

PERBANDINGAN PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN GONAD IKAN MAS (*Cyprinus carpio* Linn.) DIPLOID DAN TETRAPLOID

Akhmad Taufiq Mukti

Program Studi Budidaya Perairan & Laboratorium Pendidikan Perikanan FKH Universitas Airlangga

ABSTRACT

The aim of this study were to know growth and gonadal development of tetraploidy common carp. The method that used in this study was experiment. Treatment that used was tetraploidization by heat shock 40°C during 1.5 minutes of common carp eggs to 29 minutes after fertilization. Five replicates were carried out for treatment. Parameters test were relative length growth (h), specific growth rate (SGR) and gonadal development of common carp. Data analysis that used was descriptive analysis. The result of this study indicated that tetraploidization treatment influenced on growth and gonadal development of common carp. The relative length growth of tetraploidy common carp was 5.38 ± 0.12 (30-days) and 19.12 ± 0.00 (110-days), as their specific growth rate was 19.87 ± 0.10 % BW/day (30-days) and 8.57 ± 0.00 % BW/day (110-days). Tetraploidy common carp have fertile characteristic and show gonadal development that same with diploid common carp relatively.

Key words: tetraploidization, heat shock, fertilization, growth, gonadal development

PENGANTAR

Poliploid dapat didefinisikan sebagai organisme (spesies) dengan satu atau lebih tambahan set kromosom (Piferrer *et al.*, 2006). Poliploid pada hewan masih sedikit. Poliploidisasi jelas terjadi pada beberapa invertebrata dan vertebrata tingkat rendah (Komaru *et al.*, 2000 dalam Gong *et al.*, 2004). Poliploidisasi merupakan salah satu metode manipulasi kromosom untuk perbaikan dan peningkatan kualitas genetik ikan guna menghasilkan benih-benih ikan dengan keunggulan pertumbuhan cepat, toleransi terhadap lingkungan, resisten terhadap penyakit, dan persentase daging tinggi.

Tetraploidisasi adalah manipulasi kromosom pada ikan yang memiliki jumlah kromosom 2n (diploid) menjadi ikan dengan jumlah kromosom 4n (tetraploid). Horvath dan Oban (1995) menyatakan, tidak ada ikan tetraploid (4n) yang telah ditemukan pada perairan alam, tetapi duplikasi genom diploid kemungkinan terjadi selama filogenesis yang membentuk spesies baru. Induksi tetraploidi adalah penghambatan dari pembentukan membran sel di antara sel-sel "daughter" pada pembelahan mitosis untuk tujuan penggandaan "whole genome". Tetraploidisasi secara teori mudah, tetapi dalam praktik sulit untuk dicapai (Piferrer *et al.*, 2006). Carman *et al.* (1992) menyatakan bahwa ikan tetraploid relatif mudah untuk diproduksi melalui pencegahan peloncatan pembelahan sel pertama pada telur terfertilisasi menggunakan perlakuan fisik atau kimia.

Thorgaard (1983) menjelaskan, pendekatan praktis untuk induksi tetraploidi melalui kejutan panas merupakan

perlakuan aplikatif sesaat setelah pembelahan pertama pada suhu *lethal*. Kejutan suhu selain murah dan mudah, juga efisien dapat dilakukan dalam jumlah banyak (Rustidja, 1991). Bidwell *et al.* (1985) melaporkan, pembuatan ikan tetraploid ditentukan oleh kondisi optimum, waktu fertilisasi akhir, suhu kejutan, dan lama kejutan.

Individu tetraploid merupakan individu yang fertil dan mempunyai laju pertumbuhan yang lebih baik bila dibandingkan dengan spesies diploid. Individu tetraploid mempunyai kemampuan dalam pembelahan sel yang jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan ikan normal diploid, sehingga ikan tetraploid akan mempunyai jumlah sel yang lebih banyak jika dibandingkan dengan ikan normal. Linhart *et al.* (1991) dan Chermas *et al.* (1995) telah melaporkan keberhasilan memproduksi individu tetraploid pada *carp* dan *channel catfish* (Bidwell *et al.*, 1985) melalui kejutan panas. Secara umum, tetraploid fertil yang digunakan untuk memproduksi generasi hibrid steril yang memiliki keuntungan pertumbuhan cepat dan tahan penyakit tinggi (Liu *et al.*, 2001) dan menghasilkan 100 persen triploid pada oyster Pasifik (Piferrer *et al.*, 2006).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan menguji pengaruh perlakuan tetraploidisasi terhadap pertumbuhan dan perkembangan gonad ikan mas. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk memberikan tambahan informasi dan aplikasi lapang program tetraploidisasi ikan mas terutama untuk peningkatan kualitas serta produksi benih ikan mas.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPBAT) Umbulan Pasuruan Jawa Timur selama kurang lebih empat bulan. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Perlakuan yang digunakan adalah tetraploidisasi menggunakan kejutan suhu panas (40 °C) dengan ulangan sebanyak 10 kali.

Pemijahan dan *Stripping* Induk

Induk ikan mas matang gonad, yaitu betina dengan berat 2,0–3,0 kg dan jantan dengan berat 1,5–2,0 kg, masing-masing sebanyak 3 dan 6 ekor dimasukkan ke dalam kolam pemijahan berukuran 2 × 5 × 1 m dan ditambah substrat berupa kakaban yang terbuat dari ijuk. Induk ikan mas umumnya melakukan perkawinan secara alami pada malam hari (tengah malam) dengan selang waktu 11–18 jam setelah dipasangkan. Setelah tampak tanda-tanda ikan mulai memijah, induk betina dan jantan ditangkap dan dilakukan pengurutan di bagian abdominal (*stripping*) untuk mendapatkan (koleksi) telur dan sperma ikan mas. Telur yang diperoleh ditampung dalam mangkok plastik kering, sedangkan sperma ditampung dalam tabung reaksi yang di dalamnya berisi larutan NaCl Fisiologis 0,9% dengan pengenceran 10 kali. Larutan sperma disimpan sementara dalam refrigerator suhu 4 °C.

Fertilisasi Buatan

Telur ikan mas dalam mangkok plastik hasil *stripping* diambil menggunakan spatula secara acak, diletakkan dalam mangkok plastik bersih-kering dan ditambah larutan sperma sebanyak 2–3 tetes serta diaduk secara perlahan menggunakan bulu ayam. Kemudian ditambahkan air bersih sebanyak 3–4 tetes untuk melangsungkan proses fertilisasi telur dan secara perlahan-lahan diaduk menggunakan bulu ayam sehingga merata. Waktu fertilisasi dicatat yaitu saat pertama kali mencampurkan air bersih. Setelah 1 menit, telur terfertilisasi disebar dalam saringan kasa diameter 20 cm dan tinggi 6 cm yang telah ditempatkan dalam bak plastik volume 25 liter berisi larutan garam dan urea (penyubur) dengan perbandingan 4:3 untuk setiap 1 liter air selama 0,5 menit. Selanjutnya, telur dalam saringan kasa dimasukkan bak inkubasi yang terbuat dari *fiber glass* volume 1 m³ dengan suhu air 26 °C.

Perlakuan Tetraploidisasi

Dua puluh sembilan menit setelah fertilisasi, telur dalam saringan kasa (sebanyak 10 buah) dimasukkan *box shocking* untuk perlakuan kejutan panas (suhu air 40 °C)

selama 1,5 menit. Setelah perlakuan kejutan panas, telur dalam saringan kasa dibilas dengan larutan Ringer's. Pada kelompok kontrol, telur dalam saringan kasa tidak diperlakukan kejutan panas, tetapi hanya dibilas dengan larutan Ringer's. Kemudian, dimasukkan dalam bak penetasan telur bersama-sama dengan telur hasil perlakuan tetraploidisasi.

Penetasan Telur dan Pemeliharaan Larva

Penetasan telur dilakukan di dalam bak penetasan telur yang terbuat dari *fiber glass* volume 1 m³ dengan suhu air 28 °C dan ditambah *Methylene Blue* 1 ppm. Telur ikan mas menetas berkisar antara 2–3 hari. Larva ikan mas yang normal (sehat) hasil perlakuan dipindahkan ke dalam akuarium ukuran 1 × 0,6 × 0,8 m untuk pemeliharaan larva dan masing-masing perlakuan ditebar sebanyak 125 ekor. Selama pemeliharaan (30 hari), larva diberi pakan suspensi kuning telur (selama 3–4 hari), pakan alami *Artemia* spp., cacing *Tubifex* sp. dan pakan buatan bentuk pellet (kandungan protein 26%) yang diberikan secara bertahap sesuai dengan perkembangan larva ikan mas. Suhu air media pemeliharaan diatur 28 °C. Setiap 10 hari sekali dilakukan pengukuran panjang dan berat tubuh larva ikan mas hasil perlakuan (sampai akhir pemeliharaan 30 hari).

Pengamatan Ploidisasi

Pengamatan ploidisasi ikan mas hasil perlakuan dilakukan melalui preparasi jaringan (sirip pectoral dan kaudal) ikan mas dan menggunakan pewarnaan perak nitrat (*silver staining*) seperti prosedur Howell dan Black (1980) dengan sedikit modifikasi. Hasil preparasi diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 25–100 kali dan jumlah nukleoli dihitung. Ikan mas diploid (normal) memiliki jumlah nukleoli sebanyak 2 buah, sedangkan ikan mas tetraploid memiliki jumlah nukleoli sebanyak 4 buah.

Pemeliharaan Benih

Tahap selanjutnya, benih ikan mas hasil perlakuan dipelihara dalam bak beton berukuran 3 × 6 × 1,5 m dengan ketinggian air sekitar 0,8 m. Benih ikan mas diberi pakan buatan bentuk pellet dengan kandungan protein 26%. Benih ikan mas dipelihara selama 110 hari dengan kontrol kualitas air, yaitu suhu berkisar antara 26–29 °C. Pada akhir pemeliharaan dilakukan pengukuran panjang dan berat tubuh benih ikan mas hasil perlakuan serta diambil 10 ekor benih ikan mas sebagai sampel pembedahan dan pengamatan perkembangan gonad ikan.

Pengamatan Perkembangan Gonad

Ikan mas sampel (diploid dan tetraploid) yang telah dipelihara selama 110 hari diambil sebanyak 10 ekor. Ikan mas dibedah secara melintang dari bagian bawah tubuh atau anus ke arah atas di bawah linea lateralis, kemudian ke arah depan mendekati tutup insang menggunakan gunting bedah. Organ bagian dalam yang menutup gonad dikeluarkan secara hati-hati. Perkembangan gonad ikan mas (diploid dan tetraploid) diamati secara visual dan didokumentasi menggunakan kamera foto.

Parameter dan Analisis Data

Parameter yang diukur adalah pertumbuhan panjang relatif, pertumbuhan berat spesifik (*specific growth rate*) dan perkembangan gonad ikan mas. Analisis keberhasilan tetraploidisasi (induksi poliploidi) pada ikan mas dilakukan melalui perhitungan jumlah nukleoli. Analisis data dilakukan secara deskriptif.

$$h = \frac{lt - lo}{lo} \times 100\% (\%)$$

Keterangan: h : pertumbuhan panjang relatif (%)
lt : panjang tubuh rata-rata ikan pada akhir pemeliharaan (cm)
lo : panjang tubuh rata-rata ikan pada awal pemeliharaan (cm)

$$SGR = \frac{\ln Wt - \ln Wo}{t} \times 100\% (\% BW/hari)$$

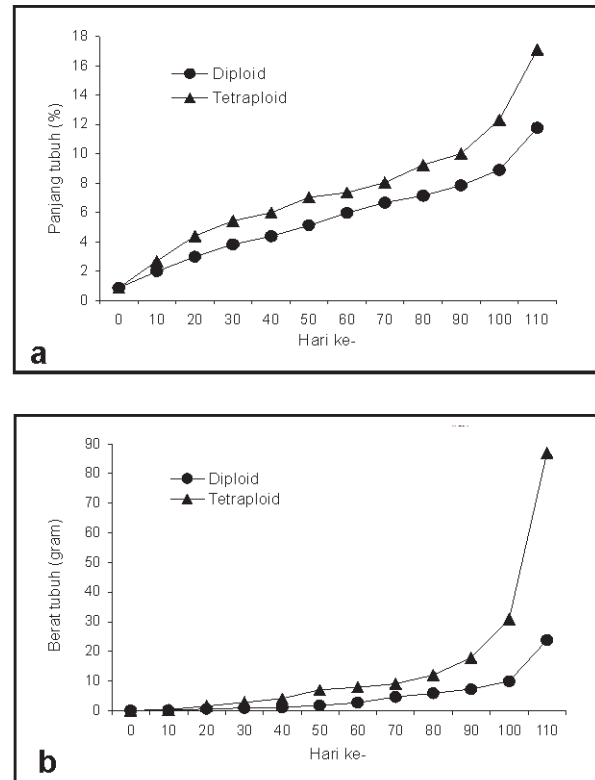
Keterangan: SGR : *Specific Growth Rate*/pertumbuhan berat spesifik (% BW/hari)
Wt : berat tubuh rata-rata ikan pada akhir pemeliharaan (gram)
Wo : berat tubuh rata-rata ikan pada awal pemeliharaan (gram)
t : lama pemeliharaan (hari)
BW : *Body Weigth*/berat tubuh (gram)

HASIL

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa ikan mas perlakuan tetraploidisasi memiliki pertumbuhan lebih tinggi

daripada ikan mas diploid (normal) selama pemeliharaan 30 hari dan 110 hari dan keduanya menunjukkan berkembangnya gonad (Tabel 1).

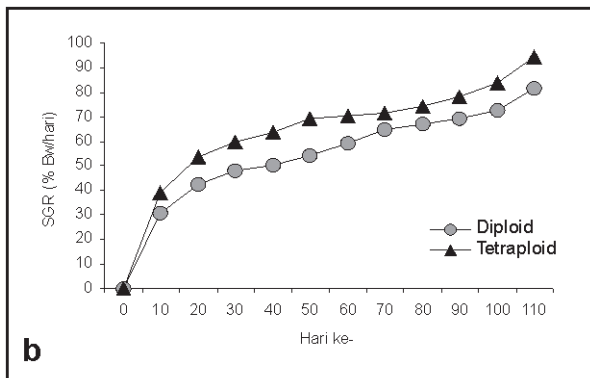
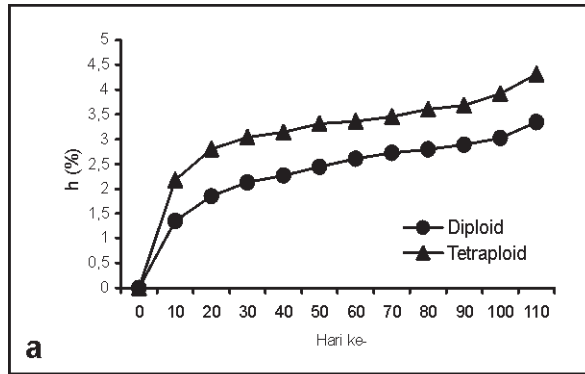
Peningkatan panjang tubuh (Gambar 1a) dan berat tubuh (Gambar 1b) ikan mas tetraploid lebih tinggi dan cepat apabila dibandingkan dengan ikan mas diploid atau normal. Pertumbuhan harian ikan mas tetraploid tampak lebih tinggi apabila dibandingkan dengan ikan mas diploid (normal), baik pertumbuhan panjang relatif (h) maupun



Gambar 1. Peningkatan panjang tubuh (a) dan berat tubuh (b) ikan mas diploid dan tetraploid selama kurun waktu pemeliharaan 110 hari

Tabel 1. Perbandingan rata-rata pertumbuhan panjang relatif (h), pertumbuhan berat spesifik (SGR), perkembangan gonad ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn.) diploid dan tetraploid selama pemeliharaan 30 dan 110 hari dan keberhasilan induksi poliploidi ikan mas

| Parameter | Ploidisasi | |
|-------------------------------------|--------------|--------------|
| | Diploid | Tetraploid |
| h 30 hari (%) | 3,51 ± 0,08 | 5,38 ± 0,12 |
| h 110 hari (%) | 12,83 ± 0,00 | 19,12 ± 0,00 |
| SGR 30 hari (%BB/hari) | 15,98 ± 0,17 | 19,87 ± 0,10 |
| SGR 110 hari (%BW/hari) | 7,40 ± 0,00 | 8,57 ± 0,00 |
| Perkembangan gonad | berkembang | berkembang |
| Keberhasilan induksi poliploidi (%) | 100 ± 0,00 | 60 ± 7,07 |



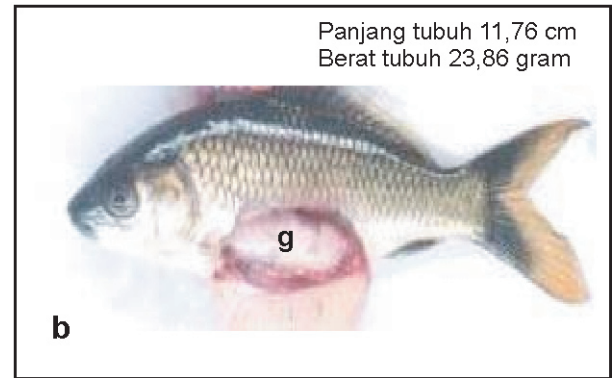
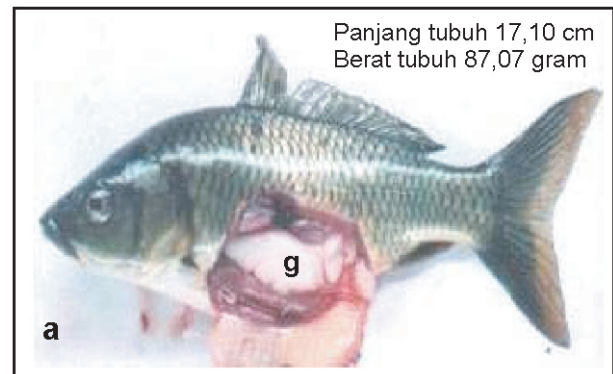
Gambar 2. Pertumbuhan harian panjang relatif/h (a) dan berat spesifik/SGR (b) ikan mas diploid dan tetraploid selama kurun waktu pemeliharaan 110 hari

pertumbuhan berat spesifik atau *specific growth rate* (SGR), mulai awal pemeliharaan (pengamatan) hari ke-10 sampai akhir pemeliharaan hari ke-110 (Gambar 2a dan 2b).

Hasil pengambilan sampel dalam populasi dan pembedahan ikan mas tetraploid sejumlah 10 ekor menunjukkan bahwa ikan berjenis kelamin jantan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perkembangan gonad ikan mas jantan tetraploid relatif sama dengan ikan mas diploid atau normal, seperti tampak pada Gambar 3.

PEMBAHASAN

Poliploidisasi pada ikan berhubungan dengan ciri-ciri ukuran tubuh yang besar, laju pertumbuhan cepat, lama hidup dan adaptasi ekologi (Schultz, 1980 dalam Comber dan Smith, 2004). Ikan mas tetraploid memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih tinggi daripada ikan mas diploid, karena kemungkinan besar ikan mas tetraploid memiliki peningkatan ukuran dan isi nukleus serta sel jauh lebih besar bila dibandingkan dengan ikan mas diploid. Ikan dengan ukuran nukleus dan sel yang lebih besar memiliki pertumbuhan yang lebih tinggi. Tave (1993) dan Ger *et al.* (1993) menyatakan, triploid mempunyai ukuran nukleus



Gambar 3. Perkembangan gonad ikan mas jantan tetraploid (a) dan diploid (b) dalam kurun waktu pemeliharaan 110 hari (g = gonad, testis)

dan sel yang lebih besar dibandingkan diploid, sehingga laju pertumbuhannya lebih tinggi. Oleh karena itu, ikan mas tetraploid juga memiliki ukuran dan isi nukleus serta sel lebih besar bila dibandingkan dengan triploid, terlebih lagi dengan diploid, sehingga pertumbuhannya lebih tinggi bila dibandingkan dengan ikan mas triploid dan diploid.

Semakin banyak jumlah sel menyebabkan volume sel dalam tubuh meningkat, sehingga ukuran tubuh atau pertumbuhan ikan mas tetraploid semakin tinggi. Pertumbuhan organisme juga merupakan proses perbanyakan jumlah sel dan peningkatan volume sel. Effendie (1997) menjelaskan bahwa pertumbuhan adalah penambahan jaringan akibat dari pembelahan sel secara mitosis dan akan terjadi apabila ada kelebihan input energi.

Suryo (1990) menjelaskan, individu tetraploid mempunyai kemampuan di dalam pembelahan sel yang jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan ikan normal diploid, sehingga ikan tetraploid akan mempunyai jumlah sel yang lebih banyak jika dibandingkan dengan ikan normal. Individu-individu poliploid sering kali dapat hidup dan kemungkinan lebih besar ukurannya daripada individu yang haploid atau diploid. Valenti (1975) dalam Thorgaard

(1983) menemukan *Tilapia aurea* tetraploid hasil perlakuan kejutan dingin memiliki ukuran tubuh lebih besar daripada kontrol dan triploid pada umur 14 minggu.

Gonad ikan terletak di bagian atas rongga tubuh, memanjang pada *vertebrae* rongga tubuh hingga berakhir pada lubang genital. Lagler *et al.* (1977) mengatakan bahwa pada ikan, gonad terletak di bawah rongga tubuh, terletak memanjang dari arah kepala menuju ekor. Perkembangan gonad yang diatur oleh sistem endokrin dibagi menjadi 2 fase, yaitu fase pertumbuhan gonad dan fase pematangan gonad (Dary dan Chouinard, 1980 dalam Hariani, 1997).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perkembangan gonad ikan mas jantan hasil tetraploidisasi relatif sama dengan ikan mas diploid atau normal. Pada kurun waktu pemeliharaan 110 hari, gonad ikan mas jantan tetraploid terlihat mengalami perkembangan dengan ukuran yang relatif sama seperti pada ikan mas diploid atau normal (Gambar 3). Fertilitas ikan mas tetraploid ini perlu untuk diuji dan dikaji lebih jauh. Juchno dan Boron (2006) menemukan bahwa semua ikan loach, *Cobitis taenia* L. tetraploid mengalami perkembangan gonad. Testis menunjukkan perkembangan karakteristik sel pada stadia awal spermatogenesis.

Suryo (1990) menyatakan, individu tetraploid merupakan individu yang fertil dan mempunyai laju pertumbuhan yang lebih baik bila dibandingkan dengan individu diploid. Purdom (1993) dan Santiago *et al.* (1993) mengemukakan bahwa ikan tetraploid terlihat jelas sangat rendah daya hidupnya, tetapi dapat dibesarkan untuk kematangan kelaminnya dan dipergunakan dalam memproduksi ikan triploid melalui persilangan dengan ikan diploid normal. Horvath dan Oban (1995) menyatakan bahwa ikan tetraploid adalah fertil dan sesuai untuk produksi triploid melalui perkawinan dengan diploid. Alves *et al.* (1999) menyatakan, ikan jantan tetraploid memproduksi sperma tereduksi yang fertil melalui meiosis normal. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menguji perbandingan tingkat kematangan gonad dan fertilitas gonad (sperma maupun telur) antara ikan mas tetraploid dan diploid (normal).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis haturkan terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. H. Rustidja, MS., Prof. Drs. H. Sutiman Bambang Sumitro, SU., D.Sc., Dr. Ir. H. Mohammad Sasmito Djati, MS., Kepala dan Staf Balai Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPBAT) Umbulan Pasuruan, serta semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

KEPUSTAKAAN

- Alves MJ, Coelho MM, Pro' spero MI dan Collares-Pereira MJ, 1999. Production of Fertile Unreduced Sperm by Hybrid Males of the *Rutilus alburnoides* Complex (Teleostei, Cyprinidae): An Alternative Route to Genome Tetraploidization in Unisexuals. *Genetics*, 151: 277–283.
- Bidwell CA, Chrisman CL, dan Libey GS, 1985. Polyploidy Induced by Heat Shock in Channel Catfish. *Aquaculture*, 51: 25–32.
- Carman O, 1992. Chromosome Set Manipulation in Some Warmwater Fish. Doctoral Thesis, Tokyo University of Fisheries. 131.
- Carman O, Oshiro T, dan Takashima F, 1991. Estimation of Effective Condition for Induction of Triploidy in Goldfish, *Carrassius auratus* Linnaeus. *Journal of the Tokyo University of Fisheries*, 78(2): 127–135.
- Carman O, Oshiro T, dan Takashima F, 1992. Variation in the Maximum Number of Nucleoli in Diploid dan Triploid Common Carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58 (12). Formerly Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.: 2303–2309.
- Cherfas MB, Hulata G, Gomelsky B, Ben-Dom N, dan Peretz Y, 1995. Chromosome Set Manipulations in the Common Carp *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture*, 129: 217–218.
- Chingjiang W, Yuzhen Y, dan Rongde C, 1986. Genome Manipulation in Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 54: 57–61.
- Comber SCL dan Smith C, 2004. Polyploidy in Fishes: Patterns and Processes. *Biological Journal of the Linnean Society*, 82 : 431–442.
- Gong N, Yang H, Zhang G, Landau BJ, dan Guo X, 2004. Chromosome Inheritance in Triploid Pacific Oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. *Heredity*, 93: 408–415.
- Effendie MI, 1997. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusatama, Yogyakarta. 50–71.
- Ger GC, Zan YL, Sun SS, dan Ju BS, 1993. Inducing Polyploidy in Loach. *Aquaculture*, 111: 316–319.
- Gervei J, Marian T, Krasznai Z, Nagy A, dan Csanyi V, 1980. Occurrence of Aneuploidy in Radiation Gynogenesis of Carp, *Cyprinus carpio* Linn. *J. Fish Biol.*, 16: 435–439.
- Gold JR, 1979. Cytogenetics. Dalam: WS Hoar, DJ Randall and JR Brett (Eds). *Fish Physiology*. Volume VIII. Academic Press Inc., New York, USA. 353–405.
- Hariani D, 1997. Pengaruh Dosis dan Lama Perendaman dalam Metiltestosteron terhadap Persentase Hidup, Perubahan Kelamin, Pertumbuhan dan Kandungan Testosteron Ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp.). Penelitian Eksperimental Laboratorik. Usulan Penelitian Tesis. Program Pascasarjana. Universitas Airlangga. Surabaya. 67.
- Horvath L dan Oban L, 1995. Genome and Gene Manipulation in the Common Carp. *Aquaculture*, 129: 157–181.
- Howell WM dan Black DA, 1980. Controlled Silver Staining of Nucleolus Organizer Regions with Protective Colloidal Developer: a1-Step Methods. *Experientia*, 36: 1014–1015.

- Jarayabhand P dan Jindalikit J, 1993. Chromosome Manipulation in Small Oyster, *Saccostrea cucullata* by Thermal Shock. *Aquaculture*, 111: 85–88.
- Jiang W, Li G, Xu G, Lin Y, dan Qing N, 1993. Growth of the Induced Triploid Pearl Oyster, *Pinctada martensii* D. *Aquaculture*, 111: 245–253.
- Juchno D dan Boron A, 2006. Comparative Histology of the Testes of the Spined Loach *Cobitis taenia* L. and Natural Allotetraploids of *Cobitis* (Pisces, Cobitidae). *Hydrobiologia*, 573: 45–53.
- Lagler KF, Bardach JE, dan Miller RE, 1977. *Ichthyology*. John Wiley & Sons., New York, USA. 354–359.
- Linhart O, Flajshans M, dan Kvasnicka P, 1991. Induced Triploidy in the Common Carp (*Cyprinus carpio* L.): a Comparison of Two Methods. *Aquac. Living Resour.*, 4: 139–145.
- Liu SJ, Liu Y, Zhou GJ, Zhang XJ, dan Luo C, 2001. The Formation of Tetraploid Stocks of Red Crucian Carp 3 Common Carp Hybrids as An Effect of Interspecific Hybridization. *Aquaculture*, 192: 172–186.
- Mair GC, 1993. Chromosome-Set Manipulation in Tilapia-Techniques, Problems and Prospects. *Aquaculture*, 111: 227–244.
- Piferrer F, Beaumont A, Falguière J-C, dan Colombo L, 2006. I. Performance Improvements by Polyploidization in Aquaculture. *Dalam: Colombo L, Crosetti D, dan Svaasand T (Eds.) Performance Improvements by Polyploidisation, Gene Transfer and DNA Vaccination in Aquaculture. GENIMPACT project: Evaluation of Genetic Impact of Aquaculture Activities on Native Populations. A European Network. WPI Workshop Genetics of Domestication, Breeding and Enhancement of Performance of Fish and Shellfish*”, Viterbo, Italy. 5.
- Purdum CE, 1993. *Genetics and Fish Breeding*. Chapman & Hall, London, 204–222.
- Rustidja, 1989. Artificial Induced Breeding and Triploidy in the Asian Catfish. Doktoral Thesis. IPB. Bogor. 80.
- Rustidja, 1991. Aplikasi Manipulasi Kromosom pada Program Pembenhian Ikan. Makalah dalam Konggres Ilmu Pengetahuan Nasional V. Jakarta. 23.
- Santiago LP, Penman DJ, Myers J, Powell S, Roongratri N, Suwannarak C, dan Johnstone R, 1993. Triploidy Induction in Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Using Nitrous Oxide. *Dalam: Penman D, Roongratri N, dan McAndrew B (Eds.) Genetics in Aquaculture and Fisheries Management. AADCP Workshop Proceedings. University of Stirling, Scotland, 151–153.*
- Shepherd CJ dan Bromage NR, 1996. Intensive Fish Farming. Great Britain by Hartnolls Ltd. Bodman, Cornwall. 145–149.
- Suryo, 1990. Sitogenetika. Gajah Mada University Press, Yogyakarta. 340–342.
- Tave D, 1993. *Genetics for Fish Hatchery Managers*. Avi. Publ. Co. Inc. Westport Connecticut. 267–304.
- Thorgaard GH, 1983. Chromosome Set Manipulation and Sex Control in Fish. *Dalam: WS Hoar, DJ Randall, dan EM Donaldson (Eds.) Fish Physiology. Volume IX. Part B. Academic Press Inc., New York, USA, 405–434.*

Reviewer: **Prof. Dr. Komar**