

Poliploid pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) dengan Induksi Kejutan Panas Melalui Metode Perhitungan Jumlah Nukleolus

(POLYPLOIDY OF EURASIAN CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.) WITH
HEAT SHOCK INDUCTION THROUGH NUCLEOLUS COUNT METHOD)

Lisa Savitri¹, Arif Budi Setiawan², Alfred Rinaldo Kasimo¹,
Syntia Tanu Juwita¹, Ester Lianawati Antoro¹, Ida Septika Wulansari¹

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis,
Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri,
Jln Selomangleng No. 1, Pojok, Mojoroto,
Kediri, Jawa Timur, Indonesia 64115

²Jurusan Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Negeri Malang,
Jln Semarang No. 5 Lowokwaru, Malang,
Jawa Timur, Indonesia 65145
Email: lisasavitri@unik-kediri.ac.id

ABSTRACT

Eurasian carp (*Cyprinus carpio* L.) is a widely cultivated Indonesian fishery commodity. The increasing demand for carp can be used as an opportunity to increase the production and income of farmers and fulfill the target of increasing the nutrition of the residents. The heat shock method is one method that is often used because the process is simpler than the others. Polyploidy analysis was carried out by counting the number of nucleoli in fish resulting from polyploidization. The results of the ploidy analysis of carp in this study showed that there were variations in the number (frequency) of nucleoli per cell in diploid, triploid, and tetraploid fish. The body size of tetraploid fish is larger than that of triploid fish. But triploid fish have a larger body size than diploid fish. Tetraploid goldfish have a larger size and nucleus and cell contents when compared to triploids, even more so with diploids. The more the number of cells causes the volume of cells in the body to increase, so that the body size or growth of the tetraploid carp is higher. The growth of organisms is also a process of multiplying the number of cells and increasing the volume of cells.

Keywords: carp (*Cyprinus carpio* L.), polyploidy, nucleoli organizer regions (NOR)

ABSTRAK

Ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) merupakan komoditas perikanan Indonesia yang banyak dibudidayakan. Permintaan ikan mas yang semakin banyak bisa dijadikan peluang untuk menaikkan produksi serta pendapatan peternak serta pemenuhan target peningkatan gizi warga. Metode kejutan suhu panas menjadi salah satu metode yang seringkali dilakukan karena prosesnya yang lebih sederhana dibanding yang lain. Analisis poliploid dilakukan melalui penghitungan jumlah nukleolus di ikan hasil perlakuan poliploidisasi. Hasil analisis ploidisasi ikan mas pada penelitian ini memperlihatkan adanya variasi jumlah (frekuensi) nukleolus per sel yang ada pada ikan diploid, triploid, dan tetraploid. Ukuran tubuh ikan tetraploid lebih besar dari ikan triploid. Tetapi ikan triploid memiliki ukuran tubuh lebih besar dari ikan diploid. Ikan mas tetraploid memiliki ukuran dan isi nukleus serta sel lebih besar bila dibandingkan dengan triploid, terlebih lagi dengan 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.

Kata kunci: ikan mas (*Cyprinus carpio* L.), poliploid, *nucleoli organizer regions* (NOR)

PENDAHULUAN

Ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) merupakan komoditas perikanan Indonesia yang banyak dibudidayakan pada daerah Sumatera, Jawa, Nusa Tenggara serta Kalimantan, selain itu ikan ini sangat digemari oleh warga sebagai akibatnya permintaan konsumen terus meningkat setiap tahun (Rimalia, 2016). Produksi ikan mas terus mengalami peningkatan dan kenaikannya mencapai 8,92% setiap tahunnya pada tahun 2015 sampai 2019. Produksi ikan mas pada tahun 2019 mencapai 785.800 ton (Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, 2019).

Permintaan ikan mas yang semakin banyak bisa dijadikan peluang untuk menaikkan produksi serta pendapatan pengusaha perikanan serta pemenuhan target peningkatan gizi warga masyarakat (Mustamin *et al.*, 2018). Menurut Saprianto (2010) rasa daging ikan mas yang enak serta kandungan protein yang relatif tinggi merupakan salah satu faktor yang meningkatkan permintaan jumlah ikan mas di pasaran. Perkembangan budidaya ikan air tawar yang baik tidak terlepas dari peranan kegiatan pembenihan ikan. Kegiatan pembenihan ikan ditujukan untuk mengadakan benih secara berkesinambungan dalam memenuhi permintaan pasar, sehingga dapat menghasilkan keuntungan dari segi ekonomi (Ramadhan dan Sari, 2019).

Poliploid merupakan salah satu teknik yang memanfaatkan prinsip rekayasa genetik (Ruiz *et al.*, 2020). Poliploid artinya teknik menggandakan kromosom dengan memakai teknik tertentu (Zhou dan Gui, 2017). Variasi dalam jumlah kromosom poliploid awam dijumpai pada alam. Penyebab poliploid pada alam bisa terjadi secara alami ataupun menggunakan campur tangan manusia. Faktor pencemaran air, radiasi sinar ultraviolet, hormon yang berlebihan merupakan beberapa hal yang dapat menimbulkan masalah poliploid secara alami pada kromosom. Selain itu, bioklimatik dan ekogeografis seperti misalnya garis lintang, garis bujur, dan ketinggian daerah dapat pula memengaruhi poliploid (Rejlová *et al.*, 2019), untuk itu dipandang perlu dilakukan penelitian poliploid terhadap ikan mas (*C. carpio* L.) dengan induksi kejutan panas melalui metode perhitungan jumlah nukleolus. Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap perbedaan frekuensi jumlah nukleolus pada tingkat ploidi ikan mas (*C. carpio* L.)

menggunakan metode penghitungan jumlah nukleolus.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif untuk mengungkap perbedaan frekuensi jumlah nukleolus pada tingkat ploidi ikan mas (*C. carpio* L.) menggunakan metode penghitungan jumlah nukleolus. Penelitian dilakukan di dua tempat, yaitu di Balai Benih Ikan Kepanjen, Malang, Jawa Timur untuk melakukan pemijahan, fertilisasi, dan poliploidisasi. Selanjutnya proses pembuatan larutan, fiksasi, pencacahan, pengamatan, serta perhitungan nukleolus dilakukan di Laboratorium Genetika Ruang 310, Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Malang. Yang digunakan pada penelitian ini adalah seluruh bagian tubuh ikan mas (*C. carpio* L.), sedangkan sampelnya adalah sirip ekor (kaudal) ikan mas (*C. carpio* L.).

Tahap Persiapan Pemijahan, Fertilisasi, Pemberian Kejutan Panas, dan Peme-liharaan

Pertama-tama dilakukan pemilihan induk ikan mas (*C. carpio* L.) dan menyiapkan kolam untuk pemijahan. Ikan mas dilepaskan ke dalam kolam pemijahan, setelah terdapat tanda-tanda akan kawin, ikan diangkat dari kolam untuk diambil telur dan spermanya. Telur ikan diambil dari induk betina dengan cara *stripping*, dan diletakkan dalam mangkok, kemudian ditambahkan larutan fisiologi ringer agar telur tidak mati.

Air mani/semén diambil dari induk jantan dengan cara *stripping* dan kemudian disedot dengan menggunakan *spot/syringe*. Semén/sperma kemudian diencerkan dengan larutan garam fisiologis dengan perbandingan 9 : 1 (larutan fisiologis sperma). Campuran semén dan larutan garam fisiologis sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam mangkok yang berisi telur ikan mas (fertilisasi) dan diaduk menggunakan pengaduk berupa bulu ayam yang bersih selama satu menit dan kemudian ditambahkan dengan larutan ringer. Telur ikan mas yang telah difertilisasi kemudian ditebar pada saringan penetasan.

Ikan diploid diperoleh dengan fertilisasi normal tanpa pemberian kejutan panas. Pembuatan ikan triploid dilakukan dengan

memberi kejutan panas selama tiga menit setelah difertilisasi dengan suhu 40°C selama 1,5 menit. Pembentukan ikan tetraploid dilakukan dengan memberi kejutan panas selama 29 menit setelah difertilisasi dengan suhu 40°C selama 1,5 menit. Setelah ikan menetas, ikan dipelihara dalam aquarium dan diberi pakan ikan yang mengandung kuning telur ayam.

Pembuatan Preparat dan Pengamatan

Pembuatan Larutan Siap Pakai.

Larutan A: dibuat dengan mencampur larutan AgNO₃ ditambahkan dengan air suling/destilasi dengan perbandingan 1:2. Larutan B: dibuat dengan melarutkan gelatin sebanyak 22 g dalam 50 mL air destilasi hangat (suhu 60-70°C) dan kemudian ditambahkan 50 mL gliserin jenuh. Larutan *carnoy* dibuat dengan mencampur asam asetat glasial ditambah alkohol absolut dan kloroform dengan perbandingan 1: 1: 1. Larutan asam asetat 50% dibuat dengan mencampur asam asetat glasial sebanyak 50 mL ke dalam aquades sampai volume campuran tersebut menjadi 100 mL.

Pembuatan Preparat. Sirip kaudal (ekor) ikan dipotong dan difiksasi dalam larutan *carnoy* selama 30 menit, larutan tersebut diganti dengan larutan yang sama dan sirip ikan direndam kembali selama selama 24 jam. Potongan sirip setelah 30 jam direndam diletakkan di atas gelas arloji, dan mencacahnya dengan scalpel atau silet tajam sambil ditetesi dengan asam asetat 50 % sampai terbentuk suspensi sel. Pencacahan dilakukan sekitar 30 menit. Suspensi-suspensi sel tersebut ditetaskan menggunakan pipet tetes pada kaca objek yang telah direndam dalam alkohol absolut. Setelah suspensi ditetaskan, suspensi tersebut diisap kembali sehingga terbentuk cincing/*ring* dengan diameter sekitar 1 cm dan jumlah yang dikehendaki. Suspensi tersebut dikeringkan dan setelah kering kemudian ditetesi dengan larutan A (2 tetes) dilanjutkan dengan meneteskan larutan B (yang sudah dicairkan dengan air panas) dan meratakannya dengan tusuk gigi bersih.

Preparat diletakkan pada *box staining* yang suhunya dipertahankan 40-50°C minimal selama 20 menit. Preparat kemudian dikeluarkan dari *box staining* dan dibilas dengan air keran, kemudian dikeringkan.

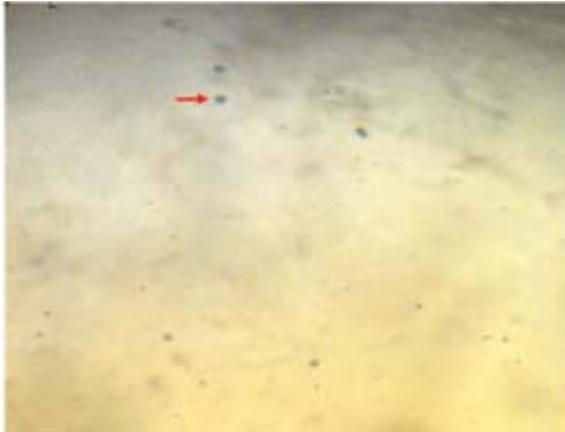
Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data yang diperoleh dijumlah dan dihitung reratanya, kemudian

dipersentasekan. Untuk memudahkan dalam menganalisis, maka diubah menjadi bentuk grafik, sedangkan untuk mengetahui hubungan antara poliploidi ikan mas (*C. carpio* L.) dengan jumlah maksimal nukleolus pada setiap perlakuan digunakan perhitungan korelasi secara statistika. Untuk mengetahui perbedaan frekuensi pada tingkat ploidi ikan mas digunakan analisis varians tunggal. Data frekuensi yang berupa persentase ditransformasi terlebih dahulu dengan menggunakan transformasi arc sin. Apabila dari hasil perhitungan analisis varians tunggal didapatkan nilai F hitung lebih besar daripada F tabel, maka dilanjutkan dengan uji lanjut yakni uji beda nyata terkecil (BNT). Selanjutnya diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000 kali.

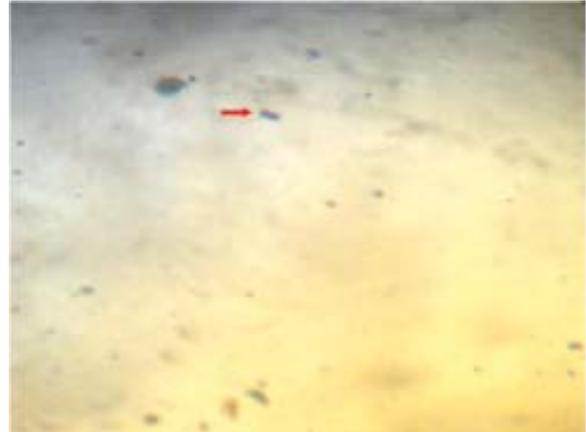
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan analisis data dari tiap *ring* tingkat ploidi ikan terdapat perbedaan frekuensi jumlah nukleolus. Variasi nukleolus pada tiap sel yang diamati menunjukkan keragaman tingkat ploidi. Pada ikan diploid ditemukan nukleolus tunggal/ haploid (n) (Gambar 1) dan nukleolus ganda/ diploid (2n) (Gambar 2). Namun, jumlah lebih banyak di antara keduanya adalah nukleolus tunggal/ haploid (n). Pada ikan triploid ditemukan nukleolus tunggal/ haploid (n), nukleolus ganda/ diploid (2n), dan nukleolus triploid (3n) (Gambar 3). Namun, jumlah lebih banyak di antara ketiganya adalah nukleolus tunggal/ haploid (n). Pada ikan tetraploid ditemukan nukleolus tunggal/ haploid (n), nukleolus ganda/ diploid (2n), nukleolus triploid (3n), dan nukleolus tetraploid (4n) (Gambar 4). Tetapi, yang menunjukkan jumlah lebih banyak di antara keempatnya adalah nukleolus tunggal/ haploid (n).

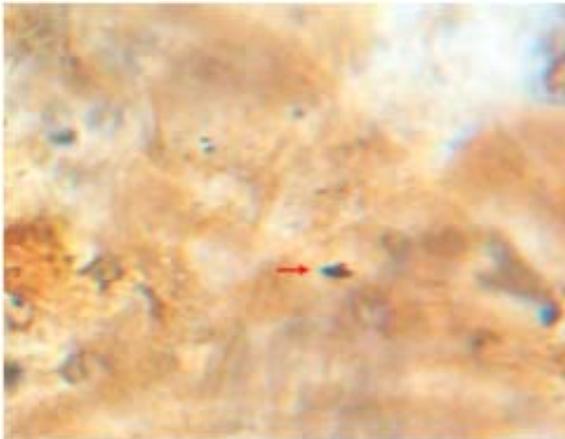
Poliploidisasi terjadi bila ada peningkatan set kromosom yang ditimbulkan oleh warisan berasal set tambahan kromosom (Fox *et al.*, 2020; Ruiz *et al.*, 2020). Poliploidi adalah salah satu teknik bioteknologi terbaru yang memanfaatkan prinsip rekayasa genetik (Marsela *et al.*, 2018; Doyle, 2019). Poliploidi pada ikan mas dipengaruhi oleh tipe fertilisasi. Tipe fertilisasi eksternal pada ikan mas ini menjadi salah satu alasan mengapa ikan seringkali dilakukan manipulasi poliploidi. Manipulasi poliploidi pada ikan mas dilakukan untuk mendapatkan jenis yang mempunyai lebih



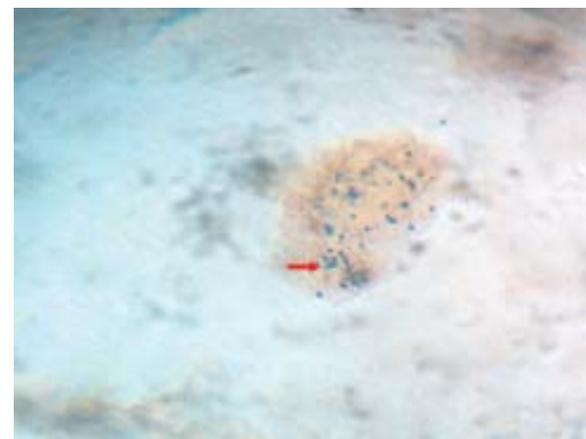
Gambar 1. Nukleolus ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) haploid (n) pada pemeriksaan mikroskopis (1000×)



Gambar 2. Nukleolus ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) diploid (2n) pada pemeriksaan mikroskopis (1000×)



Gambar 3. Nukleolus ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) triploid (3n) pada pemeriksaan mikroskopis (1000×)



Gambar 4. Nukleolus ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) tetraploid (4n) pada pemeriksaan mikroskopis (1000×)

dari dua set kromosom (2n), berdasarkan pertimbangan pemuliaan terhadap ikan mas untuk memperbaiki mutu genetik guna memperoleh yang lebih baik yang berasal dari jenis atau organisme sebelumnya. Manipulasi poliploid membentuk ikan yang dapat tumbuh lebih pesat dibandingkan individu diploid dan haploid. Individu triploid mempunyai sifat steril serta individu tetraploid bersifat fertil.

Metode kejut suhu panas serta metode kejut suhu dingin menjadi metode yang seringkali dilakukan oleh para peneliti karena prosesnya yang lebih sederhana dibanding metode yang lain (Christopher *et al.*, 2020; Mustami, 2017; Susilo *et al.*, 2018). Untuk mengetahui keberhasilan teknik ini, maka dilakukan

analisis. Analisis poliploid dilakukan melalui penghitungan jumlah nukleolus pada ikan hasil perlakuan poliploidisasi (Daryanto *et al.*, 2019; Morais *et al.*, 2018).

Hasil analisis ploidisasi ikan mas pada penelitian ini memperlihatkan adanya variasi jumlah (frekuensi) nukleolus per sel yang ada pada ikan diploid, triploid, dan tetraploid. Variasi jumlah nukleolus yang ditemukan ada hubungannya dengan kemampuan pewarna perak nitrat (AgNO_3) yang hanya mewarnai nukleoli dalam hal ini *Nucleoli Organizer Regions* (NORs,) yang sedang aktif melakukan sintesis ribosom dan atau protein sesaat sebelum dilakukan fiksasi. Unsur Ag (perak) akan berikatan pada protein NOR, yakni RNA

polymerase I sehingga menimbulkan warna coklat sampai kehitaman. Variasi yang terjadi pada jumlah maksimum kemungkinan disebabkan fusi dan fisi dari bentuk nukleolus tunggal atau tiga nukleoli, karena beberapa proses fisiologis yang terjadi selama siklus sel dan alasan menggunakan metode penghitungan melalui nukleolus yaitu saat melakukan pewarnaan yang terwarnai adalah nukleolus hasil sintesis NOR.

Nucleoli Organizer Regions/NORs merupakan daerah yang terdapat gen-gen yang mengatur rRNA dan memberikan bentuk pada nukleolus. Satu NOR mempunyai kemampuan untuk membentuk tidak lebih dari satu nukleolus, sehingga sel diploid yang memiliki sepasang NOR akan memiliki kemampuan membentuk maksimal dua nukleolus, sel triploid dengan tiga NOR akan membentuk maksimal tiga nukleolus, dan sel tetraploid dengan dua pasang NOR membentuk maksimal empat nukleolus

Ukuran tubuh ikan tetraploid lebih besar dari ikan triploid. Tetapi, ikan triploid memiliki ukuran tubuh lebih besar dari ikan diploid. Ikan mas tetraploid memiliki ukuran dan isi nukleus serta sel lebih besar bila dibandingkan dengan triploid, terlebih lagi dengan diploid. Semakin banyak jumlah sel dapat 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.

Kelebihan hewan poliploid juga tampak pada keuntungan spesifik karena memiliki tambahan salinan kode genetik. Pada ikan diploid, terjadi mutasi acak di alel yang berperan krusial pada kelangsungan hayati suatu organisme dan memiliki pengaruh menghambat organisme tertentu. Tetapi, salinan tambahan alel pada ikan poliploid dapat mengurangi kemungkinan pengaruh negatif. Dalam hal ini dapat membatasi gen untuk tidak menyimpang di samping kegunaannya untuk membentuk ekspresi diferensial organisme selama pengembangannya (Manan *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil pengamatan selama proses pemeliharaan ikan, diketahui bahwa ikan triploid dan ikan tetraploid lebih rentan mati. Hal tersebut karena pembelahan sel yang terjadi di dalam tubuh ikan poliploid seperti triploid dan tetraploid berlangsung sangat tinggi dan hal ini diduga menyebabkan proses metabolisme di

dalam tubuh ikan juga berjalan lebih cepat, sehingga sangat diperlukan jumlah atau kadar oksigen terlarut dalam air yang cukup besar. Apabila kemampuan menyerap oksigen ikan terlalu rendah, maka kadar oksigen yang diserap jauh tidak seimbang dengan kadar oksigen terlarut yang dibutuhkan untuk memperlancar proses metabolisme tubuhnya. Faktor lain yang ikut berperan yaitu adanya persaingan antar individu untuk mengkonsumsi oksigen terlarut dalam air media pemeliharaan yang menyebabkan terbatasnya ketersediaan oksigen terlarut. Akibatnya, kemampuan ikan-ikan poliploid (triploid dan tetraploid) untuk bertahan hidup sangat rendah.

Bila dicermati dari segi perkembangan ilmu genetika, poliploidi menjadi salah satu bukti berkembangnya ilmu genetika. Poliploidi menjadi salah satu mekanisme kunci evolusi serta spesiasi genom. Banyak aspek poliploidi menjadi instrumen serta alat dalam pengembangan ilmu genetika molekuler dan revolusi genomik (Doyle dan Coate, 2019).

SIMPULAN

Terdapat perbedaan frekuensi jumlah nukleolus pada tingkat ploidi ikan mas (*C. carpio* L.) hasil poliploidisasi dengan induksi kejutan suhu panas. Pada tingkat ploidi yang berbeda terdapat frekuensi jumlah nukleolus yang bervariasi. Satu nukleolus menempati urutan pertama atau frekuensi tertinggi daripada nukleolus yang lain. Ikan diploid jumlah maksimum nukleolus yang ditemukan adalah dua. Pada ikan triploid jumlah maksimum nukleolus adalah tiga, dan pada ikan tetraploid jumlah maksimum nukleolus yang ditemukan adalah empat.

SARAN

Melakukan pengamatan mikroskopis untuk menentukan frekuensi jumlah nukleolus pada tingkat ploidi ikan mas (*C. carpio* L.), pengamat harus lebih teliti dalam memperhatikan nukleolus ikan tersebut. Akuarium ikan dengan perlakuan yang berbeda sebaiknya dipisahkan agar tidak tercampur, karena jika akuarium hanya diberi sekat maka masih ada kemungkinan ikan tercampur, Sehingga menghambat pengambilan data.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Benih Ikan Kepanjen, Malang dan Laboratorium Genetika Ruang 310, Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang atas kesempatan dan fasilitas penelitian yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Christopher JG, Siva R, Ezilrani P. 2020. The Effect of Heat Shock and Timing on the Induction of Tetraploidy in Catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Journal of Applied Aquaculture* 32(2): 186–192. <https://doi.org/10.1080/10454438.2019.1707144>
- Daryanto MS, Carman O, Soelistyowati DTS, Rahman R. 2019. Ploidy Level Determination in Genetically Modified Polyploid Striped Catfish *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878 Based on the Number of Nucleoli Per Cell. *Jurnal Iktiologi Indonesia* 19(1): 43–52. <https://doi.org/10.32491/jii.v19i1.405>
- Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. (2019). *Rencana Strategi (RENSTRA) Perikanan Budidaya 2015-2019*. Peraturan Jakarta. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya.
- Doyle JJ, Coate JE. 2019. Polyploidy, the Nucleotype, and Novelty: The Impact of Genome Doubling on the Biology of the Cell. *International Journal of Plant Sciences* 180(1): 1–52. <https://doi.org/10.1086/700636>
- Fox DT, Soltis DE, Soltis PS, Ashman TL, Van de Peer Y. 2020. Polyploidy: A Biological Force from Cells to Ecosystems. *Trends in Cell Biology* 30(9): 688–694. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.06.006>
- Manan H, Noor Hidayati AB, Lyana NA, Amin-Safwan A, Ma H, Kasan NA, Ikhwanuddin M. 2020. A Review of Gynogenesis Manipulation in Aquatic Animals. *Aquaculture and Fisheries* 7(1): 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2020.11.006>
- Marsela S, Ati VM, Mauboy RS. 2018. Hatching Rate and Abnormality of Sangkuriang Catfish Larvae (*Clarias gariepinus*) which in the Induction. *Biotropikal Sains* 15(3): 1–13.
- Morais LC, Souza=Sobrinho F, Techio VH. 2018. Comparative Microsporogenesis between Diploid and Tetraploid Plants of *Brachiaria ruziziensis* and Their Progenies. *South African Journal of Botany* 119: 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.09.018>
- Mustami MK. 2017. The Formation of Polyploidy on *Cyprinus carpio* Linn Punten Race by Heat Shocking Temperature. *Journal of Aquaculture Research & Development* 8(8): 8–11. <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000503>
- Mustamin M, Wahidah, Dahlia. 2018. Teknik Pemijahan Ikan Mas di Balai Benih Ikan Mas (BBI) Pangkajene, Kab. Sidenreng Rappang, Sulawesi Selatan. *Prosiding Seminar Nasional 2018, 1(April), 78–83*.
- Ramadhan R, Sari LA. 2019. Teknik Pembenihan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) secara Alami di Unit Pelaksana Teknis Pengembangan Budidaya Air Tawar (UPTPBAT) Umbulan, Pasuruan. *Journal of Aquaculture and Fish Health* 7(3): 124-132.
- Rejlová L, Chrtek J, Trávníček P, Luèanová M, Vít P, Urfus T. 2019. Polyploid Evolution: The Ultimate Way to Grasp the Nettle. *PLoS ONE* 14(7): 1–24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218389>
- Rimalia A. 2016. Variasi Pemberian Probiotik dalam Pakan terhadap Kelangsungan Hidup Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). *Media Sains* 9(1): 85–91.
- Ruiz M, Oustric J, Santini J, Morillon R. 2020. Synthetic Polyploidy in Grafted Crops. *Frontiers in Plant Science*, 11: 1-19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.540894>
- Saprianto C. 2010. *Usaha Ikan Konsumsi Lahan 100 m²*. Cetakan Pertama. Jakarta. Penebar Swadaya.
- Susilo RH, Farikhah F, Rahim AR. 2018. Analisis Jumlah Kromosom pada Triploidisasi Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn) Ras Punten dengan Lama Perendaman Kejut Suhu Panas yang Berbeda. *Jurnal Perikanan Pantura*, 1(1): 59-64. <https://doi.org/10.30587/jpp.v1i1.295>
- Zhou L, Gui J. 2017. Natural and Artificial Polyploids in Aquaculture. *Aquaculture and Fisheries*, 2: 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2017.04.003>