

INDUKSI TRIPLOID IKAN SELAIS (*Kryptopterus lympok*) MENGUNAKAN KEJUTAN PANAS

Hamdan Alawi¹⁾; Nuraini¹⁾ dan Sapriana¹⁾

¹⁾Staf Pengajar Faperika Universitas Riau

Diterima : 24 Januari 2009 Disetujui : 30 April 2009

ABSTRACT

A study was conducted to induced triploidy in fertilized egg of sheatfish larvae, (*Kryptopterus lympok*) using heat shock. The eggs were exposed at 40°C for shock duration of 1, 3, 5 and 0 minutes as a diploid control. Results showed that the 5 minutes shock duration was the highest triploid induction and yield (91.7 and 62.9%). Erythrocyte analysis showed that the volume of triploid fish group was bigger than that of diploid one. The fertilization, hatching and survival rate was lower in triploid groups, while SGR was higher compared to diploid fish.

Key Word : *Induced triploidy, sheatfish, heat shock*

PENDAHULUAN

Triploidi merupakan salah satu program pemuliaan ikan melalui manipulasi kromosom. Tujuannya adalah untuk menghasilkan sebagian atau sepenuhnya ikan steril yaitu ikan yang memiliki tiga set kromosom. (Thorgaard and Allen, 1987). Perkembangan gonad ikan dapat menghambat atau menjadi saingan dari pertumbuhan somatik karena sebagian dari nutrisi atau energi dipakai untuk pematangan kelamin (Purdom, 1976, Utter et al. 1983; Pandian and Koteeswaran, 1998). Karena itu sterilisasi pada ikan dapat mengatasi pengaruh dari pematangan gonad dan dialihkan untuk pertumbuhan ikan. Sterilisasi pada ikan dapat dilakukan dengan dua cara yaitu dengan rangsangan

hormon dari luar (Hunter dan Donaldson, 1983) atau dapat juga dilakukan dengan induksi triploidi (Thorgaard, 1983, Hussain et al. 1991, Hussain, 1996; Rottmann, 1991). Pemakaian hormon seringkali mendapat penolakan dari konsumen, maka dengan cara induksi triploid mendapat perhatian yang luas dan menjanjikan untuk memperoleh ikan seteril. Sterilisasi pada ikan dapat terjadi karena gagalnya kromosom homolog untuk berpisah total pada saat pemisahan meiotik pertama (first meiotic division). Selanjutnya dengan menghambat pemisahan pada meiotik kedua dari sel telur (setelah sperma masuk ke dalam telur) ikan triploid dapat diproduksi. Dengan demikian dua set kromosom berasal dari induk betina dan 1 set kromosom berasal dari jantan (2n

telur + 1n sperma = 3n Triploid). (Rottmann, 1991). Prosedur ini biasanya dapat dilakukan melalui metode kimia, termal atau mekanis. Sekalipun kejutan tekanan menghasilkan angka kelulushidupan atau angka keberhasilan triploidisasi yang tinggi, kejutan suhu lebih disukai untuk memperoleh 100% ikan triploid terutama untuk perlakuan telur dalam jumlah banyak, dimana kejutan tekanan cukup mahal. (Thorgaard, 1986; Thorgaard and Allen, 1987; Ihsen et al. 1990; Malison et al. 1993). Sedangkan metode kimia lebih banyak untuk skala laboratorium.

Ikan triploid secara komersial diproduksi dengan memberikan kejutan suhu (termal) setelah air ditambahkan ke dalam telur dan sperma jantan dicampurkan. Waktu yang tepat dari pemisahan meiotik kedua adalah merupakan indikasi dari beragamnya perlakuan yang dapat dilakukan untuk menginduksi triploid pada ikan, bergantung jenis ikan dan suhu air. (Rottmann, 1991; Fast, 1998). Penggunaan kejutan suhu merupakan cara yang termudah dan termurah dalam induksi triploid pada ikan, sehingga banyak dilakukan oleh petani ikan. Suhu panas atau suhu dingin dapat dilakukan tergantung pada jenis ikan dan kesukaan dan pembudidaya (Chourrout, 1982; Fast, 1998; Benfey, 1999).

Ikan selais (*Cryptopterus lympok*) dari famili Siluridae, merupakan ikan asli dan bernilai ekonomis tinggi di perairan Riau (Sungai Kampar, Siak atau Rokan).

Ikan ini dapat mencapai matang gonad setelah berumur 8 bulan dengan berat rata-rata 50-70 gram (Alawi, 2008). Produksi ikan selais yang semakin menurun di alam menyebabkan jenis ikan ini di beberapa kawasan menjadi langka. Diperkirakan penurunan produksi ikan selais per tahun mencapai 5-10 %. Di sisi lain usaha budidaya ikan selais masih belum mencapai usaha komersial, karena keterbatasan benih. Laboratorium Pembenih Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau telah berhasil memijahkan dan membenihkan ikan selais dengan teknologi Kawin suntik (Alawi 2008). Keberhasilan ini sebagai dasar untuk melakukan penelitian tentang kemungkinan induksi triploid. Kejutan suhu panas dicobakan untuk menginduksi triploid ikan selais. Karena intensitas dan lama kejutan yang dilakukan pada telur tergantung pada jenis ikan yang dikultur (Thorgaard and Allen, 1987; Pandian and Koteeswaran, 1998), maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui lama kejutan yang diberikan pada telur ikan selais setelah tiga menit pembuahan.

METODE PENELITIAN

Induk ikan dan penanganan sperma dan telur

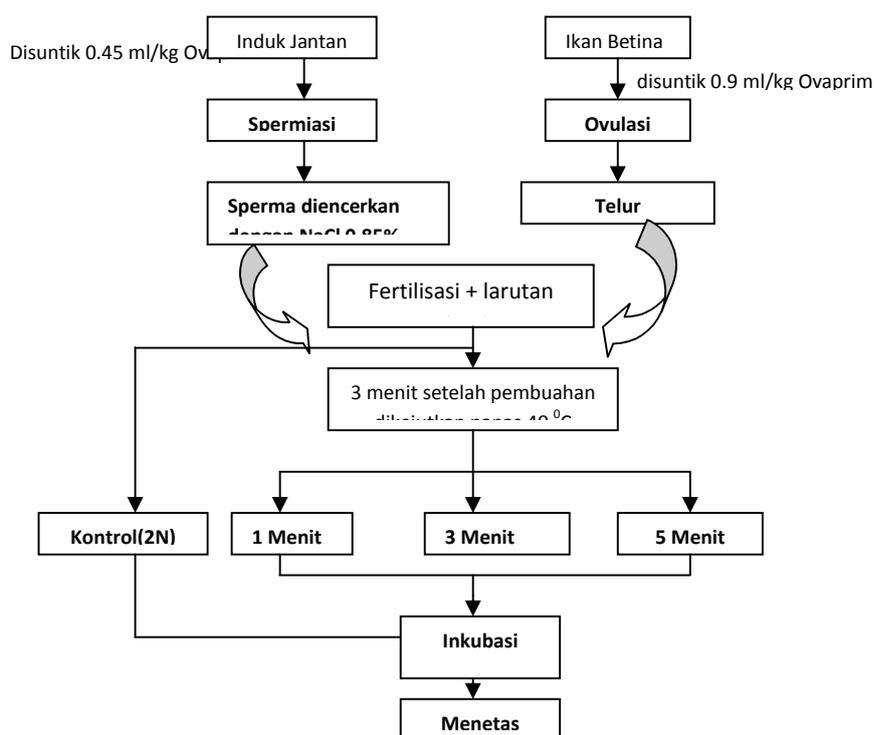
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pembenihan dan Pemuliaan ikan (PPI) Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Induk ikan diperoleh dari Kolam pemeliharaan

Ikan Universitas Islam Riau. Induk ikan dipilih dalam keadaan sehat, tidak cacat dan telah matang gonad. Untuk memperoleh telur dan sperma induk ikan betina disuntik dengan OVAPRIM 0,9 ml/kg berat induk dan induk jantan 0.45 ml/kg. Induk betina disuntik dua kali dengan jarak antara suntikan 6 jam, sedangkan induk jantan hanya disuntik sekali bersamaan dengan suntikan kedua induk betina. Ovulasi betina terjadi setelah 6 jam penyuntikan kedua dan telur dikumpulkan melalui stripping (pengurutan). Sperma tidak dapat distriping, jadi untuk mendapatkan sperma jantan, testes dikeluarkan dari induk jantan matang dan dihancurkan dalam larutan garam 0,85%. Telur dan sperma dicampur rata menggunakan bulu ayam untuk

memastikan fertilisasi dan sedikit larutan fertilisasi untuk mengaktifkan spermatozoa. Metode pemijahan ini sudah dikembangkan oleh Lab. Pembenuhan dan Pemuliaan Ikan Jurusan Budidaya Perairan Faperika Unri.

Aplikasi Kejutatan Panas

Kejutatan panas pada suhu 40°C terhadap telur dilakukan dalam sebuah Water bath suhu terkontrol. Tiga menit setelah pembuahan, telur (k.l 200 butir) dimasukkan dalam saringan teh kemudian direndam dalam water bath. Perlakuan yang diberikan pada telur adalah lama kejutan, yaitu 0 menit (sebagai kontrol), 1 menit, 3 menit dan 5 menit. Skema perlakuan triploid seperti pada Gambar berikut



Gambar 1 Prosedur Induksi Triploid ikan Selais

Parameter yang diukur

Pengaruh lama kejutannya suhu panas untuk induksi triploid dievaluasi melalui 3 faktor yaitu: 1. Angka keberhasilan induksi triploid; 2. Angka Penetasan dan 3. Angka kelulushidupan larva sampai tahap penyerapan kuning telur (yolk sac absorption) dan 30 hari pemeliharaan.

Penentuan keberhasilan induksi triploid dievaluasi berdasarkan pengukuran sel darah merah (diameter panjang, pendek, luas dan volume sel) saat ikan berumur 40 hari. Hasil studi memperlihatkan bahwa sel darah merah (luas atau volume) ikan triploid lebih besar dari sel darah merah diploid. Tingkat induksi triploid dihitung berdasarkan volume sel darah merah 1.5 kali dari sel darah diploid dari 12 ekor ikan yang disampel (Uzunova, 2002).

Tingkat induksi Triploid dihitung dari perbandingan antara jumlah volume sel darah merah yang memiliki rasio 1.5 kali atau lebih dari jumlah sampel ikan. Hasil triploid dihitung perbandingan tingkat induksi triploid dengan angka penetasan perlakuan relatif terhadap angka penetasan ikan normal (Diploid). Angka pembuahan, penetasan dan kelulushidupan dan pertumbuhan spesifik (Specific growth rate) larva dari masing-masing perlakuan disajikan dalam persentase dan dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Angka pembuahan (%) dihitung dari perbandingan jumlah telur terbuahi dengan jumlah telur yang diinkubasi. Angka penetasan (%) dihitung dari perbandingan

jumlah telur yang menetas pada umur larva 2 hari dengan jumlah telur terbuahi. Angka Kelulushidupan dihitung dari perbandingan dari jumlah larva yang hidup pada umur 5 hari dan 30 hari dengan jumlah telur menetas. Angka Pertumbuhan spesifik (% berat/hari) dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

SGR	:	<i>Specific Growth Rate</i> /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	:	<i>Body Weight</i> /berat tubuh (gram)

Penghitungan induksi triploid dan hasil triploid menggunakan rumus berikut (Mukti et al. 2001)

$$IP = \frac{\text{jumlah ikan sampel}}{\text{jumlah ikan poliploidi}} \times 100\%$$

IP : Induksi Ploidisasi

$$HP = \frac{\text{induksi ploid} \times \text{RHR}}{100}$$

HP : Hasil Ploidisasi

RHR : Laju Penetasan Relatif

Pengukuran Sel darah merah

Studi perbandingan berbagai parameter eritrosit dan nukleus nya dari ikan normal dan triploid dilakukan untuk mengamati keberhasilan induksi triploid (Gheyas et al. 2001). Untuk mendapatkan sampel darah yang cukup, larva ikan selais dipelihara selama 2 bulan. Sampel darah dikumpulkan dari 12 ekor benih ikan diploid dan 12 ekor ikan triploid. Darah dioleskan di atas objek glass dan kemudian difiksasi selama 2 menit dengan metanol absolut. Ulasan selanjutnya diwarnai (stain) dengan Wright's Blood Stain selama 15 menit, dicuci dengan air suling, dikering-udarkan, dan terakhir dibercakkan dengan larutan ginza. Preparat darah ini diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x dilengkapi dengan mikrometer oculer. Diameter panjang sel (CLD = cell long diameter, a); dan diameter lebar sel (CSD = cell short diameter, b) diukur untuk 20 sel darah dari masing-masing ikan. Luas dan volume sel dihitung dengan menggunakan rumus Krasznai et al. 1984).

$$\begin{aligned} \text{Luas Sel darah (S)} &= \frac{a \cdot b \cdot \pi}{4} \\ \text{Volume (V)} &= \frac{4}{3} \pi \left(\frac{a}{2}\right)\left(\frac{b}{2}\right)^2 \end{aligned}$$

Dimana :

a = rata-rata diameter sel panjang;
b = diameter sel lebar

Analisa Statistik

Analisa statistik terhadap parameter derajat pembuahan, penetasan, kelulushidupan, pertumbuhan dan tingkat triploidi menggunakan Analisa Sidik Ragam. Hasil dari pengukuran dibandingkan menggunakan Uji Keragaman Variasi sebelum ANOVA dan kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut Tukeys. Analisis statistik ini dilakukan dengan menggunakan program statistik MINITAB versi-15

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 dan gambar 2 dan 3 memperlihatkan hasil dari induksi triploid ikan selais pada suhu panas 40°C dengan lama kejutan 1, 3 dan 5 menit. Tingkat induksi triploid dan hasil triploid yang tertinggi diperoleh pada perlakuan lama kejutan panas 5 menit yaitu sebesar 91.7 dan 62.9% , sedangkan pada perlakuan lama kejutan panas 3 dan 1 menit masing-masing sebesar 83.3 dan 41.7% untuk tingkat induksi triploid dan 60.2 dan 35.2% untuk hasil triploid. Pada perlakuan tanpa kejutan menghasilkan ikan diploid 100%. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kejutan suhu 40°C dengan lama kejutan 5 menit atau 3 menit

adalah lama kejutan yang efisien selais. untuk menginduksi triploid pada ikan

Tabel 1. Pengaruh lama kejutan suhu panas terhadap beberapa parameter induksi triploid ikan selais. Waktu mulai kejutan untuk masing-masing perlakuan adalah 3 menit sesudah pembuahan.

Parameter	Lama Kejutan Panas (menit)			
	0 (kontrol 2N)	1 (3N)	3 (3N)	5 (3N)
Angka Pembuahan %	75.18±3.28 ^a	60,39± 2.61 ^b	52.59±1,61 ^c	49.08±1.63 ^c
Angka Penetasan %	82.44±2.71 ^a	69.62±1.11 ^b	59,60±1.76 ^c	56.63±2.27 ^c
Persentase Cacat %	0.5 ± 0.42	12.3 ± 2.6	34.9 ± 2.96	45.1 ± 3.02
Kelulushidupan 4 hari (Kuning telur habis) %	98.72±0.38 ^a	83,81±2.11 ^a	64,84±11,83 ^b	55,81±3,41 ^b
Kululushidupan 30 hari %	92.45±2,68 ^a	78,79±3,70 ^b	64.63±3.39 ^c	52,56±4.19 ^d
SGR (%Berat/hari)	14.28 ± 0.09 ^a	14.41±0.03 ^b	14.95±0.02 ^c	15.34± 0.02 ^d
Tingkat Induksi Triploid %	0.0 ± 0.0	41.7	83.3	91.7
Hasil Triploid %	0.0 ± 0.0	35.2	60.22	62.9

Angka pembuahan, penetasan dan kelulushidupan ikan selais diploid (kontrol) masing-masing sebesar 75.18, 82.44 dan 98.72% lebih tinggi dari ikan triploid. Namun sesama ikan triploid, perlakuan lama kejutan 1 menit menghasilkan angka lebih tinggi dari perlakuan 3 dan 5 menit. Nilai SGR (pertumbuhan spesifik) ikan triploid lebih tinggi dari ikan normal (diploid). Perlakuan lama kejutan 5 menit memiliki angka

pertumbuhan yang tertinggi yaitu 15.34 %/hari. Semakin lama kejutan suhu panas diberikan semakin rendah angka pembuahan, penetasan dan kelulushidupannya. Namun sebaliknya semakin tinggi pertumbuhan, tingkat induksi dan hasil triploidnya. Perbandingan data tentang diameter panjang dan lebar, luas dan volume sel darah merah (eritrosit) tercantum pada tabel 2. Dengan meningkatkannya

jumlah kromosom pada ikan triploid secara signifikan meningkatkan luas dan volume sel darah merahnya ($P < 0.05$) dari ikan diploid. Ratio dari semua parameter sel darah merah kelompok ikan triploid terhadap ikan diploid adalah lebih besar dan ini menunjukkan bahwa ikan triploid

memiliki sel darah merah (SDM) lebih besar dari ikan diploid. Hal ini dapat dilihat dari sebaran frekuensi rata-rata volume sel darah merah kelompok ikan triploid jauh berada di atas ikan diploid terutama pada perlakuan lama kejutan 5 menit. (gambar 4)

Tabel 2. Perbandingan sel darah merah ikan selais normal (2N) dengan triploid (3N) (Ukuran CLD dan CSD dalam mikrometer (μm), luas dalam μm^2 dan volume dalam μm^3) dan ratio triploid/diploid

Parameter	Normal Diploid	Triploid			Ratio Triploid / diploid		
		1 menit	3 menit	5 menit	1 menit	3 menit	5 menit
CLD (a)	19.2±1.05	22.3±1.7	23.9±1.2	26.13±1.2	1.16±0.09	1.24±0.06	1.36±0.08
CSD (b),	12.5±0.60	14.2±1.4	15.4±1.2	16.4±1.2	1.14±0.11	1.24±0.10	1.31±0.11
Luas (S)	204.3±16.2	269.3±43.3	310.8±31.1	361.5±38.7	1.33±0.20	1.53±0.16	1.78±0.20
Volume (V)	1710.6±207.7	2579.7±662.6	3219.3±556.0	3969.2±720.5	1.53±0.37	1.91±0.34	2.36±0.45

PEMBAHASAN

Perlakuan kejutan suhu panas 40°C telah berhasil menginduksi triploid pada ikan selais (*Cryptopterus lympok*) dengan tingkat induksi triploid mencapai 41.7 sampai 91.7% dengan lama kejutan 1 sampai 5 menit. Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan kejutan suhu panas mampu mencegah terjadinya pelepasan polar body II tanpa mengakibatkan kematian total pada zigot, akan tetapi menimbulkan larva cacat semakin tinggi dengan semakin lamanya kejutan diberikan. Hasil ini sejalan dengan hasil yang ditemukan oleh Gheyas *et al.*, (2001) pada ikan Stinging cat fish (*Heteropneustus fossilis*) atau oleh Sukarti *et al.* (2006) pada ikan lele (*Clarias*

batrachus). Walaupun peningkatan lama kejutan akan meningkatkan angka induksi triploid, namun umumnya perlakuan lama kejutan membawa efek yang cukup signifikan terhadap angka penetasan dan kelulushidupannya. Hal ini dapat dilihat bahwa semakin lama kejutan diberikan semakin besar ditemukan ikan yang catat.

Persentase pembuahan, penetasan dan kelulushidupan pada ikan selais karena perlakuan kejutan panas adalah lebih rendah dari ikan tanpa perlakuan kejutan panas (kontrol). Nilai yang rendah dari individu triploid dibandingkan dengan kontrol juga telah dilaporkan oleh penelitian lain (Dunham, 2006,

Pifereer *et al.* 2000; Chrisman *et al.* 1983; Krasznai *et al.* 1984,

Solar et al. 1984, Sukarti et al. 2006). Rendahnya angka pembuahan, penetasan, dan kelulushidupan ikan triploid ini bisa disebabkan oleh beberapa faktor. Pada ikan turbot dan ikan sea bass, rendahnya angka-angka tersebut bisa dikarenakan penanganan dan perlakuan terhadap telur (Piferrer *et al.*, 2000) pada saat induksi dilakukan, atau karena kualitas gamet ikan itu sendiri, seperti yang dilaporkan pada ikan rainbow trout (Palti *et al.* 1997). Pada ikan selais yang dicobakan pada penelitian ini, rendahnya angka penetasan dan kelulushidupan lebih dominan disebabkan karena kualitas gamet, disamping tidak menutup kemungkinan penanganan dan perlakuan terhadap telur saat kejutan panas diberikan. Faktor lain yang perlu dipertimbangkan adalah saat inkubasi telur dilakukan. Suhu air inkubasi sangat memegang peranan penting atas keberhasilan penetasan dan kelulushidupan larva (Gheyas *et al.* 2001). Suhu Air inkubasi pada penelitian ini agak rendah dari normal (rata-rata 26°C).

Pengukuran sel darah merah telah banyak digunakan oleh para peneliti untuk menentukan tingkat ploidi pada ikan karena bertambahnya jumlah kromosom ikan triploid, ukuran sel darah merah termasuk inti sel akan meningkat. Beberapa peneliti menggunakan berbagai variabel pengukuran sel darah merah termasuk volume sel darah atau luas sel darah merah. Umumnya triploidisasi meningkatkan volume sel darah

merah 1.5 kali lebih besar (Swarup, 1959, Beck and Biggers, 1983, Purdom, 1973). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa volume sel darah merah semakin besar dengan semakin lama kejutan panas diberikan. Pada kejutan selama 5 menit, rasio volume sel darah merah ikan triploid terhadap diploid adalah 2.36, sedangkan pada lama kejutan 3 dan 1 menit masing-masing 1.9 dan 1.53. Nilai yang signifikan dari volume sel darah merah pada ikan selais triploid dibandingkan dengan parameter sel darah merah lain dapat digunakan untuk menentukan tingkat ploidi pada ikan ini.

Kesimpulan

Triploid ikan selais (*Cryptopterus limpok*) berhasil diinduksi dengan menggunakan suhu panas 40°C dengan lama kejutan 1 sampai 5 menit. Level induksi triploid berkisar antara 42 sampai 92%. Hasil ini dapat dijadikan dasar untuk melanjutkan penelitian dan uji coba dengan metode kejutan lain dan memastikan cara yang paling praktis dalam memproduksi ikan selais triploid secara komersial. Di samping itu, percobaan lain perlu juga dilakukan untuk menghasilkan selais tetraploid dan kemudian memproduksi hibrid triploid dari selais tetraploid x selais diploid sehingga pengaruh dari penggunaan kejutan suhu dapat dihindari.

Daftar Pustaka

Alawi. H., 2008. Teknologi Pembenihan Ikan Selais (*Kryptopterus limpok*).

- Seri Penyuluhan Budidaya Ikan 1. LEMLIT UNRI-LAB Pembenuhan dan Pemuliaan Ikan FAPERIKA UNRI. Pekanbaru.
- Beck, M.L. and C.J. Biggers. 1983. Erythrocyte measurements of diploid and triploid *Ctenopharyngodon idella* x *Hypophthalmichthys nobilis* hybrids. *Journal of Fish Biology* 22: 497-502.
- Beck, M.L., Biggers, C.J. and Barker, C.J. (1984) Chromosomal and electrophoretic analyses of hybrids between grass carp and bighead carp (Pisces: Cyprinidae). *Copeia* 1984, 337-342.
- Benfey, T.J. (1999) The physiology and behavior of triploid fishes. *Reviews in Fisheries Science* 7, 39-67.
- Benfey, T.J., 2001. Use of sterile triploid Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) for aquaculture in New Brunswick, Canada. *ICES Journal of Marine Science*, 58: 525-529.
- Chourrout, D. (1980) Thermal induction of diploid gynogenesis and triploidy in the eggs of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Reproduction, Nutrition, Development* 20, 727-733.
- Chourrout, D. and Quillet, E. (1982) Induced gynogenesis in the rainbow trout: sex and survival of progenies. Production of all-triploid populations. *Theoretical and Applied Genetics* 63, 201-205.
- Chrisman, C.L., Wolters, W.R. and Libey, G.S. (1983) Triploidy in channel catfish. *Journal of the World Mariculture Society* 14, 279-293.
- Dunham, R.A., 2006. Aquaculture and Fisheries Biotechnology: Genetic Approach. CABI Publishing Cambridge, USA. 372 p.
- Fast, A.W. 1998. Triploid Chinese catfish. Aquafarmer Information Sheet No 34. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture Publication.
- Gheyas, A.A., M.F.A. Mollah, dan M.G. Hussain, 2001. Triploidy Induction in Stinging Catfish *Heteropneustes fossilis* Using Cold Shock. *Asian Fisheries Science* 14:323-332
- Hunter, G.A. and E.M. Donaldson. 1983. Hormonal sex control

- and its application to fish culture.
In: W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (Editors). *Fish Physiology*. Vol. IX, Part B. Academic Press, New York. NY. pp. 223-303.
- Hussain, M.G., A. Chatterji, B.J. McAndrew and R. Johnstone. 1991. Triploidy induction in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. using pressure, heat and cold shocks. *Theoretical and Applied Genetics* 81: 6-12.
- Hussain, M.G. 1996. Advances in chromosome engineering research in fish: Review of methods, achievement and applications. *Asian Fisheries Science* 9: 45-60.
- Ihssen, P.E., McKay, L.R., McMillan, I., Phillips, R.B., 1990. Ploidy manipulation and gynogenesis in fishes: cytogenetic and fisheries applications. *Trans. Am. Fish. Soc.* 119, 698-717.
- Krasznai, Z.T., T. Marian and G. Kovacs, 1984. Production of triploid European Catfish (*Silurus glanis* L.) by cold shock. *Aquacultura Hungarica* 4: 25-32.
- Malison, J.A., Kayes, T.B., Held, J.A., Barry, T.P., Amundson, C.H., 1993. Manipulation of ploidy in yellow perch (*Perca flavescens*) by heat shock, hydrostatic pressure shock and spermatozoa inactivation. *Aquaculture* 110, 229-242.
- Mukti, A.T., Rustidja, A.B. Sumitro, dan M.S. Djati. 2001. Polyploidisasi ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *BIOSAIN* 1(1): 111-123.
- Palti, Y., Li, J.J. and Thorgaard, G.H. (1997) Improved efficiency of heat and pressure shocks for producing gynogenetic rainbow trout. *Progressive Fish-Culturist* 59, 1-13.
- Pandian, T.J., dan R. Koteeswaran, 1998. Ploidy induction and sex control in fish. *Hydrobiology* 384, 167-243.
- Piferrer, F., Cal, R.M., Alvarez-Blazquez, B., Sanchez, L. and Martinez, P. (2000) Induction of triploidy in the turbot (*Scophthalmus maximus*) I. Ploidy determination and the effects of cold shocks. *Aquaculture* 188, 79-90.
- Purdom, C.E. 1993. *Genetics and fish breeding*. Chapman &

- Hal London. Fish and Fisheries Series 8.
- Purdom, C.E. 1973. Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with flounder (*Platichthys flesus*) Heredity 29: 11-24
- Rottmann, R.W., J.V. Shireman, and F.A. Chapman. 2001. Induction and Verification of triploidy in fish. SRAC Publication 427. IFAS, Univ. Flor.
- Solar, I.I., Donaldson, E.M. and Hunter, G.A. (1984) Induction of triploidy in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) by heat shock, and investigation of early growth. *Aquaculture* 42, 57-67.
- Sukarti, K, I. Djawad, dan Y. Fujaya, 2006. Pengaruh lama kejutannya panas terhadap keberhasilan triploidisasi ikan lele (*Clarias batrachus*)
- Swarup, H. (1959) Effect of triploidy on the body size, general organization and cellular structure in *Gasterosteus aculeatus* (L.). *Journal of Genetics* 56, 143-155.
- Tave, D. (1985) *Genetics for Hatchery Managers*. AVI Publishing, Westport, Connecticut.
- Torgaard, G.H., 1986. Ploidy manipulation and performance. *Aquaculture* 57: 57-64.
- Thorgaard, G. and Gall, G.A.E. (1979) Adult triploids in a rainbow trout family. *Genetics* 93, 961-973.
- Thorgaard, G.H., S.K. Allen Jr. 1987. Chromosome manipulation and markers in fisheries management. In: Ryman, N., Utter, F. (Eds.), *Population Genetics and Fishery Management*. University of Washington.
- Uzunova E., 2002. Erythrocyte Measurements as a Possible Approach for Distinguishing Diploid and Triploid Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*, Mitchell, 1814). *Acta Zool. Bulg.* 54(1): 79-86.