

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kriopreservasi embrio pada ikan merupakan suatu teknologi reproduksi yang efisien dan dapat membantu meningkatkan efektivitas produksi pembudidaya (Bernath *et al.*, 2016). Kriopreservasi embrio terdapat juga beberapa kelemahan, diantaranya permeabilitas membran embrio yang rendah dan sensitivitas embrio pada suhu dingin setelah proses kriopreservasi (Streit, 2008). Penelitian sebelumnya mengenai kriopreservasi embrio Ikan Lele Dumbo telah dilakukan dan mendapatkan hasil yang kurang maksimal. Penelitian ini dilakukan kembali dengan menggunakan fase perkembangan embrio di tahap – tahap awal dan penggunaan krioprotektan intraseluler dan ekstraseluler yang berbeda dari penelitian sebelumnya, sehingga diharapkan dapat melindungi membran embrio secara efektif selama proses kriopreservasi berlangsung.

Kriopreservasi adalah teknik penyimpanan sel hewan, tumbuhan ataupun materi genetika lain (semen, oosit bahkan embrio) pada suhu yang sangat rendah (- 196° C) dalam jangka waktu yang lama. Pada proses pembekuan masalah yang sering timbul adalah pengaruh kejutan dingin (*cold shock*) terhadap sel yang dibekukan dan perubahan kondisi intraseluler akibat pengeluaran air yang berhubungan dengan pembentukan kristal-kristal es (Herdis *et al.*, 2005). Kristal es yang terbentuk akan merusak struktur terutama membran plasma dan mitokondria (Lemma, 2011). Untuk mencegah terbentuknya kristal es selama proses pembekuan dapat dilakukan penambahan zat pelindung atau krioprotektan.

Krioprotektan adalah zat kimia nonelektrolit yang berperan dalam mengurangi pengaruh mematikan selama pembekuan sehingga viabilitas sel dapat dipertahankan. Jenis-jenis krioprotektan antara lain Dimetil Sulfoksida (DMSO), gliserol, propanediol, sukrosa, serum, manosa, rafinosa dan etilen glikol (Tervit *et al.*, 2005).

Kriopreservasi umumnya dilakukan dengan menggunakan vitrifikasi karena mudah dan sederhana, meskipun tetap membutuhkan keterampilan khusus. Vitrifikasi merupakan teknik pembekuan embrio secara cepat yang dilakukan pada suhu rendah (-196°C) dengan krioprotektan konsentrasi tinggi sehingga dapat menghindari terbentuknya kristal es yang mengubahnya ke dalam keadaan fisik seperti gelas (*glass-like*) (Rall *et al.*, 1985). Keunggulan dari teknik vitrifikasi adalah tidak terbentuknya kristal es yang dapat mematikan embrio selama proses pembekuan (Takahashi *et al.*, 2005). Kristal es intraseluler secara mekanis dapat merusak organel sel sehingga menyebabkan kematian pada sel tersebut (Gao *and* Critser, 2000).

Sutarjo (2014) menjelaskan bahwa tingkat keberhasilan dalam kriopreservasi ditentukan oleh krioprotektan intraseluler, krioprotektan ekstraseluler, rasio pengencer (*dilution ratio*), laju pembekuan dan pencairan kembali (*freezing and thawing rate*) serta larutan pengencer dan pemuahan. Etilen Glikol (EG) dan Propanediol merupakan krioprotektan permeabel (intraseluler) yang sering digunakan dalam vitrifikasi embrio ikan. Hal ini dikarenakan berat molekul keduanya termasuk rendah yaitu Etilen Glikol (62,07) dan Propanediol (78,10), sehingga memberikan efek yang menguntungkan berupa

permeabilitas yang lebih tinggi dan memiliki toksisitas yang rendah untuk embrio dibanding krioprotektan lainnya. Sukrosa umumnya digunakan sebagai krioprotektan ekstraseluler dalam kriopreservasi embrio ikan (Kais *et al.*, 2013; Gordon, 2003; Shaluei, *et al.*, 2013).

Ikan Lele Mutiara merupakan ikan objek dalam penelitian ini, dikarenakan memiliki keunggulan diantaranya yaitu pertumbuhan yang cepat, fekunditas tinggi, dan adaptasi terhadap lingkungan juga tinggi (Baharudin dkk., 2016). Ikan Lele Mutiara dijadikan sebagai model kriopreservasi embrio untuk melihat tingkat keberhasilannya. Kriopreservasi ini dilakukan sebagai solusi yang sangat menjanjikan dalam menjawab permasalahan kontinuitas benih ikan dengan membekukan sebagian embrio ikan pada saat produksi melimpah.

Penggunaan fase blastula pada penelitian ini karena memiliki lapisan *chorion* yang sifat permeabilitasnya tinggi, sehingga dapat mudah ditembus oleh krioprotektan yang merupakan faktor penting dari keberhasilan proses kriopreservasi (Kusuda *et al.*, 2004). Stadia blastula dicirikan dengan blastomer membelah beberapa kali membentuk blastomer-blastomer dengan ukuran yang makin kecil, sehingga tempat pada stadia morula blastomer semula padat akan terbentuk ruangan kosong yang disebut blastosul yang ditutupi oleh blastoderm dan pada sisi luar terdapat epiblast (Ardhardiansyah dkk., 2017). Teknik kriopreservasi embrio pada fase blastula dikembangkan dalam beberapa ikan diantaranya Ikan Zebra (Harvey, 1983), Rainbow Trout (Calvi dan Maisse, 1998), Chum Salmon (Kusuda *et al.*, 2002), dan Medaka (Strussmann *et al.*, 1999).

Berdasarkan uraian di atas dan beberapa penelitian terdahulu sehingga sangat perlu dilakukan penelitian tentang Vitrifikasi Embrio Fase Blastula Menggunakan Krioprotektan Propanediol dan Etilen Glikol Terhadap Viabilitas Embrio Ikan Lele Mutiara (*Clarias gariepinus*) untuk dijadikan model pada percobaan embrio ikan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan masalah yaitu apakah pengaruh pemberian krioprotektan intraseluler Propanediol dan Etilen Glikol dengan masing – masing menggunakan krioprotektan ekstraseluler Sukrosa terhadap viabilitas embrio Ikan Lele Mutiara?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian krioprotektan intraseluler Propanediol dan Etilen Glikol dengan masing – masing menggunakan krioprotektan ekstraseluler Sukrosa terhadap viabilitas embrio Ikan Lele Mutiara.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini, diharapkan dapat memberikan informasi mengenai jenis dan konsentrasi krioprotektan intraseluler yang tepat untuk kriopreservasi embrio fase blastula. Hasil penelitian ini juga dapat bermanfaat sebagai pengembangan transportasi embrio ikan dalam membantu penyebaran budidaya ikan secara kontinyu dan tepat waktu, mendukung pelestarian plasma nuftah, dan memperluas pengetahuan mengenai metode kriopreservasi.