

## I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Teknologi kriopreservasi merupakan teknik yang untuk menyimpan materi genetik dalam suhu rendah (-196°C) dalam jangka waktu tertentu. Pemanfaatan teknologi tersebut dalam perikanan berguna untuk mempertahankan kualitas produksi budidaya. Kriopreservasi pada sperma, oosit, dan embrio ikan telah banyak dilakukan pada penelitian sebelumnya tetapi belum mendapatkan hasil yang optimum. Faktor kegagalan pada kriopreservasi oosit maupun embrio ikan diantaranya yaitu ukuran embrio ikan yang besar, kandungan lipid pada *yolk sac*, fase perkembangan embrio, perawatan induk, metode pembekuan, pasca pembekuan (*thawing*), dan permeabilitas membran oosit (Zhang *et al.*, 2005; Calvarho *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2001; Rahthore *et al.*, 2013).

Fase perkembangan embrio yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu fase blastula karena pada fase ini, lapisan korion yang membungkus embrio belum menebal sehingga mampu untuk menembus membran sel dan mempertahankan kelangsungan hidupnya. Calvi and Maisse (1999) menyebutkan apabila penggunaan fase blastula pada kriopreservasi embrio ikan mas (*Cyprinus carpio*) mampu untuk mempertahankan reagregasi sehingga mampu mempertahankan kelangsungan hidupnya saat setelah proses *thawing*.

Keberhasilankriopreservasi meliputi faktor fisika dan kimia yang meliputi metode pembekuan, konsentrasi krioprotektan, dan lama waktu pemaparan (ekuilibrasi) krioprotektan (Rawson *et al.*, 2009). Pembentukan kristal es yang

dapat terjadi selama proses pembekuan dapat dicegah dengan menambahkan krioprotektan intraseluler dan ekstraseluler. Penelitian kriopreservasi embrio ikan seperti penelitian oleh Zhang *et al.*, (2001) menggunakan propilen glikol dan metanol pada ikan zebra (*Danio rerio*), penelitian oleh Hong *et al.* (2013) menambahkan Propanediol dan Sukrosa pada embrio ikan patin (*Pangasidae hypophthalmus*), Dimetil Sulfoksida dan sukrosa yang digunakan pada embrio ikan zebra (*Danio rerio*) (Rawson *et al.*, 2009), Propanediol dan Sukrosa pada embrio ikan *seabram* (Cabrita *et al.*, 2006). Penggunaan kedua krioprotektan tersebut memiliki peran berbeda untuk mempertahankan kelangsungan hidup embrio. Sutarjo (2014) mengungkapkan, krioprotektan permeabel (intraseluler) seperti Dimetil Sulfoksida dan Propanediol berperan sebagai krioprotektan yang dapat menembus sel untuk mengeluarkan elektrolit intraseluler sehingga tidak membahayakan struktur sel selama penyimpanan. Sedangkan penambahan sukrosa sebagai krioprotektan non-permeabel (ekstraseluler) yang tahan terhadap tekanan osmotik sehingga dapat mengontrol pergerakan air yang melintasi membran sel. Interaksi kedua krioprotektan tersebut dapat mengurangi kerusakan sel yang terjadi selama proses pencairan atau *thawing* (Sutarjo, 2014).

Penambahan krioprotektan intraseluler seperti Propanediol (78,10 g/mol) dan Etilen Glikol (62, 10 g/mol) sering digunakan dalam kriopreservasi embrio karena memiliki berat molekul yang rendah. Widjiati dkk., (2011) mengatakan apabila Propanediol memiliki ukuran molekul kecil (78,10) sehingga dapat keluar – masuk melalui membran sel dan dapat mengurangi kerusakan. Keunggulan propanediol diantaranya memiliki permeabilitas yang tinggi. Selain propanediol,

etilen glikol juga sering digunakan karena sesuai untuk pembekuan embrio. Beberapa penelitian kriopreservasi embrio menggunakan Etilen Glikol dan sukrosa telah diujikan pada ikan zebra (Rawson *et al.*, 2009), ikan kakap merah (*Sciaenops ocellatus*) (Robertson *et al.*, 1988), dan ikan *Pangasidae hypophthalmus*

Faktor fisika seperti metode pembekuan juga dapat menentukan keberhasilan kriopreservasi. Teknik pendinginan yang biasa digunakan pada embrio yaitu pembekuan lambat (*slow freezing*) dan vitrifikasi. Perbedaan pembekuan lambat dengan vitrifikasi ialah adanya perbedaan viskositas cairan yang ada di dalam dan di luar sel yang terjadi karena laju pendinginan (*cooling*) (Cuevas-Uribe *et al.*, 2017 dan Calvarho *et al.*, 2014). Penggunaan metode *slow freezing* dengan penambahan krioprotektan dengan dosis yang rendah mampu memperlambat kejutan suhu (*cold shock*) dan pembentukan kristal es. Penelitian mengenai kriopreservasi dengan metode *slow freezing* pada embrio ikan telah banyak dilakukan, diantaranya oleh Lahnsteiner (2008), Rawson *et al.* (2009), dan Hagedorn *et al.* (2004) menggunakan embrio ikan zebra.

Ikan Lele Mutiara (*Clarias gariepinus*) merupakan salah satu ikan yang cocok digunakan sebagai model dari teknologi kriopreservasi. Komoditas ikan lele memiliki berbagai kelebihan diantaranya adalah pertumbuhannya yang cepat dan kemampuan adaptasinya tinggi (Jubaedah dkk., 2017). *Strain* ini dibentuk melalui seleksi individu pada karakter individu ikan lele yang memiliki laju pertumbuhan tinggi selama tiga generasi, sehingga memiliki keunggulan utama pertumbuhan yang cepat (Iswanto dan Suprpto, 2015).

Sampai saat ini, kriopreservasi embrio ikan masih menjadi tantangan yang besar. Penentuan fase, metode pembekuan, dan krioprotektan yang akan digunakan sangat menentukan keberhasilan kriopreservasi. Optimalisasi pada faktor kimia seperti penambahan krioprotektan dalam tahap kriopreservasi dapat membantu meningkatkan keberhasilan embrio untuk berkembang setelah tahap pembekuan yang dilakukan.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah yang dapat diambil yaitu apakah terdapat perbedaan penambahan propanediol dan etilen glikol pada metode pembekuan *slow freezing* dapat mempengaruhi derajat viabilitas embrio Ikan Lele Mutiara (*Clarias gariepinus*) pada fase blastula.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya perbedaan penambahan propanediol dan etilen glikol pada pembekuan *slow freezing* terhadap viabilitas embrio Ikan Lele Mutiara (*Clarias gariepinus*) pada fase blastula.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait teknologi kriopreservasi dan konsentrasi propanediol dan etilen glikol yang optimal dalam pembekuan embrio Ikan Lele Mutiara pada fase blastula. Hasil penelitian ini diharapkan dapat berguna untuk kegiatan produksi serta distribusi dalam budidaya perikanan berkelanjutan.