

Kajian Poliploidi Ikan Sepat (*Trichogaster trichopterus*) pada Tiga Ketinggian Tempat Berbeda di Daerah Banyuwangi, Malang, dan Batu dengan Metode Penghitungan Nukleolus

Maisuna Kundariati^{1*}, Rosi Cahyaning Wulan¹, dan Ahmad Kamal Sudrajat¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang

*E-mail: maisunakundariati@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tiga tempat ketinggian yang berbeda di daerah Banyuwangi, Malang, dan Batu terhadap tingkat poliploidi ikan *Trichogaster trichopterus*. Poliploidi yang diamati adalah 3n dan 4n. Metode yang digunakan adalah analisis penghitungan nukleolus menggunakan teknik pewarnaan perak nitrat (AgNO₃). Jaringan yang digunakan untuk menghitung jumlah nukleolus adalah sirip ekor ikan. Sampel menggunakan 30 ikan *Trichogaster trichopterus* di tiga tempat berbeda dengan 10 ikan berbeda dari Banyuwangi (99 mdpl), 10 ikan dari Malang (982 mdpl), dan 10 ikan dari Batu (1668 mdpl). Analisis data menggunakan uji Kruskal Wallis dan untuk mengetahui hubungan di setiap ketinggian digunakan uji Mann Whitney. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ketinggian tempat berpengaruh terhadap tingkat poliploidi *Trichogaster trichopterus*. Ketinggian rendah tidak berbeda secara signifikan dari ketinggian sedang, tetapi ketinggian sedang secara signifikan berbeda dari ketinggian tinggi.

Kata Kunci: Ketinggian, Poliploidi, *Trichogaster trichopterus*.

1. PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keberagaman jenis ikan yang tersebar dari Sabang sampai Merauke (World Bank, 1998). Keanekaragaman ikan air tawar di Indonesia adalah yang tertinggi kedua setelah Brazil, yaitu sebanyak 1300 jenis. Dari 87 jenis ikan Indonesia yang terancam punah, diketahui 66 spesies (75%) diantaranya adalah ikan air tawar (Froese & Pauly, 2000). Di Sulawesi, telah tercatat ikan air tawar sebanyak 62 jenis dan diantaranya merupakan jenis endemik (Kottelat, Whitten, Kartikasari, & Wirjoatmodjo, 1993).

Ikan sepat (*Trichogaster trichopterus*) termasuk *family* Anabantidae dengan nama umum “three spot goramy” karena tubuhnya terdapat dua bintik hitam dan satu mata yang menjadi 3 bintik hitam (Murjani, 2010). Mendiami perairan tawar Malaysia, Birma, Indonesia, dan perairan bersuhu 20-28 °C (Murjani, 2010). Ikan untuk dapat hidup, tumbuh dan berkembang biak dengan baik memerlukan media yang sesuai dengan kondisi fisiologisnya, tidak terkecuali dengan ikan sepat rawa yang hidup, tumbuh dan berkembang biak pada berbagai jenis perairan rawa (Murjani, 2010).

Poliploidi merupakan organisme yang memiliki satu atau lebih penambahan perangkat kromosom (Thorgaard, 1983). Poliploidisasi secara alami terjadi akibat pencemaran perairan, radisasi sinar ultraviolet ataupun akibat hormon berlebihan, sehingga menyebabkan kasus nondisjungsi pada kromosom (Rottmann, Shireman, & Chapman, 1991). Selain itu, ketinggian tempat juga mempengaruhi poliploidi (Diallo, 2015; Ramsey & Ramsey, 2014; Xie-Kui, Cheng-Qi, Zhang, Chen, & Liu, 2008) *Silver staining* (AgNO₃) merupakan metode sitogenetik yang umum digunakan untuk mempelajari jumlah, ukuran dan distribusi dari silver nucleolar organizer regions (AgNORs) saat metafase atau nukleoli pada interfase (Kim, Lee, & Rayburn, 2015).

Dengan prosedur pewarnaan perak, kita dapat mempelajari variasi maksimum pada AgNOR saat metafase dan nukleoli saat interfase (Kim et al., 2015).

Menghitung jumlah nukleolus dapat digunakan untuk memperkirakan jumlah set kromosom sehingga tingkat ploidi dapat diketahui (Phillips, Zajicek, Ihssen, & Johnson, 1986). Jaringan apapun bisa digunakan dalam pembuatan preparat tanpa harus membunuh ikan yang akan di analisis (Risnandar, 2001). Preparat dapat dibuat dengan jaringan seperti sirip, ginjal ataupun gonad. Diantara jaringan-jaringan tersebut yang memberikan hasil terbaik adalah insang, penggunaan sirip kaudal ikan dikarenakan sirip kaudal memiliki jumlah nukleolus yang seimbang antara 1 nukleolus dan 2 nukleolus (Carman, Oshiro, & Takashima, 1991). Selain itu penggunaan sirip kaudal ikan juga dikarenakan nukleolus dapat dilihat pada sel interfase dari keping darah atau sirip dan insang, serta daya regenerasi sirip kaudal ikan yang tinggi akan berbanding lurus dengan aktivitas metabolisme sel yang tinggi, selain itu penggunaan sirip kaudal ikan karena mudah dicacah.

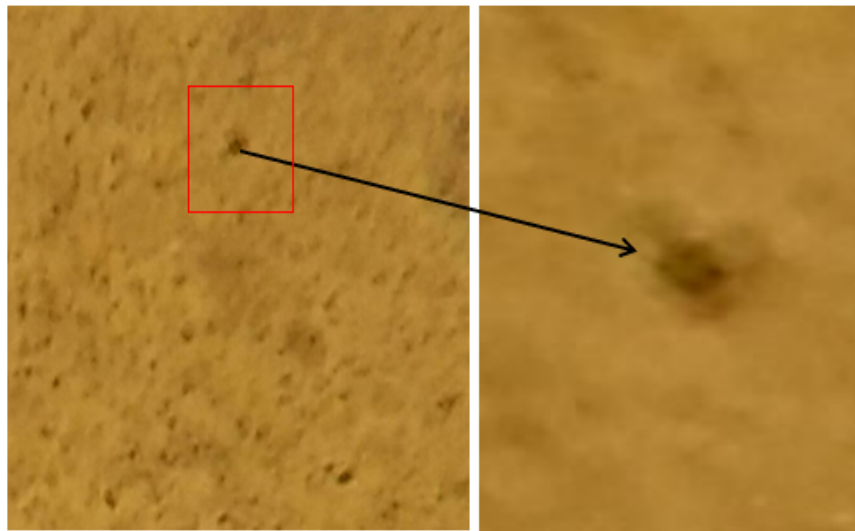
Penelitian serupa telah dilakukan oleh beberapa peneliti, Schinkel et al. (2016) meneliti tumbuhan pada pegunungan alpine, Wei, Ree, Sundue, & Zhang (2018) meneliti pada tumbuhan Athyriaceae, Tomasello (2014) meneliti pada tumbuhan Leucantheropsidinae, Paule, Kolář, & Dobeš (2015) meneliti pada spesies *Potentilla crantzii*, Xie-Kui et al. (2008) meneliti pada tumbuhan *Allium przewalskianum* Regel. (Liliaceae), Diallo, (2015) pada spesies *Acacia senegal* (L.), Soto-Trejo, Palomino, Villaseñor, & Crawford (2013) pada tumbuhan Asteraceae, dan Cires, Cuesta, Vargas, & Prieto (2012) pada tumbuhan ranunculaceae. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji poliploidi ikan sepat (*Trichogaster trichopterus*) pada tiga ketinggian tempat berbeda di daerah Banyuwangi, Malang, dan Batu dengan metode penghitungan nucleolus.

2. METODOLOGI

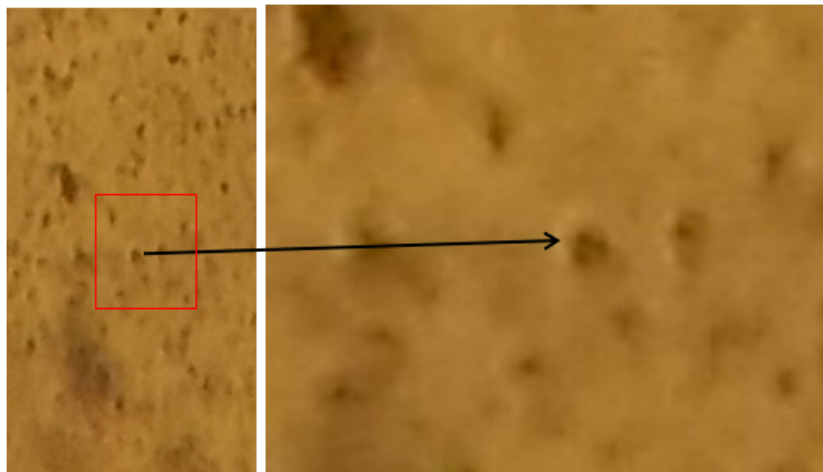
Penelitian dilakukan mulai bulan Maret sampai Mei 2018 di Gedung Biologi O5 ruang 310 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Malang. Populasi dalam penelitian ini adalah ikan sepat yang berada pada 3 ketinggian berbeda (rendah, sedang, dan tinggi). Sampel penelitian ini adalah ikan sepat yang berasal dari Bumiaji, Kota Batu (Tinggi), Ngantang, Kabupaten Malang (sedang), dan Gambiran, Kabupaten Banyuwangi (Rendah). Penelitian ini merupakan penelitian *ex post facto* yang bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh ketinggian tempat terhadap jumlah ploidi dan perbedaan frekuensi jumlah nukleolus dari masing-masing ploidi alami ikan sepat (*Trichogaster trichopterus*). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah perhitungan jumlah nukleolus. Ploidi dihitung dengan menggunakan sirip ekor ikan sepat sebanyak 10 kali ulangan. Pengamatan jumlah nukleolus dilakukan pada 3 bidang pandang dari 2 range. Pengamatan nukleolus pada penelitian ini meliputi ploidi n, 2n, 3n, 4n pada sirip ekor ikan sepat dari daerah Banyuwangi, Malang, Batu. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS 23.0. Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif kuantitatif-kualitatif dari setiap daerah pengambilan sampel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil proses pencacahan sirip kaudal ikan dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Hasil Proses Pencacahan yang Menunjukkan Tetraploid (4n)



Gambar 2. Hasil Proses Pencacahan yang Menunjukkan Triploid (3n)

Berdasarkan hasil penelitian pada penghitungan nukleolus dari tiga daerah didapatkan hasil penghitungan seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Nukleolus pada 3 bidang pandang

Ketinggian/Ploidi	3n	4n
Rendah	3,47	0,58
Sedang	7,28	0,88
Tinggi	14,63	4,30

Analisis Triploid

Data yang diperoleh dilakukan analisis menggunakan SPSS 23 untuk menguji normalitas data pada ploidi triploid. Berikut merupakan hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas data triploid

		Unstandardized Residual
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	6,60665277
Most Extreme Differences	Absolute	,170
	Positive	,170
	Negative	-,084
Test Statistic		,170
Asymp. Sig. (2-tailed)		,027 ^c

Berdasarkan Hasil tes di atas, nilai signifikansi sebesar 0,002, nilai tersebut lebih kecil dari 0,05, sehingga dapat disimpulkan data yang diuji tidak terdistribusi normal. Oleh karena hasil data yang diuji tidak terdistribusi normal, maka analisis dilakukan dengan analisis non parametrik menggunakan Kruskal Wallis test. Hasil Kruskal Wallis test ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Kruskal Wallis

	Rerata
Chi-Square	12,525
df	2
Asymp. Sig.	,002

Nilai P Value sebesar 0,002 di mana kurang dari batas kritis 0,05 yang berarti menerima H_1 atau ketinggian memberikan pengaruh terhadap triploid (3n). Selanjutnya dilakukan uji Mann Whitney untuk mengetahui hubungan pada setiap ketinggian. Berikut adalah tabel uji Mann Whitney untuk mengetahui hubungan pada setiap ketinggian.

a. Ketinggian rendah dan sedang

Hasil uji Mann Whitney untuk mengetahui hubungan antara ketinggian sedang dan rendah ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji Mann Whitney pada Ketinggian Rendah dan Sengah

	Rerata
Mann-Whitney U	18,000
Wilcoxon W	73,000
Z	-2,422
Asymp. Sig. (2-tailed)	,015
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,015 ^b

Nilai Sig. atau P Value sebesar 0.015. Apabila nilai Sig. atau P Value < 0,05 maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna antara ketinggian rendah dan sedang.

b. Ketinggian sedang dan tinggi

Hasil uji Mann Whitney untuk mengetahui hubungan antara ketinggian sedang dan tinggi ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Uji Mann Whitney pada Ketinggian Sedang Tinggi

	Rerata
Mann-Whitney U	30,500
Wilcoxon W	85,500
Z	-1,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,140
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,143 ^b

Nilai Sig. atau P Value sebesar 0.143. Apabila nilai Sig. atau P value > 0,05 maka tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara ketinggian sedang dan tinggi.

Analisis Tetraploid (4n)

Data yang diperoleh dilakukan analisis menggunakan SPSS 23 untuk menguji normalitas data pada ploidi tetraploid. Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

		Unstandardized Residual
N		30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	2,53122581
Most Extreme Differences	Absolute	,206
	Positive	,206
	Negative	-,097
Test Statistic		,206
Asymp. Sig. (2-tailed)		,002 ^c

Berdasarkan hasil tes di atas, nilai Sig. sebesar 0,002, nilai tersebut lebih kecil dari 0,005, sehingga dapat disimpulkan data yang diuji tidak terdistribusi normal. Karena data tidak terdistribusi normal, maka analisis dilakukan dengan analisis non-parametrik menggunakan Kruskal Wallis test. Hasil Uji Kruskal Wallis dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Kruskal Wallis Test

	Rerata
Chi-Square	10,684
df	2
Asymp. Sig.	,005

Nilai P Value sebesar 0,005 di mana kurang dari batas kritis 0,05 yang berarti menerima H1 atau ketinggian memberikan pengaruh terhadap tetraploid (4n). Selanjutnya dilakukan uji Mann Whitney untuk mengetahui hubungan pada setiap ketinggian.

- a. Ketinggian rendah dan sedang

Hasil uji Mann Whitney untuk mengetahui hubungan antara ketinggian rendah dan sedang ditunjukkan pada Tabel 8.

Tabel 8. Uji Mann Whitney pada Ketinggian Rendah dan Sedang

	Rerata
Mann-Whitney U	28,500
Wilcoxon W	83,500
Z	1,648
Asymp. Sig. (2-tailed)	,099
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,105 ^b

Nilai Sig. atau P Value sebesar 0,105. Apabila nilai Sig. atau P Value > 0,05 maka tidak terdapat perbedaan bermakna antara ketinggian rendah dan sedang.

b. Ketinggian sedang dan tinggi

Hasil uji Mann Whitney untuk mengetahui perbedaan antara ketinggian sedang dan tinggi ditunjukkan pada Tabel 9.

Tabel 9. Uji Mann Whitney pada Ketinggian Sedang dan Tinggi

	Rerata
Mann-Whitney U	22,0000
Wilcoxon W	77,000
Z	-2,124
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,035 ^b

Nilai Sig. atau P Value sebesar 0,035. Apabila nilai Sig. atau P Value < 0,05 maka terdapat perbedaan ketinggian sedang dan tinggi.

Berdasarkan analisis data yang telah dilakukan, diketahui bahwa pada triploid, P Value < 0,05 sehingga H₁ diterima, ketinggian tempat berpengaruh terhadap fenomena triploid. Selanjutnya, P value 0,005 < 0,05, sehingga H₁ diterima. Maka ketinggian tempat berpengaruh terhadap fenomena tetraploid.

Ketinggian tempat berpengaruh terhadap triploid dan tetraploid dipengaruhi oleh faktor internal maupun eksternal. Pengambilan sampel pada tiga ketinggian tempat berbeda memberikan pengaruh terhadap frekuensi poliploid pada ikan sepat (*Trichogaster trichopterus*) karena ketinggian mempengaruhi suhu lingkungan. Semakin tinggi suatu tempat akan menyebabkan semakin rendahnya suhu lingkungan, dengan tekanan udara yang semakin rendah (Song et al., 2012). Temperatur udara di permukaan bumi tidak seragam. Ketidaksamaan temperatur sangat dipengaruhi oleh tinggi tempat (Purwantara, 2011). Menurut formula Braak, semakin tinggi permukaan bumi maka temperatur udara semakin rendah. Setiap kenaikan 100 meter mdpl, terjadi penurunan suhu sebesar 0,6°C (Purwantara, 2009).

Penyebab mutasi dalam lingkungan yang bersifat fisik adalah radiasi dan suhu (Warianto, 2011). Mutagen fisik seperti suhu dapat menyebabkan terjadinya mutasi kromosom, di mana mutasi kromosom menyebabkan terjadinya poliploid pada organisme. Mutasi kromosom sering terjadi karena kesalahan pada meiosis maupun pada mitosis (Warianto, 2011). Manipulasi kromosom untuk menghasilkan ikan poliploid dapat menggunakan agen fisik seperti suhu panas, suhu dingin dan tekanan pada zigot (Piferrer et al., 2009; Thorgaard, Jazwin, & Stier, 1981).

Kejutuan suhu dapat mencegah ekstrusi tubuh kutub kedua dengan mengubah tingkat perkembangan, mengganggu mikrotubulus dari spindle meiosis atau secara tidak langsung melalui perubahan kepadatan sitoplasma (Piferrer et al., 2009). Suhu dapat pula menginduksi faktor internal yang dapat mengakibatkan poliploid pada ikan. Variasi yang terjadi pada jumlah maksimum kemungkinan disebabkan adanya fusi dan fisi dari bentuk nukleolus tunggal atau tiga, karena beberapa proses fisiologis yang terjadi selama siklus sel (Carman et al., 1991).

Menurut Song et al., (2012), efek dari lingkungan, terutama seperti suhu tidak dapat diabaikan dalam proses poliploidi pada ikan. Faktor lingkungan seperti rangsangan suhu panas dan dingin, serta radiasi juga berperan dalam proses terjadinya poliploidi. Sementara menurut Mable, Alexandrou, & Taylor (2011), tekanan yang tinggi antara 400 mdpl dan 600 mdpl atmosfer juga dapat menginduksi poliploidi. Leggatt & Iwama (2003), menyatakan bahwa suhu rendah dan suhu tinggi yang berubah pada lingkungan juga dapat menginisiasi terjadinya poliploidi secara alami. Semakin tinggi suatu tempat akan menyebabkan semakin rendahnya suhu lingkungan, dengan tekanan udara yang semakin rendah (Song et al., 2012).

Selain disebabkan oleh fluktuasi suhu, terdapat faktor internal yang dapat menyebabkan poliploidi yaitu adanya penyimpangan selama mitosis dan meiosis yang tidak mengalami reduksi (Corebima, 2000). Dalam hal ini dijelaskan bahwa jika suatu gamet yang memiliki kromosom $2n$ dan tidak mengalami reduksi maka jika bergabung dengan suatu gamet normal (n), maka zigot yang terbentuk akan memiliki ploidi triploid ($3n$), dan jika gamet yang bergabung tersebut tidak mengalami reduksi (pada individu diploid), maka zigot yang terbentuk tergolong tetraploid ($4n$) dan poliploidi dapat juga terjadi akibat penggandaan jumlah perangkat kromosom di dalam sel-sel somatik (Corebima, 2000).

Poliploidi dibagi menjadi dua kelompok, kelompok pertama autopoliploidi yaitu penggandaan kromosom melalui penggabungan genom-genom yang sama, ploidi yang dihasilkan dari proses ini adalah aneuploid (kromosom abnormal) dalam bentuk triploid, tetraploid dan pentaploid (Kadi, 2007). Kelompok kedua alopoliploidi adalah penggandaan kromosom yang terjadi melalui penggabungan genom-genom yang berbeda (Kadi, 2007).

Poliploid pada organisme dapat disebabkan oleh faktor internal dan eksternal. Poliploid pada organisme terjadi melalui tiga jalur yaitu: penggandaan kromosom, gamet tidak mereduksi dan polispermi (Song et al., 2012). Penggandaan kromosom terjadi melalui penggabungan genom yang berbeda (beda spesies). Selain itu penggandaan kromosom juga dapat terjadi karena adanya senyawa kimia seperti kolkisin. Adanya kolkisin dapat menghambat terbentuknya benang-benang spindle pada saat pembelahan mitosis (Taylor, 1965). Kromosom yang telah bereplikasi tetap tidak terpisah dan tidak dapat memasuki tahap anafase. Pada keadaan ini sel telah memiliki jumlah kromosom sebanyak 2 kali lipat atau kromosom mengalami penggandaan (Corebima, 2000).

Generasi gamet tidak tereduksi juga terkait dengan kelainan meiosis (Bretagnolle & Thompson, 1995). *Cytokinesis* belum matang segera mengikuti pembelahan meiosis pertama tanpa memasuki meiosis kedua, atau jika tubuh kutub dibungkus kembali ke dalam pronukleus betina, dapat menghasilkan gamet yang tak tereduksi, *cromatid sister* tidak terpisah atau tubuh kutub kedua tidak dapat memasuki fase meiosis kedua (Liu, 2010). Penyimpangan selama meiosis ini terjadi dikarenakan gen dan hormon dalam organisme. Gen akan ditranslasikan membentuk sebuah protein. Protein akan membentuk hormon. Jumlah hormon yang dihasilkan oleh kelenjar endokrin berupa hormon steroid akan mempengaruhi proses gametogenesis (Hoar, Randall, & Brett, 1979). Penyimpangan pembelahan meiosis dan mitosis di mikrotubul juga diakibatkan oleh adanya paparan suhu. Suhu dan tekanan hidrostatis dapat menginduksi terjadinya poliploidi pada ikan dengan efek menghambat peloncatan *polar body* karena rusaknya spindle meiosis (Corebima, 2000). Suhu juga menyebabkan kerusakan FMA (*furrow microtubule array*)

microtubule. FMA (*furrow microtubule array*) merupakan kumpulan *microtubule* yang bertugas membentuk palung pembelahan. Kerusakan FMA *microtubule* menyebabkan sel tidak mampu melakukan sitokinesis, sehingga terbentuk poliploid dalam sel tersebut (Guertin, Trautmann, & McCollum, 2002). Kerusakan benang spindel terjadi dari pembelahan meiosis ke dua akibat meningkatnya tekanan hidrostatik (Corebima, 2000).

Poliploidi juga dapat disebabkan oleh polispermi, polispermi merupakan pembuahan telur tunggal dengan lebih dari satu sperma (Mable, 2011). Polispermi fisiologi merupakan kondisi dimana beberapa sperma menembus ke dalam sel telur, tetapi hanya satu pronukleus sperma yang bergabung dengan sel telur haploid inti. Sel telur mempunyai dua lapisan, lapisan dalam berupa vitelin dan lapisan terluar berupa korion. Lapisan terluar (korion) sangat sensitif terhadap suhu. Jika lapisan tersebut terpapar suhu, maka korion akan rusak sehingga dapat menyebabkan lebih dari satu sperma memasuki sel telur (Risnandar, 2001).

Ketinggian tempat berpengaruh terhadap tingkat ploidi karena ketinggian tempat mempunyai suhu yang rendah dan tekanan yang tinggi sehingga dapat mempengaruhi benang spindel (gagal berpisah). Peristiwa ini terjadi pada tahap anafase, dimana pada tahap ini terjadi penarikan kromosom oleh benang spindel ke arah kutub yang berlawanan. Benang spindel tersusun oleh hetero dimer yang terdiri dari tubulin α dan tubulin β . Tubulin α dan tubulin β akan berikatan membentuk dimer dan nantinya akan menjadi protofilamen. Tubulin α dan tubulin β dalam berikatan membutuhkan GTP. GTP dihasilkan dari metabolisme. Proses metabolisme membutuhkan enzim. Kerja enzim dipengaruhi oleh suhu, dimana dengan suhu yang rendah enzim akan inaktif dan suhu yang tinggi enzim mengalami denaturasi.

4. KESIMPULAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ketinggian tempat memiliki efek pada tingkat poliploidi *Trichogaster trichopterus*. Ketinggian yang rendah tidak berbeda secara signifikan dari ketinggian sedang, tetapi ketinggian sedang berbeda secara signifikan dari ketinggian tinggi. Faktor yang mempengaruhi jumlah poliploidi adalah faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi multiplikasi kromosom, polispermi, *nondisjunction* (NDJ), gamet tidak mengurangi, fusi dan sentris fisi, sedangkan faktor eksternal adalah suhu dan tekanan udara. Rekomendasi untuk penelitian lebih lanjut adalah menggunakan metode lain untuk mengidentifikasi keberadaan poliploidi dalam suatu organisme.

5. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Bretagnolle, F., & Thompson, J. D. Gametes with the Stomatic Chromosome Number: Mechanisms of Their Formation and Role in the Evolution of Autopolyploid Plants. *New Phytologist*. 1995; 129(1): 1–22. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1995.tb03005.x>
- [2] Carman, O., Oshiro, T., & Takashima, F. Estimation of effective condition for induction of triploidy in goldfish, *Carassius auratus* Linnaeu. *Journal of the Tokyo University of Fisheries*. 1991.
- [3] Cires, E., Cuesta, C., Vargas, P., & Prieto, J. A. F. Unravelling the evolutionary history of the polyploid complex *ranunculus parnassifolius* (ranunculaceae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 2012; 107(3): 477–493. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2012.01968.x>
- [4] Corebima, A. D. Genetika Mutasi dan Rekombinasi. Malang: FMIPA UM. 2000.
- [5] Diallo, A. M. Coexistence and performance of diploid and polyploid *Acacia senegal* (L.) Willd: implications for adaptation and domestication in the Sahel. University of Copenhagen Rolighedsvej. 2015.
- [6] Froese, R. (Rainer), & Pauly, D. (Daniel). FishBase 2000: concepts, design and data sources. 2000.

- [7] Guertin, D. A., Trautmann, S., & McCollum, D. Cytokinesis in Eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2002; 66(2): 155–178. <https://doi.org/10.1128/MMBR.66.2.155-178.2002>
- [8] Hoar, W. S., Randall, D. J., & Brett, J. R. *Fish Physiology* (Vol. 8). London: ACADEMIC PRESS, INC. 1979. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60020-5](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60020-5)
- [9] Kadi, A. Manipulasi Poliploidi Untuk Memperoleh Jenis Baru Yang Unggul. *Oseana*. 2007; XXXII(4): 1–11.
- [10] Kim, S., Lee, D., & Rayburn, A. L. Analysis of Active Nucleolus Organizing Regions in Polyploid Prairie Cordgrass (*Spartina pectinata* Link) by Silver Staining. *Cytologia*. 2015; 80(2): 249–258. <https://doi.org/10.1508/cytologia.80.249>
- [11] Kottelat, M., Whitten, A., Kartikasari, S., & Wirjoatmodjo, S. *Ikan Air Tawar Indonesia Bagian Barat dan Sulawesi*. Jakarta: Periplus Edition (HK) Ltd. dan Proyek EMDI KMNHL. 1993.
- [12] Leggatt, R. A., & Iwama, G. K. Occurrence of polyploidy in the fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 2003; 13(3): 237–246. Retrieved from <https://doi.org/10.1023/B:RFBF.0000033049.00668.fe>
- [13] Liu, S. J. Distant hybridization leads to different ploidy fishes. *Science China Life Sciences*. 2010; 53(4): 416–425. <https://doi.org/10.1007/s11427-010-0057-9>
- [14] Mable, B. K., Alexandrou, M. A., & Taylor, M. I. (2011). Genome duplication in amphibians and fish: an extend synthesis. *Journal of Zoology*. 2011; 284(7): 151–182. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2011.00829.x>
- [15] Murjani, A. Budidaya beberapa varietas ikan sepat rawa (*Trichogaster trichopterus* Pall) dengan pemberian pakan komersial. Lampung: Fakultas Perikanan Universitas Lampung Mangkurat. 2010.
- [16] Paule, J., Kolář, F., & Dobeš, C. Arctic-alpine and serpentine differentiation in polyploid *Potentilla crantzii*. *Preslia*. 2015; 87(2): 195–215.
- [17] Phillips, R. B., Zajicek, K. D., Ihssen, P. E., & Johnson, O. Application of silver staining to the identification of triploid fish cells. *Aquaculture*. 1986; 54(4): 313–319. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90275-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90275-9)
- [18] Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J., Flajshans, M., Haffray, P., & Colombo, L. Polyploid fish and shell fish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture*. 2009; 293(3–4): 125–156. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.04.036>
- [19] Purwantara, S. Studi Temperatur Udara Terkini di Wilayah di Jawa Tengah dan DIY. *Informasi*. 2009; 37(2): 11–30.
- [20] Ramsey, J., & Ramsey, T. S. (2014). Ecological studies of polyploidy in the 100 years following its discovery. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2014; 369: 15–19. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0352>
- [21] Risnandar, D. Pengaruh Umur Zigot pada Saat Kejutan Panas terhadap Keberhasilan Triploidisasi serta Kelangsungan Hidup Embrio dan Larva Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*). Bogor: Institut Pertanian Bogor. 2001.
- [22] Rottmann, R. W., Shireman, J. V., & Chapman, F. A. Induction and Verification of Triploidy in Fish. *SRAC Publication*. 1991; (427): 1–2. Retrieved from <https://srac.tamu.edu/serveFactSheet/90>
- [23] Schinkel, C. C. F., Kirchheimer, B., Dellinger, A. S., Klatt, S., Winkler, M., Dullinger, S., & Hörandl, E. Correlations of polyploidy and apomixis with elevation and associated environmental gradients in an alpine plant. *AoB Plants*. 2016; 8: plw064. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw064>
- [24] Song, C., Liu, S. J., Xiao, J., He, W. G., Zhou, Y., Qin, Q. B., & Liu, Y. Polyploid organisms. *Science China Life Sciences*. 2012; 55(4): 301–311. <https://doi.org/10.1007/s11427-012-4310-2>
- [25] Soto-Trejo, F., Palomino, G., Villaseñor, J. L., & Crawford, D. J. (2013). Polyploidy in Asteraceae of the xerophytic scrub of the Ecological Reserve of the Pedregal of San Angel, Mexico City. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2013; 173(2): 211–229. <https://doi.org/10.1111/boj.12080>

- [26] Taylor, E. W. The Mechanism of Colchicine Inhibition of Mitosis. *The Journal of Cell Biology*. 1965; 25: 145–160. <https://doi.org/10.1083/jcb.25.1.145>.
- [27] Thorgaard, G. H. Chromosome Set Manipulation and Sex Control in Fish. *Fish Physiology*. 1983; 9: 405–434. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60308-8](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60308-8).
- [28] Thorgaard, G. H., Jazwin, M. E., & Stier, A. R. Polyploidy Induced by Heat Shock in Rainbow Trout. *Transactions of the American Fisheries Society*. 1981; 110(4): 546–550. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1963\)92](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1963)92).
- [29] Tomasello, S. Polyploidy and high mountain environments: Evolutionary processes at different scales in the subtribe Leucanthemopsidinae (Compositae, Anthemideae). Universität Regensburg. 2014.
- [30] Warianto, C. Mutasi. Surabaya: Publish. 2011.
- [31] Wei, R., Ree, R. H., Sundue, M. A., & Zhang, X.-C. Polyploidy and elevation contribute to opposing latitudinal gradients in diversification and species richness in lady ferns (Athyriaceae). *BioRxiv*. 2018; 4. <https://doi.org/10.1101/351080>.
- [32] World Bank. Integrating Freshwater Biodiversity Conservation with Development: Some Emerging Lessons. 1998.
- [33] Xie-Kui, C., Cheng-Qi, A., Zhang, Q., Chen, L. T., & Liu, J. Q. Diploid and tetraploid distribution of *allium przewalskianum* regel. (liliaceae) in the qinghai-tibetan plateau and adjacent regions. *Caryologia*. 2008; 61(2): 192–200. <https://doi.org/10.1080/00087114.2008.10589629>