

Keberhasilan Ginogenesis Ikan Tawes (*Barbomyrus gonionotus* Blkr.) pada Dua Dosis Iradiasi UV (λ 254 nm) dengan Kejut Panas 40°C

Reni Apriani¹, Suhestri Suryaningsih¹ dan Yulia Sistina¹

¹ Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman

Jalan dr. Suparno 63 Purwokerto 53122

email: reniassidiq@yahoo.co.id

Abstract

Gynogenesis is a reproductive biotechnology to get offspring with genetic material from the female only. This is crucial for Cyprinids fresh water, including silver barb (*Barbomyrus gonionotus* Blkr.), which has been studied for meiogynogenesis. The study aimed (1) to assess the effectiveness of UV irradiation dose for male genetic inactivation using 15 Watt UV TL light, 254 nm wave length, 15 cm distance for two irradiation time of 60 seconds or the UV dose of 1983 J/m² or 120 seconds or the UV dose of 3966.96 J/m² to damage the male genetic material, (2) to assess the effectiveness of diploidization of the mitogynogenesis applied heat shock at 40°C for 60 seconds at two different times of 10 or 15 minutes from fertilization time, in order to get normal morphological larvae from mitogynogenesis similar to the positive control normal diploid larvae. Completely Randomized Design was applied with 7 treatments, namely: Positive controls: fertilized fresh eggs with diluted milt without UV irradiation no heat shock; control negative1: fertilization fresh egg with diluted milt irradiated with dose of 1983 J/m² UV no heat shock; control negative2: fertilization of fresh egg with diluted milt dose of 3966.96 J/m² UV no heat shock; Gynogenesis1: fertilization of fresh eggs with diluted milt dose of 1983 J/m² UV irradiation, then zygote heat shocked at 10 minutes from fertilization time in 40°C for 60 seconds; Gynogenesis2: fertilization fresh eggs with diluted milt dose of 1983 J/m² UV irradiation, then zygote heat shocked at 15 minutes from fertilization time in 40°C for 60 seconds; Gynogenesis3: fertilization of fresh eggs with diluted milt dose of 3966.96 J/m² UV irradiation, then zygote heat shocked at 10 minutes from fertilization time in 40°C for 60 seconds; Gynogenesis4: fertilization of fresh eggs with diluted milt dose of 3966.96 J/m² UV irradiation, then zygote heat shocked at 15 minutes from fertilization time in 40°C for 60 seconds. Each treatment was replicated three times. Observed variables were fertility rate, hatching rate, morphology larvae, and survival rate at day 28th. Quantitative data were analyzed using analysis of variants (ANOVA) continued to HSD test the significant one, using SPSS17. Results showed that fertility, hatching and a month-age fry survival rate were statistically had no significant different ($p>0.05$) among treatments. However, the average data of abnormal morphology of larvae was highly significant different ($P<0.01$) among treatments, meaning that mitogynogenesis protocol applied determine or resulted in normal larvae as compared to negative control group with abnormal morphology of larvae. As conclusion mitogynogenesis treatments effectively resulted in normal gynogenesis larvae, although consider very low effectiveness. The effectiveness of treatments proven from the abnormal morphology larvae data from negative control and normal morphology larvae from mitogynogenesis treatment as well as larvae from the positive control normal diploid larvae.

Keywords : Gynogenesis, irradiation, heat shock.

Abstrak

Ginogenesis adalah bioteknologi reproduksi menghasilkan keturuan dengan materi genetis dari betinanya saja, yang menjadi relevan untuk kelompok Cyprinidae, termasuk tawes, penting dikaji untuk dilakukan, karena yang sudah dilaporkan baru meioginogenesis tawes dan baru aspek kualitatif pada yang mitogenesis. Tujuan penelitian untuk mengeksplorasi protocol mitoginogenesis dari efektifitas dosis nonaktivasi spermatozoa ikan tawes (*Barbomyrus gonionotus* Blkr.) dengan menggunakan sinar UV 15 Watt panjang gelombang 254 nm, jarak 15 cm, lama waktu berbeda yaitu 1 menit atau dosis 1983 J/m² atau 2 menit atau dosis 3966,96 J/m²; dan efektivitas diploidisasinya dengan kejut temperatur 40°C selama 60 detik pada waktu berbeda yaitu 10 atau 15 menit pasca fertilisasi. Eksperimen Rancangan Acak Lengkap, tujuh perlakuan yaitu, kontrol positif (fertilisasi normal); kontrol negatif1 telur difertilisasi dengan milt encer yang di UV 1983,348 J/m²; kontrol negatif2 dosis iradiasinya 3966,96 J/m²; ginogenesis1 kontrol negatif1 lalu dikejut panas pada 10 menit pasca fertilisasi; ginogenesis2 ginogenesis1 beda waktu kejut pada 15 menit pasca fertilisasi; ginogenesis3 kontrol negatif2 lalu dikejut pada 10 menit pasca fertilisasi; dan ginogenesis4 ginogenesis3 beda waktu kejut pada 15 menit pasca fertilisasi. Materi gamet segar diperoleh dari induk yang diinduksi GnRH analog dan domperidone dosis 1,5 ml/kg bobot induk intramuskuler, 6-10 jam sebelumnya. Milt segar diencerkan 100 x dalam larutan Ringer. Data dianalisis dengan uji Anova, yang hasilnya signifikan diteruskan ke uji BNJ, menggunakan program SPSS 17. Hasil penelitian menunjukkan bahwa data fertilitas, data penetasan dan data kelangsungan hidup yang terbukti homogen ($p>0.05$), menunjukkan bahwa ketujuh perlakuan secara statistik fertilitas, penetasan, dan kelangsungan hidupnya tidak nyata ($p>0.05$) antar perlakuan. Data persentase morfologi larva abnormal tawes menunjukkan bahwa perlakuan yang dicobakan memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P<0.01$). Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa, keempat perlakuan mitoginogenesis yang diujikan efektif menghasilkan larva mitoginogenesis ikan tawes walaupun efektifitasnya masih tergolong rendah. Efektivitas perlakuan dibuktikan dari signifikansi data morfologi larva abnormal dari kloppok kontrol negatif membuktikan efektivitas dosis inaktivasi genetis jantan dan morfologi larva normal hasil perlakuan ginogenesis membuktikan efektivitas diploidisasinya kejut panas tidak berbeda dari morfologi kontrol positif.

Kata kunci: : ginogenesis, iradiasi UV, kejut panas.

Pendahuluan

Kegunaan bioteknologi reproduksi bukan hanya untuk pemenuhan kebutuhan atau pemecahan permasalahan pangan namun juga untuk tujuan konservasi ke depan menjaga biodiversitas tropis kita. Hal ini mendesak karena ekosistem global dan lingkungan sekarang sudah sangat menurun kualitasnya. Apalagi jumlah spesies yang masuk katagori dilindungi makin meningkat demikian juga yang tergolong punah. Upaya pelestarian model konservasi *in situ* dan *ex situ* tentu akan tidak memadai di era perubahan iklim sekarang yang menambah masalah manajemen konservasi khususnya pada spesies yang sangat terdampak di ekosistem rusak ini. Teknologi reproduksi manipulasi genom, termasuk ginogenesis, yang dekade terakhir menarik peneliti untuk kemungkinan aplikasinya kelak bagi tujuan konservasi (Sistina, 2012).

Ginogenesis adalah teknologi reproduksi menghasilkan keturunan atau anakan dengan genetis dari induk betinanya saja (Horvarth & Orban, 1995), meliputi tiga tahap prosedur, dimulai dengan (1) iradiasi genetis spermatozoa, lalu (2) difertilisasikan ke telur, dan (3) zigot hasilnya didiploidisasikan antara lain dengan pemberian kejut panas (Sistina, 2012). Iradiasi dimaksudkan untuk menonaktifkan atau merusak genetis spermatozoa sehingga tidak diturunkan ke zigot. Akibatnya zigot dapat haploid karena hanya berasal dari amteri genetis betina haploidnya saja yang dapat dideteksi dengan bentuk larva abnormal. Tahap ketiga ginogenesis adalah tahap diploidisasi zigot, tidak berbeda dengan cara ploidisasi lain (Gervai *et al*, 1980; Wu *et al*, 1986; Nagy, 1987; Linhart *et al*, 1989; Linhart *et al*, 1991; Cherfas *et al*, 1995; Horvarth & Orban, 1995; Purwaganda dan Sistina, 1997; Sistina *et al*, 2000; da Silva *et al*, 2007; Sistina dan Sulisty, 2013). Protokol meioginogenesis tawes sudah dilaporkan Purwaganda dan Sistina (1997) dosis iradiasinya efektif menghasilkan 100% larva haploid, dan perbandingan meioginogenesis dan mitoginogenesis tawes walau secara kualitatif juga dilaporkan yaitu hasil protokol ginogenesis tawes mampu bertahan hidup hingga tiga bulan lebih (Sistina dan Sulisty, 2013). Oleh karena itu data kuantitatif perlu diketahui bagaimana fertilitas dan penetasan untuk protokol ginogenesis khususnya mitoginogenesis yang dilaporkan ini.

Tawes, sebagai ikan air tawar, digunakan senagai model karena belum ada laporan kuantitatif protokol mitoginogenesis tawes dalam hal bagaimana fertilitas dan penetasan pasca tiga tahap manipulasi atau perlakuan mitoginogenesis. Biodiversitas ikan air tawar sudah lama dalam status lampu merah, terlebih-lebih ikan air tawar jauh lebih rentan dibanding ikan laut dalam hal sensitivitas terhadap gangguan (Raharjo, 2007). Penelitian ini

melaporkan hasil protokol mitoginogenesis tawes dua dosis iradiasi untuk menonaktifkan genom jantan spermatozoa dengan variasi dua waktu kejut panas berbeda untuk diploidisasi zigot. Penelitian ini dapat menjadi model untuk ikan air tawar yang terancam punah diterapkan misalnya bila yang ditemui hanya spesies betinanya saja, maka ginogenesis adalah langkah konservasi yang dapat ditempuh ke depan.

Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *milt* segar dan telur segar yang diperoleh dari induk ikan tawes jantan dan betina yang matang gonad, medium pengenceran *milt* (*Ringer*) ikan/katak (NaCL 6,50 g, KCL 0,14 g, CaCl₂ 0,12 g, NaHCO₃ 0,20 g, NaH₂PO₄ 0,01 g, akuades 1L), methylene blue 3 ppm, GnRH-analog dikombinasi dengan anti dopamine Domperidon (Syndel Inc., Canada), spirulina, pelet (PF-1000, PT. Matahari Sakti), deterjen dan air. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: pompa airasi akuarium (SONIC P-125), selang dan batu airasi, regulator, baskom plastik, bak plastik, cawan petri, sendok plastik (spatula), pipet tetes, saringan, *spuit*, tisu, kain lap, lampu UV (245 nm) 15 Watt merk Philips, mikroskop cahaya Olympus CH-20, *waterbath* (Jeio tech, wb-20E), *stopwatch*, *counter*, *heater*, gelas objek, kamera digital SONY dan alat tulis.

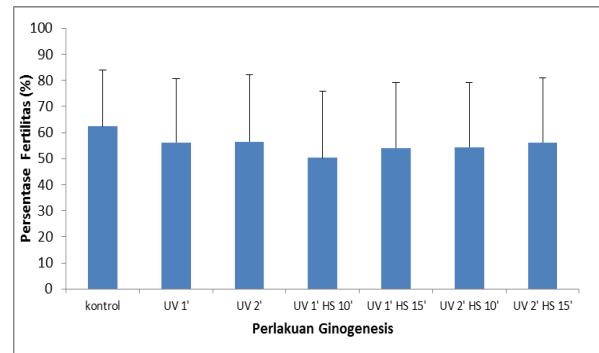
Penelitian eksperimen Rancangan Acak Lengkap, tujuh perlakuan yaitu; (1) kontrol fertilisasi normal; (2) UV1 : milt encer satu lapis tipis diiradiasi UV dosis 1983,348 J/m² lalu digunakan untuk memfertilisasi telur segar (sebagai kontrol negatif1); (3) UV2 : seperti yang negatif1 bedanya dosis iradiasinya 3966,96 J/m² (sebagai kontrol negatif2) ; (4) UV1HS10: perlakuan UV1, lalu zigot pada 10 menit dari fertilisasi dikejut panas 40°C selama 60 detik (sebagai ginogenesis1); (5) UV1HS15 : mirip ginogenesis1 bedanya adalah waktu kejutnya pada 15 menit dari fertilisasi (sebagai ginogenesis2); (6) UV2HS10: perlakuan kontrol negatif2, lalu zigot pada 10 menit dari fertilisasi dikejut panas 40°C selama 60 detik (sebagai ginogenesis3); (7) UV2HS15: mirip ginogenesis 3 bedanya waktu kejutnya pada 15 menit dari fertilisasi (sebagai perlakuan ginogenesis4).

Cara kerja memperoleh materi telur dan milt segar induk diinduksi intramuskuler dosis 0,5 mL/kg bobot ikan dengan GnRH-analog Domperidon (Syndel Vancouver Inc., Canada), selanjutnya *distripping* 6-8 jam pasca induksi. Milt segar segera diencerkan 100x dalam larutan Ringer. Satu lapis milt encer dalam cawan petri diiradiasi sesuai dosis perlakuan, sehingga ada tiga cawan petri berisi milt encer untuk 3 dosis iradiasi (0;1983; dan 3966,96 J/m²). Telur

segar *distripping*, dibuahkan dengan milt encer yang telah disiapkan. Stopwatch dijalankan bersamaan waktu telur ditetes milt encer perlakuan (fertilisasi). Sesuai masing-masing perlakuan, kecuali kontrol, setelah waktu 10 atau 15 menit dari fertilisasi zigot dikejut panas 40°C selama 60 detik. Seluruh unit penelitian dikultur dalam bak penetasan beraerator yang telah disiapkan. Tiap unit penelitian diamati dan dihitung mulai 3 jam dari waktu fertilisasi, telur yang jernih transparent terbuahi dan yang keruh tidak terbuahi. Jumlah larva menetas setelah 12 jam dari waktu fertilisasi dihitung juga. Morfologi larva diamati di bawah mikroskop dan didokumentasikan. Data dianalisis dengan uji Anova, yang signifikan diteruskan ke uji BNJ, menggunakan program SPSS17.

Hasil dan Pembahasan

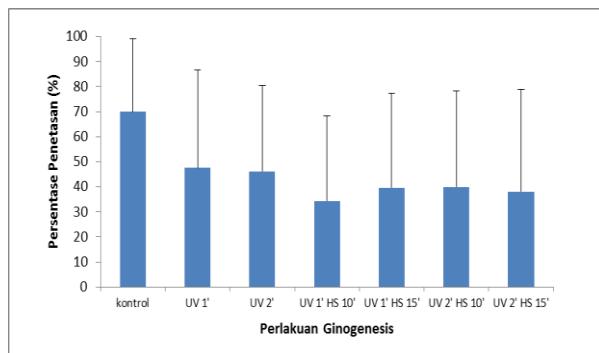
Hasil analisis ragam data fertilitas terbukti homogen ($p>0,05$), menunjukkan bahwa ketujuh perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0,05$) terhadap fertilitas (Gambar 1). Artinya rerata fertilitas perlakuan kontrol positif sama dengan perlakuan kontrol negatif1 (UV1'), kontrol negatif2 (UV 2'), ginogenesis1 (UV 1' HS 10'), ginogenesis2 (UV 1' HS 15'), ginogenesis3 (UV 2' HS 10'), ginogenesis4 (UV 2' HS 15'). Dengan kata lain tidak ada beda nyata ($P>0,05$) fertilitas antar ketujuh perlakuan ginogenesis tawes.



Gambar 1. Rerata (\pm SD) derajat fertilitas telur ikan tawes (*Barbonymus gonionotus* Blkr.) pasca perlakuan iradiasi UV dua dosis berbeda dilanjutkan kejut temperatur panas 40°C selama 60 detik pada waktu berbeda (10 atau 15 menit) pasca fertilisasi perlakuan ginogenesis.

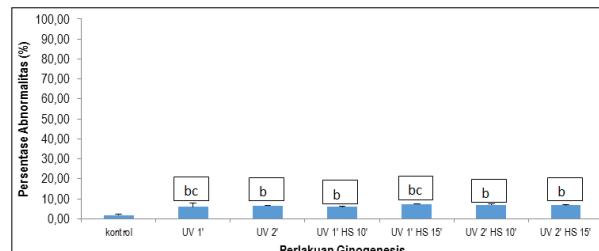
Hasil analisis ragam data penetasan terbukti homogen ($p>0,05$) dan menunjukkan bahwa ketujuh perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0,05$) terhadap penetasan (Gambar 2). Artinya rerata penetasan perlakuan kontrol positif sama dengan perlakuan kontrol negatif1 (UV1'), kontrol negatif2 (UV 2'), ginogenesis1 (UV 1' HS 10'), ginogenesis2 (UV 1' HS 15'), ginogenesis3 (UV 2' HS 10'), ginogenesis4 (UV 2' HS 15').

Hasil pengamatan dan perhitungan data larva abnormal menunjukkan bahwa rerata persentase abnormalitas larva ikan tawes pada masing-masing perlakuan bervariasi.



Gambar 2. Rerata (\pm SD) derajat penetasan telur tawes (*Barbonymus gonionotus* Blkr.) pasca perlakuan iradiasi UV dua dosis berbeda dilanjutkan kejut temperatur panas 40°C selama 60 detik pada waktu berbeda (10 atau 15 menit) pasca fertilisasi untuk ginogenesis.

Data rerata abnormalitas larva perlakuan ginogenesis dari yang tertinggi ke terendah berturut-turut $7,40 \pm 0,12\%$ dari perlakuan ginogenesis2, selanjutnya diikuti perlakuan ginogenesis3 = $7,01 \pm 0,30\%$, dari perlakuan ginogenesis4 = $6,82 \pm 0,30\%$, berikutnya kontrol negatif2 = $6,52 \pm 0,32\%$, diikuti perlakuan kontrol negatif1 = $6,01 \pm 1,83\%$, kemudian diikuti perlakuan ginogenesis1 = $6,00 \pm 0,23\%$, dan yang terendah dari perlakuan kontrol positif = $1,73 \pm 0,42\%$ (Gambar 3).



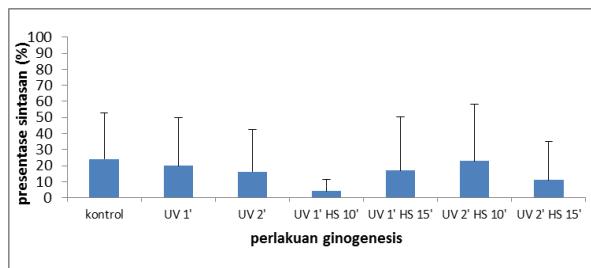
Gambar 3. Rerata (\pm SD) presentase abnormalitas larva pada penelitian ginogenesis ikan tawes (*Barbonymus gonionotus* Blkr.) pasca perlakuan iradiasi UV dua dosis berbeda dilanjutkan kejut temperatur panas 40°C selama 60 detik pada waktu berbeda (10 atau 15 menit) pasca fertilisasi untuk ginogenesis. Huruf berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata ($p<0,01$) atau nyata ($p<0,05$).

Hasil analisis ragam data morfologi larva abnormal tawes terbukti homogen ($p>0,05$), menunjukkan bahwa ketujuh perlakuan morfologi larva abnormal tawes memberikan pengaruh yang sangat nyata ($p<0,01$) antar perlakuan. Hasil uji lanjut BNJ membuktikan bahwa perlakuan kontrol positif berbeda sangat nyata ($p<0,01$) dengan kedua perlakuan kontrol negatif dan ke-empat perlakuan mitoginogenesis. Kontrol negatif1 berbeda nyata ($p<0,05$) dengan mitoginogenesis2 (atau inaktivasi dosis UV1 dengan diploidisasi pada 15 menit pasca fertilisasi). Data morfologi larva tersebut membuktikan bahwa morfologi larva kelompok kontrol negative berbeda sangat nyata

dengan kelompok perlakuan mitoginogenesis. Artinya bahwa protokol mitoginogenesis efektif menentukan, persentase abnormal larva ikan tawes perlakuan kontrol negative berbeda nyata dengan morfologi normal kelompok mitoginogenesis.

Hasil uji lanjut BNJ terhadap data persentase morfologi abnormal larva tawes menunjukkan bahwa perlakuan kontrol positif berbeda sangat nyata ($p<0,01$) dengan kontrol negatif1, kontrol negatif2, ginogenesis1, ginogenesis2, ginogenesis3, dan ginogenesis4. Artinya bahwa rerata morfologi larva perlakuan kontrol positif tidak sama dengan morfologi larva dengan semua perlakuan. Perlakuan kontrol negatif1 berbeda nyata ($p<0,05$) dengan perlakuan ginogenesis2. Perlakuan ginogenesis1 berbeda nyata ($p<0,05$) dengan perlakuan ginogenesis2. Perlakuan ginogenesis2 berbeda nyata ($p<0,05$) dengan perlakuan kontrol negatif1 dan ginogenesis1 (Gambar 3). Hasil ini, hasil analisis uji lanjut tersebut, membuktikan bahwa perlakuan mitoginogenesis penelitian ini efektif dari parameter morfologi larva.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tingkat prosentase kelangsungan hidup larva ikan tawes antar perlakuan tidak berbeda nyata ($p>0,05$). Artinya rerata perlakuan kontrol positif sama dengan perlakuan kontrol negatif1 (UV1'), kontrol negatif2 (UV 2'), ginogenesis1 (UV 1' HS 10'), ginogenesis2 (UV 1' HS 15'), ginogenesis3 (UV 2' HS 10'), ginogenesis4 (UV 2' HS 15').



Gambar 4. Rerata (\pm SD) persentase kelangsungan hidup benih penelitian ginogenesis ikan tawes (*Barbonymus gonionotus* Blkr.) menggunakan iradiasi UV dan kejut temperatur panas 40°C .

Hasil penelitian ini secara statistik terbukti efektif, artinya keseluruhan perlakuan dosis iradiasinya dan, pemberian kejut temperatur efektif walaupun tingkat efektivitasnya sangat rendah, karena data larva abnormal yang diperoleh rerata prosentase tertinggi yang diperoleh hanya 7,40% yaitu dari perlakuan ginogenesis2. Idealnya tentu efektivitasnya 100% yaitu sebagai bukti bahwa iradiasi sinar UV efektif merusak 100% materi genetiknya. Hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan ikan nila dimana larva abnormal tingginya juga hanya 5,8% (Karayucel, 2003). Pada sisi lain, hasil penelitian ini lebih rendah dibandingkan laporan penelitian Oktavia (2011) dan Sistina *et al.* (2011b) pada nilem hasil hasil morfologi larva abnormalnya 65%; pada

ikan selais morfologi ikan abnormalnya 45% (Alawi *et al.*, 2009); pada ikan *Rosy barb* yang 100% efektif (Kirankumar dan Pandian, 2004), dan pada ikan mas 82,7% (Bonger *et al.*, 1993). Rendahnya efektivitas dosis iradiasi ini bisa juga disebabkan karena lapisan milt yang diiradiasi tidak cukup tipis, spermatozoa yang tertumpuk di bawah pada cawan petri tidak teriradiasi, walaupun dalam penelitian ini sudah diusahakan setipis mungkin.

Kemungkinan lain, kejut temperatur panas 40°C menyebabkan 'cacat' (untuk membedakan dari istilah abnormal akibat perlakuan) dilihat secara morfologi. Argumentasi ini didukung oleh laporan penelitian Mukti (2005) dan Alawi *et al.* (2009) bahwa perlakuan kejut temperatur (panas atau dingin) menyebabkan abnormalitas pada ikan secara nyata ($p<0,05$). Dilaporkan bahwa makin lama kejut diberikan meningkatkan jumlah larva yang cacat atau abnormal (Alawi, *et al.*, 2009). Laporan Mukti (2005) bahwa kejut panas 40°C selama 1,5 menit menghasilkan larva cacat yang meningkat, pada penelitian ini memang hanya satu menit lama kejut yang diterapkan pada tawes.

Secara keseluruhan hasil perlakuan mitoginogenesis ikan tawes membuktikan efektivitas perlakuan berbagai dosis iradiasi UV dan kejut panas yang di berikan. Efektivitas iradiasi UV dalam menonaktifkan material genetik jantan ikan tawes dapat dilihat dari data derajat abnormalitas larva tawes hasil perlakuan mitoginogenesis ini. Dengan demikian hipotesis penelitian ini, yaitu dosis iradiasi $3966,96 \text{ J/m}^2$ efektif merusak material genetik spermatozoa ikan tawes diterima.

Simpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa empat perlakuan ginogenesis yang diujikan efektif menghasilkan menghasilkan larva ikan tawes abnormal untuk perlakuan kontrol negative dan normal untuk perlakuan ginogenesis sesuai yang diharapkan walaupun rendah persentasenya. Efektivitas perlakuan dibuktikan dari data morfologi larva abnormal pada perlakuan kontrol negatif dibandingkan morfologi larva normal mitoginogenesis maupun kontrol positif.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada LPPM UNSOED yang telah mendanai penelitian ini dan semua staf di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi Unsoed disampaikan terima kasih.

Daftar Referensi

- Alawi, H., Nuraini dan Sapriana. 2009. Induksi Triploidisasi Ikan Selais (*Kryptopterus lympok*) Menggunakan Kejutan Panas.

- Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 14(1): 37-47.
- Bongers ABJ., EH. Eding, dan CJJ. Richter. 1993. Androgenesis in Common Carp, *Cyprinus carpio L.* Dalam: Penman, D., Roongratri, N., dan McAndrew, B. (Eds.) *Genetics in Aquaculture and Fisheries Management*. AADCP Worksh.
- Cherfas, NB; G. Hulata; B. Gomelsky; N. Ben-Dom; & Y. Peretz. 1995. Chromosome set manipulation in the common carp *Cyprinus carpio L.* *Aquaculture* 129 : 217
- da Silva, FSD; RG. Moreira; CR. Orozco-Zapata; & AWS. Hilsdorf. 2007. Triploidy induction by cold shock in the South American catfish *Rhamdia quelen* (Siluriformes) (Quoy & Gaimard, 1824). *Aquaculture* 272S1 : S110-S114
- Gervai, J; S. Peter; A. Nagy; L. Horvath; & V. Csanyi. 1980. Induced triploidy in carp, *Cyprinus carpio L.* *J Fish Biol.* 17 : 667-671.
- Horvart, L & L. Orban. 1995. Genome and gene manipulation in the common carp. *Aquaculture* 129: 157-181.
- Karayucel, I. and S. Karayucel. 2003. Optimisation of UV Treatment Duration to Induce Haploid Androgenesis in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Truk J Vet Anim Sci.* 27 : 401-407
- Kirankumar and Pandian. 2004. Interspecific Androgenesis Restoration of Rosy barb using Cadaveric Sperm. *Genome*. 47 : 66-73.
- Linhart, O; V. Slechova; P. Kvasnicka; P. Rab; & I. Prikryl. 1989. Chromosome manipulation in tench (*Tinca tinca L.*) and carp (*Cyprinus carpio L.*) in Czechoslovakia. *RIFCH* 18 : 53-60
- Linhart, O; M. Flajshans; & P. Kvasnicka. 1991. Induced triploidy in the common carp (*Cyprinus carpio L.*) : a comparation of two methods. *Aquat.Living Resour.* 4 : 139-145
- Nagy, A. 1987. Genetic manipulations performed on warm water fish. In: Proceedings, World Symposium on Selection, hybridization, and Genetic Engineering in Aquaculture, vol II Berlin, : 163-174.
- Oktavia, S. 2011. Fertilitas Telur Ikan Tawes (*Barbomyrus gonionatus Blkr.*) yang Diiiradiasi Sinar Ultra Violet Berbagai Dosis. Skripsi. Fakultas Biologi, Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto. (Tidak dipublikasikan)
- Purwaganda, D dan Y. Sistina. 1997. Embryogenesis Manipulation of Tawes Fish (*Puntius javanicus*), a Gynogenesis Protokol, Proceeding, The Australian Society for Reproductive Biology (ASRB) 28th conference held in Canberra. 204-214.
- Raharjo, MF. 2007. Lampu merah biodiversitas ikan di perairan tawar Indonesia. Makalah Kunci Semnaskan UGM ke-4 Juli 2007, Jogyakarta.
- Sistina, Y; I. Setiadi; and R. Widiastuti. 2000. Induced triploidy by heat shock in nilem (*Osteocillus hasselti C.V.*) fish. Proceeding, Australian Society for Reproductive Biology (ASRB) 31th conference held in Canberra Australia.
- Sistina, Y., Oktavia, T. Windari dan S. Rukayah. 2011b. Genome Inactivated Affects Quality Of Egg's And Offspring Shark Minnow Fish (*Osteocillus hasselti Valenciennes 1842*). Proceeding Regional: Advances In Tropical Genomics, Conservation and Sustainable Utilization of Tropical Biodiversity. Bogor.
- Sistina, Y. 2012. Genome Manipulation for Optimum Utilization and Conservation : Shark Minnow fish (*Osteochilus hasselti Valenciennes, 1842*) model. Proceeding International Seminar Indonesian Ichtiological Society, July , Makasar.
- Sistina, Y dan I. Sulistyo. 2013. Bioteknologi reproduksi Cyprinidae dengan manipulasi genom hormone untuk optimum utilization dan konservasi. Prosiding Seminar Nasional Pangan dan Gizi di Universitas Jendral Soedirman, November 2013. Purwokerto.
- Wu, C; Y. Ye; & R. Chen. 1986. Genome manipulation in carp (*Cyprinus carpio L.*). *Aquaculture* 54 : 57-61.