kerusakan selama pembentukan gelondongan meiosis atau mitosis, dan menghasilkan zigot triploid (Kadi, 2007). Selain bahan kimia, pembentukan individu triploid dapat dilakukan dengan kejut suhu, terdapat dua jenis kejut suhu yaitu kejut suhu panas dan kejut suhu dingin (Hartono dan Dian, 2013). Kejut panas memiliki kelebihan yaitu mudah dilakukan jika dibandingkan dengan kejut dingin, karena pengaturan suhu tinggi lebih mudah disesuaikan daripada suhu rendah. Terdapat beberapa parameter yang harus diperhatikan terkait perlakuan kejut panas, yaitu waktu awal kejut, suhu dan lama kejut, akan tetapi parameter kejut panas berbeda-beda menurut spesies ikan (Don and Avtalion, 1986).

Triploidisasi pada ikan telah dilakukan pada beberapa spesies seperti pada ikan selais (*Kryptopterus lympok*) dengan kejut suhu 40 °C (Alawi dkk., 2009), ikan bilih (*Mystacoleucus padangensis*) menghasilkan individu triploid tertinggi

dengan kejut suhu 38 °C (Juliadmi dkk., 2015), ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn.) dengan kejut suhu 40 °C (Mukti, 2005), ikan patin (*Pangasius* sp.) dengan kejut suhu 4 °C (Hartono dan Dian, 2013) dan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan kejut suhu 41 °C (Mukti, 2016).

Ikan wader cakul (*Puntius binotatus*) masih satu family dengan ikan mas (*Cyprinus carpio*), yaitu Cyprinidae. Suhu pada induksi triploidisasi didasarkan pada penelitian poliploidi oleh Mukti (2015) yang menunjukkan bahwa induksi poliploidi menggunakan kejut panas dengan suhu 40 °C dan lama 1,5 menit menghasilkan ikan mas triploid dengan keberhasilan induksi poliploidisasi lebih tinggi dari ikan mas tetraploid, yakni keberhasilan triploidisasi adalah  $70 \pm 7,07\%$  sedangkan keberhasilan tetraploidisasi adalah  $60 \pm 7,07\%$ .

Kejut panas dapat mengganggu penyusunan spindle dan mempengaruhi kinerja enzim. Kejut panas akan mengakibatkan denaturasi protein, yang merupakan unsur penyusun spindle dan enzim. Enzim yang terpapar kejut panas akan menjadi inaktif, dan spindle akan mengalami kerusakan (Davidson, 1958). Hal tersebut akan mengganggu proses anafase pada meiosis II pada telur yang telah terbuahi, sehingga menyebabkan kegagalan pembelahan dan peloncatan *polar body* II. Kegagalan peloncatan *polar body* II akan membuat telur memiliki 3 set kromosom.

Perlakuan kejut diberikan ketika embrio berumur 3, 4 dan 5 menit, karena waktu tersebut termasuk dalam kisaran waktu saat terjadinya peloncatan *polar body* II. Kisaran waktu terjadinya peloncatan *polar body* II pada beberapa spesies ikan terjadi antara 3-7 menit setelah fertilisasi. Menurut Carman *et al.* (1991),

peloncatan *polar body* II pada telur ikan mas koki terjadi sekitar 5 menit setelah fertilisasi.

Triploidisasi akan mengakibatkan abnormalitas pada perkembangan embrio ikan, itu terjadi karena kejutan panas yang diberikan akan mengganggu proses pembelahan. Proses pembelahan yang terganggu akan mengakibatkan gagalnya sepasang kromosom homolog untuk bergerak memisahkan diri, sehingga 1 gamet akan menerima 2 kromosom yang sama sedangkan gamet lain tidak menerima kromosom (Fitria, 2011). Jika salah satu gamet tersebut bersatu dengan gamet normal saat pembuahan, maka akan dihasilkan keturunan dengan jumlah kromosom abnormal.

## 2.2 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Wader Cakul

Klasifikasi ikan wader cakul menurut Roberts (1989)

Kelas	: Pisces
Subkelas	: Teleostei
Ordo	: Cypriniformes
Subordo	: Cyprinoidea
Family	: Cyprinidae
Genus	: <i>Puntius</i>
Spesies	: <i>Puntius binotatus</i>

Karakteristik fenotip yang dimiliki ikan wader cakul adalah memiliki warna abu-abu keperakan dengan warna yang lebih gelap pada bagian punggung, memiliki dua pasang barbel (Presilda *et al.*, 2016; Pethiyagoda *et al.*, 2012). Jumlah sisik pada gurat sisi ada 24-27, terdapat titik hitam tepat di bawah sirip punggung, titik hitam juga terdapat pada bagian tengah *caudal peduncle* pada ekor, dan pada juvenile memiliki titik kecil di sepanjang gurat sisi (Vasil'eva and Vasil'ev, 2012).

Spesies *Puntius* berkisar luas dalam ukuran, dari sekitar 20 hingga 500 mm SL; memiliki 18-47 sisik garis lateral; garis rusuk yang lengkap, tidak lengkap atau terputus; tidak ada, satu atau dua pasang duri; lemah atau kuat, bergerigi atau halus terakhir sirip punggung sirip; dan pewarnaan tubuh yang terdiri dari bercak atau bercak di dasar sirip ekor, satu atau lebih bercak atau batang pada tubuh, satu atau lebih garis lateral, atau tidak sama sekali (Jayaram, 1991).

Bentuk dorsal curam melengkung dari ventral dengan punuk berbeda dari occiput ke dasar dorsal, memiliki 2 hingga 4 titik atau lonong di tengah badan (Kottetal et al., 1993) . Sirip dorsal lebih dekat ke pangkal sirip ekor daripada ke anterior, sirip dorsal ditutupi dengan selubung sisik. Kepala berbentuk bulat dengan panjang 26,35 hingga 32,35 dalam persen panjang standar. Lebar kepala 48,48 hingga 62,86, tinggi kepala saat tengkuk 71,43 hingga 86,12, moncong 30,56 hingga 34,28 inchi. (Jayaram, 1991)

### **2.3 Reproduksi**

Proses reproduksi pada ikan dapat dibagi dalam tiga periode *pre-spawning*, *spawning*, dan *post-spawning*. Periode *pre-spawning* adalah saat gonad ikan pada kondisi mempersiapkan kematangan gonad, dan penyiapan telur dan sperma. Periode *spawning* merupakan saat ikan mengeluarkan telur dan sperma, juga saat terjadinya pembuahan. Periode *post-spawning* terjadi perkembangan telur yang telah dibuahi, penetasan telur dan saat menjadi embrio, larva hingga juvenil.

Sifat seksual primer pada ikan ditandai dengan adanya organ yang secara langsung berhubungan dengan proses reproduksi, yaitu ovarium dan pembuluhnya pada ikan betina dan pada ikan jantan testis dan pembuluhnya (Effendi, 2002).

Sifat seksual sekunder adalah tanda-tanda luar yang dapat dipakai untuk membedakan jantan dan betina. Dilihat dari fungsinya, ciri sekunder terdiri atas dua jenis. Jenis pertama menyangkut organ yang merupakan alat bantu pada pemijahan dan jenis kedua adalah organ yang tidak mempunyai hubungan dengan kegiatan reproduksi secara keseluruhan (Rahardjo, 2011). Menurut Inger dan Chin (1962) ukuran pertama kali matang gonad ikan beunteur (*Puntius binotatus*) jantan dan betina masing-masing adalah 73 mm dan 66,2 mm, sedangkan menurut Saepudin (1999) ukuran pertama kali matang gonad ikan beunteur jantan dan betina masing-masing adalah 61 mm dan 63 mm .

#### **2.4 Perkembangan Embrio**

Perkembangan embrio adalah keseluruhan proses yang mencakup proses perkembangan setelah fertilisasi sampai dengan organogenesis sebelum ikan menetas atau lahir (Rahardjo, 2011). Tahapan embryogenesis adalah cleavage, morula, blastula, gastrula, organogenesis hingga penetasan (Rahardjo, 2011).

Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai tiap tahap perkembangan berbeda-beda. Ikan wader cakul memiliki waktu perkembangan tiap fase adalah 2 jam 23 menit setelah fertilisasi telah memasuki fase morula. Fase blastula dimulai saat memasuki 6 jam setelah fertilisasi. Fase gastrula dimulai saat memasuki 7 jam setelah fertilisasi, dan organogenesis dimulai ketika memasuki 9 jam setelah fertilisasi. (Iswahyudi *et al.*, 2014).

Perkembangan embrio dapat dipengaruhi olehkejut suhu pada perlakuan triploidisasi. Perkembangan embrio yang telah mendapat perlakuankejut panas akan lebih cepat dari perkembangan embrio normal, karena memiliki set

kromosom yang lebih banyak. Abnormalitas embrio merupakan keadaan tidak normal saat perkembangan embrio terjadi. Berdasarkan pernyataan Mair (1993) dan Tave (1993) kejutan panas dapat menyebabkan abnormalitas pada embrio, karena kejutan panas dapat mengganggu perkembangan embrio pada fase blastula pada ikan. Kejutan panas juga akan mengganggu aktivitas enzim penetasan pada telur dan mengakibatkan pengerasan chorion, sehingga menghambat penetasan dan menghasilkan larva abnormal (Arsianingtyas, H, 2009).

## **2.5 Keberhasilan Triploidisasi**

Keberhasilan Triploidisasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu ketepatan waktu awal fertilisasi, dan ketepatan waktu perlakuan pada fase meiosis juga mitosis (Mukti, 2016). Kejutan panas pada ikan nila yang dilakukan oleh Mukti (2016), menunjukkan keberhasilan induksi triploid sebesar  $93,0 \pm 4,7\%$  pada umur embrio 4 menit,  $75,7 \pm 5,1\%$  pada umur embrio 3 menit, dan  $73,9 \pm 6,7\%$  pada umur embrio 5 menit.

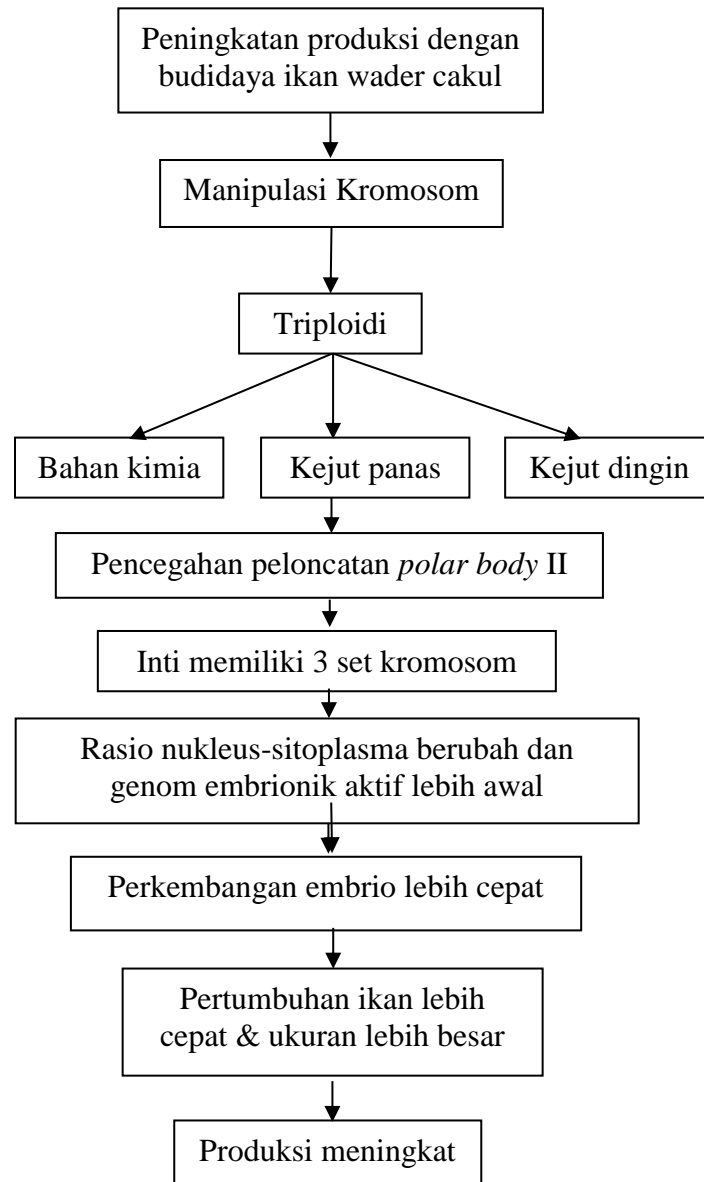
Untuk mengukur keberhasilan triploidisasi dilakukan dengan menghitung jumlah nukleolus ikan hasil perlakuan dengan menggunakan pewarnaan perak nitrat. Ikan triploid akan memiliki 3 nukleolus pada satu nukleus sel (Mukti, 2005). Terdapat cara lain untuk menganalisa keberhasilan triploidisasi, yaitu dengan cara perhitungan diameter dan panjang sel darah merah ikan. Ikan triploid dan tetraploid memiliki sel darah merah yang lebih besar dibandingkan dengan sel darah merah diploid dan haploid (Kadi, 2007).

### III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka Konseptual

Budidaya ikan wader merupakan upaya yang dilakukan untuk meningkatkan produksi. Upaya peningkatan dan pengembangan dalam budidaya perlu dilakukan agar tujuan dari budidaya wader tercapai. Salah satu cara untuk mempertahankan kualitas dan juga meningkatkan produksi pada budidaya dengan cepat adalah dengan rekayasa genetika. Poliploidi merupakan salah satu jenis rekayasa genetika untuk manipulasi jumlah kromosom, dan dapat dilakukan dengan kejut panas (Juliadmi dkk., 2015).

Rasio nukleus-sitoplasma berubah karena penambahan kromosom, dan mengakibatkan genom embrionik aktif lebih awal daripada individu diploid maupun haploid, sehingga mempengaruhi perkembangan embrio (Myers, 1986). Kelebihan individu poliploid adalah tumbuh lebih cepat dan mudah beradaptasi dengan lingkungan, dibandingkan dengan individu diploid dan haploid (Kadi, 2007). Kelebihan yang dimiliki individu triploid yang terbentuk dapat meningkatkan produksi ikan wader budidaya. Bagan kerangka konseptual penelitian dapat di lihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagan kerangka konseptual

### 3.2 Hipotesis

Hipotesis yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- H<sub>1</sub> : Perlakuan kejut panas dan umur embrio dapat mempercepat perkembangan embrio ikan wader
- H<sub>1</sub> : Perlakuan kejut panas dan umur embrio dapat menghasilkan ikan wader triploid



## IV METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis Pengembangan Budidaya Air Tawar (PBAT) Umbulan, Pasuruan, Jawa Timur dan Laboratorium Anatomi Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur. Penelitian telah dilaksanakan pada bulan September 2018 – Januari 2019.

### 4.2 Materi Penelitian

#### 4.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kolam pemeliharaan, akuarium ukuran  $50 \times 30 \times 20 \text{ cm}^3$ , gelas ukur, jaring, karet gelang, cawan petri, bulu ayam, mangkok bertutup, pengatur aerasi, saringan kasa, *thermometer*, mikroskop, pipet tetes, mikropipet, kaca objek, kaca objek cekung, *hot plate*, *heater*, *scalpel*, *staining box*, tusuk gigi, kotak *styrofoam* ukuran  $60 \times 40 \times 40 \text{ cm}^3$ .

#### 4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah F3 ikan wader cakul yang telah matang gonad, pakan induk berupa pelet 783-1, pelet tepung, cacing sutra, aquades, larutan fisiologis (NaCl 0,9%), KCl (0,56%), larutan Carnoy, asam asetat 50%, etanol 96%, dan perak nitrat

### **4.3 Metode Penelitian**

#### **4.3.1 Rancangan Penelitian**

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah model eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri atas dua faktor dan kombinasi lengkap. Faktor pertama adalah suhu kejut yang terdiri dari tiga suhu yakni 39 °C, 40 °C dan 41 °C. Faktor kedua adalah umur embrio, yang terdiri 3 menit, 4 menit, 5 menit.

Lama kejut yang diberikan pada penelitian ini yakni selama 120 detik. Masing masing kombinasi di ulang sebanyak tiga kali, sehingga diperoleh 27 satuan percobaan. Perlakuan tanpa kejut dilakukan sebagai pembanding dan diulang sebanyak tiga kali, sehingga satuan percobaan seluruhnya berjumlah 30 satuan percobaan.

#### **4.3.2 Prosedur Kerja**

##### **A. Persiapan Alat dan Bahan**

Semua peralatan dicuci menggunakan sabun dan dibilas, kemudian diberi klorin selama 24 jam, setelah 24 jam dibilas dan dikeringkan. Akuarium yang sudah kering diberi air tawar. Setelah dilakukan pengisian air akuarium kemudian dilakukan aerasi selama 24 jam untuk meningkatkan oksigen terlarut.

Seleksi induk ikan matang gonad. Induk betina ikan wader cakul yang matang gonad dapat diketahui dari bentuk perut yang membulat dekat lubang urogenital dan apabila ventral diurut ke bagian posterior maka akan keluar telur dari lubang genital. Ikan jantan yang telah matang gonad jika diurut bagian

ventral ke arah posterior maka akan keluar cairan berwarna putih. Induk yang telah diseleksi dipindahkan ke akuarium pemeliharaan induk.

#### B. *Stripping* Induk dan Fertilisasi Buatan

Menangkap induk ikan wader cakul jantan dan betina yang ada pada akuarium pemeliharaan induk dengan jaring, kemudian dipasangkan dalam akuarium pemijahan yang telah diberi ijuk sebagai substrat untuk merangsang terjadinya pemijahan, dengan perbandingan jantan: betina adalah 2:1. Ikan wader cakul yang telah siap memijah akan menunjukkan perilakunya setelah dipasangkan selama 6-7 jam. Setelah induk ikan wader cakul menunjukkan perilaku akan memijah, maka induk ikan wader cakul betina dan jantan ditangkap dengan jaring dan dilakukan *stripping* untuk mendapatkan telur dan sperma ikan wader cakul.

Telur hasil *stripping* dari induk betina dimasukkan dalam mangkuk yang bersih dan kering, sedangkan sperma hasil *stripping* dari induk jantan diambil dengan spuit ukuran 1 ml yang sebelumnya telah dibilas bagian dalamnya dengan NaCl 0,9% dan diencerkan dengan NaCl 0,9% sebanyak 10 kali. Kemudian dimasukkan sperma yang telah diencerkan ke dalam mangkuk yang berisi telur yang kemudian diaduk secara perlahan menggunakan bulu ayam hingga merata dan ditambahkan air hingga menggenangi telur, telur yang sudah dibuahi tersebut dibagi menjadi sembilan kelompok yang selanjutnya akan diberikan perlakuan kejut suhu. Tiap kelompok telur diletakkan pada saringan kasa yang telah diberi pelampung di kedua sisinya, dan ditempatkan pada akuarium inkubasi telur.

### C. Kejut Panas

Kejut suhu panas dilakukan dengan tiga kotak *styrofoam* yang diisi air dengan suhu masing-masing kotak adalah 39 °C, 40 °C, dan 41 °C. Kelompok telur yang telah disiapkan dalam saringan kasa kemudian dipindah ke dalam kotak *styrofoam* sesuai dengan perlakuan umur embrio, telur ditempatkan pada kotak *styrofoam* selama dua menit. Umur embrio yang digunakan adalah menit ke 3, 4 dan 5. Perlakuan yang diberikan merupakan kombinasi dari kedua parameter tersebut. Kejut suhu dilakukan dengan memindahkan saringan kasa yg berisi telur ke dalam kotak *styrofoam* sesuai dengan perlakuan. Telur pada masing masing perlakuan yang telah dikejut suhu panas, diletakkan kembali ke dalam akuarium inkubasi telur.

### D. Inkubasi Telur dan Pemeliharaan Larva

Telur yang telah diberi perlakuan dipindahkan ke dalam akuarium inkubasi hingga semua telur menetas, yaitu selama 24-25 jam. Telur kontrol langsung dipindahkan ke akuarium inkubasi setelah dilakukan fertilisasi buatan. Pada akuarium inkubasi air diatur agar bersuhu 28°C dengan *heater*, air akuarium juga ditambah *methylene blue* sebagai pencegah jamur. Fertilisasi buatan hingga induksi triploid dapat dilihat pada Gambar 2.

### E. Pengamatan Perkembangan Embrio

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

#### F. Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Kromosom

Larva dipelihara minimal selama 14 hari, kemudian dilakukan pengamatan atau uji keberhasilan triploidisasi. Uji dilakukan dengan preparasi kromosom larva ikan wader cakul. Preparasi kromosom dimulai dengan pengambilan jaringan pada ekor larva ikan wader cakul, kemudian jaringan tersebut direndam dalam 5-10 ml larutan hipotonik (KCl) selama 100 menit, langkah selanjutnya adalah merendam jaringan tersebut dalam 5-10 ml larutan fiksatif (Carnoy) yang segar dan dingin (7-10 °C) selama 30 menit, setiap 30 menit larutan fiksatif diganti dengan yang baru. Total waktu perendaman dengan larutan Carnoy adalah 60 menit. Jaringan dipindahkan ke kaca objek cekung dengan ditambahkan 50-100 µl larutan asam asetat 50% dan dicacah hingga terbentuk suspensi sel yang tampak keruh atau selama 30-60 detik.

Suspensi sel diambil menggunakan mikropipet dan diletakkan pada kaca objek yang sudah ditempatkan di atas *hot plate* dengan suhu 50-55 °C dan dilakukan *squashing*. Semua suspensi sel yang ada pada kaca objek cekung dipipet dan diteteskan pada kaca objek hangat dari ketinggian 4-5 cm dari kaca objek, kemudian hisap kembali dengan cepat menggunakan mikropipet sehingga terbentuk *ring* yang berdiameter 1-1,5 cm. Pada satu kaca objek dibuat tiga *ring* dengan prosedur yang sama. Preparat dibiarkan 2-3 menit, setelah kering preparat diwarnai.

Pewarnaan preparat menggunakan pewarna Giemsa, dilakukan dengan merendam preparat dalam larutan Giemsa 10%. Pewarna Giemsa menggunakan pelarut phosphate buffer solution (PBS). Perendaman dilakukan selama 30 menit,

kemudian dibilas dengan air suling secara perlahan dan hati-hati, kemudian dikeringanginkan. Proses pembuatan dan pewarnaan preparasi kromosom dapat dilihat pada Gambar 3.

#### G. Pengamatan Preparat Kromosom

Preparat yang telah kering sempurna diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 dan 1000 kali, dengan menggunakan mikroskop yang dilengkapi kamera.

### **4.4 Variabel penelitian**

#### **4.4.1. Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah suhu kejut dan umur embrio.

Suhu kejut yang dipakai pada penelitian ini adalah 39 °C, 40 °C, dan 41°C.

Umur embrio yang digunakan adalah 3 menit, 4 menit dan 5 menit.

#### **4.4.2. Variabel Terkontrol**

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah lama kejut panas yaitu 2 menit, dan kualitas air.

#### **4.4.3. Variabel Tergantung**

Variabel tergantung dalam penelitian ini yaitu perkembangan embrio, dan keberhasilan terbentuknya individu triploid.

### **4.5 Parameter yang Diukur**

Parameter uji pada penelitian ini adalah perkembangan embrio, dan keberhasilan individu triploid dan kelulushidupan ikan wader cakul.

#### 4.5.1. Tahap Perkembangan Embrio

Pengamatan tahap perkembangan embrio dilakukan secara sampling pada masing-masing perlakuan. Pengamatan dilakukan dengan mengamati perkembangan tiap jam dan membandingkan waktu yang dibutuhkan embrio untuk berkembang pada tiap tahapannya.

#### 4.5.2. Individu Triploid yang Dihasilkan

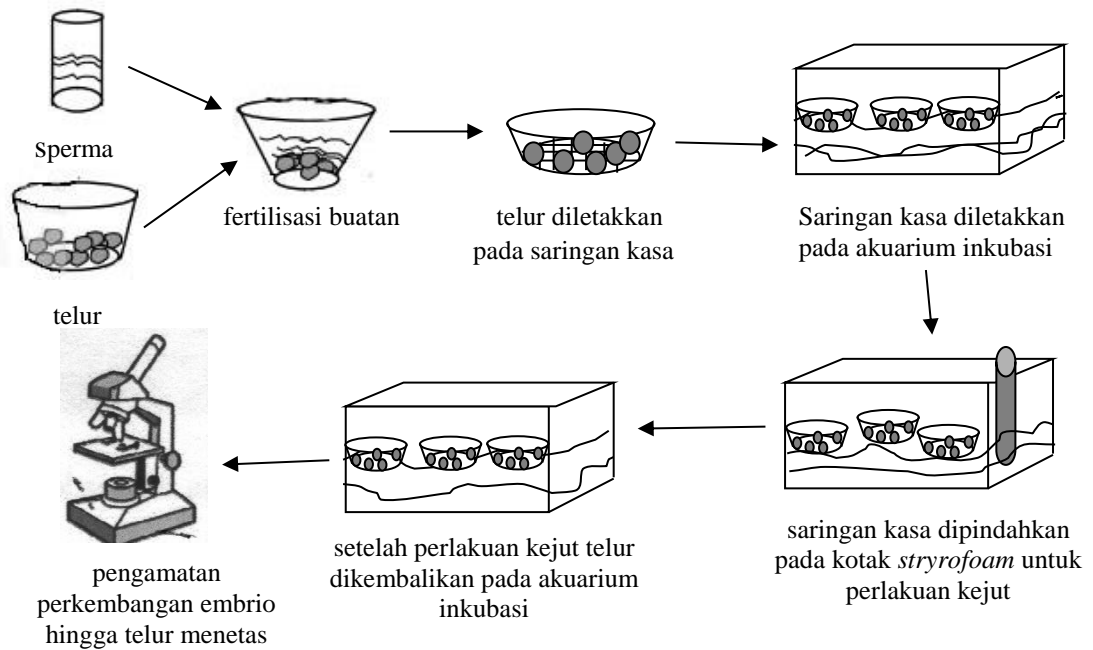
Metode yang digunakan untuk mengetahui jumlah individu triploid yakni menggunakan metode perhitungan kromosom. Preparasi kromosom yang dilakukan tanpa menggunakan perlakuan bahan penghambat metafase (Mukti, 2016). Sampel larva ikan yang digunakan berumur 14 hari sebanyak 5 ekor dari masing masing perlakuan. Pengamatan dilakukan dengan mengamati preparat kromosom dari tiap perlakuan, masing-masing perlakuan memiliki 3 preparat kromosom yang akan diamati. Pengamatan dilakukan dengan menghitung *giant chromosome* yang terlihat pada preparat, individu triploid memiliki 3 *giant chromosome*. Perhitungan untuk mengetahui prosentase individu triploid yang dihasilkan adalah:

$$\text{Keberhasilan triploid: } \frac{\text{Jumlah larva triploid}}{\text{Jumlah total larva}} \times 100\%$$

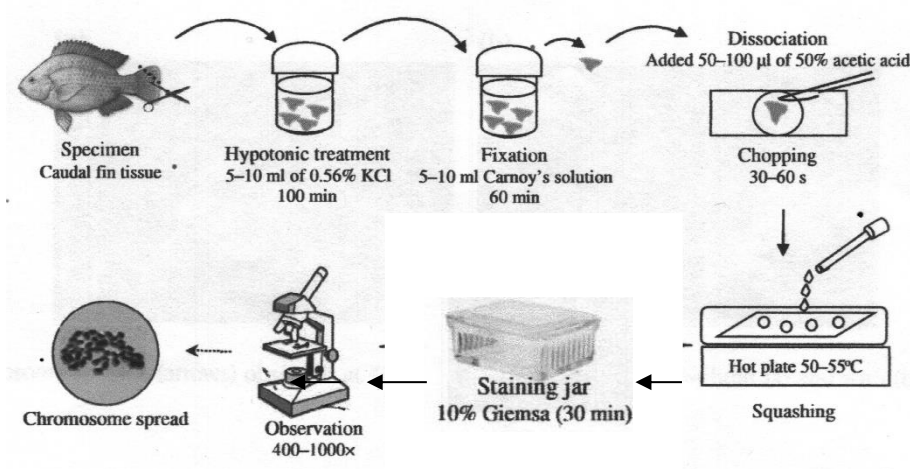
#### 4.6 Analisis Data

Data tiap perlakuan suhu dan umur embrio dianalisis secara statistik dengan uji Analisis of Variance (ANOVA) untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan dari perlakuan yang diberikan. Jika dari analisis ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata,

maka dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan untuk membandingkan perlakuan yang menghasilkan hasil terbaik. Diagram alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.

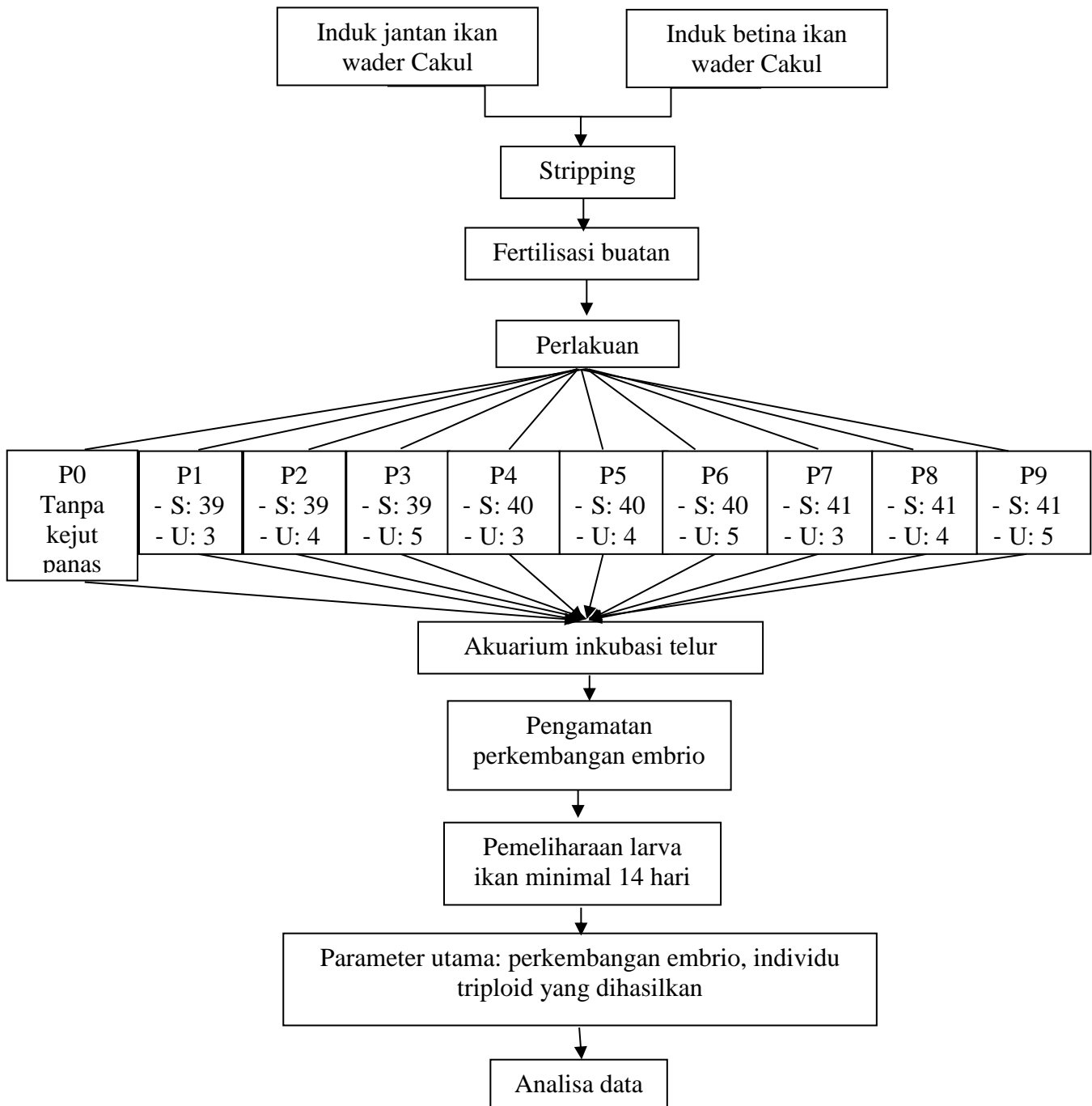


Gambar 2. Langkah kerja induksi triploid



Gambar 3. Pembuatan preparat dan pewarnaan kromosom (sumber: Mukti, 2016)





Gambar 4. Diagram alir

Keterangan:  
S: Suhu (°C); U: Umur embrio (menit)

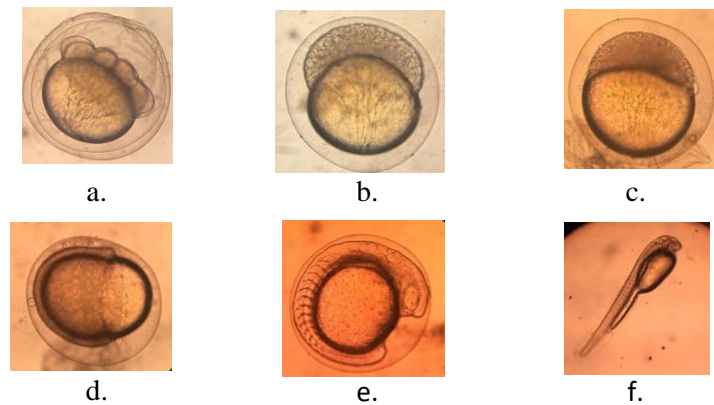
## V HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian pengaruh suhu kejut dan umur embrio terhadap perkembangan embrio dan keberhasilan triploidisasi ikan wader cakul (*Puntius binotatus*).

#### 5.1.1 Perkembangan Embrio Ikan Wader Cakul (*Puntius binotatus*)

Hasil pengamatan pada embrio wader cakul diuji menggunakan RAL, dengan membandingkan lama perkembangan embrio tiap perlakuan. Hasil pengamatan lama waktu perkembangan embrio tiap stadia diuji menggunakan Analisis of Variance (Anova). Analisa lama waktu perkembangan dapat dilihat pada Lampiran 1. Hasil pengamatan yang dilakukan pada embrio ikan wader cakul (*Puntius binotatus*) dapat dilihat pada Gambar 5, hasil uji perkembangan embrio dapat dilihat pada Tabel 1. Lama perkembangan embrio tiap stadia dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 5. Perkembangan telur ikan wader cakul

Keterangan:

- Cleavage: pembelahan dimulai dari pertama akan membentuk 2 sel, hingga pembelahan ketujuh yang membentuk banyak sel.
- Morula: sel yang membelah berubah menjadi semakin kecil dan bergerak ke arah kutub anima.
- Blastula: blastodisc semakin mendatar, permukaan telur mulai diselaputi.
- Gastrula: selaput embrionik berkembang, blastoderm menutupi empat per lima kuning telur, dan kuning telur membulat seperti jambu air.
- Organogenesis: mulai terbentuknya organ.
- Menetas: pecahnya cangkang dan keluarnya embrio dari cangkang telur.

Tabel 1 Lama perkembangan embrio ikan wader cakul tiap stadia

Perlakuan	Lama Waktu Perkembangan (jam)			
	Morula	Blastula	Gastrula	Organogenesis
P0	1	2	4	16
P1	1	4	3	17
P2	2	2	3	17
P3	1	3	3	17
P4	1	4	4	16
P5	1	4	3	16
P6	3	2	5	14
P7	1	3	4	-
P8	1	5	5	-
P9	1	4	5	-

Tabel menunjukkan lama waktu perkembangan dari tiap stadia perkembangan embrio. Perlakuan 39 °C dengan umur 3,4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan pada morula adalah 1,3 jam. Perlakuan

40 °C dengan umur 3, 4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan morula adalah 1,5 jam. Perlakuan 41 °C dengan 3, 4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan morula adalah 1 jam.

Perlakuan 39 °C dengan umur 3, 4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan pada blastula adalah 3 jam. Perlakuan 40 °C dengan umur 3, 4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan blastula adalah 3,3 jam. Perlakuan 41 °C dengan 3, 4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan blastula adalah 4 jam.

Perlakuan 39 °C dengan umur 3, 4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan pada gastrula adalah 3 jam. Perlakuan 40 °C dengan umur 3, 4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan gastrula adalah 4 jam. Perlakuan 41 °C dengan 3, 4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan gastrula adalah 4,6 jam.

Perlakuan 39 °C dengan umur 3, 4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan pada organogenesis adalah 17 jam. Perlakuan 40 °C dengan umur 3, 4 dan 5 menit menunjukkan rata-rata lama perkembangan organogenesis adalah 15,3 jam. Perlakuan 41 °C dengan 3, 4 dan 5 menit telur mengalami kematian. Embrio pada kontrol memiliki lama perkembangan morula 1 jam, blastula selama 2 jam, gastrula selama 4 jam dan organogenesis 16 jam.

Tabel 2 Lama perkembangan embrio ikan wader cakul hingga menetas

Perlakuan	Lama perkembangan embrio (jam) $\pm$ SD
P0	25.18 <sup>a</sup> $\pm$ 0.58
P1	25.18 <sup>a</sup> $\pm$ 0.58
P2	26.39 <sup>a</sup> $\pm$ 0.58
P3	26.15 <sup>a</sup> $\pm$ 1.53
P4	26.07 <sup>a</sup> $\pm$ 1.00
P5	26.23 <sup>a</sup> $\pm$ 00
P6	26.14 <sup>a</sup> $\pm$ 4.16
P7	00.00 <sup>b</sup> $\pm$ 00
P8	00.00 <sup>b</sup> $\pm$ 00
P9	00.00 <sup>b</sup> $\pm$ 00

Keterangan: a, b, c, dan d superscrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ).

Lama perkembangan embrio hingga menetas pada kontrol dan perlakuan suhu 39 °C dengan umur 3 menit adalah 25,18 jam, pada perlakuan suhu 39 °C dengan umur 4 menit adalah 26,39 jam, pada suhu 39 °C dengan umur 5 menit adalah 26,15 jam. Lama perkembangan embrio pada perlakuan suhu 40 °C dengan umur 3 menit adalah 26,07 jam, pada perlakuan suhu 40 °C dengan umur 4 menit adalah 26,23 jam, pada perlakuan suhu 40 °C dengan umur 5 menit adalah 26,14 jam. Pada perlakuan suhu 41 °C dengan umur 3, 4 dan 5 menit embrio mengalami kematian saat perkembangan organogenesis.

### 5.1.3 Keberhasilan Triploidisasi Ikan Wader Cakul

Hasil pengamatan dan perhitungan jumlah kromosom diuji menggunakan T-test, dengan membandingkan jumlah kromosom tiap perlakuan dengan jumlah kromosom ikan wader triploid. Jumlah kromosom perlakuan suhu 39 °C dengan umur 3 menit adalah 48, jumlah kromosom pada perlakuan suhu 39 °C dengan umur 4 menit adalah 54, jumlah kromosom pada perlakuan suhu 39 °C dengan umur 5 menit adalah 55. Jumlah kromosom perlakuan suhu 40 °C dengan umur 4 menit adalah 52, jumlah kromosom pada perlakuan suhu 40 °C dengan umur 5 menit adalah 49, jumlah kromosom kontrol adalah 45.

Hasil jumlah kromosom tiap perlakuan dianalisis menggunakan statistik dengan T-test yang dapat dilihat pada Lampiran 2. T-test dilakukan dengan membandingkan jumlah kromosom tiap perlakuan dengan jumlah kromosom triploid ( $3n$ ). Analisis statistik menunjukkan perbandingan antara jumlah kromosom perlakuan dan kromosom triploid memiliki perbedaan. Hal tersebut memiliki arti bahwa tidak ada jumlah kromosom dari perlakuan yang memiliki jumlah yang sama dengan kromosom ikan wader triploid.

## 5.2 Pembahasan

Perkembangan awal dari telur ikan dipengaruhi oleh faktor lingkungan, salah satunya adalah suhu (Korwin, 2008). Suhu dapat berpengaruh pada perkembangan, pertumbuhan, sintasan, dan metabolisme embrio dan larva (Ojanguren and Braña, 2000; Kamler, 2002). Hasil uji lama waktu perkembangan embrio pada ikan wader cakul menunjukkan tidak terjadi perbedaan antar perlakuan, kecuali pada perlakuan suhu 41 °C dengan umur 3, 4, dan 5 menit. Hal

tersebut bukan disebabkan karena perbedaan perkembangan embrio, namun disebabkan karena terjadinya kematian telur.

Kematian telur pada perlakuan, menunjukkan bahwa suhu 41 °C merupakan suhu yang terlalu tinggi untuk perlakuan kejut suhu, telur tak mampu mentolerir suhu sehingga gagal berkembang. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Davidson (1958), bahwa paparan organisme terhadap suhu di luar kisaran yang mereka terbiasa dapat menyebabkan kerusakan sel atau kematian. Lama perkembangan embrio pada kontrol, perlakuan suhu 39 °C, 40 °C dengan umur 3, 4, dan 5 menit tidak terjadi perbedaan karena lama waktu perkembangan, hal tersebut disebabkan karena peloncatan polar body II tidak berhasil dicegah. Polar body II yang gagal dicegah menyebabkan individu gagal menjadi triploid, sehingga perkembangan embrio tidak memiliki perbedaan dengan kontrol, karena kontrol dan perlakuan merupakan individu haploid.. Hal tersebut dapat dibuktikan pada jumlah kromosom yang diamati.

Hasil jumlah kromosom pada perlakuan dan kontrol tidak terjadi perbedaan, hasil diuji dengan membandingkan jumlah embrio perlakuan dengan jumlah embrio triploid ( $3n=75$ ). Hasil perbandingan menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata, jumlah kromosom perlakuan tidak ada yang mencapai jumlah kromosom triploid. Jumlah kromosom perlakuan dan kontrol mendekati jumlah kromosom Genus *Puntius* diploid ( $2n=50$ ).

Risnandar (2010) menyatakan bahwa keberhasilan triploidisasi dipengaruhi oleh suhu kejut, waktu kejut dan lama waktu setelah fertilisasi. Menurut Don and Avtalion (1986), parameter suhu kejut, lama dan awal waktu

kejut berbeda-beda menurut spesies ikan. Menurut Piferrer et al. (2007), tidak semua ikan bisa dilakukan proses triploidisasi dengan teknik kejutan panas, hal ini dikarenakan setiap ikan memiliki ukuran telur yang berbeda-beda sehingga keefektifan perlakuan kejutan belum tentu berhasil. Keberhasilan triploidisasi ditentukan oleh berbagai macam faktor seperti yang disebutkan di atas, termasuk sintasan (Kamler, 2002). Ikan pada perlakuan suhu 40 °C dengan umur 3 menit mengalami kematian saat dipelihara, sehingga tidak dapat diambil jaringan untuk diuji kromosom. Telur pada semua umur dengan perlakuan suhu 41 °C mengalami kematian sebelum menetas. Ikan pada perlakuan yang lain jumlahnya terbatas untuk diambil sebagai sampel, sehingga yang ditemukan adalah ikan dengan jumlah kromosom normal.



## VI KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh suhu kejut dan umur embrio terhadap kecepatan perkembangan embrio dan keberhasilan triploidisasi ikan wader cakul didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

- 1) Kejut panas dan umur embrio tidak berpengaruh pada perkembangan embrio ikan wader cakul.
- 2) Kejut panas dan umur embrio tidak berpengaruh pada keberhasilan triploidisasi pada ikan wader cakul.

### 6.2 Saran

Pemeliharaan ikan perlu dilakukan di tempat yang berbeda untuk memudahkan menjaga kualitas air. Pemeliharaan perlu dilakukan dengan hati-hati agar sintasan terjaga dan jumlah sampel uji dapat terpenuhi. Diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap suhu kejut yang dapat ditolerir oleh telur ikan wader cakul. Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang metode yang sesuai untuk menghasilkan individu triploid pada ikan wader cakul.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Alawi, H.. 2009. Induksi Triploid Ikan Selais *Kryptopterus lympok* Menggunakan Kejutanan Panas. Jurnal Perikanan dan Kelautan, 14(1): 37-47.
- Arsiningtyas, H. 2009. Pengaruh Kejutanan Suhu Panas dan Lama Waktu Setelah Pembuahan terhadap Daya Tetas dan Abnormalitas Larva Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Budiharjo, A.. 2002. Seleksi dan Potensi Budidaya Jenis-jenis Ikan Wader dari Genus *Rasbora*. Biodiversitas, 3(2):225-230.
- Budiharjo, A.. 2003. Pakan Tambahan Alternatif untuk Meningkatkan Pertumbuhan Ikan Wader (*Rasbora argyrotaenia*). Biology Smart, 5(1):56-60.
- Carman, O., T. Oshiro, dan F. Takashima. 1992. *Variation in The Maximum Number of Nucleoli in Diploid and Triploid Common Carp*. Nippon Suisan Gakkaishi, 58 (12) Japan. Society Science Fish. 2303-2309.
- Davidson, D. 1958. The Effect of Heat Shock on Cell Division. Chromosoma, 9 (1): 216-228.
- Don, J. and Avtalion, R. R.. 1986. The Induction of Triploidy in *Oreochromis aureus* by Heat shock. Theoretical and Applied Genetics.,72: 186-192.
- Effendi, M. I. 2002. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nustama. Yogyakarta. 9 hal.
- Haloho, M. D. 2015. Effectiveness of Triploidization on Ingir-ingir *Mystus nigriceps* with Different Fertilization and Heat Shock. Universitas Riau. Hal 1-13.
- Hartono, D. P. dan Dian Febriani. 2003. Pengaruh Lama Waktu Pemberian Kejutanan Dingin pada Pembentukan Individu Triploid Ikan Patin (*Pangasius sp.*). Aquakultur Sains. 61-67.
- Hussain, M.G. 1998. Manipulation of chromosomes in fish : review of various techniques and their implications in aquaculture. *Bangladesh Fish Research*, 2(1), 1998 : 99-108.

- Ibrahim, Y. 2016. Performa Autotriploid dan Allotriploid ikan patin siam *Pangasianodon hypophthalmus* x Patin Jambal *Pangasius djambal*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. 38 hal.
- Inger, R. F. and Chin Phui Kong. 1962. The Fresh-Water Fishes of North Borneo. *Zoology*, 45 (1): 292-295.
- Iswahyudi, Marsoedi, and M. S. Widodo. 2014. Development of Spotted Barb *Puntius binotatus* Eggs. *Journal of Life Science and Biomedicine*, 4(1):53-56.
- Jayaram, K. C. 1991. Two New Species of The Genus *Puntius* Hamilton (Pisces: Cyprinidae) from India. *Journal of the Bombay Natural History Society*, 87: 106-109.
- Juliadmi, Dian, Dewi I. Roesma, dan Djong H. Tjong. 2015. Ploidisasi ikan *Mystacoleucus padangensis* Bleeker, 1852 melalui Induksi Kejutan Panas (*Heat Shock*). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 4 (1): 65-77.
- Kadi, A.. 2007. Manipulasi poliploid untuk memperoleh jenis baru yang unggul. *Oseana*, 32(4): 1-11.
- Kamler E. 2002 . Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective – *Rev. Fish Biology*, 12 (1):79-103
- Korwin-Kossakowski M. 2008. The Influence of Temperature During The Embryonic Period on Larval Growth and Development in Carp, *Cyprinus Carpio* L., and Grass Carp, *Ctenopharyngodonidella* (Val.): Theoretical and Practical Aspects. *Archives of Polish Fisheries*. 16 (3): 231-314.
- Mair GC. 1993. Chromosome-set manipulation in tilapia - techniques, problems and prospects. *Aquaculture*, 111: 227-244
- Mukti, A. T., Rustidja, S. B. Sumitro, M. S. Djati. 2001. Poliploidisasi Ikan Mas *Cyprinus carpio* L.. *Biologi Sains*, 1 (1) : 118-119.
- Mukti, A. T., 2005. Perbedaan Keberhasilan Tingkat Poliploidisasi Ikan Mas *Cyprinus carpio* Linn. melalui Kejutan Panas. *Berkala Penelitian Hayati*, 10 (1) : 133-138.
- Mukti, A. T., 2016. Triploid dan Dimorfisme Seks, Performa Reproduksi dan Produksinya pada Ikan Nila *Oreochromis niloticus*. Disertasi. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.121 hal.
- Myers, J. M.1986. Tetraploid Induction in *Oreochromis* spp..*Aquaculture*, 57: 281-287.

- Nurasni, Anisa. 2012. Pengaruh Suhu dan Lama Kejutan Panas Terhadap Triploidisasi Ikan Lele Sangkuriang. Indonesian Journal of Applied Sciences, 2 (1): 19-26.
- Ojaguren, A. F. and Brana. 2000. Thermal dependence of swimming endurance in juvenile brown trout. Journal of Fish Biology, 56 (1): 1342-1347.
- Piferrer F, A Beaumont, JC Falgulere, L Colombo. 2007. Performance improvements by polyploidization in aquaculture. Institut de Ciencies del Mar, Barcelona, Spanyol. (p. 100-103).
- Pethiyagoda, R., M. Meegaskumbura, and K. Maduwage. 2012. A synopsis of the South Asian fishes referred to *Puntius* (Pisces: Cyprinidae). Ichthyological Exploration of Freshwaters, 23(1): 69-96.
- Presilda, C.J., B. J. Hernando, I. N. B. Dela Cruz, C. L. Solania, C.C. Cabuga, Jr., A.L.G. Suico, E.M.B. Cortez, M.J. Dicedican, J. H. Jumawan, J. C. Jumawan, J. Presilda, E.A. Requieron, M.A.J. Torres., 2016. Describing the body shape variation of spotted barb, *Puntius binotatus* (Valenciennes 1842) using fluctuating asymmetry from Tubay, Agusan del Norte, Philippines. Computational Ecology and Software, 6 (4): 120-129.
- Rahardjo, M. F., 2011. Iktiologi. Lubuk Agung. Bandung. 10 hal.
- Richter, C. J. J. dan Rustidja (1985) *Pengantar Ilmu Reproduksi Ikan*. Nuffic/ Unibraw/Luw/Fish. Malang. 83 hal.
- Risnandar D. 2010. Pengaruh umur zigot pada saat kejutan panas terhadap tingkat keberhasilan triploidisasi, serta kelangsungan hidup embrio dan larva ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*). [12 Februari 2011]
- Roberts, T. R. 1989. The Freshwater Fishes of Western Borneo (Kalimantan Barat, Indonesia). California Academy of Sciences. San Fransisco.
- Saepudin, A. 1999. Studi Aspek Biologi Reproduksi Ikan-ikan di Situ Cigudeg Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Skripsi. Manajemen Sumberdaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor
- Tave, D.. 1993. Genetics for Fish Hatchery Managers. Avi Publishing Co. Inc., Wesport. Connecticut. (368 p).
- Thorgaard, G. H. 1983. *Chromosome Set Manipulation and Sex Kontrol in Fish*. In *fish physiology*, volume I , part B (Eds. W. S.

Hoar, D. J. Randall dan E. M. Donaldson). Academic Press Inc, New York, USA. (p. 405-434).

Vasil'eva, E.D., and Vasil'ev V.P.. 2012. Fishes of Inland Waters of the Phu Quoc Island, Gulf of Thailand, Vietnam: Ichthyofauna Structure and Some Remarks on The Major Evolutionary Trends in its Genesis, 42 (3): 193–214.

## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Analisis Lama Perkembangan Embrio Ikan Wader Cakul

## General Linear Model

## Descriptive Statistics

	Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
Morula	Kontrol	1.0000	.00000	3
	39+3	1.0000	.00000	3
	39+4	1.6667	.57735	3
	39+5	1.0000	.00000	3
	40+3	1.0000	.00000	3
	40+4	1.3333	.57735	3
	40+5	2.6667	.57735	3
	41+3	1.3333	.57735	3
	41+4	1.3333	.57735	3
	41+5	1.0000	.00000	3
	Total		1.3333	.60648
Blastula	Kontrol	1.6667	1.15470	3
	39+3	4.3333	.57735	3
	39+4	2.3333	1.15470	3
	39+5	3.0000	.00000	3
	40+3	4.0000	1.00000	3
	40+4	3.6667	.57735	3
	40+5	1.6667	.57735	3
	41+3	3.3333	.57735	3
	41+4	4.6667	1.15470	3
	41+5	4.0000	1.00000	3
	Total		3.2667	1.25762
Gastrula	Kontrol	3.6667	.57735	3
	39+3	3.0000	.00000	3
	39+4	2.6667	.57735	3
	39+5	3.0000	1.00000	3
	40+3	3.6667	1.52753	3
	40+4	2.6667	1.15470	3
	40+5	5.3333	2.51661	3
	41+3	2.6667	3.05505	3
	41+4	1.6667	2.88675	3
	41+5	4.6667	3.78594	3
	Total		3.3000	2.01973
Organogenesis	Kontrol	15.6667	.57735	3
	39+3	16.6667	.57735	3
	39+4	17.3333	.57735	3
	39+5	16.6667	1.52753	3
	40+3	16.0000	1.00000	3
	40+4	16.0000	.00000	3
	40+5	13.6667	4.16333	3
	41+3	.0000	.00000	3
	41+4	.0000	.00000	3
	41+5	.0000	.00000	3
	Total		11.2000	7.61306

**Pairwise Comparisons**

Measure: MEASURE\_1

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>b</sup>	95% Confidence Interval for Difference <sup>b</sup>	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	39+3	-.750	.430	.096	-1.647	.147
	39+4	-.500	.430	.258	-1.397	.397
	39+5	-.417	.430	.344	-1.313	.480
	40+3	-.667	.430	.137	-1.563	.230
	40+4	-.417	.430	.344	-1.313	.480
	40+5	-.333	.430	.447	-1.230	.563
	41+3	3.667 <sup>*</sup>	.430	.000	2.770	4.563
	41+4	3.583 <sup>*</sup>	.430	.000	2.687	4.480
	41+5	3.083 <sup>*</sup>	.430	.000	2.187	3.980
39+3	Kontrol	.750	.430	.096	-.147	1.647
	39+4	.250	.430	.567	-.647	1.147
	39+5	.333	.430	.447	-.563	1.230
	40+3	.083	.430	.848	-.813	.980
	40+4	.333	.430	.447	-.563	1.230
	40+5	.417	.430	.344	-.480	1.313
	41+3	4.417 <sup>*</sup>	.430	.000	3.520	5.313
	41+4	4.333 <sup>*</sup>	.430	.000	3.437	5.230
	41+5	3.833 <sup>*</sup>	.430	.000	2.937	4.730
39+4	Kontrol	.500	.430	.258	-.397	1.397
	39+3	-.250	.430	.567	-1.147	.647
	39+5	.083	.430	.848	-.813	.980
	40+3	-.167	.430	.702	-1.063	.730
	40+4	.083	.430	.848	-.813	.980
	40+5	.167	.430	.702	-.730	1.063
	41+3	4.167 <sup>*</sup>	.430	.000	3.270	5.063
	41+4	4.083 <sup>*</sup>	.430	.000	3.187	4.980
	41+5	3.583 <sup>*</sup>	.430	.000	2.687	4.480
39+5	Kontrol	.417	.430	.344	-.480	1.313
	39+3	-.333	.430	.447	-1.230	.563
	39+4	-.083	.430	.848	-.980	.813
	40+3	-.250	.430	.567	-1.147	.647
	40+4	-1.776E-15	.430	1.000	-.897	.897
	40+5	.083	.430	.848	-.813	.980
	41+3	4.083 <sup>*</sup>	.430	.000	3.187	4.980
	41+4	4.000 <sup>*</sup>	.430	.000	3.103	4.897
	41+5	3.500 <sup>*</sup>	.430	.000	2.603	4.397
40+3	Kontrol	.667	.430	.137	-.230	1.563
	39+3	-.083	.430	.848	-.980	.813
	39+4	.167	.430	.702	-.730	1.063
	39+5	.250	.430	.567	-.647	1.147
	40+4	.250	.430	.567	-.647	1.147
	40+5	.333	.430	.447	-.563	1.230
	41+3	4.333 <sup>*</sup>	.430	.000	3.437	5.230
	41+4	4.250 <sup>*</sup>	.430	.000	3.353	5.147
	41+5	3.750 <sup>*</sup>	.430	.000	2.853	4.647

40+4	Kontrol	.417	.430	.344	-.480	1.313
	39+3	-.333	.430	.447	-1.230	.563
	39+4	-.083	.430	.848	-.980	.813
	39+5	1.776E-15	.430	1.000	-.897	.897
	40+3	-.250	.430	.567	-1.147	.647
	40+5	.083	.430	.848	-.813	.980
	41+3	4.083*	.430	.000	3.187	4.980
	41+4	4.000*	.430	.000	3.103	4.897
	41+5	3.500*	.430	.000	2.603	4.397
40+5	Kontrol	.333	.430	.447	-.563	1.230
	39+3	-.417	.430	.344	-1.313	.480
	39+4	-.167	.430	.702	-1.063	.730
	39+5	-.083	.430	.848	-.980	.813
	40+3	-.333	.430	.447	-1.230	.563
	40+4	-.083	.430	.848	-.980	.813
	41+3	4.000*	.430	.000	3.103	4.897
	41+4	3.917*	.430	.000	3.020	4.813
	41+5	3.417*	.430	.000	2.520	4.313
41+3	Kontrol	-3.667*	.430	.000	-4.563	-2.770
	39+3	-4.417*	.430	.000	-5.313	-3.520
	39+4	-4.167*	.430	.000	-5.063	-3.270
	39+5	-4.083*	.430	.000	-4.980	-3.187
	40+3	-4.333*	.430	.000	-5.230	-3.437
	40+4	-4.083*	.430	.000	-4.980	-3.187
	40+5	-4.000*	.430	.000	-4.897	-3.103
	41+4	-.083	.430	.848	-.980	.813
	41+5	-.583	.430	.190	-1.480	.313
41+4	Kontrol	-3.583*	.430	.000	-4.480	-2.687
	39+3	-4.333*	.430	.000	-5.230	-3.437
	39+4	-4.083*	.430	.000	-4.980	-3.187
	39+5	-4.000*	.430	.000	-4.897	-3.103
	40+3	-4.250*	.430	.000	-5.147	-3.353
	40+4	-4.000*	.430	.000	-4.897	-3.103
	40+5	-3.917*	.430	.000	-4.813	-3.020
	41+3	.083	.430	.848	-.813	.980
	41+5	-.500	.430	.258	-1.397	.397
41+5	Kontrol	-3.083*	.430	.000	-3.980	-2.187
	39+3	-3.833*	.430	.000	-4.730	-2.937
	39+4	-3.583*	.430	.000	-4.480	-2.687
	39+5	-3.500*	.430	.000	-4.397	-2.603
	40+3	-3.750*	.430	.000	-4.647	-2.853
	40+4	-3.500*	.430	.000	-4.397	-2.603
	40+5	-3.417*	.430	.000	-4.313	-2.520
	41+3	.583	.430	.190	-.313	1.480
	41+4	.500	.430	.258	-.397	1.397

Based on estimated marginal means

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

b. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).



## IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Measure: MEASURE\_1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	96.752	9	10.750	38.798	.000
Error	5.542	20	.277		

## 4. Perlakuan \* perkembangan

Measure: MEASURE\_1

Perlakuan	perkembangan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	1	1.000	.236	.508	1.492
	2	1.667	.494	.635	2.698
	3	3.667	1.206	1.150	6.183
	4	15.667	.850	13.894	17.439
39+3	1	1.000	.236	.508	1.492
	2	4.333	.494	3.302	5.365
	3	3.000	1.206	.483	5.517
	4	16.667	.850	14.894	18.439
39+4	1	1.667	.236	1.175	2.158
	2	2.333	.494	1.302	3.365
	3	2.667	1.206	.150	5.183
	4	17.333	.850	15.561	19.106
39+5	1	1.000	.236	.508	1.492
	2	3.000	.494	1.969	4.031
	3	3.000	1.206	.483	5.517
	4	16.667	.850	14.894	18.439
40+3	1	1.000	.236	.508	1.492
	2	4.000	.494	2.969	5.031
	3	3.667	1.206	1.150	6.183
	4	16.000	.850	14.227	17.773
40+4	1	1.333	.236	.842	1.825
	2	3.667	.494	2.635	4.698
	3	2.667	1.206	.150	5.183
	4	16.000	.850	14.227	17.773
40+5	1	2.667	.236	2.175	3.158
	2	1.667	.494	.635	2.698
	3	5.333	1.206	2.817	7.850
	4	13.667	.850	11.894	15.439
41+3	1	1.333	.236	.842	1.825
	2	3.333	.494	2.302	4.365
	3	2.667	1.206	.150	5.183
	4	-9.229E-16	.850	-1.773	1.773
41+4	1	1.333	.236	.842	1.825
	2	4.667	.494	3.635	5.698
	3	1.667	1.206	-.850	4.183
	4	-9.229E-16	.850	-1.773	1.773
41+5	1	1.000	.236	.508	1.492
	2	4.000	.494	2.969	5.031
	3	4.667	1.206	2.150	7.183
	4	1.090E-14	.850	-1.773	1.773

**Lampiran 2. Analisis Jumlah Kromosom Ikan Wader Cakul**

**T-Test**

**One-Sample Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah_Kromosom	30	28.8667	24.44520	4.46306

**One-Sample Test**

	Test Value = 75				
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference
					Lower
Jumlah_Kromosom	-10.337	29	.000	-46.13333	-55.2613

**One-Sample Test**

	Test Value = 75	
	95% Confidence Interval of the Difference	
	Upper	
Jumlah_Kromosom	-37.0053	