

5/10/1991/001

**PENGARUH SUHU RENDAH TERHADAP PERKEMBANGAN
TELUR KATAK BATU (*Rana macrodon*)**

HIKMAWATI HANURANI



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
1991**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

RINGKASAN

HIKMAWATI HANURANI. Pengaruh Suhu Rendah Terhadap Perkembangan Telur Katak Batu (*Rana macrodon*) (di bawah bimbingan Prof. Dr. Nawangsari Sugiri dan Dr. Tuty L. Yusuf).

Katak merupakan hewan yang sering digunakan sebagai bahan percobaan dalam mempelajari perkembangan embrio, karena pembuahan sel telur pada katak terjadi secara eksternal dan tahap-tahap perkembangan berlangsung dalam waktu yang relatif singkat, sehingga memudahkan dalam pengamatan. Berhubungan dengan hal ini dilakukan penelitian perkembangan embrio katak pada suhu rendah dan dilihat pengaruhnya terhadap perkembangan embrio.

Katak yang digunakan adalah *Rana macrodon*. Telur katak yang telah dibuahi ditempatkan dalam tabung reaksi yang berisi 5 cc medium Holtfreter 10 %, kemudian tabung ditempatkan dalam gelas piala yang berisi air. Telur yang disimpan berada dalam keadaan stadium zigot, blastula dan gastrula. Penyimpanan dilakukan dalam tiga jangka waktu yang berbeda untuk masing-masing stadium, yaitu 8, 16 dan 24 jam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu penyimpanan berpengaruh terhadap perkembangan telur, baik selama penyimpanan maupun pada perkembangan selanjutnya setelah dipelihara pada suhu kamar. Perkembangan telur pada suhu



5°C lebih lambat dibandingkan perkembangan pada suhu 10°C.

Pada suhu 5°C, perkembangan telur dengan stadium blastula dan gastrula dapat dihambat secara total atau tidak mengalami kenaikan stadium perkembangan. Telur dengan stadium zigot masih mengalami peningkatan sebanyak satu tingkat.

Selama mengalami penyimpanan pada suhu 10°C, telur dengan stadium blastula dan gastrula berkembang sebanyak satu tingkat. Telur dengan stadium zigot berkembang sebanyak tiga tingkat.

Lebih lambatnya perkembangan telur pada suhu 5°C diduga karena pada suhu rendah proses sintesis protein dihambat, sedangkan sintesis protein merupakan dasar dari seluruh kehidupan.

Dalam perkembangan selanjutnya setelah ditempatkan kembali pada suhu kamar, telur yang mengalami penyimpanan pada suhu 10°C mempunyai kemampuan yang lebih tinggi untuk melanjutkan perkembangan. Kemampuan ini berbeda pada masing-masing stadium telur. Stadium gastrula mempunyai kemampuan tertinggi untuk berkembang, sedangkan blastula terendah. Stadium gastrula mampu berkembang sampai dengan penetasan, sedangkan blastula hanya mampu berkembang mencapai gastrula akhir.

Kemampuan untuk berkembang semakin rendah dengan semakin lamanya waktu menyimpan. Hal ini diduga karena

dengan penyimpanan yang lebih lama sel-sel pada telur lebih lama mengalami ketidakseimbangan faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap kerja organel-organel sel. Dengan demikian organel-organel sel tersebut tidak bekerja dengan semestinya, selanjutnya berpengaruh terhadap perkembangan.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



PENGARUH SUHU RENDAH TERHADAP PERKEMBANGAN
TELUR KATAK BATU (*Rana macrodon*)

HIKMAWATI HANURANI

Laporan Masalah Khusus
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Biologi
pada
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
1991

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul : PENGARUH SUHU RENDAH TERHADAP PERKEMBANGAN TELUR KATAK BATU (*Rana macrodon*)

Nama Mahasiswa : HIKMAWATI HANURANI

NIM : G23.0843

Menyetujui



Prof. Dr. Nawangsari Sugiri

Pembimbing I



Dr. Tuty L. Yusuf

Pembimbing II

Mengetahui



drh. Ikin Mansjoer, M.Sc.

Ketua Jurusan Biologi

Tanggal Lulus: 07 SEP 1991

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 3 Juli 1967 di Bandung dari ayah Sunarja dan ibu Ida Nurhaida, sebagai anak ketiga dari lima bersaudara.

Penulis menyelesaikan pendidikan di Sekolah Dasar Sukarasa I, Bandung pada tahun 1980 dan Sekolah Menengah Pertama 15, Bandung pada tahun 1983. Pada tahun 1983 penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas 5 Bandung dan lulus pada tahun 1986.

Pada tahun 1986 penulis diterima sebagai mahasiswa di Institut Pertanian Bogor melalui Program Penelusuran Minat dan Kemampuan (PMDK). Selanjutnya penulis diterima di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, pada tahun 1987.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah swt, atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penyusunan laporan masalah khusus ini dapat diselesaikan. Laporan masalah khusus ini merupakan salah satu syarat untuk menempuh jenjang pendidikan S₁ di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus dan penghargaan kepada Prof. Dr. Nawangsari Sugiri dan Dr. Tuty L. Yusuf, atas petunjuk, pengarahan, dan bimbingan yang diberikan selama persiapan dan pelaksanaan penelitian hingga penulisan laporan ini.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Drh. Arif Budiono dan Dr. Ita Djuwita dari Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Ir. Satrio Wiseno, Msc. dari Jurusan Statistika, Fakultas Matematika dan IPA IPB, atas segala bantuan yang telah diberikan,
2. Dra. Ai Andaniah dari ITB, atas bantuannya dalam mendapatkan literatur,
3. Mbak Tini, Pak Jupri, dan Pak Syafei dari Laboratorium Zoologi atas bantuannya selama penelitian,
4. Kedua orangtua, kakak dan adik-adik penulis yang telah memberikan dorongan untuk menyelesaikan penelitian ini,



5. Mas Iwan, yang selalu memberikan bantuan dan semangat,

6. Nunu, rekan seperjuangan penulis, atas kritik dan saran yang diberikan selama melaksanakan penelitian.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna. Walaupun demikian, semoga Laporan Masalah Khusus ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang membutuhkannya.

Bogor, September 1991

penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Tujuan Penelitian	2
TINJAUAN PUSTAKA	4
Ciri-Ciri dan Habitat Katak Batu (<i>Rana mac-</i> <i>rodon</i>).....	4
Sistem Reproduksi Katak	5
Perkembangan Telur Katak.....	11
Pengaruh Suhu Rendah terhadap Telur dan Embrio	18
BAHAN DAN METODE	25
Waktu dan Tempat Penelitian	25
Alat dan Bahan	25
Metode Penelitian	25
HASIL DAN PEMBAHASAN	29
Penghambatan Stadium Telur.....	29
Perkembangan Telur pada Suhu Kamar setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu Rendah...	39
Abnormalitas	58
KESIMPULAN DAN SARAN	72
Kesimpulan	72
Saran	72



DAFTAR PUSTAKA	73
----------------------	----

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Banyaknya Telur dengan Stadium Zigot Blastula dan Gastrula dalam Suhu Kamar dan Waktu Penyimpanan yang Berbeda	28
2.	Persentase Perkembangan Telur Selama Penyimpanan pada Suhu 5 ^o C	30
3.	Persentase Perkembangan Telur Selama Penyimpanan pada Suhu 10 ^o C	33
4.	Persentase Perkembangan Telur pada Suhu Kamar (kontrol)	36
5.	Persentase Perkembangan Telur pada Suhu Kamar setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu 5 ^o C	40
6.	Persentase Perkembangan Telur pada Suhu Kamar setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu 10 ^o C	48
7.	Persentase Perkembangan Telur Lebih Lanjut pada Suhu Kamar (Kontrol).....	56



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Grafik Peningkatan Jumlah Sel pada awal Perkembangan Telur katak.....	14
2. Keadaan Telur dengan Stadium Blastula Awal dan Gastrula Awal setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu 5 ⁰ C	31
3. Keadaan Telur dengan Stadium Zigot setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu 10 ⁰ C	34
4. Keadaan Telur dengan Stadium Blastula dan Gastrula setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu 10 ⁰ C	34
5. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Zigot pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 5 ⁰ C	42
6. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Blastula pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 5 ⁰ C	43
7. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Gastrula pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 5 ⁰ C	43
8. Histogram Perkembangan Telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 8 jam dalam Suhu 5 ⁰ C	44
9. Histogram Perkembangan telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 16 jam dalam Suhu 5 ⁰ C	45
10. Histogram Perkembangan Telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 24 jam dalam Suhu 5 ⁰ C	45
11. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Zigot pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 10 ⁰ C	50
12. Histogram Perkembangan telur dengan Stadium Blastula pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 10 ⁰ C	50



Nomor	Halaman
13. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Gastrula pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 10°C	51
14. Histogram Perkembangan Telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 8 jam pada Suhu 10°C	52
15. Histogram Perkembangan Telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 16 jam pada Suhu 10°C	52
16. Histogram Perkembangan telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 24 jam pada Suhu 10°C	53
17. Embrio dengan Stadium Lipatan Operkulum (<i>Opercular Fold</i>)	53
18. Telur dalam Keadaan Dua Sel Tidak Normal ...	59
19. Perkembangan Telur yang Tidak Normal Hasil dari Penyimpanan Telur dengan Stadium Zigot pada Suhu 5°C	60
20. Telur dalam Keadaan Eksogastrula Hasil dari Penyimpanan Telur dengan Stadium Zigot pada Suhu 5°C	61
21. Perkembangan Telur yang Tidak Normal Hasil dari Penyimpanan Telur dengan Stadium Blastula pada Suhu 5°C	62
22. Embrio tidak Normal Hasil dari Perkembangan Telur dengan Stadium Gastrula yang Disimpan pada Suhu 5°C	64
23. Eksogastrula dalam Berbagai Tingkat Hasil dari Perkembangan Telur dengan Stadium Gastrula yang Disimpan pada Suhu 5°C	66
24. Abnormalitas yang Terjadi Hasil dari Perkembangan Telur dengan Stadium Zigot yang Mengalami Penyimpanan pada Suhu 10°C	68
25. Embrio dan Telur yang Tidak Normal Hasil dari Perkembangan Telur dengan Stadium Blastula yang Disimpan pada Suhu 10°C	69

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

xv

Nomor

Halaman

26.	Embrio Tidak Normal Hasil dari Perkembangan Telur dengan Stadium Gastrula setelah Disimpan pada Suhu 10 ⁰ C	71
-----	--	----



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Tahap-tahap Perkembangan Secara Normal pada <i>Rana pipiens</i> Selama Embriogenesis	77

PENDAHULUAN

Latar Belakang

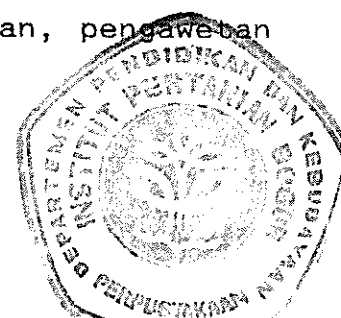
Penyimpanan telur pada suhu rendah telah banyak dilakukan pada hewan yang mempunyai telur dengan jumlah kuning telur sedikit (oligolesital). Penyimpanan pada suhu rendah bertujuan untuk menghambat perkembangan telur yang pada akhirnya berperan di dalam meningkatkan populasi hewan. Pada jenis hewan yang mempunyai telur mesolesital (jumlah kuning telur sedang) dan megalesital (jumlah kuning telur banyak), penyimpanan telur dalam suhu rendah masih jarang dilakukan. Apabila teknik ini dapat dilakukan, akan bermanfaat dalam mempelajari perkembangan embrio, pengawetan embrio, dan menjaga keseimbangan populasi hewan tersebut di alam.

Katak adalah salah satu jenis hewan yang mempunyai telur mesolesital. Spesies ini sering digunakan sebagai hewan percobaan dalam mempelajari perkembangan embrio, karena fertilisasi pada katak terjadi secara eksternal, dan tahap-tahap perkembangan selama embriogenesis berlangsung dalam waktu yang relatif singkat. Dengan demikian memudahkan dalam pengamatan.

Penyimpanan telur katak dalam suhu rendah akan menjadi suatu alat bantu dalam mempelajari perkembangan embrio. Hal ini akan berguna apabila diperlukan pengamatan perkembangan telur pada waktu dan lokasi yang berbeda

dengan tetap mempertahankan stadium tertentu. Untuk melakukan penelitian embrio katak di luar angkasa, merupakan hal yang cukup sulit bila harus melakukan pembuahan pada lokasi pengamatan. Lebih mudah bila dapat mempertahankan suatu stadium tertentu yang diinginkan mulai tempat asal sampai tujuan di tempat kita akan mulai melakukan penelitian.

Menurut Smith (1954), pada temperatur yang sangat rendah aktivitas sel dan jaringan akan dihambat, atau berkembang sangat lambat. Diketahui pula bahwa kecepatan perkembangan telur dan embrio katak tergantung pada suhu (Rugh, 1951). Berdasarkan hal ini maka dicoba untuk menyimpan telur-telur katak yang telah dibuahi dalam suhu rendah, serta diharapkan perkembangannya dihambat, tanpa merusak telur katak itu sendiri. Dengan demikian dapat diperoleh stadium tertentu pada saat diperlukan. Penyimpanan telur pada suhu rendah, mungkin juga merupakan suatu langkah awal dalam usaha pengawetan telur yang telah dibuahi, dengan tujuan dapat memanfaatkan telur yang telah diawetkan tersebut pada saat tertentu. Bila dikaitkan dengan pemanfaatan katak sebagai sumber makanan, hal ini sangat menguntungkan karena dapat menyediakan telur yang sudah dibuahi untuk dikembangkan pada saat diperlukan, sehingga penyediaan katak tidak hanya tergantung pada kemurahan alam. Dengan demikian, pengawetan



telur katak juga menunjang dalam usaha meningkatkan perekonomian.

Mengingat pentingnya pengawetan telur katak, maka perlu dilakukan penelitian tentang suhu yang tepat untuk penyimpanan telur katak dalam medium tertentu. Dalam penelitian ini digunakan telur katak batu (*Rana macrodon*).

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mempertahankan stadium-stadium tertentu dari telur katak yang telah dibuahi dalam waktu yang relatif lama, dengan cara menghambat perkembangannya dalam suhu rendah.





TINJAUAN PUSTAKA

Ciri-ciri dan Habitat Katak Batu (*Rana macrodon*)

Menurut Sugiri (1979), katak batu adalah katak berukuran sedang (ukuran panjang tubuh 50 - 100 mm) sampai ukuran besar (lebih dari 100 mm). Panjang kepala lebih besar dari pada lebarnya. Moncong halus dan lancip. Ujung moncong dapat lancip atau tumpul. Tympanum jelas, berukuran antara 3 mm dan 9 mm. Pada mandibula terdapat penonjolan tulang (apophyses), lidah bercabang dua, tebal berbentuk oval. Kaki depan kokoh. Kaki belakang relatif panjang. Ukuran sampai tumit kurang lebih 0.95 ukuran panjang badan. Warna kulit bagian dorsal coklat sampai coklat kemerahan, kelabu, kelabu hitam dan hitam. Kulit bagian ventral berwarna putih kekuningan atau krem. Bagian ventral berwarna putih, kekuningan, kecoklatan ataupun bertotol coklat. Kadang-kadang terdapat garis vertebralis, di bagian dorsal mulai dari moncong sampai ke dubur di sepanjang tulang punggung. Spesimen dengan garis vertebralis ada yang mempunyai garis longitudinal kuning di sepanjang kaki bagian dorsolateralis kaki belakang.

Kodok batu hidup di sekitar aliran air atau kali. Air dapat mengalir deras ataupun tidak deras. Umumnya terdapat di tempat-tempat berpohon, seperti; pohon kelapa (*Cocos nucifera* Linn), pisang (*Musa* sp), jambu biji (*Psidium guajava* Linn), mangga (*Mangifera indica*). Kodok

1. Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
a. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
b. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
c. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

batu ditemukan pula di kolam-kolam kecil yang terdapat di bawah pohon, dengan air bening dan tenang. Kodok ini terdapat di daerah pegunungan dengan ketinggian lebih dari 300 meter, seperti di Sukabumi, Bandung ataupun Garut (Sugiri, 1979)

Sistem Reproduksi Katak

Alat Reproduksi Katak Jantan

Alat reproduksi utama pada katak jantan adalah sepasang testis. Testis merupakan organ internal, melekat pada ginjal bagian ventral oleh lipatan peritoneum yang disebut *mesorchium*. *Mesorchium* tersebut mengelilingi masing-masing testis dan berlanjut pada epitel peritonium yang melapisi bagian ventral ginjal dan seluruh rongga badan (Rugh, 1951).

Berdasarkan hasil penelitian Sugiri (1979) pada katak batu, diketahui bahwa testis sepanjang tahun selalu menunjukkan aktivitas dengan adanya macam-macam stadium spermatosit dan adanya spermatozoa dalam jumlah banyak dalam berbagai lobuli, dan dari hasil penelitian tersebut dapat dilihat bahwa katak jantan mempunyai potensi berkembang biak sepanjang tahun dan musim perkawinan lebih ditentukan oleh kesiapan hewan betina.

Vasa efferentia atau saluran testis terdiri atas saluran yang halus, meluas pada *mesorchium* hingga bagian tepi dalam ginjal, yang berhubungan dengan saluran Bidder

(Holmes, 1934). Menurut Rugh (1951), pada musim kawin atau pada katak yang mengalami hibernasi dan saluran tersebut mendapat tekanan, maka saluran tampak jelas karena adanya massa spermatozoa yang berwarna keputih-putihan. Diameter saluran ini sangat kecil, dinding dilapisi oleh kumpulan sel-sel kuboid. Masing-masing saluran berhubungan dengan sejumlah korpuskula Malpighi ginjal melalui kapsul Bowman.

Menurut Goin dan Goin (1962), terdapat suatu hubungan yang dekat antara sistem reproduksi dan sistem ekskretori pada katak jantan. Hubungan tersebut adalah sebagai berikut: Saluran yang membawa spermatozoa dari testis menuju *vas deferens*, sebelumnya melewati bagian anterior ginjal, sehingga *vas deferens* membawa limbah dari ginjal dan spermatozoa bersama-sama. Sistem saluran tersebut disebut saluran *urogenital* yang mempunyai dua fungsi.

Menurut Rugh (1951), spermatozoa dihasilkan melalui pembelahan spermatogonium yang terjadi pada bagian testis yang disebut tubulus seminiferi. Akibat adanya rangsangan hormon ICSH (interstitial cell stimulating hormon) dari kelenjar pituitari (hipofisa) bagian anterior menyebabkan terjadinya kematangan dan pelepasan spermatozoa matang dari testis. Tanggapan dari stimulasi seks tersebut menyebabkan spermatozoa terbebas dari sel-sel sertoli dan tertekan dari lumen tubulus seminifer ke dalam tubu-

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

lus penampung yang berhubungan dengan *vasa efferentia*. *Vasa efferentia* meninggalkan testis melewati lipatan *mesorchium* selanjutnya menuju korpuskula Malpighi di dalam ginjal. Dari sini spermatozoa melewati saluran ekskretori, tubulus urinifer dan ke dalam duktus mesonefrik (ureter) yang menempel pada daerah lateral ginjal, dan akhirnya ditampung pada vesikula seminal sampai saat amplexus.

Alat Reproduksi Katak Betina

Katak betina mempunyai sepasang ovarium, terletak di bagian dorsal tubuh, menggantung pada alat penggantung yang disebut *mesovarium*. *Mesovarium* merupakan perluasan teka eksterna dari peritoneum yang mengelilingi seluruh ovarium (Rugh, 1951).

Histologi ovarium menunjukkan, bahwa di bawah teka eksterna tergantung ribuan kantung yang masing-masing terbuat dari membran yang disebut teka interna. teka interna dengan teka eksterna dan sel-sel folikel, merupakan bagian dari folikel ovarium. Di dalam masing-masing folikel terdapat sel-sel folikel. Sel-sel folikel ini mengelilingi oosit yang sedang berkembang dan erat hubungannya dengan proses pematangan yang terjadi di dalam folikel. Pada folikel ovarium terdapat membran vitelin yang letaknya berdekatan dengan sel-sel folikel dan mengelilinginya. Membran ini berkembang dan terdapat pada



sel telur selama proses pematangan, sehingga pada keadaan oogonium awal membran tersebut tidak tampak (Rugh, 1951).

Pada katak batu di daerah Sukabumi, sepanjang tahun terdapat aneka ragam stadium ovarium, meskipun pada bulan-bulan seperti Agustus, September sampai dengan bulan Februari, persentase ovarium stadium V lebih tinggi. Keadaan ini memperlihatkan bahwa katak batu di daerah Sukabumi mampu bertelur sepanjang tahun, dengan puncak reproduksi dalam bulan September sampai Februari. Hal ini diperkuat dengan diperolehnya data bobot ovarium kanan dan kiri yang memperlihatkan angka tinggi dalam bulan September sampai Februari (Sugiri, 1979).

Menurut Holmes (1934), oviduk pada katak terdapat sepasang dan berkelok-kelok sepanjang masing-masing sisi rongga badan. Pada masing-masing oviduk, bagian anterior terbuka lebar ke arah rongga badan. Bagian yang terbuka lebar ini disebut ostium. Di dalam rongga badan terdapat silium-silium pada peritonium, dinding badan, hati, dan pada struktur-struktur yang berdekatan. Silium ini berfungsi untuk membawa telur yang diovulasikan dari ovarium melalui rongga tubuh menuju ostium (Goin dan Goin, 1962).

Proses keluarnya telur dari folikel ovarium disebut ovulasi. Pada saat ovulasi, terjadi perobekan pada teka eksterna yang menyebabkan terbentuknya suatu lubang yang kecil dan selanjutnya telur muncul melalui lubang tersebut. Selama terjadi perpindahan telur dari ovarium dan

@Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



selama melewati oviduk, terjadi perubahan lanjut dari nukleus, yaitu mengalami proses pematangan (Marshall, 1956). Proses pematangan pertama (meiosis pertama) terjadi pada saat ovulasi, yaitu nukleus membelah menjadi dua bagian yang sama, sebagian tetap berada di dalam telur, bagian yang lain keluar membentuk badan kutub pertama. Menurut Rugh (1951), pematangan kedua mulai terjadi pada saat telur memasuki oviduk. Pematangan kedua akan sempurna bila telur diaktivasi oleh sperma atau distimulasi oleh alat parthenogenetik (jarum), sehingga terbentuk badan kutub kedua.

Pada saat telur melewati oviduk, telur mendapat membran gelatin. Membran tersebut tipis dan menyelubungi telur. Pada saat telur keluar, membran ini tidak tampak jelas, tetapi setelah terjadi kontak dengan air membran tersebut mengembang (Dickerson, 1969). Menurut Holmes (1934), membran ini berfungsi melindungi telur dari kotoran, bakteri, spora jamur dan juga dari serangan serangga air dan berbagai kerusakan mekanis yang mempengaruhinya, disamping itu, jeli berfungsi menjaga agar telur lebih hangat daripada lingkungan sekelilingnya, jadi jeli sebagai insulator terhadap kehilangan panas. Selanjutnya telur yang melewati oviduk akan memasuki uterus, dan ditahan sampai saat amplexus.

@Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Fertilisasi

10

@Hak cipta milik IPB University

Fertilisasi secara umum terdiri dari dua proses yaitu aktivasi telur yang dilakukan oleh spermatozoa atau oleh berbagai alat parthenogenetik (alat untuk mengaktifkan telur secara buatan, misal dengan jarum). Kedua, pencampuran potensial zat hereditas yaitu nukleus dan kromosom, yang dikenal sebagai amfimiksis (Rugh, 1951).

Secara sederhana fertilisasi berarti penyatuan telur dengan sperma. Menurut Holmes (1934), pengeluaran telur biasanya hanya terjadi setelah katak jantan mengadakan amplexus dan menekan bagian ventral katak betina. Pada saat telur dikeluarkan melalui kloaka, katak jantan menyebarkan sperma di atasnya, dan spermatozoa melakukan penetrasi pada jeli yang mengelilingi telur. Menurut Rugh (1951), bersamaan dengan adanya penetrasi sperma, jeli yang terdapat pada telur segera mengembang untuk melindungi telur dari sperma lainnya, disamping itu timbul suatu reaksi imun dari telur terhadap pemasukan sperma. Jadi hanya ada satu spermatozoa yang secara normal bergabung dengan nukleus telur. Reaksi imun tersebut adalah terjadinya aglutinasi pada sperma, yang menyebabkan sperma menjadi infertil sehingga tidak dapat membuahi sel telur (Barth, 1953). Aglutinasi pada sperma disebabkan adanya reaksi dari zat fertilizin yang dihasilkan oleh jeli dengan zat antifertilizin yang terdapat pada sperma.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Kontak dan penetrasi pada telur mempunyai dua efek yang segera terjadi. pertama, jeli pada lapisan terluar mengembang maksimum dengan cara imbibisi. Kedua, hilangnya air dari telur sehingga timbul ruang diantara permukaan telur dan membran vitelin yang sekarang disebut membran fertilisasi. Ruang tersebut disebut ruang perivitelin, terisi cairan sehingga telur bisa berotasi, dan pada akhirnya kutub animal berada di atas (Rugh, 1951).

Perkembangan Telur Katak

Proses perkembangan telur katak setelah dibuahi dan terbentuk embrio disebut embriogenesis yang meliputi penyigaran zigot (*cleavage*), blastulasi, gastrulasi dan neurulasi. Embriogenesis diteruskan dan dibarengi oleh pembentukan alat-alat tubuh atau organogenesis (Sukra, Rahardja, Djuwita, 1988). Tahapan perkembangan embrio selama embriogenesis dapat dilihat pada Lampiran 1.

Penyigaran Zigot (*Cleavage*)

Menurut Balinsky (1970), penyigaran zigot adalah suatu periode perkembangan dengan ciri-ciri sebagai berikut:

1. Sel telur yang dibuahi dan masih uniseluler berkembang melalui pembelahan secara mitosis menjadi bentuk multiseluler yang kompleks.
2. Tidak terjadi pertumbuhan

3. Bentuk umum embrio tidak berubah, kecuali selama pembentukan blastosol.
4. Selain perubahan substansi sitoplasma menjadi substansi inti (pembentukan DNA), perubahan kimia secara kualitatif pada sel telur sangat kecil.
5. Sebagian besar unsur pokok dari sitoplasma telur tidak diganti, dan tetap dalam keadaan yang sama seperti pada awal penyigaran.

Berdasarkan jumlah kuning telur, penyigaran ada dua macam yaitu penyigaran holoblastik (total) dan penyigaran meroblastik (partial). Penyigaran holoblastik terdiri atas dua macam penyigaran yaitu holoblastik sama (*equal*) dan holoblastik tidak sama (*unequal*) (Oppenheimer, 1980). Penyigaran holoblastik adalah penyigaran yang melewati seluruh telur yang dibuahi dari kutub animal ke kutub vegetal. Tipe penyigaran seperti ini terjadi pada embrio dengan jumlah kuning telur sedikit atau sedang seperti pada bulu babi (*Sea urchin*), Amfioksus, sebagian besar mamalia dan katak. Telur katak mengalami penyigaran holoblastik *unequal*, karena sel-sel hasil penyigaran pada kutub animal ukurannya tidak sama besar dengan sel-sel kutub vegetal. Tipe penyigaran meroblastik terjadi pada telur yang mengandung kuning telur betul-betul hanya pada daerah vegetal, jadi penyigaran hanya terjadi pada daerah yang tidak mengandung kuning telur (kutub animal).

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

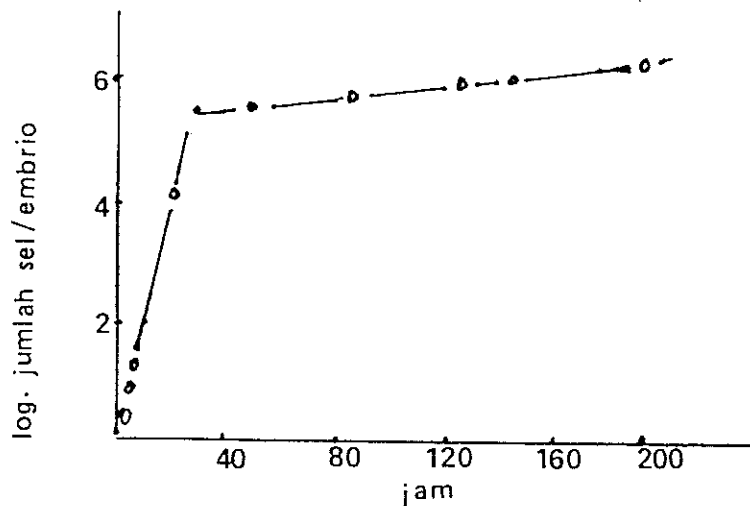


Menurut Balinsky (1970), penyigaran dimulai dengan pembelahan nukleus, dan kemudian diikuti oleh pembelahan sitoplasma, sehingga sel dibagi menjadi dua sel yang sama disebut blastomer. Blastomer mengalami penyigaran lagi secara mitosis. Selama penyigaran terjadi sintesis DNA untuk menyediakan kromosom bagi masing-masing blastomer. Disamping itu, diperlukan juga sejumlah protein selama penyigaran untuk terjadinya penyigaran (Oppenheimer, 1980).

Jika jumlah sel dalam berbagai tahap perkembangan embrio dihitung, perubahan kecepatan reproduksi sel antara periode penyigaran (*cleavage*) dan akhir perkembangan sangat jelas. Perkembangan pada masa penyigaran jauh lebih cepat daripada tahap selanjutnya. Pada Gambar 1. tampak grafik log jumlah sel embrio katak terhadap waktu. Disini tampak bahwa dalam 40 jam peningkatan kurva sangat jelas dimana pada saat itu merupakan akhir penyigaran (antara blastula dan permulaan gastrulasi).

Pada *Rana pipiens*, penyigaran pertama terjadi 2 jam 30 menit setelah pembuahan. Disini tampak lipatan terbalik yang pendek dekat pusat yang berpigmen dan agak menekan korteks kutub animal. Penyigaran kedua dimulai sekitar 3 jam 30 menit setelah pembuahan. Penyigaran zigot ketiga dimulai 30 menit setelah penyigaran zigot kedua selesai, atau 4 jam setelah fertilisasi. Penyigaran zigot keempat menghasilkan 12 sel, penyigaran zigot

@Hak cipta milik IPB University



Gambar 1. Peningkatan Jumlah Sel pada Awal Perkembangan Telur Katak (Sze, 1953 dalam Balinsky 1970).

kelima menghasilkan embrio yang mengandung 32 sel. Pada penyigaran zigot kelima, sudah tidak ada penyigaran yang simetri dan teratur seperti pada penyigaran zigot pertama (Rugh, 1951).

Blastulasi

Blastulasi adalah proses pembentukan blastula, dicirikan dengan pembentukan suatu rongga yang disebut blastosol. Blastula pada katak terdiri dari dua macam sel: Pertama, sel-sel pada bagian atas telur dengan ukuran sel lebih kecil, berwarna, lebih teratur, dan hampir tidak mengandung kuning telur. Sel-sel yang kedua, terletak pada bagian bawah telur, kurang teratur dan hampir tidak ada pigmen, tetapi banyak mengandung kuning telur (Marshall, 1956).



Menurut Shumway (1954), secara umum blastula didefinisikan sebagai suatu bola terdiri dari blastomer yang berongga berbentuk bulat dan disebut blastosoel. Definisi ini tidak sesuai untuk blastula yang berasal dari penyigaran secara meroblastik. Berdasarkan hal ini ada tiga kelompok blastula yaitu:

1. Seloblastula, blastula dengan lubang yang bulat sebagai hasil dari penyigaran holoblastik sama. Variasi dari tipe ini ialah letak blastosoel yang mendekati kutub animal seperti pada katak, sebagai hasil dari penyigaran holoblastik tidak sama.
2. Diskoblastula, blastula sebagai hasil dari penyigaran meroblastik, dengan blastomer membentuk suatu cakram yang pipih disebut blastoderm, yang terletak di atas kuning telur.
3. Blastosis, tipe blastula yang terletak di atas kuning telur, dengan blastosoel yang memisahkan massa sel dalam dengan trofoblas.

Pada katak, karena penyigaran secara horisontal mendekati kutub animal, blastosoel yang terbentuk letaknya lebih ke arah kutub animal (Rugh, 1951), dan menurut Sagi (1978), letak demikian itu karena di kutub vegetal ditempati blastomer yang mengandung banyak kuning telur. Ukuran blastosoel membesar karena blastomer yang mengelilinginya mensekresikan cairan yang dicurahkan ke dalam rongga, dan menurut Oppenheimer (1980), cairan ini

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



menekan sel-sel ke arah luar sehingga rongga membesar.

Menurut Rugh (1951), proses pembesaran blastosoel ini sejalan dengan semakin kecilnya pembentukan sel-sel yang mengelilinginya.

Fungsi blastosoel adalah untuk memberi ruang gerak pada sel-sel yang mengalami pergerakan morfogenesis dalam stadium gastrula (Nelsen, 1953).

Menurut Balinsky (1970), permukaan blastula amfibia secara garis besar dibagi menjadi tiga daerah utama yaitu:

1. Daerah di sekitar kutub animal.
2. Daerah intermediat, disebut zona marginal, mengelilingi ekuator blastula.
3. Daerah di sekitar kutub vegetal.

Daerah animal merupakan bakal ektoderm, daerah intermediat merupakan bakal mesoderm, sedangkan daerah vegetal merupakan bakal endoderm (Storer dan Usinger, 1957).

Gastrulasi

Hal utama dalam proses gastrulasi adalah pemindahan bagian blastoderm, yang pada akhirnya tersusun dalam suatu lapisan sel yang konsentrik (Balinsky, 1970). Sebagai hasil dari proses gastrulasi adalah dibentuknya 3 lapis kecambah utama yaitu ektoderm, mesoderm, dan endoderm. Sedangkan menurut Rugh (1951), gastrulasi menghasilkan embrio dengan dua lapis kecambah. Hal ini



disempurnakan melalui perpindahan sel-sel dari bagian eksterior menuju interior (Shumway, 1954).

Menurut Storer dan Usinger (1957), ketiga lapisan ini disebut lapisan germinal. Lapisan ektoderm terdiri dari daerah yang akan berkembang menjadi daerah saraf dan daerah yang akan menjadi kulit epidermis. Pada daerah mesoderm ditemukan bahan-bahan untuk notokorda, keping prekordal, dan ginjal. Daerah endoderm disusun oleh sel-sel yang akan menjadi usus tengah dan usus belakang (Balinsky, 1970).

Pergerakan-pergerakan epiboli dan emboli merupakan aspek yang penting dalam proses gastrulasi. Epiboli merupakan pergerakan bakal epidermis dan daerah neural. Pergerakan emboli menggerakkan daerah yang akan menjadi notokhord dan mesoderm (presumtif kordomesodermal) dan daerah entodermal menuju ke dalam dan meluas sepanjang sumbu antero-posterior embrio (Nelsen, 1953).

Menurut Storer dan Usinger (1957), gastrulasi meliputi tiga aktivitas yang saling berhubungan yaitu:

1. Sel-sel kutub vegetal yang banyak mengandung kuning telur tertekan ke arah dalam (invaginasi),
2. Zona marginal khususnya bibir dorsal mengalami involusi (gerakan membelok ke arah dalam),
3. Ektoderm tumbuh ke arah kutub vegetal menutupi sel-sel kutub vegetal.

@Hak cipta milik IPB University

Tanda pertama dari proses gastrulasi yang dapat dilihat pada telur katak adalah pembentukan lekukan pada sisi dorsal embrio, pada batas antara sabit kelabu (*gray crescent*) dan daerah vegetal.

Gastrulasi merupakan tahap kritis pada perkembangan embrio, karena pada tahap ini sel-sel tidak hanya membelah, tetapi juga mengalami diferensiasi, dan pada tahap ini embrio sangat sensitif terhadap perubahan fisik lingkungan dan inkompatibilitas genetik di dalam kromosom sel yang mengalami involusi (Rugh, 1951).

Pengaruh Suhu Rendah terhadap Telur dan Embrio

Menurut Rugh (1951), kecepatan perkembangan telur dan embrio katak tergantung pada suhu. Sel dan jaringan dianggap hidup, ketika mereka menyimpan daya tahan untuk menunjukkan aktivitas metabolik dan menampakkan fungsi khusus di bawah kondisi yang cocok pada suhu lingkungan yang normal (Smith, 1954).

Menurut Smith (1954), penurunan suhu secara tiba-tiba pada suhu di atas 0°C sangat berbahaya atau menyebabkan efek letal pada berbagai sel hidup, sedangkan dengan penurunan suhu secara bertahap tidak berbahaya.

Menurut Zweifel (1968) dalam Roy dan Khare (1979), adaptasi terhadap suhu merupakan salah satu karakteristik penting dari amfibia, dan berhubungan langsung dengan penyebaran geografi, kebiasaan berkembang biak, dan



kecepatan pertumbuhan. Moore (1939), menyatakan bahwa adaptasi embrio terhadap suhu berhubungan dengan penyebarannya.

Berdasarkan hasil penelitian Roy dan Khare (1979) pada embrio *Rana limnocharis* Wiegmann, diketahui bahwa spesies ini mempunyai mortalitas di atas 50 persen pada suhu di bawah 5°C dan di atas 28°C. Daerah penyebaran *Rana limnocharis* Wiegmann diantaranya adalah Shillong (suatu daerah di India) dimana pada saat musim kawin suhu air terendah adalah 10°C dan tertinggi 24°C.

Suhu 5°C menahan perkembangan embrio *Rana* sp. dari awal. Dari 20 telur yang disimpan pada suhu 5°C, sekitar 25 persen embrio menunjukkan pertumbuhan yang tertahan dan morfologinya tampak tidak normal pada saat mencapai tahap 16 dan selanjutnya mati, sekitar 14,7 persen embrio yang dapat bertahan, mati pada tahap 21 (Roy dan Khare, 1979). Menurut Hubbs dan Armstrong (1961) dalam Justus, Sandomir, Urquhart, dan Ewan (1977), embrio *Scaphiopus couchi* mati pada penyigaran pertama ketika disimpan pada suhu 10°C, sedangkan ketika disimpan pada suhu 11°C embrio dapat berkembang sampai tahap pertengahan penyigaran (*mid-cleavage*), dan pada suhu 13-14°C dapat berkembang mencapai neurula, tetapi tidak terdapat embrio yang dapat mencapai tahap penetasan.

Embrio *Hyla regilla* tahap blastula, gastrula, neurula dan tunas ekor (*tail bud*) yang mengalami penyimpanan



pada suhu 4-5°C selama selang waktu 8 hari, dapat berkembang secara normal ketika ditempatkan kembali pada temperatur kamar (Schechtman dan Olson, 1941).

Suhu merupakan faktor lingkungan yang kritis terhadap anura pada masa berkembang biak dan perkembangan embrio (Ballinger dan McKinney, 1966). Menurut Moore (1939), kisaran toleransi suhu dari suatu spesies seringkali berhubungan dengan saat spesies melakukan perkembangbiakan.

Aktivitas perkembangbiakan pada *Rana* sp. erat hubungannya dengan air yang permanen, dan musim berkembang biak tampaknya menunjukkan kisaran toleransi suhu selama perkembangan. Pada spesies yang terdapat pada daerah yang mengalami empat musim, spesies yang berkembang biak pada awal tahun dapat mentoleransi temperatur yang lebih rendah dibandingkan dengan spesies yang berkembang biak pada akhir tahun. Spesies yang aktifitas perkembangbiakannya tidak berhubungan dengan air yang permanen, tetapi tergantung pada hujan atau sumber air lainnya yang bersifat sementara, musim berkembang biak tidak selalu berhubungan dengan kisaran suhu toleransi spesies tersebut (Ballinger dan McKinney, 1966).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ballinger dan McKinney (1966), diketahui bahwa pada *Bufo cognatus* yang mempunyai kebiasaan bertelur di dalam air yang ber-

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



suhu mendekati 23°C, penyimpanan telur pada suhu 10°C atau lebih rendah menyebabkan perkembangan awal terhenti.

Rana clamitans berkembang biak pada saat suhu air kolam rata-rata 25 °C (Wright, 1914 dalam Moore, 1939). Penyimpanan telur *Rana clamitans* pada suhu $4,7 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ menyebabkan kematian pada embrio sebelum mencapai tahap gastrula.

Justus et al (1977) menyimpan embrio *Scaphiopus couchi* dan *Scaphiopus bombifrons* pada berbagai temperatur mulai 10°C sampai 34°C, ternyata embrio yang disimpan pada suhu 10°C dan 34°C mati selama penyigaran awal.

Kemampuan menghambat perkembangan embrio secara *in vitro* pada hewan mamalia, khususnya untuk hewan ternak, mempunyai peranan yang besar untuk keberhasilan di dalam melakukan transfer embrio, yaitu dengan menambah jarak embrio untuk bertahan dari waktu dilakukannya koleksi sampai pada saat dilakukan transfer (Lindner, Anderson, BonDurant, dan Cupps, 1983; Anderson dan Foote, 1975).

Penyimpanan embrio biri-biri pada suhu 5°C, sedikit sekali pengaruhnya terhadap kelanjutan perkembangan embrio. Hal ini tampak ketika embrio kembali dikulturkan pada suhu 37.5°C secara *in vitro*, ternyata dapat berkembang dari 1 – 4 sel menjadi delapan sel. Demikian pula penyimpanan embrio stadium morula dapat berkembang menjadi blastosis setelah mengalami penyimpanan, beberapa

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

blastosis mengalami pengembangan dan menetas (Moore dan Bilton, 1973).

Pemeriksaan secara mikroskopis yang dilakukan oleh Moore dan Bilton (1973), pada embrio yang mengalami penyimpanan pada suhu 5°C, tampak bahwa embrio yang tidak dapat melanjutkan perkembangan setelah dikulturkan pada suhu 37.5°C mengalami pembesaran sel atau terbentuk nukleus yang tidak normal. Keadaan seperti ini tidak terjadi pada embrio yang dapat melanjutkan perkembangannya. Demikian pula hasil yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan oleh Sreenan, Scanlon, dan Gordon (1970) pada embrio hewan ternak yang disimpan pada suhu 10°C, yaitu embrio yang tidak dapat melanjutkan perkembangan mengalami kerusakan pada nukleus dan terjadi mitosis yang abnormal.

BonDurant, Anderson, Boland, Cupps, dan Hughes (1982) melakukan penyimpanan embrio sapi pada suhu 4°C selama 48 jam. Dari penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa perkembangan embrio dapat ditahan dengan tetap mempertahankan kemampuan hidupnya. Kerusakan yang terjadi pada penelitian ini adalah pada blastosis. Kerusakan yang terjadi diduga karena adanya penghentian mekanisme transport aktif, sedangkan mekanisme transport aktif diketahui berperan memelihara blastosol.

Menurut Lindner *et al* (1983), embrio yang mengalami penyimpanan pada suhu rendah, tampak mengalami kerusakan





pada massa sel dalam atau *Inner Cell Mass* (ICM) dan trofoblas. Hasil penelitian Lindner, Anderson, BonDurant, Cupps, dan Goemann (1982) pada embrio sapi tahap blastosis yang disimpan dalam suhu 4°C selama 3 hari memperlihatkan sejumlah 9 sel trofoblas dan 68 ICM mati.

Ovum-ovum yang disimpan selama 72 jam, tampak mengalami degenarasi selama penyimpanan pada suhu 3°C. Ketika dilakukan pengamatan secara mikroskopik, ternyata sitoplasma blastomer menyebar ke dalam zona korteks.

Kerusakan yang disebabkan oleh pendinginan semakin berkurang dengan semakin meningkatnya stadium embrio (Lindner *et al*, 1983). Hal ini tampak dari hasil penelitian yang dilakukan pada embrio sapi, dimana morula dan blastosis dapat melanjutkan perkembangannya secara *in vitro* setelah mengalami penyimpanan pada suhu 4°C selama 48 jam, sedangkan embrio yang disimpan pada umur 2 dan 3 hari setelah estrus tidak dapat melanjutkan perkembangan. Hasil yang sama diperoleh pada penelitian yang dilakukan oleh Anderson dan Foote (1975) pada embrio kelinci. Embrio yang berumur 12 hari daya hidupnya (*viabilitas*) lebih rendah dibandingkan embrio yang berumur lebih dari 12 hari setelah mengalami penyimpanan pada suhu 10°C. Faktor lain yang mempengaruhi daya hidup embrio adalah lamanya penyimpanan pada suhu rendah (Lindner *et al* 1983; Anderson dan Foote, 1975; Sreenan *et al*, 1970).

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Metode yang digunakan dalam penurunan temperatur, juga berpengaruh terhadap viabilitas embrio (Sreenan et al, 1970; Chang, 1947). Dengan menggunakan metode penyimpanan secara cepat (*fast cooling*), setelah mengalami penyimpanan pada suhu 10°C hanya sekitar 18,7 persen embrio yang dapat berkembang. Pendinginan secara lambat yang dilakukan oleh Sreenan et al (1970) adalah sebagai berikut: Embrio ditempatkan di dalam tabung gelas, kemudian disimpan di dalam suatu wadah hampa udara yang berisi 300 ml air dengan suhu 37.5°C . Selanjutnya wadah hampa udara tersebut didinginkan pada suhu 10°C . Cara seperti ini memerlukan waktu yang relatif lambat untuk mencapai suhu 10°C , yaitu selama 8 jam. Penyimpanan embrio pada suhu rendah dengan menggunakan metode pendinginan secara lambat, memberikan hasil yang cukup tinggi, yaitu sekitar seratus persen embrio dapat melanjutkan perkembangan.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Januari 1991 sampai dengan bulan Maret 1991 di Laboratorium Zoologi, Laboratorium Ekologi, dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan ialah katak, larutan Holtfreter, akuades, kloroform. Alat yang digunakan ialah alat-alat diseksi, tabung reaksi dengan panjang 10 cm berdiameter 1 cm, gelas piala, pipet, cawan petri, kertas pH, *cooling incubator*, dan mikroskop stereo.

Metode

Katak yang digunakan adalah *Rana macrodon* jantan dan betina. Untuk mendapatkan telur katak sesuai dengan stadium yang diperlukam maka dilakukan pemijahan dan fertilisasi buatan. Sebelum melakukan pemijahan dan fertilisasi buatan, terlebih dahulu harus disediakan suspensi hipofisa dan suspensi spermatozoa.

Penyediaan Suspensi Hipofisa

Hipofisa diambil dari kepala katak dengan melakukan pembedahan. Pembedahan dilakukan dengan jalan melepaskan rahang bawah katak, kemudian bagian bawah tengkorak



digunting dengan jalan memasukkan ujung gunting ke dalam foramen magnum menuju mata kiri dan kanan. Potongan tulang diangkat dengan menggunakan pinset. Hipofisa diambil dan dibersihkan dari jaringan lain yang melekat, kemudian dibersihkan dengan larutan Holtfreter 10 persen. Suspensi hipofisa dibuat seperti berikut: Hipofisa bersih dihancurkan dalam 1 cc larutan Holtfreter 10 persen dengan penggerus jaringan. Suspensi yang diperoleh digunakan untuk perangsangan ovulasi pada katak betina.

Penyediaan Suspensi Spermatozoa

Suspensi spermatozoa diperoleh dengan cara memasukkan kedua testis katak dewasa ke dalam larutan Holtfreter 10 persen. Kemudian testis dipotong untuk mengeluarkan spermatozoa, dibiarkan selama 5 - 10 menit pada suhu kamar agar spermatozoa menjadi aktif.

Pemijahan dan Fertilisasi *in vitro*

Pemijahan buatan dilakukan dengan jalan menyuntikan suspensi hipofisa ke dalam tubuh katak betina dengan dosis 4 untuk tiap ekor katak. Dosis 4 berarti 4 buah hipofisa dalam 1 cc larutan Holtfreter 10 persen. Setelah disuntik secara intraabdominal, katak dibiarkan selama 8 - 12 jam di dalam akuarium, kemudian diuji apakah telah terjadi ovulasi. Bila terjadi ovulasi, telur dikeluarkan dengan cara memencet bagian lateral perut, dan ditampung dalam suspensi sperma sehingga terjadi

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



pembuahan (fertilisasi *in vitro*). Setelah dilakukan fertilisasi *in vitro*, telur dibiarkan berkembang mencapai stadium zigot, blastula, dan gastrula.

Penyediaan Medium untuk Penyimpanan Embrio

Medium yang digunakan untuk penyimpanan embrio adalah larutan Holtfreter 10 persen, dengan cara mengencerkan larutan Holtfreter. Komposisi larutan Holtfreter adalah sebagai berikut (Rugh, 1951): NaCl 0.35 gram, KCl 0.005 gram, CaCl₂ 0.01 gram, NaHCO₃ 0.02 gram, Akuades 100.00 ml.

Penyimpanan Telur Katak

Telur katak dari setiap tahap perkembangan (stadium) zigot, blastula, dan gastrula dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi 5 ml larutan Holtfreter 10 persen. Setiap perlakuan menggunakan 20 telur yang ditempatkan dalam empat tabung reaksi, masing-masing diisi dengan lima buah telur. Kemudian tabung reaksi tersebut ditempatkan di dalam gelas piala yang berukuran 600 ml dan berisi air 300 ml, selanjutnya ditempatkan di dalam *cooling incubator*. Lama penyimpanan telur di dalam *cooling incubator* dilakukan dalam tiga jangka waktu yang berbeda, yaitu 8 jam, 16 jam, dan 24 jam. Penyimpanan dilakukan pada suhu 5°C dan 10°C. Penggunaan banyaknya telur untuk setiap perlakuan dapat dilihat lebih jelas pada Tabel 1.



Tabel 1. Banyaknya Telur dengan Stadium Zigot, Blastula, dan Gastrula dalam Suhu dan Waktu Penyimpanan yang Berbeda

Stadium	Penyimpanan dalam suhu								
	5°C			10°C			25°C		
	waktu (jam)			waktu (jam)			waktu (jam)		
	8	16	24	8	16	24	8	16	24
Zigot	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Blastula	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Gastrula	20	20	20	20	20	20	20	20	20

sebagai kontrol dilakukan penyimpanan telur dalam cawan petri pada suhu kamar (pada saat melakukan penelitian sekitar 25°C). Setelah penyimpanan mencapai waktu yang ditetapkan, tabung dikeluarkan dan selanjutnya telur ditempatkan pada cawan petri. Pengamatan dilakukan terhadap stadium telur segera setelah dikeluarkan dari *cooling incubator*, dilanjutkan dengan pengamatan viabilitas, tingkat perkembangan embrio, penampakan dan morfologi embrio setelah mengalami penyimpanan. Pengamatan tingkat perkembangan embrio, dilakukan sampai terjadi penetasan. Stadium embrio ditetapkan menurut Shumway (1940) dalam Rugh (1951).



HASIL DAN PEMBAHASAN

Penghambatan Stadium Telur

Perkembangan Telur Selama Penyimpanan pada Suhu 5⁰C

Pengamatan perkembangan telur dengan berbagai stadium pada suhu 5⁰C diperoleh hasil sebagai berikut:

Sebagian besar telur dengan stadium dua atau zigot berkembang sebanyak satu tingkat menjadi stadium tiga atau dua sel selama penyimpanan. Setelah stadium tersebut dicapai, perkembangan stadium lebih lanjut dihambat. Persentase telur dengan stadium zigot yang berkembang sebanyak satu tingkat, memberikan hasil yang berbeda untuk setiap waktu penyimpanan (Tabel 2). Jumlah tertinggi terdapat pada telur yang mengalami penyimpanan selama 8 jam, yaitu 90 persen berkembang sebanyak satu tingkat. Jumlah terendah terdapat pada penyimpanan selama 16 jam yaitu 30 persen telur berkembang sebanyak satu tingkat. Perbedaan ini diduga disebabkan perbedaan kecepatan pertumbuhan dari masing-masing telur yang merupakan individu-individu yang berbeda.

Telur dengan stadium blastula maupun gastrula selama penyimpanan pada suhu 5⁰C tidak mengalami perkembangan lebih lanjut. Telur-telur tersebut tetap seperti keadaan semula yaitu stadium delapan atau stadium blastula awal dan stadium 10 atau stadium gastrula awal (Gambar 2). Jumlah telur yang tidak mengalami perkembangan,



menunjukkan hasil yang sama untuk jangka waktu penyimpanan 8 jam, 16 jam, dan 24 jam, masing-masing 100 persen untuk telur dengan stadium blastula awal dan gastrula awal. Dari sini dapat dilihat bahwa perbedaan waktu penyimpanan berpengaruh sama terhadap penghambatan perkembangan telur.

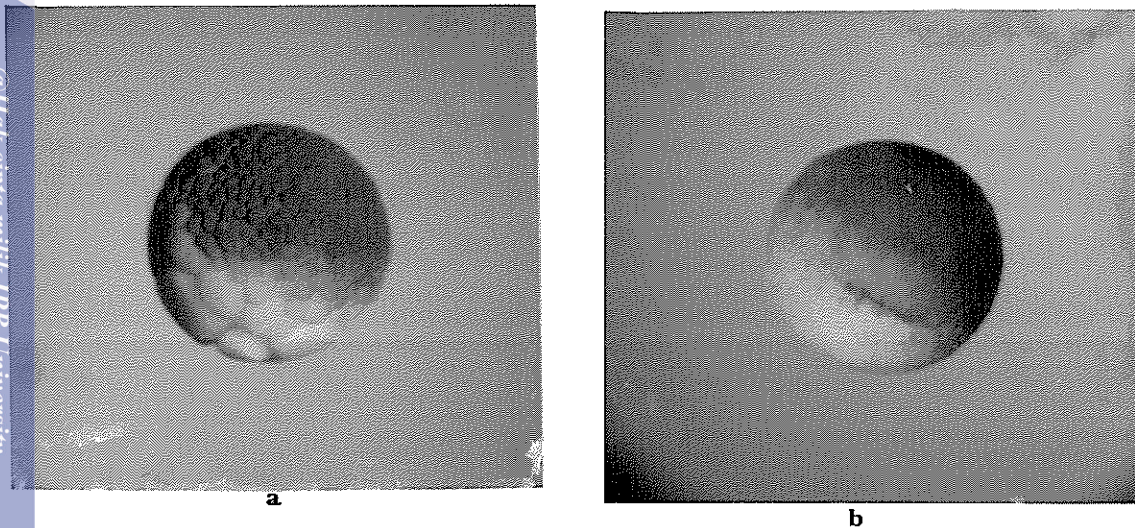
Tabel 2. Persentase Perkembangan Telur Selama Mengalami Penyimpanan pada Suhu 5°C

Stadium telur	Jangka waktu (jam)	n	Persentase Telur (%)			
			S2	S3	S8	S10
Zigot (S2)	8	20	10	90	—	—
	16	20	70	30	—	—
	24	20	40	60	—	—
Blastula (S8)	8	19			100	—
	16	20			100	—
	24	20			100	—
Gastrula (S10)	8	20				100
	16	18				100
	24	20				100

Keterangan:

- S2 = telur dalam keadaan stadium dua
 S3 = telur dalam keadaan stadium tiga
 S8 = telur dalam keadaan stadium delapan
 S10 = telur dalam keadaan stadium 10
 — = tidak terdapat perkembangan
 n = jumlah telur

Selama penyimpanan pada suhu 5°C, telur dengan stadium zigot mengalami perkembangan mencapai stadium dua sel, setelah itu perkembangan terhenti. Tidak demikian



Gambar 2. Keadaan Telur dengan Stadium Blastula Awal dan Gastrula Awal setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu 5°C
(a) tetap blastula awal
(b) tetap gastrula awal

halnya pada telur dengan stadium blastula dan gastrula, masing-masing telur tidak mengalami peningkatan stadium perkembangan selama penyimpanan. Berdasarkan hal tersebut dapat dinyatakan, bahwa perkembangan telur dengan stadium blastula dan gastrula pada suhu 5°C dapat dihambat secara total, sedangkan perkembangan telur dengan stadium zigot tidak dapat dihambat secara total.

Telur dengan stadium zigot walaupun tidak dapat dihambat secara total, tetap mengalami perlambatan dalam perkembangan. Hal ini tampak dari stadium perkembangan yang dicapai selama penyimpanan hanya mencapai stadium dua sel.

Perbedaan perkembangan antara telur dengan stadium zigot dengan stadium blastula dan gastrula pada suhu 5°C, diduga karena perkembangan pada stadium penyigaran (*cleavage*) memerlukan waktu lebih singkat dibandingkan perkembangan pada stadium blastula dan gastrula. Pada stadium penyigaran, dari stadium zigot (satu sel) memerlukan waktu maksimum satu jam untuk mencapai stadium 2 sel. Stadium blastula awal memerlukan waktu 3 jam untuk mencapai stadium blastula akhir, stadium gastrula awal memerlukan waktu 4 jam untuk mencapai stadium gastrula akhir. Hal ini sesuai dengan pendapat Balinsky (1970), bahwa perubahan kecepatan reproduksi antara periode pembelahan dan akhir perkembangan sangat jelas, dengan perkembangan pada masa penyigaran jauh lebih cepat daripada stadium selanjutnya. Menurut Davenport (1979) cepatnya perkembangan pada stadium penyigaran karena tidak adanya pertumbuhan selama penyigaran.

Perkembangan telur Selama Penyimpanan pada Suhu 10°C

Pengamatan perkembangan telur dengan berbagai stadium sesaat setelah dikeluarkan dari *cooling incubator* dengan suhu 10°C memberikan hasil seperti berikut (Tabel 3).

Telur dengan stadium zigot, sebagian besar mengalami perkembangan sebanyak tiga tingkat mencapai stadium lima atau stadium delapan sel selama penyimpanan, dan beberapa





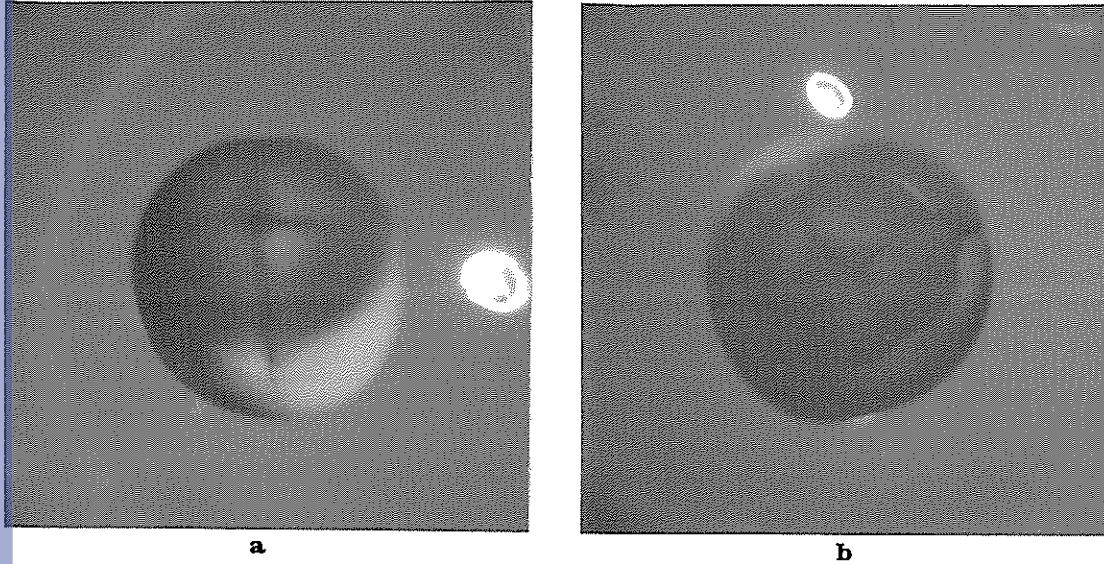
telur dalam keadaan stadium empat atau stadium empat sel (Gambar 3). Banyaknya telur yang dapat berkembang mempunyai jumlah yang berbeda untuk setiap waktu penyimpanan yang berbeda. Jumlah tertinggi terdapat pada penyimpanan selama 8 jam dan terendah pada penyimpanan selama 24 jam, masing-masing sebanyak 75 persen dan 50 persen. Keadaan ini seperti halnya pada suhu 5°C, diduga karena perbedaan sifat masing-masing individu telur.

Tabel 3. Persentase Perkembangan Telur Selama Mengalami Penyimpanan pada Suhu 10°C

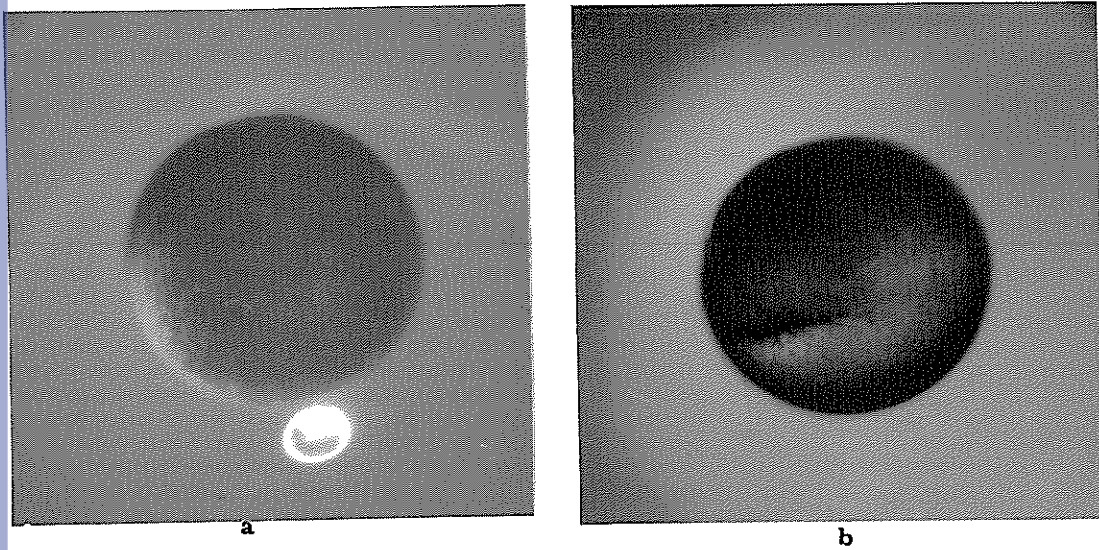
Stadium telur	Jangka waktu (jam)	n	Persentase telur (%)			
			S4	S5	S9	S11
Zigot (S2)	8	20	25	75	–	–
	16	20	35	65	–	–
	24	20	50	50	–	–
Blastula (S8)	8	20			100	–
	16	20			100	–
	24	20			100	–
Gastrula (S10)	8	19				100
	16	20				100
	24	20				100

Keterangan:

- S4 = telur dalam keadaan stadium empat
 S5 = telur dalam keadaan stadium lima
 S9 = telur dalam keadaan stadium sembilan
 S11 = telur dalam keadaan stadium 11
 – = tidak terdapat perkembangan
 n = jumlah telur



Gambar 3. Keadaan Telur dengan Stadium Zigot Setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu 10°C
(a) menjadi 4 sel
(b) menjadi 8 sel



Gambar 4. Keadaan Telur dengan Stadium Blastula dan Gastrula Setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu 10°C
(a) menjadi blastula akhir
(b) menjadi gastrula aktif

Telur dengan stadium blastula dan gastrula, mengalami perkembangan sebanyak satu tingkat selama penyimpanan pada suhu 10°C. Stadium blastula awal atau stadium delapan berkembang menjadi stadium sembilan atau stadium blastula akhir, sedangkan stadium gastrula awal atau stadium 10 menjadi stadium 11 atau stadium gastrula aktif (Gambar 4). Untuk setiap jangka waktu penyimpanan, banyaknya telur yang mengalami perkembangan sebanyak satu tingkat mempunyai jumlah yang sama yaitu 100 persen. Dari sini dapat dilihat bahwa lama penyimpanan yang berbeda memberikan hasil yang sama terhadap banyaknya telur dengan stadium blastula dan gastrula yang berkembang sebanyak satu tingkat.

Seperti halnya penyimpanan telur pada suhu 5°C, telur dengan stadium yang berbeda mempunyai kemampuan yang berbeda dalam berkembang selama mengalami penyimpanan pada suhu 10°C. Telur dengan stadium zigot berkembang sebanyak tiga tingkat menjadi 8 sel, sedangkan blastula dan gastrula hanya berkembang sebanyak satu tingkat.

Perkembangan Telur Selama Pemeliharaan dalam Suhu Kamar (Kontrol)

Pada suhu kamar, perkembangan telur dengan berbagai stadium memberikan hasil sebagai berikut (Tabel 4).

Selama 8 jam penyimpanan, semua telur (100 persen) dengan stadium zigot berkembang sebanyak tujuh tingkat mencapai stadium sembilan atau stadium blastula akhir.



Tabel 4. Persentase Telur dalam Peningkatan Stadium Perkembangan pada Suhu Kamar (kontrol).

Stadium telur	Jangka waktu (jam)	n	Persentase telur (%)						
			S9	S11	S12	S13	S14	S15	S17
Zigot (S2)	8	20	100	-	-	-	-	-	-
	16	19		85	-	-	-	-	-
	24	19			80	20	-	-	-
Blastula (S8)	8	20		100	-	-	-	-	-
	16	20		100	-	-	-	-	-
	24	20						100	-
Gastrula (S10)	8	20		100	-	-	-	-	-
	16	20					10	90	-
	24	20							100

keterangan:

- S9 = telur dalam keadaan stadium sembilan
 S11 = telur dalam keadaan stadium 11
 S12 = telur dalam keadaan stadium 12
 S13 = telur dalam keadaan stadium 13
 S14 = telur dalam keadaan stadium 14
 S15 = telur dalam keadaan stadium 15
 S17 = telur dalam keadaan stadium 17
 - = tidak terdapat perkembangan
 n = jumlah telur

Telur yang disimpan selama 16 jam telah berkembang sebanyak sembilan tingkat mencapai stadium 11 atau stadium gastrula aktif, sedangkan telur yang disimpan selama 24 jam telah berkembang sebanyak 10 tingkat sebanyak 80 persen mencapai stadium 12 atau stadium gastrula akhir, dua puluh persen lainnya telah meningkat 11 tingkat mencapai stadium 13 atau stadium keping neural.



Telur dengan stadium blastula yang disimpan selama 8 jam, seluruhnya (100 persen) berkembang sebanyak satu tingkat mencapai stadium sembilan atau blastula akhir. Semua telur yang disimpan selama 16 jam, juga berkembang sebanyak satu tingkat, sedangkan telur yang disimpan selama 24 jam seluruhnya telah berkembang sebanyak tujuh tingkat mencapai stadium 15 atau stadium rotasi.

Seratus persen telur dengan stadium gastrula yang disimpan selama 8 jam, perkembangannya meningkat sebanyak satu tingkat mencapai stadium 11 atau stadium gastrula aktif. Telur yang disimpan selama 16 jam telah berkembang sebanyak lima tingkat mencapai stadium 15 atau stadium rotasi, sedangkan semua telur (100 persen) yang disimpan selama 24 jam, seluruhnya berkembang sebanyak tujuh tingkat mencapai stadium 17 atau stadium tunas ekor.

Dengan melihat tingkat perkembangan telur dengan stadium zigot, blastula, dan gastrula pada suhu kamar, tampak bahwa semakin lama waktu penyimpanan banyaknya stadium yang dicapai semakin tinggi mengikuti perkembangan secara normal.

Pada telur dengan stadium blastula, selama 8 jam dan 16 jam penyimpanan, telur mengalami kenaikan tingkat perkembangan yang sama yaitu sebanyak tiga tingkat. Hal ini terjadi karena selama 8 jam, stadium blastula mencapai stadium gastrula aktif. Antara stadium gastrula

aktif (stadium 11) dan stadium berikutnya yaitu stadium 12 atau gastrula akhir yang disebut stadium hilangnya sumbat kuning telur (*disappearing yolk plug*), terdapat suatu keadaan yang disebut pembentukan sumbat kuning telur (*yolk plug formation*). Jadi selama 16 jam, telur baru mencapai keadaan pembentukan sumbat kuning telur.

Dengan membandingkan perkembangan telur dengan berbagai stadium yang disimpan pada suhu 5°C, 10°C dan suhu kamar, dapat dilihat bahwa pada penyimpanan dalam suhu 5°C, perkembangan telur dengan stadium dua atau stadium zigot selama 8, 16, dan 24 jam hanya mengalami kenaikan perkembangan sebanyak satu tingkat, sedangkan pada telur dengan stadium delapan atau stadium blastula awal dan stadium 10 atau stadium gastrula awal tidak terlihat adanya perkembangan. Penyimpanan telur dengan stadium zigot pada suhu 10°C, mengalami perkembangan sebanyak tiga tingkat, stadium blastula awal dan gastrula awal berkembang sebanyak satu tingkat. Sementara itu, penyimpanan telur dengan stadium zigot pada suhu kamar selama 8 jam, mencapai tujuh tingkat perkembangan, dan semakin lama waktu penyimpanan tingkat stadium yang dicapai semakin tinggi. Hal yang sama terjadi pula pada telur dengan stadium blastula dan gastrula. Dengan melihat hal ini dapat dinyatakan, bahwa semakin rendah suhu, perkembangan telur semakin lambat. Pada suhu 5°C dan 10°C telur dengan ketiga stadium tersebut dapat

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

dihambat perkembangannya. Hal ini sesuai dengan pendapat Rugh (1951), yaitu kecepatan perkembangan telur dan embrio katak tergantung pada suhu. Lambatnya Perkembangan telur pada suhu rendah mungkin disebabkan terhambatnya proses sintesis protein yang harus terjadi pada telur. Menurut Davenport (1979), sintesis protein merupakan dasar dari seluruh kehidupan.

Menurut Whittingham (1977), penyimpanan telur pada suhu mendekati 0°C , menyebabkan terjadinya ketidakstabilan komponen-komponen sel, khususnya enzim. Sedangkan enzim umumnya adalah protein katalisator untuk reaksi-reaksi kimia pada sistem biologi. Pada suhu rendah, karena aktivitas enzim tidak berada dalam kondisi yang optimum maka kerja enzim tidak optimal, yang menyebabkan reaksi-reaksi pada sel berlangsung lambat. Dengan demikian perkembangan sel pun menjadi lambat.

Perkembangan Telur pada Suhu Kamar setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu Rendah

Perkembangan Telur pada Suhu Kamar Setelah Disimpan pada Suhu 5°C

Data perkembangan telur dengan stadium zigot, blastula, dan gastrula pada suhu kamar setelah disimpan pada suhu 5°C disajikan pada Tabel 5.

Pada telur dengan stadium zigot yang disimpan selama 8 jam, mempunyai kemampuan tertinggi dalam melanjutkan

Tabel 5. Persentase Perkembangan Telur pada Suhu 5°C setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu 5°C

Stadium telur	Jangka waktu (jam)	n	Persentase telur (%)									
			S2	S3	S5	S8	S9	S10	S11	S16	S17	S19
Zigot (S2)	8	20	10		20	35			35	-	-	-
	16	20	60		10				30	-	-	-
	24	20	35	35		10			20	-	-	-
Blastula (S8)	8	19				15.79			84.21	-	-	-
	16	20							100	-	-	-
	24	20				65			35	-	-	-
Gastrula (S10)	8	20						5	5		10	80
	16	18						5.55	44.44	38.88	11.11	-
	24	20						70	30	-	-	-

keterangan

S2 = telur dalam keadaan stadium dua
 S3 = telur dalam keadaan stadium tiga
 S5 = telur dalam keadaan stadium lima
 S8 = telur dalam keadaan stadium delapan
 S9 = telur dalam keadaan stadium sembilan
 S10 = telur dalam keadaan stadium 10
 S11 = telur dalam keadaan stadium 11
 S16 = telur dalam keadaan stadium 16
 S17 = telur dalam keadaan stadium 17
 S19 = telur dalam keadaan stadium 19
 - = tidak berkembang lebih lanjut
 n = jumlah telur

perkembangan. Tiga puluh lima persen telur dapat berkembang sebanyak sembilan tingkat mencapai stadium 11 atau stadium gastrula aktif. Kemampuan berkembang terendah terdapat pada telur yang mengalami penyimpanan selama 24 jam, yaitu terdapat 20 persen telur yang dapat berkembang sebanyak sembilan tingkat mencapai stadium sembilan.

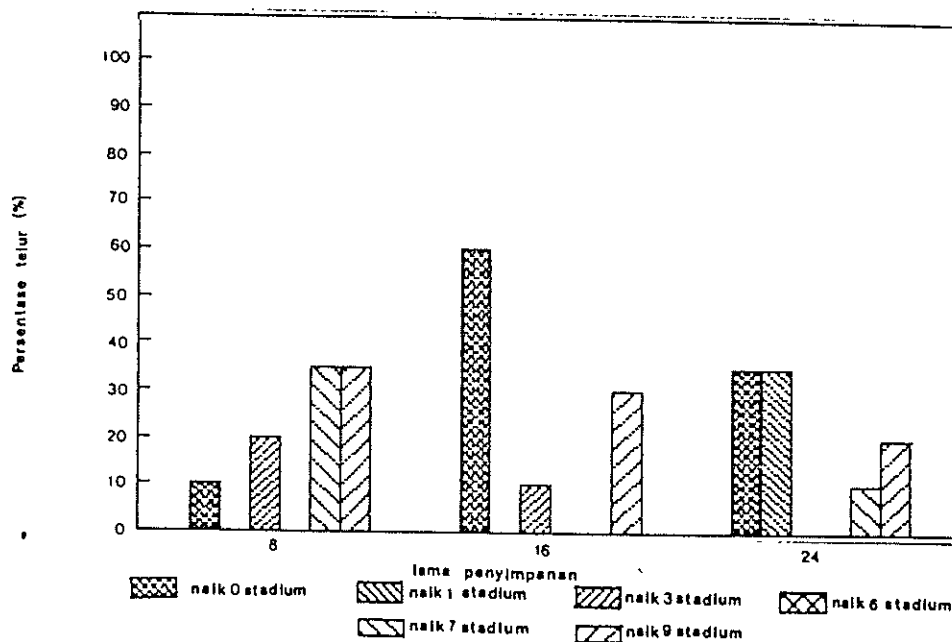
Telur dengan stadium blastula yang mengalami penyimpanan selama 16 jam, mempunyai kemampuan tertinggi untuk melanjutkan perkembangan dibandingkan dengan penyimpanan telur selama 8 jam dan 24 jam. Pada penyimpanan selama 16 jam terdapat 100 persen telur berkembang sebanyak 3 tingkat mencapai stadium 11 atau stadium gastrula aktif. Penyimpanan selama 24 jam mempunyai kemampuan terendah, yaitu hanya 35 persen telur dapat berkembang sebanyak tiga tingkat.

Penyimpanan telur dengan stadium gastrula selama 8 jam, mempunyai kemampuan tertinggi untuk melanjutkan perkembangan dibandingkan dengan penyimpanan selama 16 jam maupun 24 jam. Hasil penyimpanan selama 8 jam, terdapat 80 persen telur dapat berkembang sebanyak sembilan tingkat mencapai stadium 19 atau stadium denyut jantung (*heart beat*). Penyimpanan selama 24 jam mempunyai kemampuan terendah, hanya 35 persen telur yang dapat berkembang sebanyak satu tingkat mencapai stadium 11 atau stadium gastrula aktif, sisanya tidak mengalami perkembangan sama sekali.

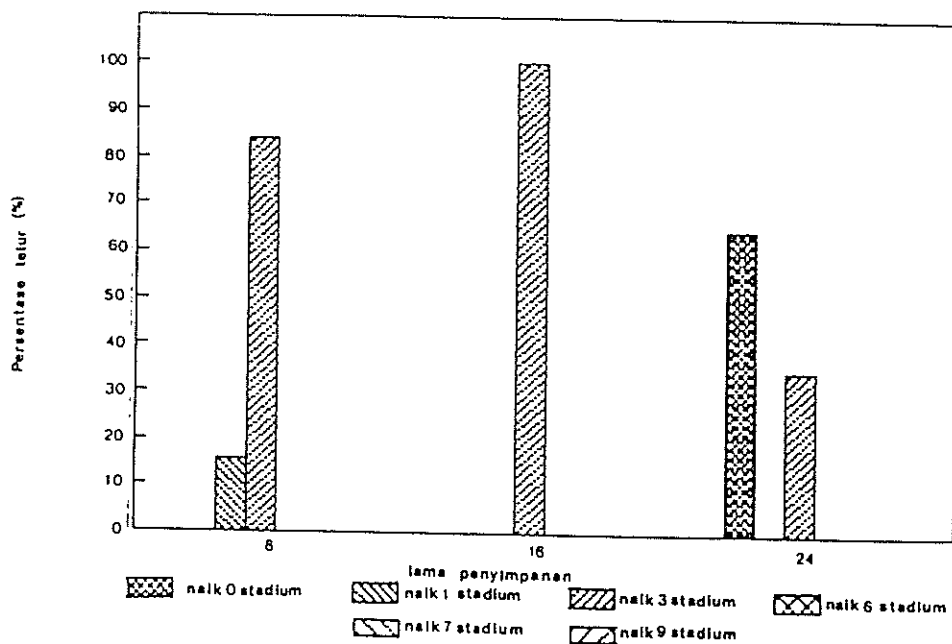
@Hak cipta milik IPB University

IPB University

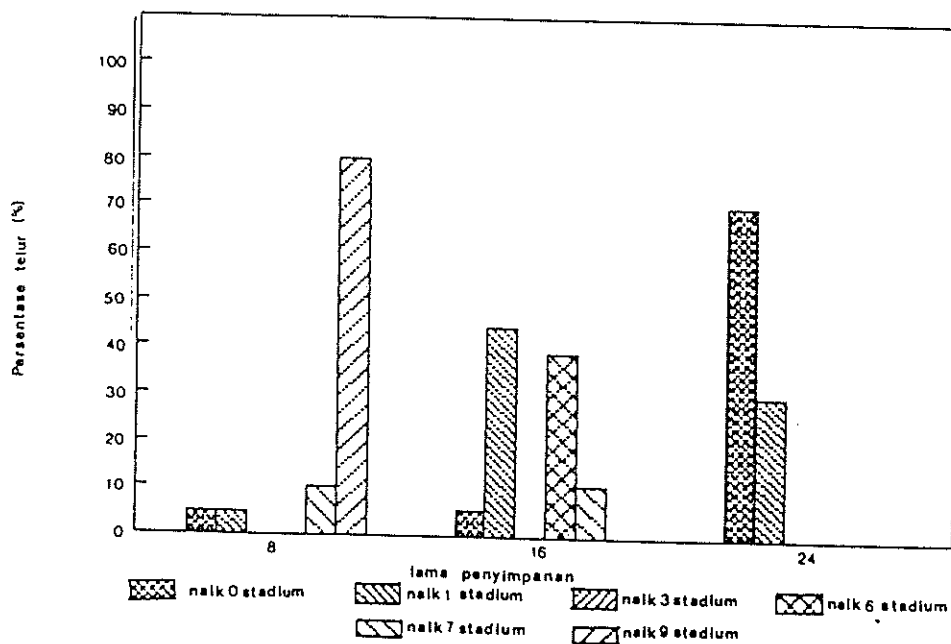
Berdasarkan hasil di atas, didapat bahwa kemampuan telur untuk melanjutkan perkembangannya pada suhu kamar setelah mengalami penyimpanan pada suhu 5°C , cenderung menurun dengan semakin lamanya waktu penyimpanan pada suhu 5°C (Gambar 5 dan 7). Pada stadium blastula terjadi kelainan, yaitu telur yang disimpan selama 16 jam justru mempunyai persentase tertinggi untuk berkembang sebanyak tiga tingkat. Histogram perkembangan telur dengan stadium blastula dapat dilihat pada Gambar 6. Pada Gambar 6 dapat dilihat, histogram penyimpanan telur



Gambar 5. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Zigot pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 5°C



Gambar 6. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Blastula pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 5°C

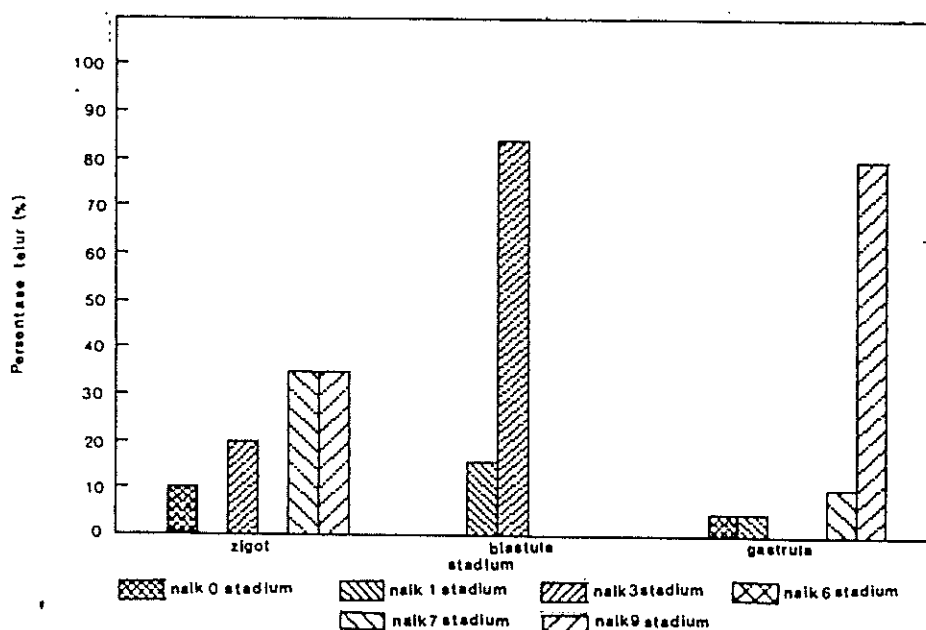


Gambar 7. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Gastrula pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 5°C

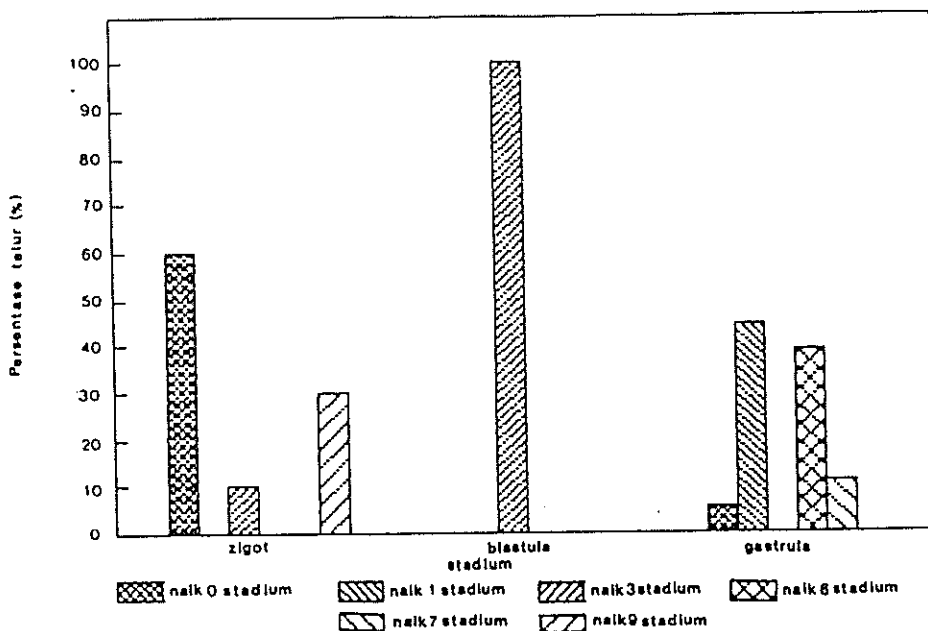


selama 16 jam lebih tinggi dibandingkan histogram penyimpanan selama 8 jam dan 24 jam.

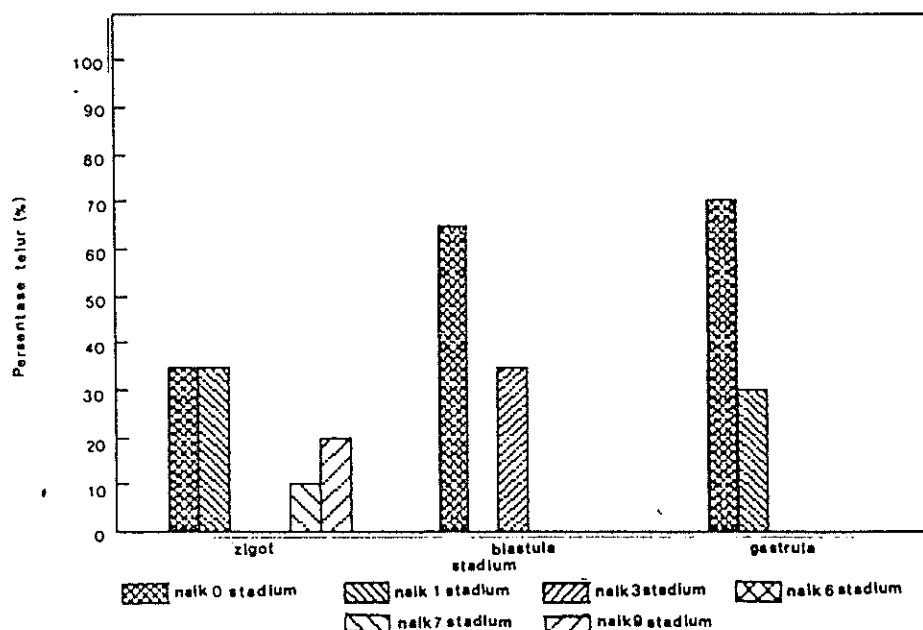
Berdasarkan Tabel 5. dapat dilihat bahwa masing-masing stadium telur mempunyai kemampuan yang berbeda dalam melanjutkan perkembangannya pada suhu kamar setelah mengalami penyimpanan pada suhu 5°C. Stadium gastrula mempunyai kemampuan tertinggi untuk berkembang bila dibandingkan stadium zigot dan blastula. Histogram perkembangan telur dengan berbagai stadium dalam waktu penyimpanan 8 jam, 16 jam, dan 24 jam dapat dilihat secara berturut-turut pada Gambar 8, 9, dan 10.



Gambar 8. Histogram Perkembangan Telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 8 Jam dalam Suhu 5°C



Gambar 9. Histogram Perkembangan Telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 16 jam pada Suhu 5°C



Gambar 10. Histogram Perkembangan Telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 24 jam pada Suhu 5°C



Setelah ditempatkan kembali pada suhu kamar, telur dengan stadium gastrula yang mengalami penyimpanan selama 8 jam, sebagian besar (80 persen) dapat berkembang sebanyak sembilan tingkat yaitu mencapai stadium 19 atau stadium denyut jantung (*heart beat*). Pada telur dengan stadium zigot sekitar 35 persen telur dapat berkembang sebanyak sembilan tingkat mencapai stadium 11 atau stadium gastrula aktif. Stadium blastula dapat berkembang hanya sebanyak tiga tingkat yaitu dari stadium blastula awal menjadi stadium gastrula aktif.

Pada penyimpanan selama 16 jam, tiga puluh persen telur dengan stadium zigot berkembang sebanyak sembilan tingkat menjadi stadium gastrula aktif, telur dengan stadium blastula berkembang lebih lanjut sebanyak tiga tingkat mencapai stadium gastrula aktif, sedangkan telur dengan stadium gastrula sebagian besar (38.88 persen) naik enam tingkat mencapai stadium 16 atau stadium tabung neural (*neural tube*).

Pada penyimpanan selama 24 jam, telur dengan stadium zigot justru mempunyai kemampuan berkembang yang lebih tinggi dibandingkan telur dengan stadium blastula dan gastrula. Telur dengan stadium zigot sebanyak 30 persen dapat berkembang sekurang-kurangnya sebanyak tujuh tingkat mencapai stadium sembilan atau stadium blastula akhir. Telur dengan stadium blastula hanya berkembang sebanyak tiga tingkat, sedangkan stadium gastrula

@Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

sebanyak 1 tingkat. Keadaan ini terjadi, diduga karena pengaruh lama penyimpanan. Disamping itu diketahui pula, stadium gastrulasi merupakan tahap kritis pada perkembangan embrio, karena pada tahap ini sel-sel tidak hanya membelah, tetapi juga mengalami diferensiasi, dan pada tahap ini embrio sangat sensitif terhadap perubahan fisik lingkungan (Rugh, 1951). Berdasarkan hal ini dapat diduga bahwa penyimpanan telur dengan stadium gastrula pada suhu 5°C selama 24 jam menyebabkan semakin banyaknya bagian-bagian sel yang mengalami kerusakan, dengan demikian sel sukar untuk melanjutkan perkembangan.

Lama waktu penyimpanan tampak berpengaruh terhadap kelanjutan perkembangan telur, yaitu semakin lama waktu penyimpanan, kemampuan telur untuk berkembang semakin kecil. Hal ini sesuai dengan pendapat Lindner *et al* (1983), bahwa semakin lama waktu penyimpanan kemampuan telur untuk hidup (viabilitas) semakin menurun.

Perkembangan Telur dalam Suhu Kamar setelah Disimpan pada Suhu 10°C

Telur dengan stadium zigot yang mengalami penyimpanan selama 8 jam, 16 jam dan 24 jam umumnya dapat berkembang sebanyak sembilan tingkat mencapai stadium 11 atau stadium gastrula aktif (Tabel 6). Terdapat 70 persen telur yang dapat berkembang sebanyak sembilan tingkat, setelah mengalami penyimpanan selama 8 jam, sedangkan dua puluh lima persen lainnya masih mampu berkembang sebanyak



12 tingkat mencapai stadium 15 atau stadium rotasi (*rotation*) dan lima persen lainnya mencapai stadium 17 atau stadium tunas ekor (*tail bud*). Pada telur yang disimpan selama 16 dan 24 jam, persentase telur yang dapat berkembang sebanyak sembilan tingkat masing-masing 100 persen dan 95 persen.

Tabel 6. Persentase Perkembangan Telur pada Suhu Kamar setelah Mengalami Penyimpanan pada Suhu 10°C

Stadium telur	Jangka waktu (jam)	n	Persentase telur (%)					
			S11	S14	S15	S17	S22	S23
Zigot (S2)	8	20	70	25		5	-	-
	16	20	100	-	-	-	-	-
	24	20	95	-	-	-	-	-
Blastula (S8)	8	20	75		25	-	-	-
	16	20	100	-	-	-	-	-
	24	20	100	-	-	-	-	-
Gastrula (S10)	8	19					31.58	68.42
	16	20					70	25
	24	20				5	95	-

keterangan:

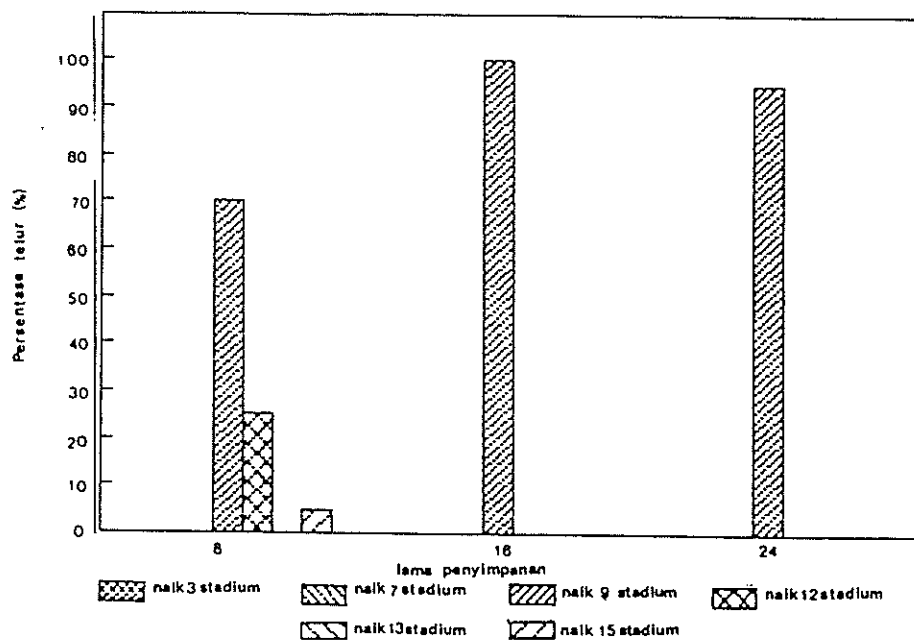
- S11 = telur dalam keadaan stadium 11
- S14 = telur dalam keadaan stadium 14
- S15 = telur dalam keadaan stadium 15
- S17 = telur dalam keadaan stadium 17
- S22 = telur dalam keadaan stadium 22
- S23 = telur dalam keadaan stadium 23
- = tidak berkembang lebih lanjut
- n = jumlah telur

Tujuh puluh lima persen telur dengan stadium blastula yang disimpan selama 8 jam berkembang sebanyak tiga tingkat mencapai stadium 11 atau stadium gastrula aktif, dua puluh lima persen lainnya mampu melanjutkan perkembangan sampai tujuh tingkat mencapai stadium 15 atau stadium rotasi. Pada penyimpanan selama 16 jam dan 24 jam, telur mengalami peningkatan yang sama yaitu seluruhnya berkembang sebanyak tiga tingkat mencapai stadium 11.

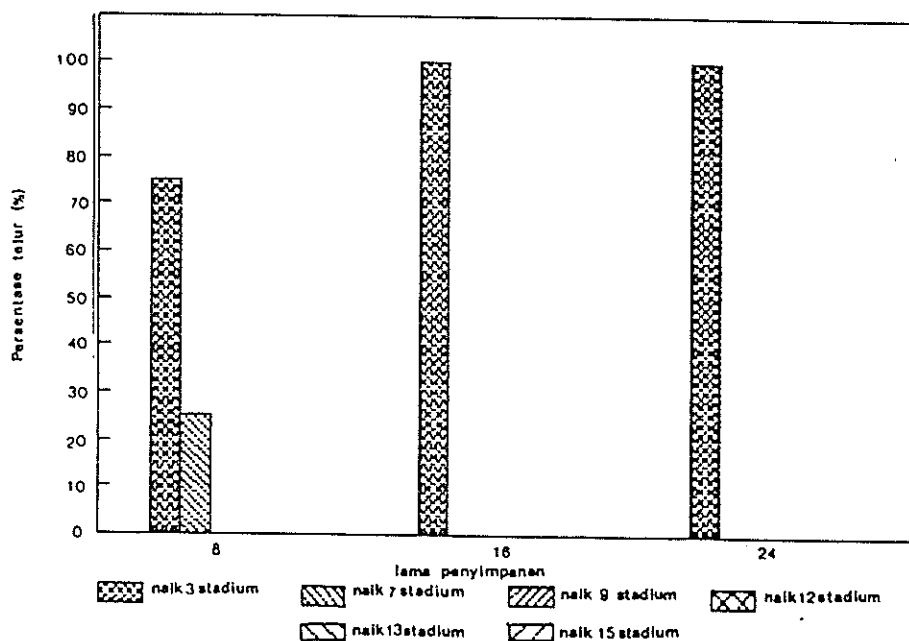
Pada telur dengan stadium gastrula yang disimpan selama 8 jam, tampak telur lebih mampu melanjutkan perkembangan untuk mencapai stadium yang lebih tinggi dibandingkan dengan penyimpanan telur selama 16 jam dan 24 jam, dan sebanyak 68.42 persen telur mampu berkembang sebanyak 13 tingkat, mencapai stadium 23 atau stadium lipatan operkulum (*opercular fold*), sisanya yaitu 31.58 persen telur berkembang sebanyak 12 tingkat mencapai stadium 22 atau stadium sirip ekor (*tail fin circulation*). Penyimpanan selama 24 jam mempunyai kemampuan terendah, yaitu 95 persen telur berkembang sebanyak 12 tingkat mencapai stadium 22. Untuk lebih jelas dapat dilihat histogram perkembangan telur dengan stadium gastrula pada Gambar 13.

Dengan melihat perkembangan telur pada berbagai stadium dengan waktu penyimpanan 8 jam, 16 jam, dan 24 jam tampak bahwa semakin lama waktu penyimpanan kemampuan telur untuk berkembang cenderung semakin menurun. Pada

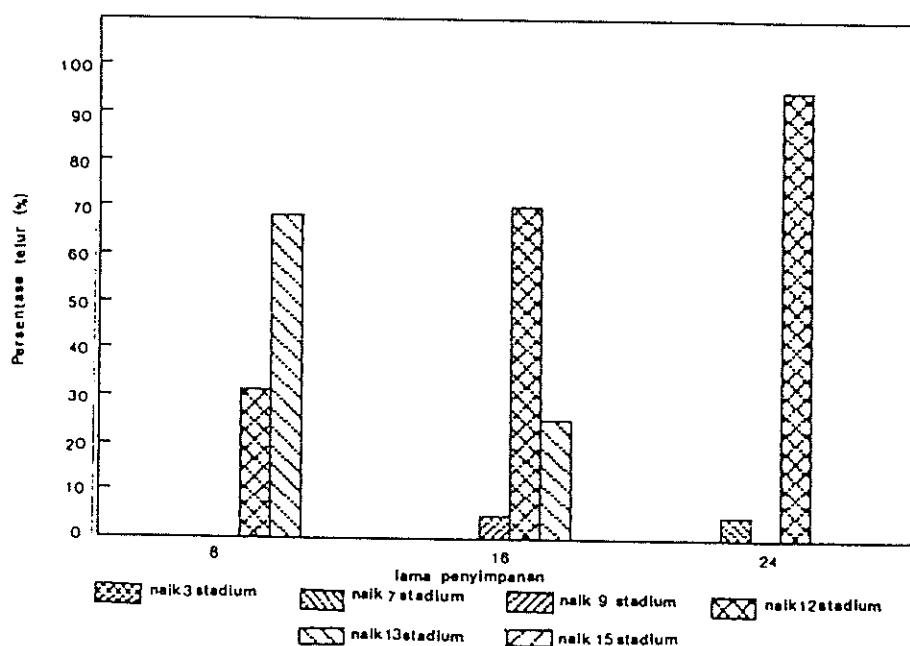
- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 11. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Zigot pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 10°C



Gambar 12. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Blastula pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 10°C



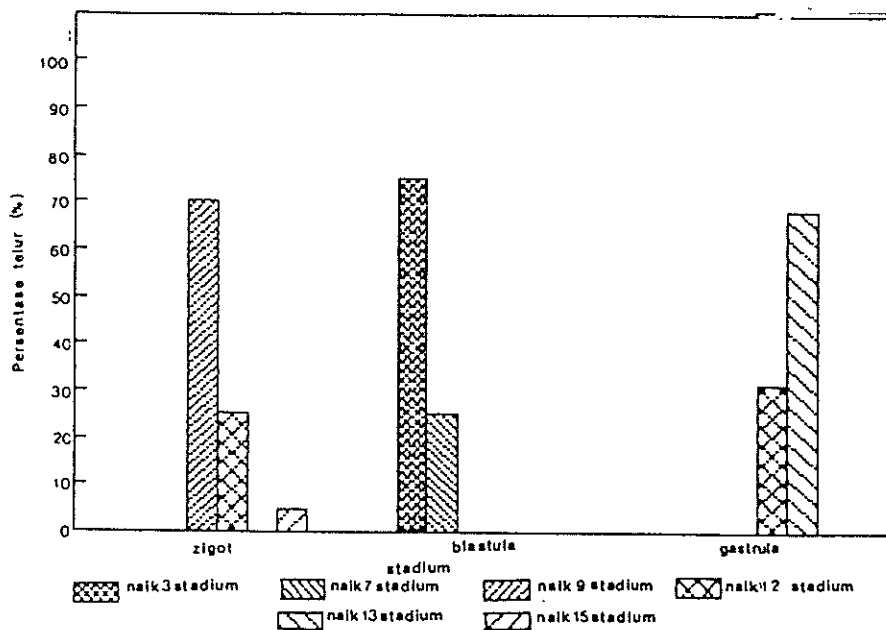
Gambar 13. Histogram Perkembangan Telur dengan Stadium Gastrula pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan pada Suhu 10°C

stadium zigot dan blastula, penurunan perkembangan masing-masing tidak begitu tampak antara waktu penyimpanan selama 16 jam dan 24 jam. Untuk lebih jelas dapat dilihat histogram perkembangan telur dengan stadium zigot dan blastula pada Gambar 11 dan 12. Pada stadium zigot antara penyimpanan 16 jam dan 24 jam, histogram tampak hampir sama tingginya, dan pada stadium blastula, penyimpanan 16 jam dan 24 jam mempunyai tinggi histogram yang sama.

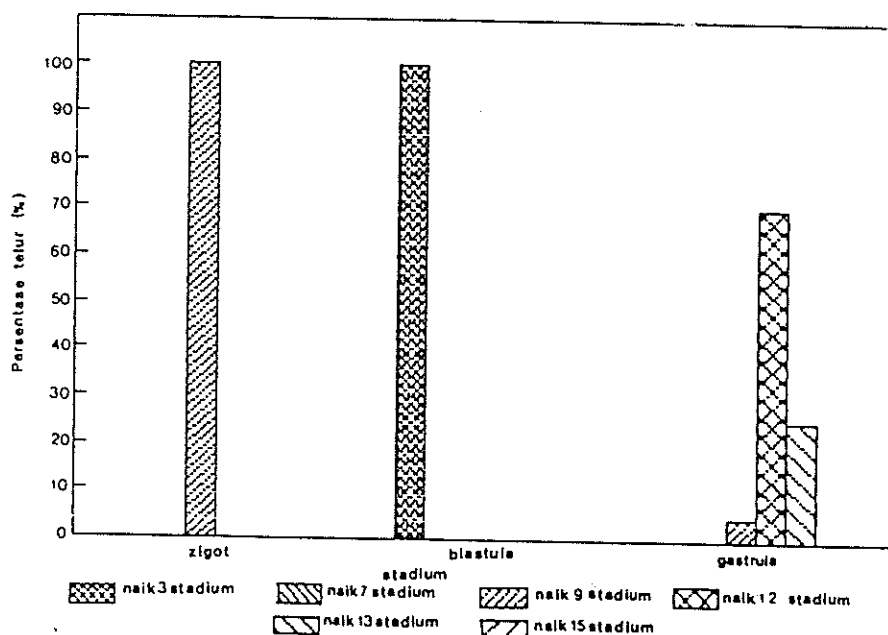
Seperti halnya penyimpanan pada suhu 5°C, penyimpanan telur pada suhu 10°C memberikan hasil yang berbeda



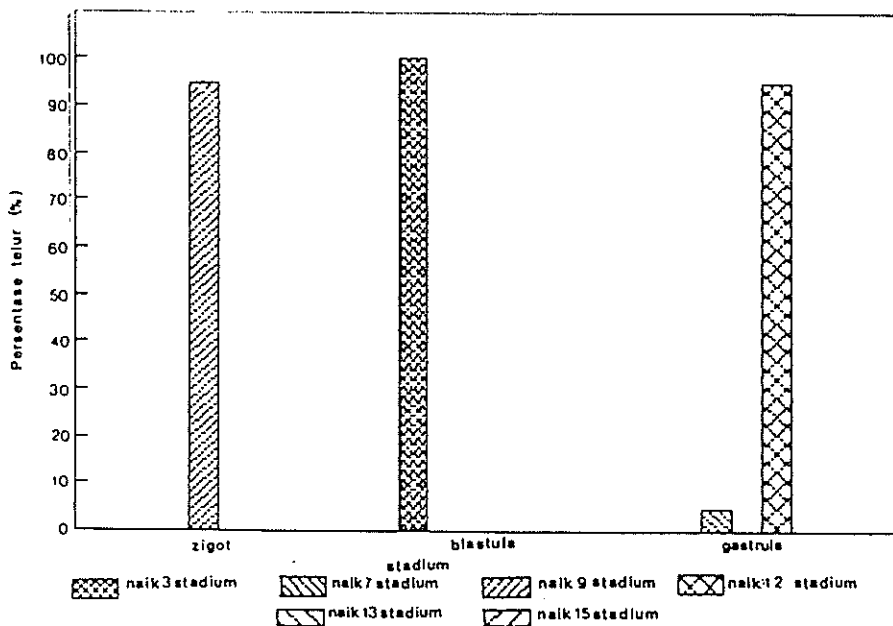
- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 14. Histogram Perkembangan Telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 8 Jam pada Suhu 10°C



Gambar 15. Histogram Perkembangan Telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 16 Jam pada Suhu 10°C



Gambar 16. Histogram Perkembangan Telur dengan Berbagai Stadium pada Suhu Kamar setelah Penyimpanan Selama 24 Jam pada Suhu 10°C



Gambar 17. Embrio dengan Stadium Lipatan Operkulum (*Opercular Fold*)



untuk stadium yang berbeda dalam melanjutkan perkembangannya (Gambar 14, 15, dan 16). Stadium gastrula mempunyai kemampuan tertinggi, yaitu dapat berkembang sebanyak 12 tingkat mencapai stadium 22 atau stadium sirkulasi sirip ekor (*tail fin circulation*) pada penyimpanan selama 16 jam dan 24 jam. Tingkatan stadium yang lebih tinggi terdapat pada penyimpanan selama 8 jam, yaitu dapat berkembang sebanyak 13 tingkat mencapai stadium 23 atau stadium lipatan operkulum (*opercular fold*) (Gambar 17). Stadium zigot dapat berkembang sebanyak sembilan tingkat mencapai stadium gastrula aktif, sedangkan stadium blastula berkembang sebanyak tiga tingkat mencapai stadium gastrula aktif.

Telur pada stadium yang berbeda mempunyai kemampuan yang berbeda untuk melanjutkan perkembangan, dan telur dengan stadium gastrula mempunyai kemampuan tertinggi untuk berkembang. Menurut Davidson (1986), pada proses gastrulasi, sisi bawah dari sabit kelabu menjadi bibir dorsal blastopor, yang merupakan tempat pembentukan struktur dorsal dari neurula. Menurut Barth (1953), daerah bagian atas bibir dorsal telur amfibia, disebut *organizer* karena mempunyai kemampuan menyusun ektoderm menjadi sistem saraf. Daerah di atas bibir dorsal tersebut adalah bakat kordamesoderm, yang akan berinvasi membentuk atap rongga gastrula (arkenteron). Atap ini akan bersentuhan dengan bakat keping neural (*neural plate*),

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

1. Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 - a. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - b. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
2. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
3. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

dan sentuhan ini akan merangsang pembentukan keping neural. Proses perangsangan tersebut disebut rangsangan embrio (*embryonic induction*). Pada penelitian ini, telur dengan stadium gastrula awal yang disimpan pada suhu 5°C dan 10°C telah membentuk bibir dorsal, sehingga telah terbentuk daerah yang akan merangsang pembentukan keping neural. Dengan telah terbentuknya daerah tersebut, diduga akan memudahkan proses selanjutnya yaitu invaginasi daerah kordomesoderm menuju bakat keping neural, dan pada akhirnya terbentuk keping neural. Setelah terbentuk keping neural, akan terjadi tahap-tahap selanjutnya dalam proses neurulasi.

Kemampuan yang rendah pada telur dengan stadium zigot dan blastula untuk melanjutkan perkembangan, diduga karena pada stadium ini belum terbentuk bibir dorsal yang akan merangsang pembentukan keping neural. Penyimpanan telur dalam suhu 10°C masih memberikan kemampuan pada telur dengan stadium zigot dan blastula untuk berkembang mencapai stadium 11 atau stadium gastrula aktif, selanjutnya telur tidak mengalami perkembangan. Hal ini diduga karena pergerakan kordomesoderm tidak dapat mencapai bakat keping neural. Selain itu, kerusakan dapat juga terjadi pada zat-zat kimia yang merupakan perangsang bagi pembentukan keping neural.

Kemampuan tertinggi pada telur dengan stadium gastrula untuk melanjutkan perkembangan bertentangan dengan

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



pendapat Rugh (1951), yang menyatakan bahwa stadium gastrulasi merupakan tahap kritis pada perkembangan embrio.

Perkembangan Telur Lebih Lanjut Selama Pemeliharaan pada Suhu Kamar (Kontrol)

Perkembangan lebih lanjut pada telur yang disimpan pada suhu kamar (sebagai kontrol), memperlihatkan bahwa telur dengan berbagai stadium dan berbagai jangka waktu penyimpanan, yaitu 8 jam, 16 jam, dan 24 jam dapat berkembang mencapai stadium 23 atau stadium lipatan

Tabel 7. Persentase Perkembangan Telur Lebih Lanjut pada Suhu Kamar (Kontrol)

Stadium telur	Jangka waktu (jam)	n	Persentase telur (%)			
			S20	S21	S22	S23
Zigot (S2)	8	20			35	45
	16	19			10.53	63.16
	24	19			15.79	78.95
Blastula (S8)	8	20				100
	16	20	15	5	5	75
	24	20	15		15	70
Gastrula (S10)	8	20				100
	16	20				100
	24	20			10	90

keterangan:

S20 = telur dalam keadaan stadium 20

S21 = telur dalam keadaan stadium 21

S22 = telur dalam keadaan stadium 22

S23 = telur dalam keadaan stadium 23

n = jumlah telur

operkulum, setelah dibiarkan berkembang selama enam hari (Tabel 7). Pada telur kontrol dengan stadium zigot untuk jangka waktu penyimpanan selama 8 jam, hanya terdapat 45 persen telur yang dapat menetas, sedangkan untuk jangka waktu penyimpanan selama 16 jam dan 24 jam masing-masing terdapat 63.16 persen dan 78.95 persen telur yang dapat menetas.

Telur kontrol dengan stadium blastula untuk jangka waktu penyimpanan selama 8 jam seluruhnya (100 persen) dapat menetas, sedangkan telur kontrol untuk jangka waktu penyimpanan 16 jam dan 24 jam masing-masing terdapat 75 persen dan 70 persen telur yang dapat menetas.

Telur kontrol dengan stadium gastrula untuk jangka waktu penyimpanan selama 8 jam dan 16 jam masing-masing dapat berkembang mencapai tahap penetasan sebanyak 100 persen, sedangkan untuk jangka waktu penyimpanan selama 24 jam terdapat 90 persen telur yang dapat menetas.

Dengan membandingkan hasil dari penyimpanan pada tiga suhu yang berbeda, tampak bahwa suhu berpengaruh terhadap perkembangan telur. Untuk penahanan perkembangan, penyimpanan pada suhu 5°C memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan penyimpanan pada 10°C, sedangkan untuk kelanjutan perkembangan telur, penyimpanan pada suhu 10°C memberikan hasil yang lebih baik. Penurunan daya hidup (viabilitas) telur pada suhu yang semakin rendah, diduga karena adanya bagian-bagian sel

yang mengalami kerusakan. Menurut Mohr dan Trounson (1981), ciri yang paling menyolok pada telur yang mengalami pendinginan adalah hilangnya keteraturan sitoplasma, yang berpengaruh terhadap kekacauan penempatan organel-organel subseluler. Kelainan yang terjadi ini, kemungkinan akan mengganggu fungsi-fungsi dari organel-organel tersebut, sehingga aktivitas sel tidak berlangsung normal. Gangguan tersebut mungkin saja terjadi pada mitokondrion yang berfungsi menyediakan energi untuk aktivitas sel. Dengan demikian penyediaan energi untuk aktivitas sel tidak semestinya, sehingga telur sukar untuk melanjutkan perkembangan.

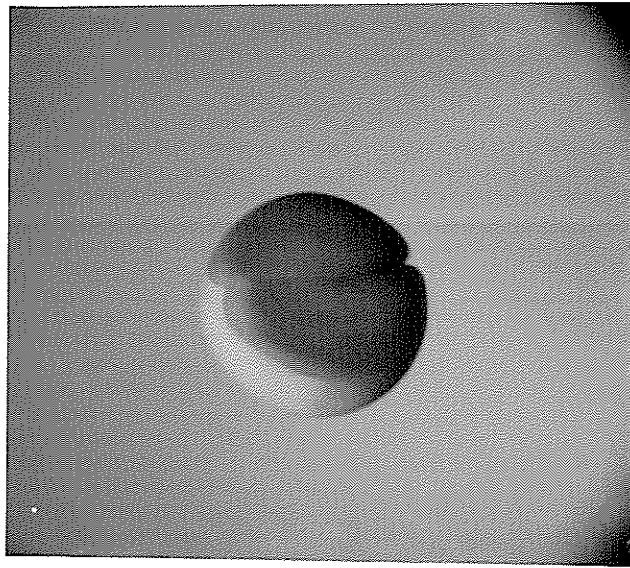
Abnormalitas

Abnormalitas pada Telur dan Embrio sebagai Hasil Penyimpanan pada Suhu 5°C.

Perkembangan telur setelah mengalami penyimpanan pada suhu 5°C memperlihatkan morfologi yang tidak normal. Keadaan abnormal ditetapkan menurut Rugh (1949).

Beberapa telur dengan stadium zigot yang mengalami penyimpanan selama 8 jam, mengalami perkembangan menjadi dua sel, tetapi pembelahan hanya terjadi pada kutub animal sedangkan pada kutub vegetal belum mengalami pembelahan, seperti tampak pada Gambar 18.

Tidak meratanya pembelahan diduga karena penyebaran kuning telur yang tidak merata. Pada telur katak, kuning

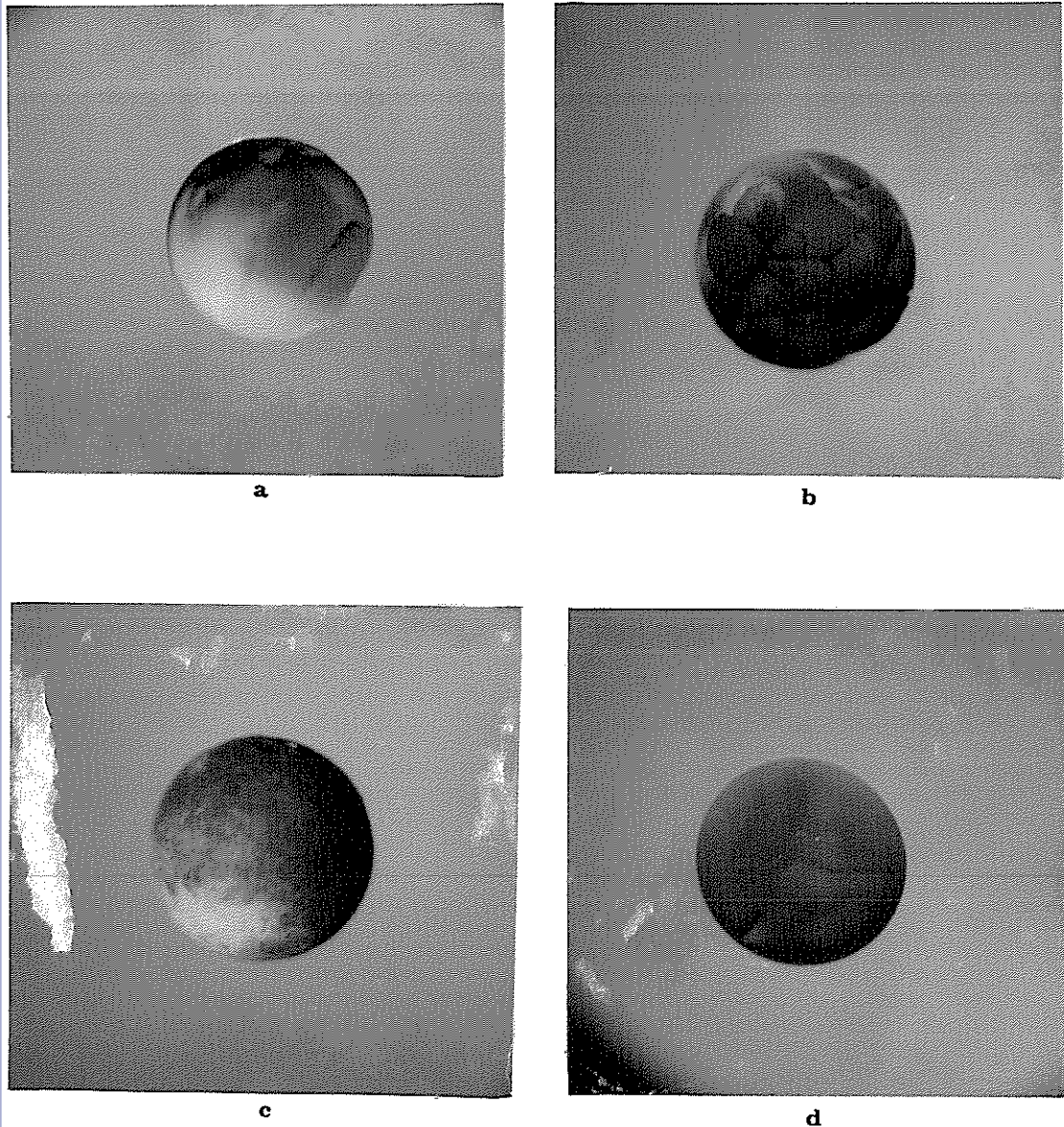


Gambar 18. Telur dalam Keadaan 2 Sel Tidak Normal

telur lebih banyak terkonsentrasi pada kutub vegetal. Hal ini sesuai dengan pendapat Oppenheimer (1980), bahwa kuning telur menahan majunya bidang pembelahan menuju daerah vegetal. Begitu pula menurut Balinsky (1970), kuning telur yang terdapat pada awal pembelahan dalam jumlah banyak, berpengaruh kuat terhadap proses pembelahan. Jadi selama penyimpanan karena pada kutub vegetal pembelahan jauh lebih lambat, disertai suhu yang rendah, maka pembelahan belum sempat terjadi.

Pada perkembangan selanjutnya, hampir seluruh telur berkembang tidak normal. Telur stadium zigot yang mengalami penyimpanan selama 8 jam, 16 jam, dan 24 jam dapat berkembang ketika dipelihara pada suhu kamar, dengan

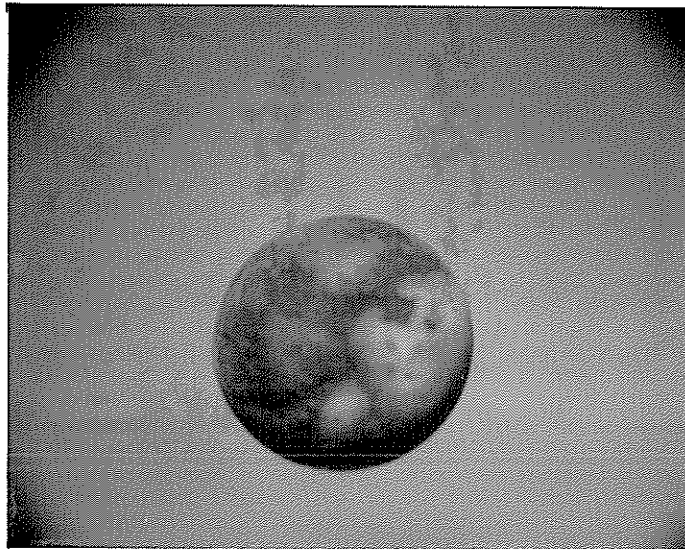
perkembangan yang tidak normal. Abnormalitas yang terjadi adalah terbentuknya sel-sel yang tidak beraturan selama stadium penyigaran, dan pada akhirnya berkembang



Gambar 19. Perkembangan Telur yang Tidak Normal Hasil dari Penyimpanan Telur dengan Stadium Zigot pada Suhu 5°C
(a) hasil penyimpanan 8 jam
(b),(c) hasil penyimpanan 16 jam
(d) hasil penyimpanan 24 jam



menjadi eksogastrula (Gambar 20). Berbagai bentuk perkembangan telur dengan stadium zigot yang abnormal setelah mengalami penyimpanan pada suhu 5°C dapat dilihat pada Gambar 19.

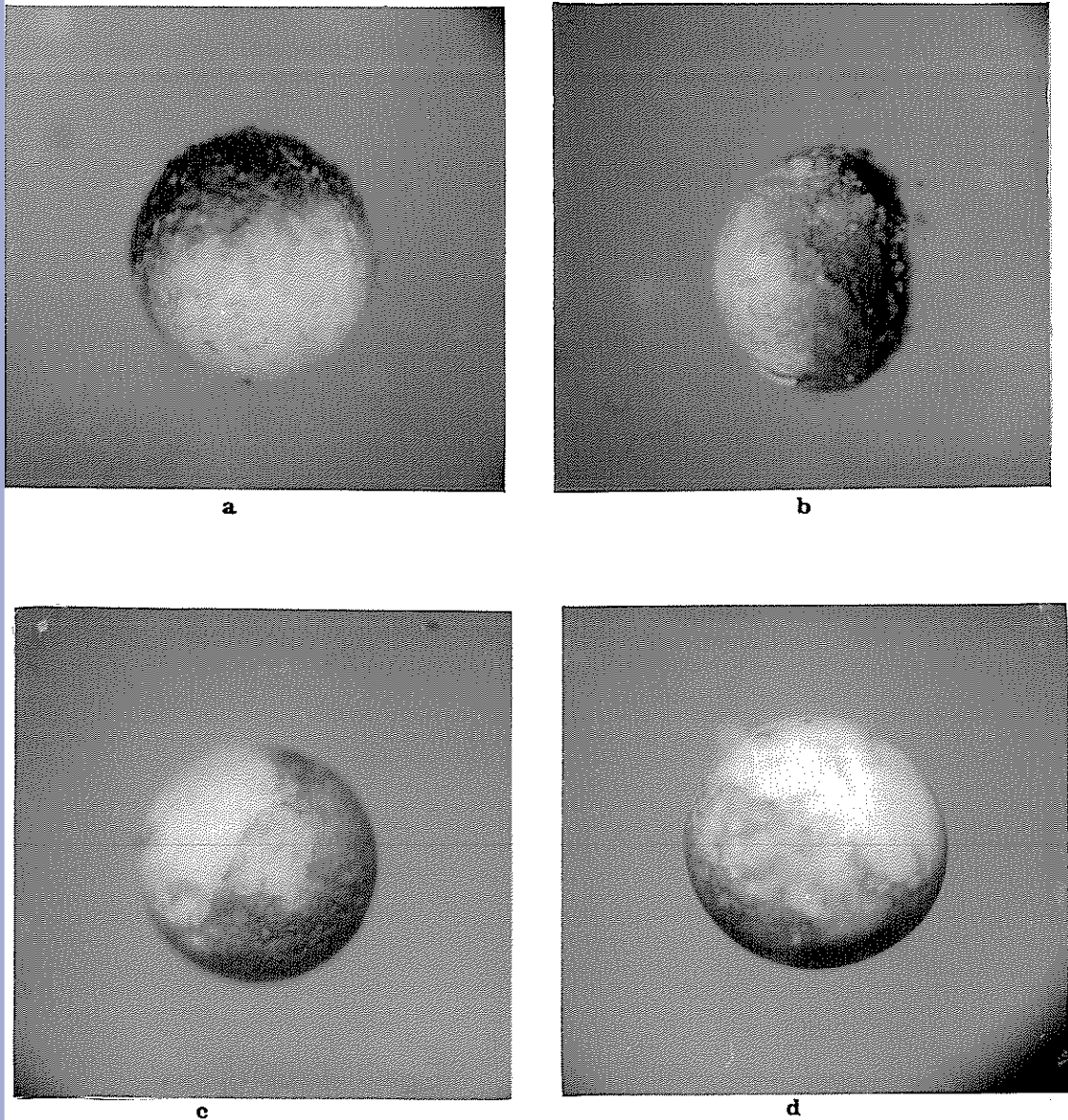


Gambar 20. Telur dalam Keadaan Eksogastrula Hasil dari Penyimpanan Telur dengan Stadium Zigot pada Suhu 5°C

Telur dengan stadium blastula yang mengalami penyimpanan selama 8 jam, 16 jam, dan 24 jam, seluruhnya berkembang secara abnormal menjadi eksogastrula (Gambar 21).

Eksogastrula terjadi karena tekanan epiboli tidak disertai tekanan emboli (Nelsen, 1953). Dalam keadaan normal, epiboli diiringi oleh emboli. Epiboli atau perluasan ektoderm meliputi pergerakan presumtif (bakat) epidermis dan daerah neural selama proses gastrulasi. Selama epiboli berlangsung, terjadi pergerakan

morfogenetik emboli yang menggerakkan daerah bakal kordamesoderm dan ektoderm menuju ke dalam dan meluas sepanjang sumbu antero-posterior pada pembentukan embrio.



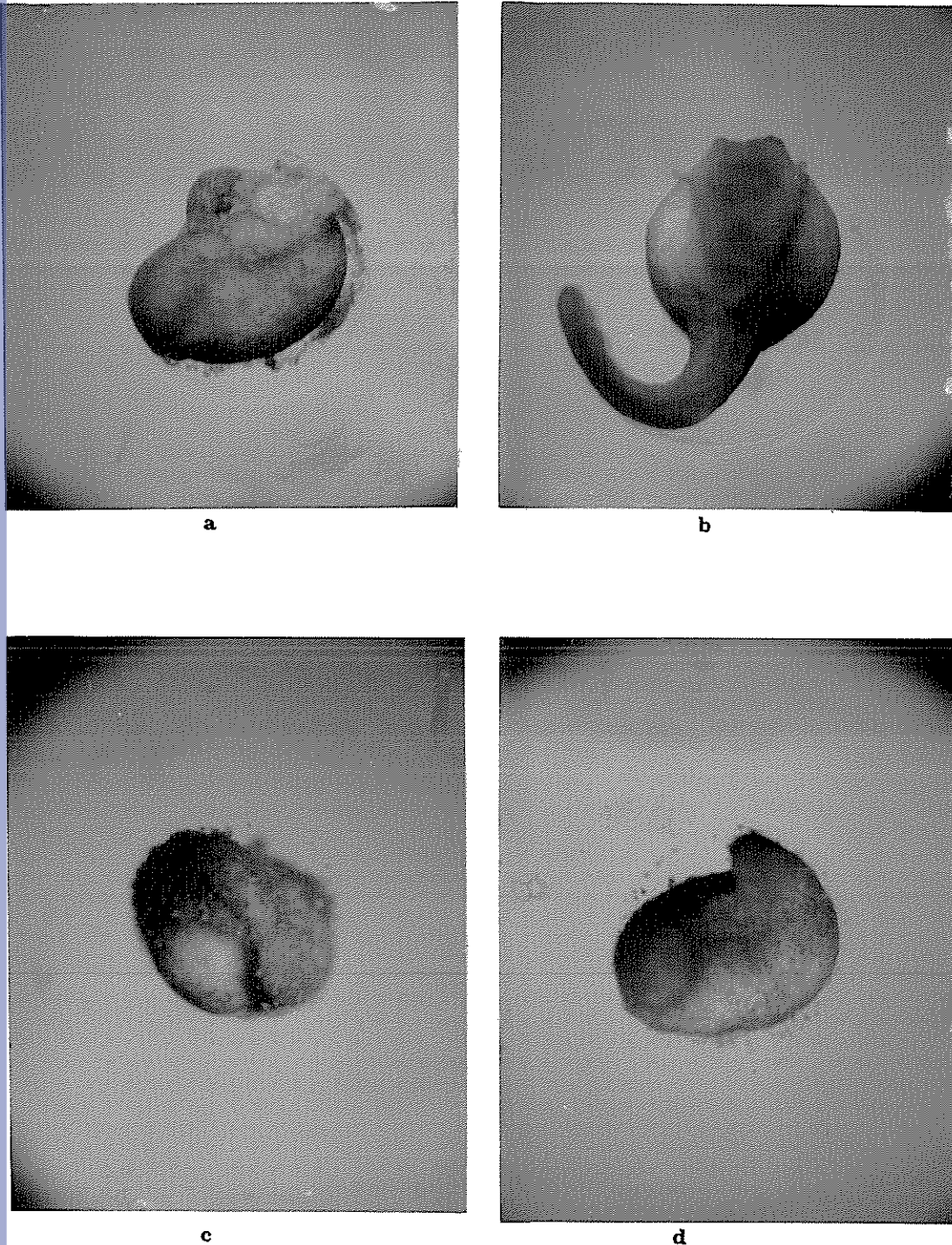
Gambar 21. Perkembangan Telur yang Tidak Normal Hasil dari Penyimpanan Telur dengan Stadium Blastula pada Suhu 5°C
(a),(b) hasil penyimpanan selama 8 jam
(c) hasil penyimpanan selama 16 jam
(d) hasil penyimpanan selama 24 jam

Menurut Barth (1953), pada telur yang mengalami eksogastrula terjadi proses sebagai berikut; Daerah bakal notokorda dan endoderm yang seharusnya mengalami invaginasi, dalam keadaan tidak normal seperti ini akan mengalami evaginasi, sehingga bakal notokord meluas sepanjang sisi dorsal, sedangkan daerah bakal endoderm meluas sepanjang daerah ventral. Keadaan ini mengakibatkan mesoderm dan endoderm tidak ditutupi oleh ektoderm, sehingga terbentuk eksogastrula.

Delapan puluh persen telur dengan stadium gastrula yang disimpan selama 8 jam dapat berkembang secara normal sampai dengan stadium 18 atau stadium respon otot (*muscular respon*). Sedangkan sepuluh persen telur lainnya berkembang mencapai stadium 17 atau stadium tunas ekor (*tail bud*) yang tidak normal yaitu kuning telur terbuka pada bagian lateral (Gambar 22a). Lima persen telur membentuk eksogastrula (Gambar 23a). Pada perkembangan selanjutnya telur yang mengalami stadium 18 (*muscular respon*) berkembang secara tidak normal yaitu mencapai stadium 19 atau stadium denyut jantung (*heart beat*) dengan bagian ventral yang menggembung (Gambar 22b).

Telur dengan stadium gastrula yang disimpan selama 16 jam dapat berkembang secara normal hanya sampai dengan stadium 12 atau stadium gastrula akhir (*late gastrula*). Selanjutnya telur berkembang tidak normal. Sebanyak





Gambar 22. Embrio Tidak Normal Hasil dari Perkembangan Telur dengan Stadium Gastrula yang Disimpan pada Suhu 5°C
(a), (b) hasil penyimpanan selama 8 jam
(c), (d) hasil penyimpanan selama 16 jam

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

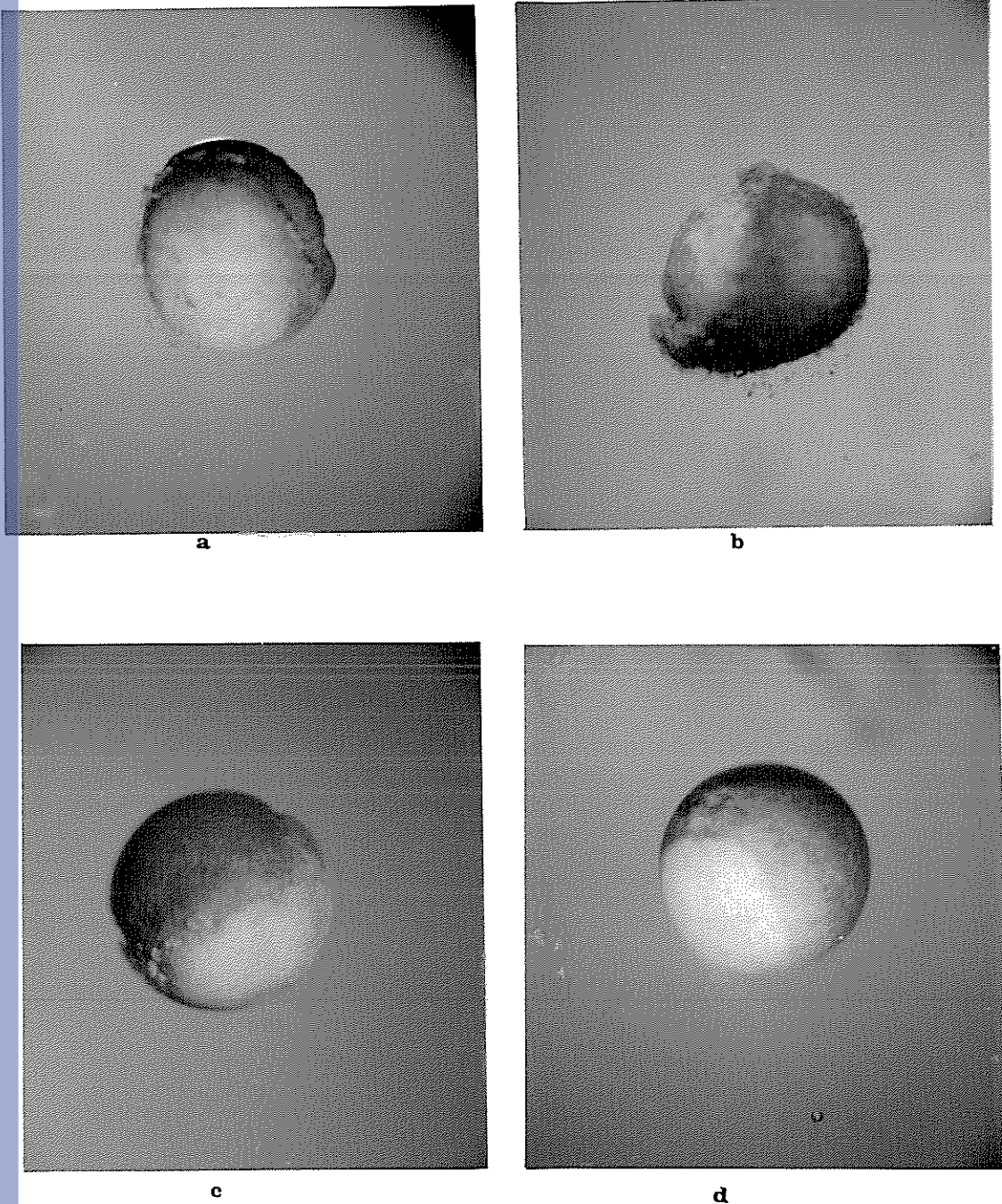


48.75 persen telur membentuk hemi embrio (Gambar 22c dan d), dan sebanyak 45 persen telur membentuk eksogastrula (Gambar 23 b). Pada Gambar 22c. menunjukkan hemi embrio yang disebabkan invaginasi tidak sempurna. Gambar 22d adalah hemi embrio yang disebabkan oleh perkembangan tidak sempurna pada daerah kepala. Menurut Barth (1953), seperti halnya pada pembentukan keping neural (*neural plate*) yang memerlukan adanya *organizer*, pada pembentukan kepala dan badan (termasuk ekor), juga terdapat *organizer* yang merupakan stimulan untuk terbentuknya kepala dan badan. Perkembangan yang tidak sempurna pada daerah kepala diduga karena terganggunya *organizer* tersebut.

Telur dengan stadium gastrula yang disimpan selama 24 jam seluruh perkembangannya tidak normal yaitu membentuk eksogastrula (Gambar 23c dan d).

Abnormalitas pada Telur dan Embrio Sebagai Hasil Penyimpanan pada Suhu 10°C

Telur dengan stadium zigot yang mengalami penyimpanan selama 8 jam, dapat berkembang secara normal dalam suhu kamar sampai dengan stadium blastula akhir selanjutnya telur berkembang membentuk eksogastrula sebanyak 70 persen, dua puluh lima persen telur berkembang menjadi hemi embrio (Gambar 24a). Sedangkan lima persen telur mencapai stadium tunas ekor tidak normal yaitu pada bagian lateral kuning telur terbuka (Gambar 24b).



Gambar 23. Eksogastrula dalam Berbagai Tingkat Hasil dari Perkembangan Telur dengan Stadium Gastrula yang Disimpan pada Suhu 5°C
 (a) hasil penyimpanan 8 jam
 (b) hasil penyimpanan 16 jam
 (c),(d) hasil penyimpanan 24 jam

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



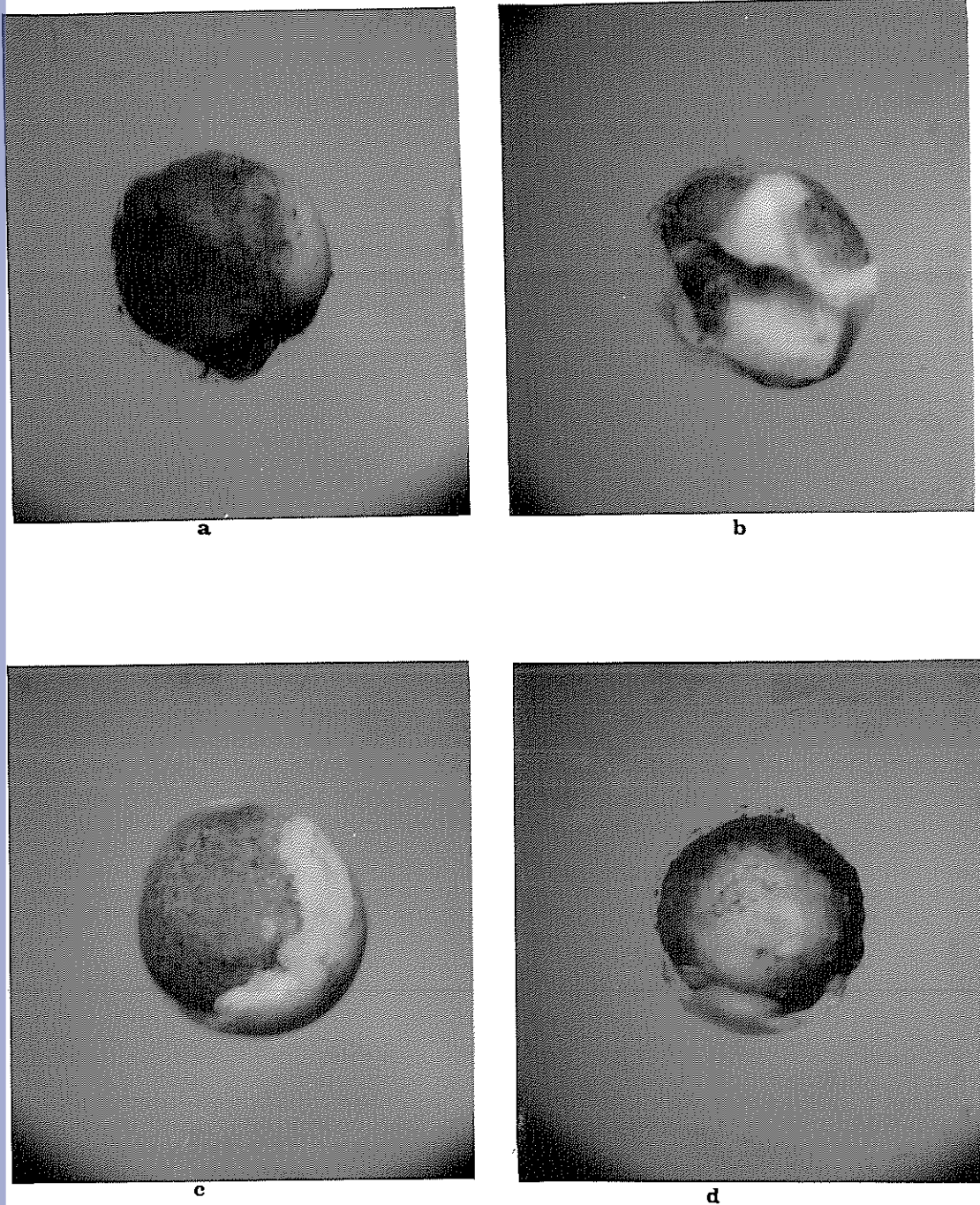
Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Telur dengan stadium zigot yang mengalami penyimpanan selama 16 jam dapat berkembang secara normal sampai dengan tahap blastula awal. Selanjutnya seluruh embrio berkembang menjadi eksogastrula (Gambar 24c).

Telur dengan stadium zigot yang mengalami penyimpanan selama 24 jam dapat berkembang secara normal sampai tahap 16 sel. Selanjutnya telur berkembang menjadi eksogastrula (Gambar 24d).

Telur dengan stadium blastula yang mengalami penyimpanan selama 8 jam dapat berkembang secara normal sampai dengan stadium 10 atau stadium bibir dorsal. Selanjutnya telur berkembang secara tidak normal yaitu sebanyak 25 persen telur menjadi hemi embrio (Gambar 25a) dan 75 persen menjadi eksogastrula (Gambar 25b). Sedangkan telur yang disimpan selama 16 dan 24 jam seluruhnya berkembang abnormal membentuk eksogastrula (Gambar 25c dan d).

Telur dengan stadium gastrula yang disimpan selama 8 jam dapat berkembang normal seluruhnya sampai dengan tahap 21 atau stadium terbukanya mulut (*mouth open*). Selanjutnya embrio berkembang mencapai stadium 22 atau stadium sirkulasi sirip ekor sebanyak 31.58 persen, yang lainnya berkembang mencapai stadium 23 atau stadium lipatan operkulum sebanyak 68.42 persen. Sebanyak 15.79 persen embrio stadium 22 perkembangannya tidak normal yaitu bagian ventral menggembung (Gambar 26a). Embrio

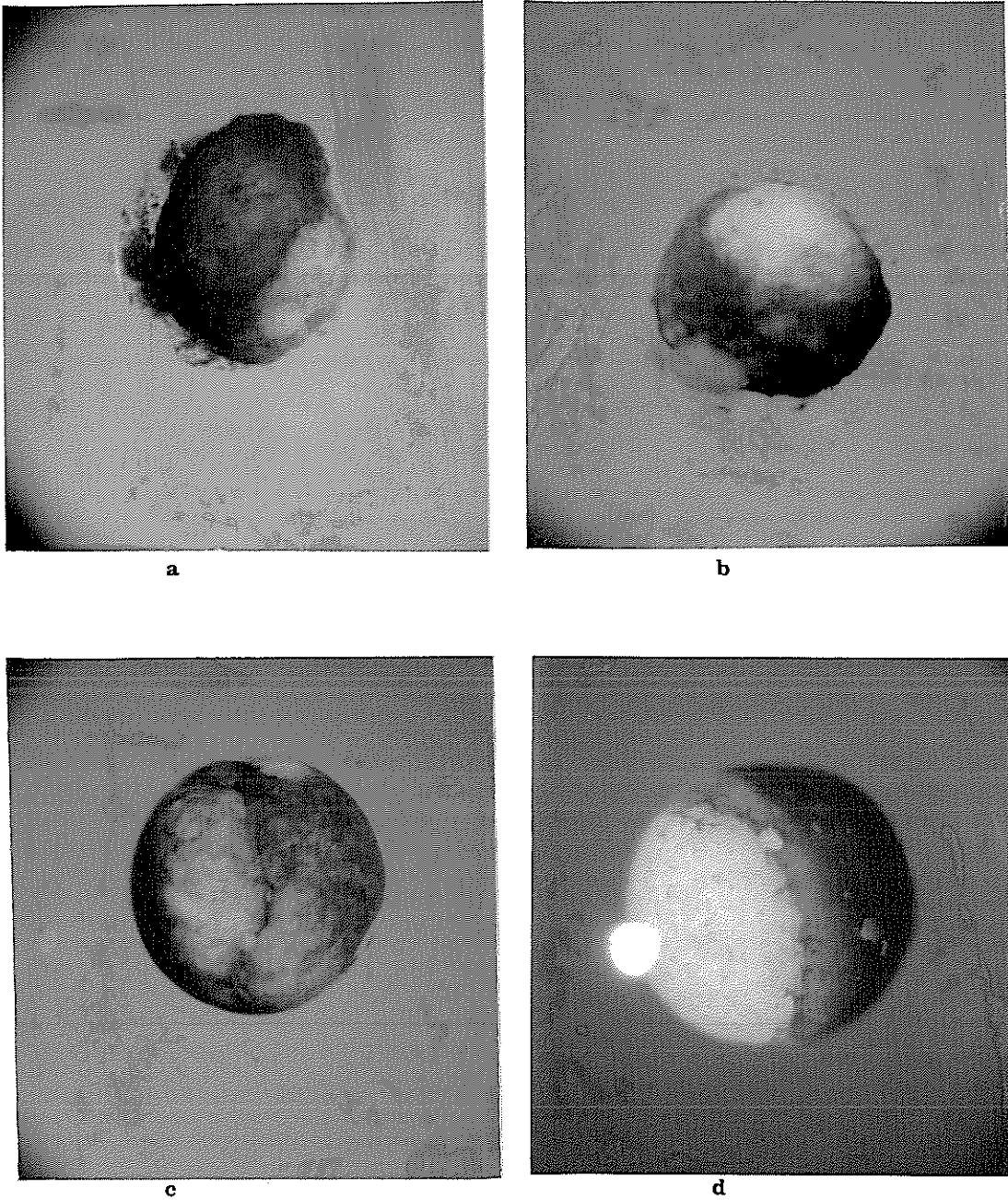


Gambar 24. Abnormalitas yang Terjadi Hasil dari Perkembangan Telur dengan Stadium Zigot yang Mengalami Penyimpanan pada Suhu 10°C
 (a), (b) hasil penyimpanan selama 8 jam
 (c) hasil penyimpanan selama 16 jam
 (d) hasil penyimpanan selama 24 jam



@Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 25. Embrio dan Telur yang Tidak Normal Hasil dari Perkembangan Telur dengan Stadium Blastula yang Disimpan pada Suhu 10°C

- (a) embrio hasil penyimpanan 8 jam
- (b) telur hasil penyimpanan 8 jam
- (c) telur hasil penyimpanan 16 jam
- (d) telur hasil penyimpanan 24 jam

yang dapat mencapai stadium 23, sekitar 25 persen berkembang tidak normal yaitu bagian ventral menggembung (Gambar 26 b).

Telur dengan stadium gastrula yang disimpan selama 16 jam, sebagian besar dapat berkembang normal (90 persen) sampai dengan stadium 20 atau stadium sirkulasi insang (*Gill circulation*). Dalam perkembangan selanjutnya embrio berkembang mencapai stadium 22 (Gambar 26c) dan stadium 23 dalam keadaan tidak normal, yaitu bagian ventral menggembung.

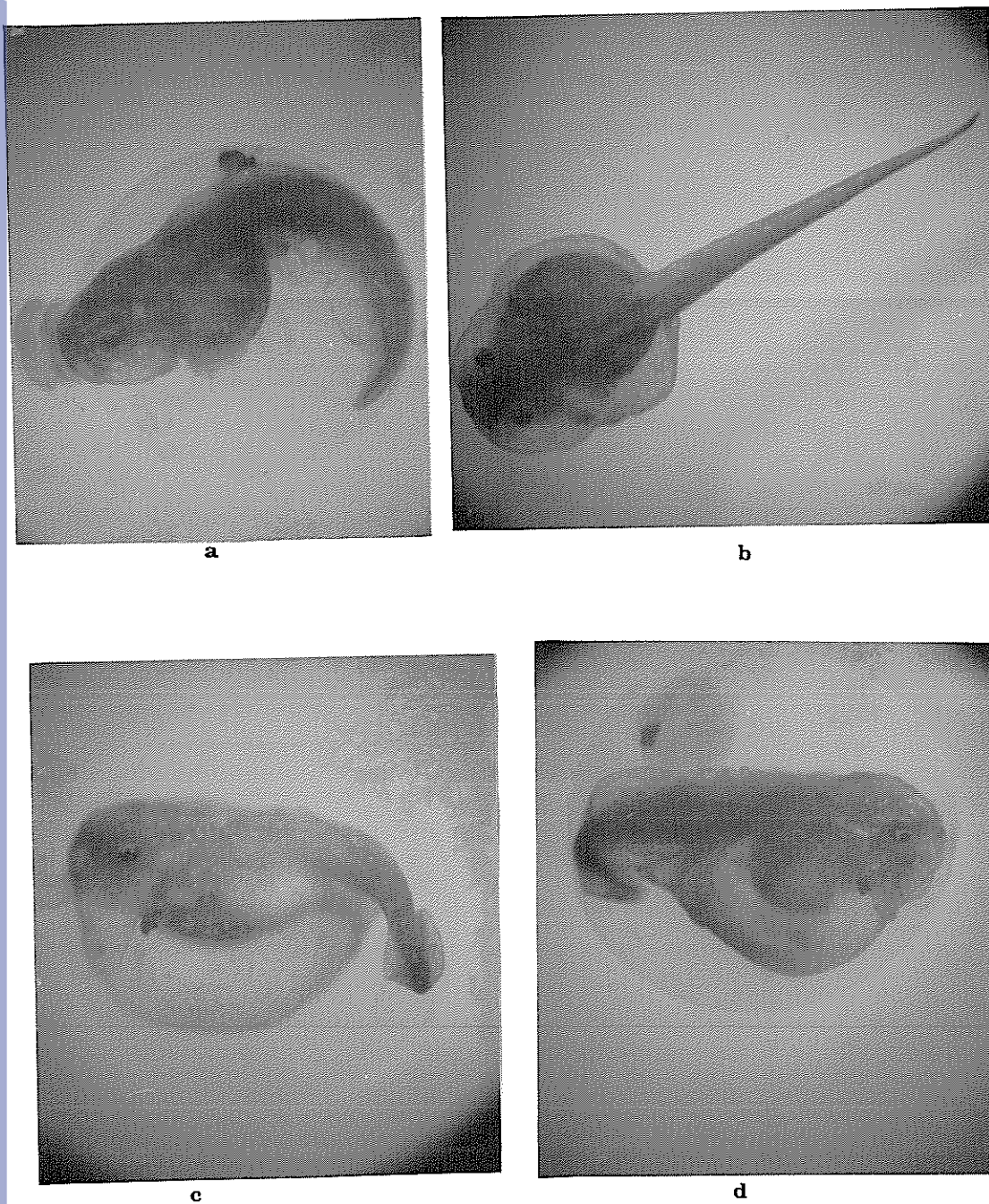
Telur dengan stadium gastrula yang disimpan selama 24 jam, dapat berkembang normal seluruhnya sampai dengan stadium 19 atau stadium denyut jantung (*heart beat*). Selanjutnya embrio berkembang mencapai stadium 22 dalam keadaan tidak normal (Gambar 26d).

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 26. Embrio tidak Normal Hasil dari Perkembangan Telur dengan Stadium Gastrula setelah Disimpan pada Suhu 10°C
 (a),(b) hasil penyimpanan selama 8 jam
 (c) hasil penyimpanan selama 16 jam
 (d) hasil penyimpanan selama 24 jam

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Perkembangan telur lebih dihambat pada suhu 5°C dibandingkan pada suhu 10°C.

Untuk telur dengan stadium zigot dan blastula, penyimpanan pada suhu 5°C dan 10°C menyebabkan rendahnya kemampuan telur dalam melanjutkan perkembangan. Untuk telur dengan stadium gastrula, penyimpanan pada suhu 5°C selama 24 jam menyebabkan rendahnya kemampuan telur dalam melanjutkan perkembangan, sedangkan penyimpanan pada suhu 10°C memberikan hasil yang lebih baik yaitu telur mampu melanjutkan perkembangan hampir mendekati perkembangan telur dalam keadaan normal.

Kemampuan telur untuk melanjutkan perkembangan semakin rendah dengan semakin lamanya waktu penyimpanan.

Saran

Dalam penelitian selanjutnya disarankan untuk:

1. Menggunakan larutan pelindung pada saat melakukan pendinginan .
2. Memperkecil selang suhu.
3. Membuat preparat histologis untuk mengetahui organel-organel sel yang mengalami kerusakan.



DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, G. B. and Foote, R. H. 1975. Development of rabbit embryos after storage at 10°C. *Journal of Animal Science*. 40 (6) : 900-904.
- Averill, R. L. W. and Rowson, L. E. A. 1959. Attempts at storage of sheep ova at low temperatures. *Journal of Agricultural Science*. 52 : 392-395.
- Balinsky, B. I. 1970. *An Introduction to Embryology*. Third ed. , W. B. Saunders Company. Philadelphia.
- Ballinger, R. E. and McKinney, R. E. 1966. Developmental temperature tolerance of certain anurans species. *The Journal of Experimental Zoology*. 161 (1): 21-28.
- Barth, L. G. 1953. *Embryology*. The Dryden Press, Inc. New York.
- BonDurant, R. H., Anderson, G. B., Boland, M. P., Cupps, P.T., and Hughes, M. A. 1982. Preliminary studies on bovine embryo survival following short-term storage at 4°C. *Theriogenology*. 17 (2) : 223-229.
- Chang, M. C. 1947. Normal development of fertilized rabbit ova stored at Low temperature for several days. *Nature*. 159 : 602-603.
- Davenport, R. 1979. *An Outline of Animal Development*. Addison-Wesley Publishing Company. Massachusetts.
- Davidson, E. H. 1986. *Gene Activity in Early Development*. third edition. Academic Press, Inc. Orlando.
- Dickerson, M. C. 1969. *The Frog Book*. Dover Publications, Inc. New York.
- Goin , C. J. and Goin, O. B. 1962. *Introduction to Herpetology*. W. H. Freeman and Company. San Francisco.
- Holmes, S. J. 1934. *The Biology of The Frog*. Fourth Ed., The Macmillan company. New York.
- Justus, J. T., Sandomir, M., Urquhart, T., Ewan, B. O. 1977. Developmental rates of two species of toads from The Desert Southwest. *Copeia* 2 : 592-594.



- Lindner, G. M., Anderson, G. B., BonDurant, R. H., Cupps, P. T., and Goemann, G. G. 1982. Development of bovine embryos after storage at 4°C. *Theriogenology* 17 (1) : 96.
- Lindner, G. M., Anderson, G. B., BonDurant, R. H., and Cupps, P. T. 1983. Survival of bovine embryos stored at 4°C. *Theriogenology* 20 (3) : 311-319.
- Marshall, A. M. 1956. The development of the frog. In H. G. Newth (ed). *The Frog: An Introduction to Anatomy, Histology, and Embryology*. Macmillan and co Ltd. London.
- Mohr, L. R. and Trounson, A. O. 1981. Structural changes associated with freezing of bovine embryos. *Biology of Reproduction* 25 : 1009 - 1029.
- Moore, J. A. 1939. Temperature tolerance and rates of development in the of amphibia. *Ecology* 20 (4) : 459-477.
- Moore, N. W. and Bilton, R. J. 1973. The storage of fertilized sheep ova at 5°C. *Aust. J. biol. Sci.* 26 : 1421-1427.
- Nelsen, O. E. 1953. *Comparative Embryology of the Vertebrates*. The Blakiston Company. New York.
- Oppenheimer, S. 1980. *Introduction to Embryonic Development*. Allyn and Bacon, Inc. Boston.
- Roy, D. and Khare, M. K. 1979. The influence of embryonic limiting temperatures on the developmnet of *Rana limnocharis* Wiegmann. *Biological J. Linn. Soc.* 11 (3) : 279-287.
- Rugh, R. 1949. *Experimental Embryology, Techniqus and Prosedurs*. Burgess Publishing Company. Minnesota.
- _____. 1951. *The Frog, Its Reproduction and Development*. Tata McGraw-Hil Publishing Company ltd, Bombay.
- Sagi, M. 1978. *Embryology Katak*. Fakultas Biologi UGM.
- Schechtman, A. M. and Olson, J. B. 1941. Unusual temperature tolerance of an amphibian egg (*Hyla regilla*). *Ecology* 22 (4) : 409-410.



- Shumway, W. 1954. Introduction to Vertebrate Embryology. Fifth ed., John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Smith, A. U. 1954. Effect of Low Temperatures on Living Cells and Tissues. In: R. J. C. Harris (ed). Biological Applications of Freezing and Drying. Academic Press Inc., Publishers. New York.
- Sreenan, J., Scanlon, P., and Gordon, I. 1970. Storage of fertilized cattle ova *in vitro*. The Journal of Agricultural Science 74 : 593-594.
- Storer, T. I. and Usinger, R. L. 1957. General Zoology. Third edition McGraw-Hill Book Company, Inc. New York.
- Sugiri, N. 1979. Beberapa Aspek Biologi Kodok Batu (*Rana blythi* Boulenger, Ranidae, Anura, Amphibia) di Beberapa Wilayah Indonesia dan Kedudukan Taksonya. Disertasi Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Sukra, Y., Rahardja, L., dan Djuwita, I. 1988. Embriologi I. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Whittingham, D. G. 1977. Low temperature preservation of embryos. In: K. J. Betteridge (ed). Embryos Transfer in Farm Animals.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



L A M P I R A N

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Lampiran 1. Tahap-tahap Perkembangan Secara Normal pada *Rana pipiens* Selama Embriogenesis (Shumway, 1940, dalam Rugh, 1951)

Nomor Stadium	Umur (jam)	Nama stadium	
1	0	telur belum dibuahi	
2	1	sabit kelabu (zigot)	
3	3.5	dua sel	
4	4.5	empat sel	
5	5.7	delapan sel	
6	6.5	enam belas sel	



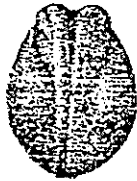
@Hak cipta milik IPB University

Nomor Stadium	Umur (jam)	Nama stadium	
7	7.5	32-sel (morula)	
8	16	pertengahan pembelahan (blastula awal)	
9	21	akhir pembelahan (blastula akhir)	
10	26	bibir dorsal (gastrula awal)	
11	34	pertengahan gastrula (gastrula aktif)	

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

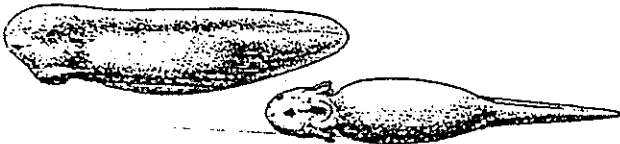
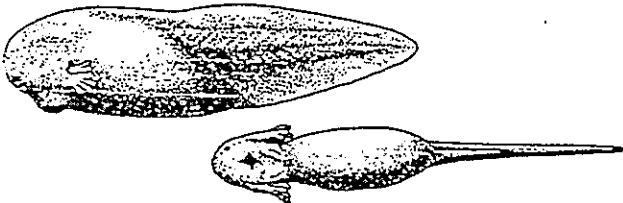


@Hak cipta milik IPB University

Nomor Stadium	Umur (jam)	Nama stadium	
12	42	akhir gastrula	
13	50	keping neural	
14	62	lipatan saraf	
15	67	rotasi	
16	72	tabung neural	
17	84	tunas ekor	

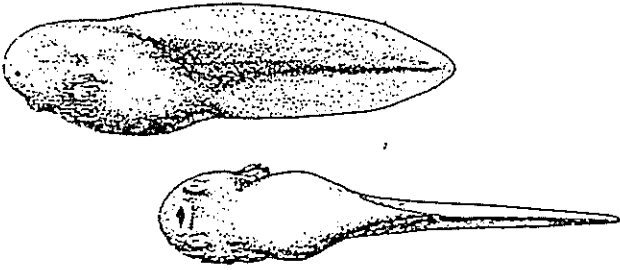
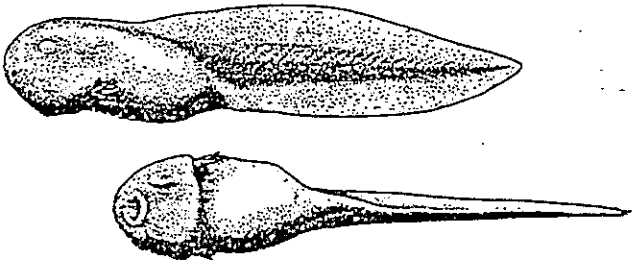
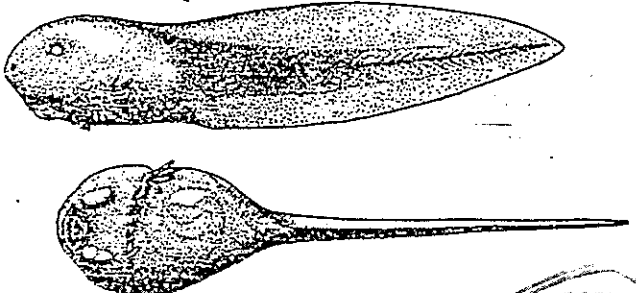
Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

@Hak cipta milik IPB University

Nomor Stadium	Umur (jam)	Nama stadium	
18	96	respon otot	
19	118	denyut jantung	
20	140	sirkulasi insang	
21	162	terbukanya mulut	



@Hak cipta milik IPB University

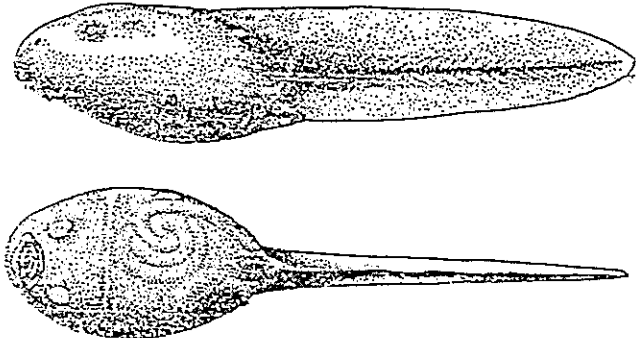
Nomor Stadium	Umur (jam)	Nama stadium
22	192	sirkulasi sirip ekor
		
23	216	lipatan operkulum
		
24	240	operkulum terbuka pada bagian kanan
		



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Nomor Stadium	Umur (jam)	Nama stadium
25	284	operkulum lengkap
		

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.