

PEMBERIAN MINYAK CUMI PADA PERMUKAAN AIR TERHADAP ABNORMALITAS DALAM PEMELIHARAAN LARVA IKAN KERAPU BEBEK (*Cromileptes altivelis*)

Eri Setiadi

ABSTRAK

Pembenihan ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) di Indonesia telah berhasil dengan baik, namun masih dijumpai tingginya abnormalitas. Penelitian abnormalitas pada stadia perkembangan larva dari *yolk sac* sampai *flexion* melalui pewarnaan tulang telah dilakukan. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh minyak cumi pada permukaan air terhadap abnormalitas, saat abnormal mulai muncul dan bagian tulang yang rentan terhadap abnormal serta sintasannya. Hasil penelitian dari stadia *yolk sac* sampai *flexion* menunjukkan bahwa persentase abnormalitas pada pemeliharaan dengan minyak cumi pada permukaan air lebih rendah ($P < 0,001$) dibandingkan dengan tidak menggunakan minyak cumi pada permukaan air. Abnormal mulai terlihat pada stadia *preflexion* dan *flexion*. Tipe-tipe abnormal yang dijumpai adalah lordosis, skoliosis, khiposis, fusi, reduksi, percabangan, dan penambahan. Bagian tulang yang rentan terhadap abnormal ditemukan pada *vertebrae* bagian tengah (15,21%) dan *hypurals* (8,50%) pada pemeliharaan dengan minyak cumi, sedangkan tanpa menggunakan minyak cumi dijumpai pada *dorsal proximal radials* (32,50%) dan *vertebrae* bagian posterior (31,88%). Sintasan sebesar 7,04% ($P < 0,0001$) dijumpai pada pemeliharaan dengan minyak cumi pada permukaan air, sedangkan tanpa minyak cumi pada permukaan air hanya 2,48%. Penggunaan minyak cumi pada permukaan air dapat menurunkan abnormalitas dan meningkatkan sintasan.

ABSTRACT: *Effects of squid oil addition at the water surface on the abnormality of reared humpback grouper, Cromileptes altivelis larvae. By: Eri Setiadi*

The mass seedling production of humpback grouper (Cromileptes altivelis) has largely been successful in Indonesia. However, the high rate of abnormality of seed produced is the main problem. The rate of abnormality from yolk sac to flexion stages was examined. The purpose of the study was to examine the influence of squid oil at the water surface to the abnormality and determine which part of skeleton was vulnerable to deformation using clearing and staining methods. The result had indicated that larvae reared using squid oil at the water surface showed significantly lower ($P < 0,001$) compared to that without squid oil at the water surface in abnormality. The deformation occurred at reflexion stage in both of squid oil or without squid oil at the water surface was detected. The types of deformities encountered during larval rearing period were as follows: scoliosis, lordosis, khyposis, fusion, shortening, branching, and supernumerary elements. Based on nine of bone elements indicated that larvae reared using squid oil at the water surface showed the rate of abnormality in the middle of vertebrae (15,21%) and hypurals (8,50%) while that without squid oil at the water surface showed the rate of abnormality of the dorsal proximal radials (32,50%) and the vertebrae at the posterior region (31,88%). The survival of larvae reared using squid oil at the water surface was higher (7,04%) ($P < 0,0001$) than without squid oil (2,48%). Squid oil addition at the water surface could reduce the abnormality and increase in the survival rate.

KEYWORDS: *bone, abnormality, squid oil, grouper, larvae*

PENDAHULUAN

Ikan kerapu adalah jenis ikan yang memiliki nilai ekonomis tinggi di Asia (Kohno *et al.*, 1993), karena harganya yang mahal dan merupakan komoditas ekspor (Giri *et al.*, 2001). Budi daya ikan kerapu di Indonesia meningkat pesat, karena ditunjang oleh pengetahuan tentang tehnik budi daya yang semakin berkembang dan permintaan pasar yang tinggi, terutama dari negara-negara seperti Singapura, Hongkong, Jepang, dan Cina (Rukyani, 2001).

Budi daya ikan kerapu pertama kali dilakukan oleh negara Jepang, yaitu pada ikan kerapu *Epinephelus akaara* sekitar tahun 1960 (Ukawa *et al.*, 1966). Selanjutnya berkembang ke negara lain seperti Cina, Thailand, Singapura, Philipina, Malaysia, dan Indonesia. Jenis-jenis ikan kerapu yang telah berhasil dibudidayakan di Indonesia, antara lain: kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*), kerapu lumpur (*E. coioides*), kerapu batik (*E. microdon*), dan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) (Ismi *et al.*, 2001; Marzuqi *et al.*, 2001; Setiadi *et al.*, 2001; Priyono, 2004; Setiadarma, 2004).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk meningkatkan produksi massal benih kerapu bebek, antara lain: implantasi hormon terhadap perkembangan gonad, pemijahan, dan perkembangan telur (Tridjoko *et al.*, 1996; Sugama *et al.*, 2004a), suhu (Setiadi & Tridjoko, 2001), pemberian minyak cumi pada permukaan air dan pergantian air terhadap sintasan larva (Sugama *et al.*, 2004b), padat tebar berbeda (Aslianti, 1996), perkembangan morfologi larva (Slamet *et al.*, 1996), nutrisi (Suwiryana *et al.*, 2001; Sutarmat *et al.*, 2003), dan penyakit (Zafran *et al.*, 1997; Koesharyani *et al.*, 1999). Meskipun produksi benih secara kuantitas cukup memadai, tetapi secara kualitas masih ditemukan adanya kendala, yaitu tingginya abnormalitas dari benih yang dihasilkan dan penelitian yang difokuskan pada masalah tersebut belum pernah dilakukan.

Hasil-hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan yang abnormal memiliki dampak negatif, seperti pertumbuhan lambat, sintasan rendah, rentan terhadap penyakit, mudah stres, dan memiliki nilai jual yang rendah di pasaran (Paperna, 1978; Matsuoka, 1987; Andrades *et al.* 1996; Hilomen-Garcia, 1997). Tulang yang abnormal juga berpengaruh terhadap bentuk dan ukuran tubuh (Setiadi, 2003). Faktor-faktor yang telah diketahui sebagai penyebab terjadinya abnormal pada ikan budi daya antara lain: genetik (Campbell, 1995), polutan (Kenedy

et al., 2002; Spencer *et al.*, 2002), suhu (Wiegand *et al.*, 1989), vitamin (Dedi *et al.*, 1995), arus air (Divanach *et al.*, 1997), penyakit (Madsen & Dalsgaard, 1999), dan kondisi lingkungan pemeliharaan (Koumoundouros *et al.*, 2001; Setiadi, 2003).

Telah diketahui bahwa pemberian minyak cumi atau minyak ikan pada permukaan air media pemeliharaan dapat mengurangi kematian massal di permukaan air pada pemeliharaan larva ikan kerapu, sehingga dapat meningkatkan sintasannya (Yamaoka *et al.*, 2000; Setiadi *et al.*, 2003; Sugama *et al.*, 2004b). Yamaoka *et al.* (2000) dan Setiadi (2003) melaporkan bahwa proses terjeratnya ikan oleh tegangan permukaan air dimulai oleh bagian kaudal kemudian diikuti oleh bagian dorsal. Kejadian tersebut diduga bahwa bagian kaudal dan dorsal akan mengalami kerusakan secara fisik yang dapat menyebabkan proses pembentukan tulang menjadi abnormal (Setiadi, 2003; Kaji *et al.*, 2003).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak cumi pada permukaan air cumi terhadap abnormalitas, mendeteksi saat abnormal mulai muncul dan bagian tulang yang rentan terhadap abnormalitas serta pengaruhnya terhadap sintasan.

BAHAN DAN METODE

Percobaan ini dilakukan pada bulan Mei 2004 di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol-Bali. Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah bak transparan dengan volume 200 L ditempatkan di dalam *water bath* yang dialiri air secara terus-menerus agar fluktuasi suhu di dalam bak perlakuan tetap stabil. Metode pemeliharaan larva yang digunakan berdasarkan acuan Sugama *et al.* (2001). Abnormalitas diamati mulai dari stadia perkembangan larva, yaitu *yolk sac*, *preflexion*, dan *flexion*. Frekuensi pemberian minyak cumi dilakukan 2 kali per hari (jam 08.00 dan jam 15.00) dari D1-D7 dengan konsentrasi 0,1 mL setiap bak perlakuan untuk sekali pemberian. Kepadatan larva setiap bak perlakuan adalah 40 larva/L. Dua macam perlakuan dengan masing-masing perlakuan diulang enam kali. Perlakuan dalam percobaan ini sebagai berikut:

- a) Pemberian minyak cumi pada permukaan air
- b) Tanpa pemberian minyak cumi

Pencahayaan menggunakan lampu neon 20 watt pada masing-masing bak perlakuan

dengan intensitas cahaya 2.000 lux. Pengukuran intensitas cahaya dilakukan di bagian tengah dan di atas permukaan air dengan menggunakan iluminasi meter.

Kriteria yang diamati untuk abnormal adalah bagian-bagian tulang dengan menggunakan metode pewarnaan tulang berdasarkan acuan Potthoff (1984). Parameter yang diamati meliputi persentase abnormalitas, tipe-tipe abnormal, bagian tulang yang rentan untuk abnormalitas, dan sintasan. Analisis histologi larva dilakukan dari umur 3—7 hari untuk melihat pertumbuhan dan perkembangan sel kelenjar lendir. Kualitas air yang diukur antara lain: DO, pH, suhu, dan salinitas. Pengambilan sampel untuk abnormalitas yaitu pada stadia *yolk sac* (umur 0 hari setelah menetas) sebanyak 100 larva, pada stadia *preflexion* yaitu D3, D7, dan D10 masing-masing sebanyak 20 larva, pada stadia *flexion* yaitu D16 dan D25 masing-masing sebanyak 20 larva. Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan terhadap abnormalitas pada kedua perlakuan dilakukan dengan menggunakan ANOVA dan untuk membedakan dua perlakuan digunakan Uji t. Analisis statistik tersebut dilakukan dengan menggunakan JMP program statistik versi 3.2.6, SAS Institute Inc., USA (1989).

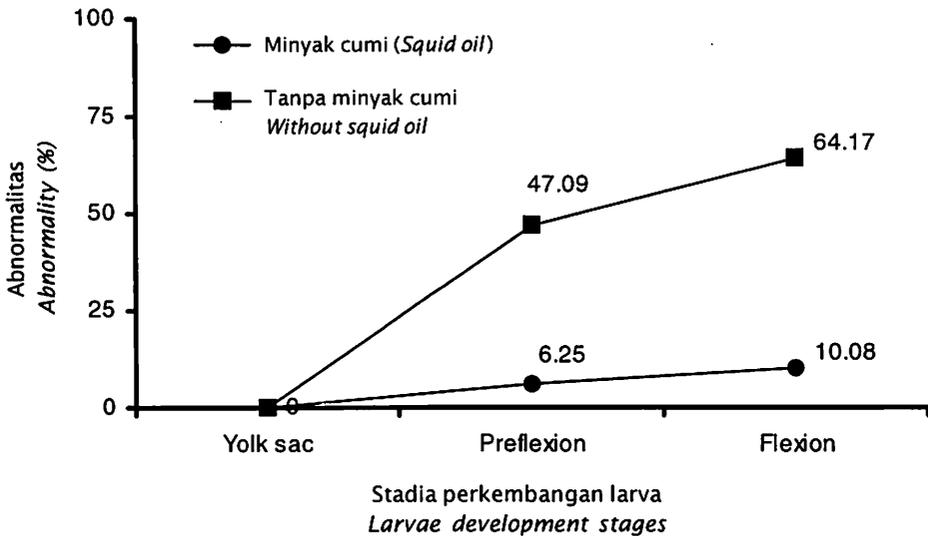
HASIL DAN BAHASAN

Persentase Abnormalitas Berdasarkan Stadia Perkembangan Larva

Persentase abnormalitas berdasarkan pada stadia perkembangan larva dari *yolk sac*, *preflexion*, dan *flexion* dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil pada Gambar 1 menunjukkan bahwa persentase abnormalitas dari stadia *yolk sac*, *preflexion*, dan *flexion* lebih tinggi ($P < 0,001$) terhadap pemeliharaan tanpa minyak cumi pada permukaan air, yaitu 0%; 47,09% ± 6,30%; dan 64,17% ± 7,65%; sedangkan dengan pemberian minyak cumi pada permukaan air diperoleh sebesar 0%; 6,25% ± 1,24%; dan 10,08% ± 1,53%. Pada stadia *yolk sac* tidak dijumpai adanya larva yang abnormal, tetapi larva yang abnormal mulai muncul atau terlihat pada stadia *preflexion* dan terjadi peningkatan pada stadia *flexion* baik pada pemeliharaan dengan ataupun tanpa minyak cumi pada permukaan air.

Terjadinya abnormal pada stadia *preflexion* dikarenakan oleh perilaku dan perkembangan fisiologi dari larva pada stadia *preflexion* yang selalu berenang ke permukaan air dan terperangkap oleh tegangan permukaan, yaitu larva umur D3—D7 (Setiadi *et al.*, 2003). Larva



Gambar 1. Persentase abnormalitas berdasarkan stadia perkembangan larva, yaitu *yolk sac*, *preflexion*, dan *flexion*

Figure 1. Percentage of abnormality based on larvae development stages namely *yolk sac*, *preflexion*, and *flexion*

yang terperangkap di permukaan air terutama pada tubuh bagian kaudal dan dorsal (Yamaoka *et al.*, 2000). Pergerakan larva ke permukaan air dikarenakan larva memiliki sifat fototaksis (Stefansson *et al.*, 1990; Yamaoka *et al.*, 2000; Setiadi *et al.*, 2003). Hussain & Higuchi (1980) menyatakan bahwa pada larva umur D3 mulai terbentuknya pigmentasi mata dan akan terus berkembang sejalan dengan pertumbuhan larva. Di sisi lain, pergerakan larva ke permukaan air juga dikarenakan larva memerlukan udara untuk pembentukan awal gelembung renangnya (Kitajima *et al.*, 1994). Berdasarkan hasil pengamatan bahwa larva yang dapat meloloskan diri dari tegangan permukaan air akan mengalami kerusakan, terutama pada tubuh bagian kaudal dan dorsal (Gambar 2H dan J). Hal ini menyebabkan proses pembentukan dan pertumbuhan tulang pada stadia selanjutnya di bagian kaudal dan dorsal menjadi abnormal (Gambar 2L-P).

Terjadinya peningkatan abnormalitas pada stadia *flexion* dikarenakan selain bawaan dari stadia *preflexion* yang masih bertahan hidup juga adanya perbedaan bagian-bagian dari tulang pada stadia *preflexion* dan *flexion*, sehingga terjadi peningkatan abnormalitas pada stadia *flexion*. Berdasarkan pengamatan menunjukkan bahwa pembentukan tulang *epurals* ke-2 dan 3, *hypurals* ke-3 dan 4, *dorsal proximal radials* dan *anal proximal radials* mulai terbentuk pada stadia *flexion*. Hasil penelitian serupa juga dijumpai pada *Epinephelus akaara*, *Epinephelus fuscoguttatus*, dan *Pagrus major* bahwa pembentukan bagian-bagian tulang seperti *dorsal proximal radials*, *anal proximal radials*, *epurals*, dan *hypurals* mulai terbentuk secara lengkap pada stadia *flexion* (Matsuoka, 1987; Kohno *et al.*, 1993; Kusaka *et al.*, 1994; Kusaka *et al.*, 2001; Setiadi, 2003).

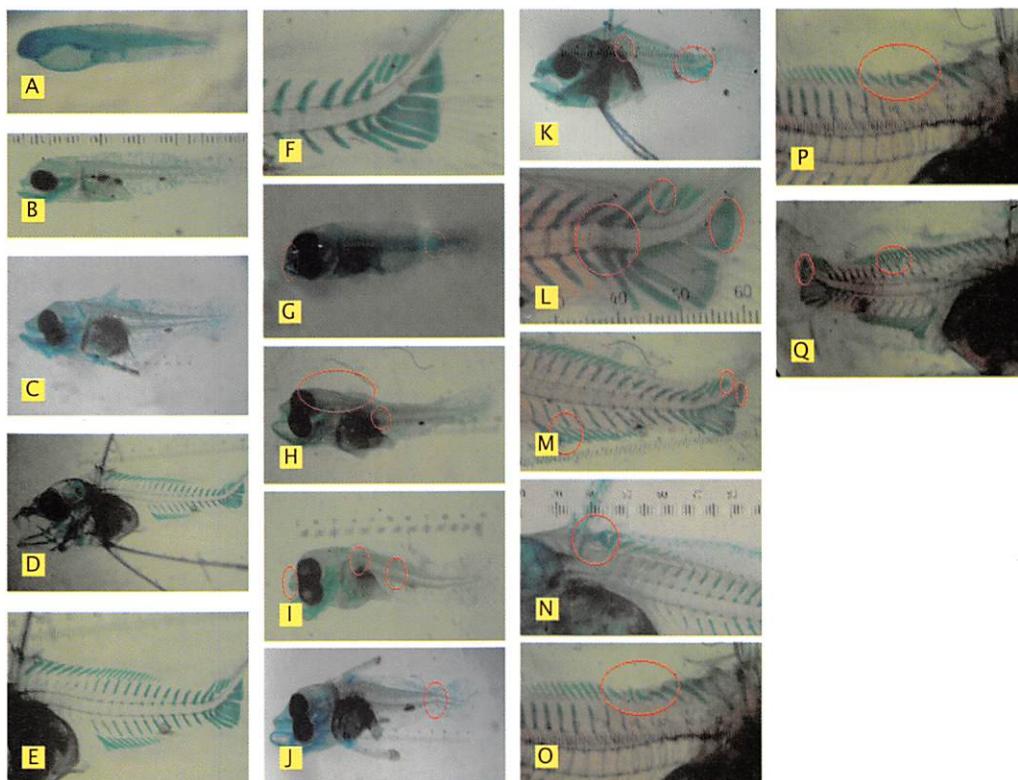
Tipe-Tipe Abnormal yang Dijumpai Selama Penelitian

Tipe-tipe normal dan abnormal pada pemeliharaan dengan dan tanpa minyak cumi pada permukaan air disajikan pada Gambar 2A-P.

Hasil pada Gambar 2 menunjukkan larva yang normal dari stadia *yolk sac* sampai *flexion* (Gambar 2A-D). Kondisi normal *vertebrae*, *dorsal proximal radial*, *anal proximal radial*, *haemal spine*, *dorsal spine* (Gambar 2E). Normal kaudal kompleks seperti *epural*, *parhypural*, dan *hypural* (Gambar 2F). Tipe-tipe

abnormal yang dijumpai yaitu lordosis (Gambar 2G dan H), kiposis (Gambar 2I-L), skoliosis (Gambar 2K) dan fusi (Gambar 2L). Lordosis adalah abnormal yang dicirikan dengan pembengkokan *vertebrae* ke arah *dorso-ventral* seperti bentuk huruf V (Paperna, 1978; Barahona-Fernandes, 1982; Chatain, 1994; Kitajima *et al.*, 1994; Andrades *et al.*, 1996). Kiposis adalah abnormal yang dicirikan dengan pembengkokan *vertebrae* ke arah *dorso-ventral* seperti huruf V terbalik "E" (Loy *et al.*, 1999; Koumoundouros *et al.*, 2002;). Skoliosis adalah abnormal yang dicirikan dengan pembengkokan dari *vertebrae* ke arah lateral, sehingga akan terlihat seperti bentuk huruf V atau S bila dilihat dari arah dorsal (Bucke, 1974; Piron, 1978; Bucke & Andrew, 1985; Setiadi, 2003). Fusi adalah abnormal dari tulang karena terjadinya penyatuan (Matsuoka, 1987; Dedi *et al.*, 1995; Haga *et al.*, 2002; Setiadi, 2003). Tipe-tipe abnormal tersebut merupakan hal yang umum terjadi baik pada ikan yang hidup di alam bebas maupun yang dipelihara (Paperna, 1978; Barahona-Fernandes, 1982; Matsuoka, 1987; Andrades *et al.*, 1996; Boggione *et al.*, 2001).

Telah diketahui bahwa tipe abnormal seperti lordosis ada hubungannya dengan pembentukan gelembung renang, yaitu bila ikan gagal dalam pembentukan gelembung renang akan menyebabkan lordosis (Chatain, 1994; Kitajima *et al.*, 1994; Andrades *et al.*, 1996; Divanach *et al.*, 1997). Paperna (1978) menyatakan bahwa lordosis dapat disebabkan oleh faktor genetik. Sedangkan Andrades *et al.* (1996) melaporkan bahwa lordosis pada ikan *Sparus aurata* disebabkan oleh faktor antara lain: genetik, komposisi kuning telur, dan lingkungan (seperti suhu, cahaya, polutan, dan penyakit). Kiposis disebabkan oleh kondisi lingkungan pemeliharaan (Koumoundouros *et al.*, 1997; 2001). Skoliosis diduga disebabkan oleh polutan dan penyakit (Bucke, 1974; Piron, 1978; Bucke & Andrew, 1985). Berdasarkan pengamatan pada penelitian ini, lordosis tidak ada hubungannya dengan pembentukan gelembung renang karena larva yang lordosis memiliki gelembung renang dan terjadi atau mulai terlihat pada larva umur 7 hari. Kitajima *et al.* (1994) menyatakan bahwa pembentukan gelembung renang dimulai pada larva berumur 3 atau 4 hari dengan jalan menghirup udara bebas pada permukaan air. Kiposis yang dilaporkan oleh Koumoundouros *et al.* (1997) disebabkan oleh faktor lingkungan tetapi tidak dijelaskan atau dibahas secara rinci, faktor kondisi lingkungan pemeliharaan apa yang



Gambar 2. Tipe-tipe normal dan tulang abnormal yang dijumpai selama penelitian: (A) larva D1 (stadia *yolk sac*, normal); (B) larva D3 (stadia *preflexion*, normal); (C) larva D7 (stadia *preflexion*, normal); (D) larva D25 (stadia *flexion*, normal); (E) kondisi normal pada *vertebrae*, *dorsal proximal radial*, *anal proximal radial*, *haemal spine*, dan *neural spine*; (F) kondisi normal bagian kaudal kompleks (*epurals*, *parhypural*, and *hypurals*); (G) *notochord* bengkok (*lordosis*) pada bagian posterior dan pemendekan tulang rahang atas dan bawah; (H) rusak pada tubuh di belakang kepala sampai di bagian belakang kepala dan *lordosis*; (I) pemendekan tulang rahang atas dan kiposis pada *notochord* di bagian anterior dan di bagian tengah; (J) kiposis pada *notochord* di bagian posterior; (K) kiposis pada *vertebrae* bagian anterior dan *scoliosis* pada *vertebrae* bagian posterior; (L) kiposis dan fusi pada *vertebrae* bagian posterior, bengkok pada *epural* pertama, dan fusi pada *hypural* ke-3 dan ke-4; (M) penambahan tulang *epural* setelah *epural* ke-3, percabangan pada *anal proximal radial* ke-2 dan fusi pada *hypural* ke-3 dan ke-4; (N) fusi pada tulang *dorsal proximal radials* ke-2 dan ke-3; (O) bengkok dan pemendekan pada *dorsal proximal radials*; (P) percabangan pada *dorsal proximal radials* dan fusi pada *hypural* ke-3 dan ke-4

Figure 2. Normal condition and the types of skeletal deformities encountered during larval rearing period: (A) larva D1 (*yolk sac* stage, normal); (B) larva D3 (*preflexion* stage, normal); (C) larva D7 (*preflexion* stage, normal); (D) larva D25 (*flexion* stage, normal); (E) normal conditions of the *vertebrae*, *dorsal* and *anal proximal radials*, and *haemal* and *neural spines*; (F) normal condition of the caudal complex (*epurals*, *parhypural*, and *hypurals*); (G) *notochord* curvature (*lordosis*) at the posterior region and short upper and lower jaws; (H) damage of dorsal body at the back of the head up to behind the head and *lordosis*; (I) short upper jaw and *kyphosis* of the *notochord* at the anterior and in the middle regions; (J) *kyphosis* of the *notochord* at the posterior region; (K) *kyphosis* of the *vertebrae* at the anterior region and *scoliosis* of the *vertebrae* at the posterior region; (L) *kyphosis* and fusion of the *vertebrae* at the posterior region, bending of the 1st *epural*, and fusion between the 3rd and 4th *hypurals*; and caudal complex; (M) supernumerary *epural* after the 3rd *epural*, branching of the 2nd *anal proximal radial*, and fusion between the 3rd and 4th *hypurals*; (N) fusion between the 2nd and 3rd of the *dorsal proximal radials*; (O) bending and reduction of the *dorsal proximal radials*; (P) branching of the *dorsal proximal radials* and fusion between the 3rd and 4th *hypurals*

dapat menyebabkan kiposis. Sedangkan skoliosis tidak ada hubungannya dengan polutan ataupun penyakit seperti yang telah dilaporkan oleh Bucke & Andrew (1985) dan Bucke (1974), karena kualitas air dalam penelitian ini masih berada dalam batas yang normal dan tidak dijumpai adanya serangan penyakit selama penelitian. Untuk itu, faktor-faktor penyebab timbulnya abnormal seperti genetik, polutan dan penyakit tidak dapat dipertimbangkan sebagai faktor penyebab terjadinya abnormal dalam penelitian ini. Terjadinya lordosis, kiposis, skoliosis, dan fusi pada penelitian ini sangat berhubungan erat disebabkan oleh tegangan permukaan air.

Fusi pada tulang *vertebrae* bagian kaudal (Gambar 2K dan L) juga merupakan hal yang sering dijumpai pada penelitian ini. Berdasarkan pengamatan terlihat bahwa fusi tersebut berhubungan erat dengan abnormal lordosis, kiposis, dan skoliosis, karena *vertebrae* yang mengalami tipe abnormal tersebut diikuti oleh abnormal fusi pada *vertebrae*-nya. Setiadi (2003) menyatakan bahwa ikan yang mengalami lordosis ataupun skoliosis pada *notocord* di stadia *preflexion* diikuti oleh abnormal fusi, yaitu tepat pada *vertebrae* yang mengalami lordosis atau skoliosis yang dapat dilihat distadia *flexion* dan yuwana.

Abnormal pada rahang atas ataupun bawah dicirikan dengan adanya pemendekan dari tulang rahang (Gambar 2G dan I) juga ditemukan pada penelitian ini. Andrades *et al.* (1996) melaporkan bahwa tipe abnormal ini memiliki efek lethal, sintasan yang rendah dan diduga disebabkan oleh faktor genetik. Rendahnya sintasan pada larva dengan abnormal pada rahang lebih dimungkinkan disebabkan oleh sulitnya larva tersebut menangkap makanan (rotifer) dan daya kompetisi yang rendah dibandingkan dengan larva yang normal. Cobcroft *et al.* (2001) menyatakan bahwa ikan yang abnormal pada rahang akan berpengaruh terhadap aktivitas menangkap makanan, akibatnya sintasan rendah. Faktor genetik sebagai faktor penyebab abnormal pada rahang yang disebutkan oleh Andrades *et al.* (1996) tidak dapat dipertimbangkan dalam penelitian ini, karena berdasarkan pengamatan bahwa abnormal pada rahang mulai muncul pada stadia *preflexion* dan tidak dijumpai pada stadia *yolk sac* (Gambar 1).

Tipe abnormal fusi juga ditemukan pada bagian kaudal kompleks, seperti tulang *hypurals* ketiga dan keempat (Gambar 2L, M,

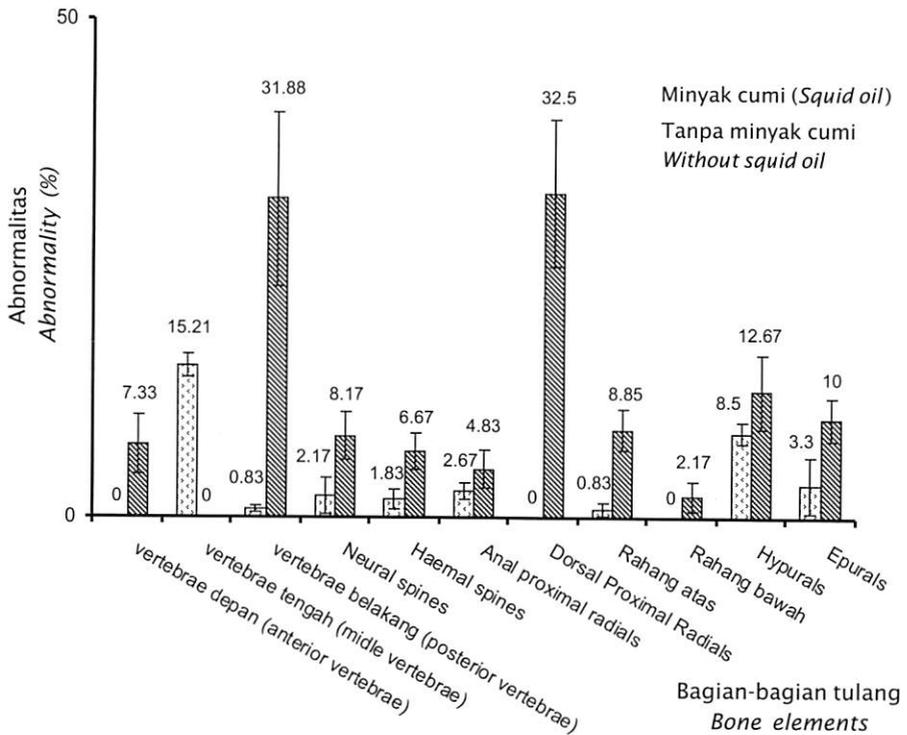
dan P) dan tulang *dorsal proximal radials* (Gambar 2N). Pada ikan *Dentex dentex*, *Sparus aurata*, dan *Epinephelus akaara*, tipe abnormal fusi pada kaudal sangat dominan dibandingkan dengan tipe abnormal lainnya (Koumoundouros *et al.*, 1997; Boglione *et al.*, 2001; Setiadi, 2003).

Tipe abnormal pada *dorsal proximal radials* dan *anal proximal adials* yang dijumpai pada penelitian ini adalah fusi (Gambar 2N), reduksi atau bengkok (Gambar 2O), dan percabangan (Gambar 2M dan P). Tipe-tipe abnormal pada *dorsal proximal radials* paling sering dijumpai daripada *anal proximal radials*, terutama pada pemeliharaan tanpa minyak cumi pada permukaan air. Shimizu & Takeuchi (2002) melaporkan bahwa fusi *dorsal proximal radials* juga dijumpai pada ikan *Thunus orientalis*. Fusi pada bagian tulang *dorsal proximal radials* merupakan masalah serius pada ikan *Dentex dentex* dan *Sparus aurata* karena dapat menyebabkan *saddleback syndrome* pada ikan *Dentex dentex* (Koumoundouros *et al.*, 1997; 2001), tetapi mereka hanya menjelaskan faktor lingkungan pemeliharaan sebagai penyebab abnormal tersebut. Dalam penelitian ini terbukti bahwa tegangan permukaan air sangat berhubungan erat dengan kerusakan atau abnormal pada bagian tulang *dorsal proximal radials*, karena berdasarkan stadia perkembangan larva dari larva umur D3 (Gambar 2H) telah dijumpai kerusakan tubuh bagian dorsal pada stadia *preflexion*, ternyata mempengaruhi proses pembentukan tulang *dorsal proximal radials* pada stadia *flexion* (Gambar 2N-P).

Persentase Abnormalitas Berdasarkan 11 Bagian Tulang

Persentase abnormalitas yang didasarkan pada 11 bagian-bagian tulang pada pemeliharaan dengan dan tanpa lapisan minyak cumi pada permukaan air dapat dilihat pada Gambar 3.

Pada Gambar 3 terlihat bahwa bagian tulang yang rentan terhadap abnormal berbeda antara larva yang dipelihara dengan dan tanpa minyak cumi pada permukaan air. Persentase abnormalitas tertinggi ditemukan di bagian *vertebrae* tengah (15,21%) dan *hypurals* (8,50%) pada pemeliharaan dengan minyak cumi di permukaan air, sedangkan tanpa minyak cumi tertinggi dijumpai pada *dorsal proximal radials* (32,50%), *vertebrae* bagian posterior (31,88%) dan *hypurals* (12,67%). Hal ini



Gambar 3. Persentase abnormalitas berdasarkan sebelas bagian tulang pada pemeliharaan dengan dan tanpa minyak cumi pada permukaan air

Figure 3. Percentage of abnormality based on eleven bone elements in larvae reared with and without squid oil at the water surface

membuktikan bahwa tegangan permukaan air berpengaruh terhadap abnormal, terutama pada bagian tulang *vertebrae* bagian posterior dan *hypurals* (Gambar 2J-M dan P) serta *dorsal proximal radials* (Gambar 2N-P). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa bagian tulang yang rentan terhadap abnormal pada pemeliharaan dengan minyak cumi pada permukaan air dijumpai pada *vertebrae* bagian tengah dan *hypurals*, sedangkan pemeliharaan tanpa minyak cumi dijumpai pada *dorsal proximal radials*, *vertebrae* bagian posterior, dan *hypurals*. Hasil yang sama dijumpai pada ikan *Pagrus major*, *Sparus aurata*, dan *Dentex dentex* bahwa tulang bagian *vertebrae* dan *dorsal proximal radials* merupakan persentase tertinggi abnormalnya dan faktor penyebab abnormal tersebut diduga berhubungan dengan kondisi lingkungan selama pemeliharaan (Matsuoka, 1987; Koumoundouros *et al.*, 1997; Koumoundouros *et al.*, 2001; Boglione *et al.*, 2001). Pada ikan *Epinephelus akaara*, abnormalitas tertinggi dijumpai pada

tulang bagian *vertebrae*, *anal proximal radials*, dan *hypurals* (Setiadi, 2003). Berbeda dengan ikan *Chanos chanos* bahwa abnormalitas tertinggi dijumpai pada bagian insang atau yang disebut dengan istilah *operculum* kompleks (Hilomen-Garcia, 1997). Adanya perbedaan bagian tulang yang rentan terhadap abnormal diduga karena berbeda spesies, berbeda pula perilaku dan perkembangan fisiologi dari ikan tersebut, sehingga menimbulkan perbedaan bagian tulang yang rentan terhadap abnormal. Setiadi (2003) melaporkan bahwa perbedaan pada bagian-bagian tulang yang rentan terhadap abnormalitas pada ikan-ikan laut diduga karena perbedaan perilaku dan fisiologi dari ikan tersebut serta kondisi lingkungan pemeliharaan.

Persentase Abnormalitas Tunggal (Single) dan Jamak (Multiple)

Persentase abnormalitas tunggal (*single*) dan 2 (*multiple*) pada pemeliharaan dengan dan

tanpa minyak cumi pada permukaan air dapat dilihat pada Gambar 4.

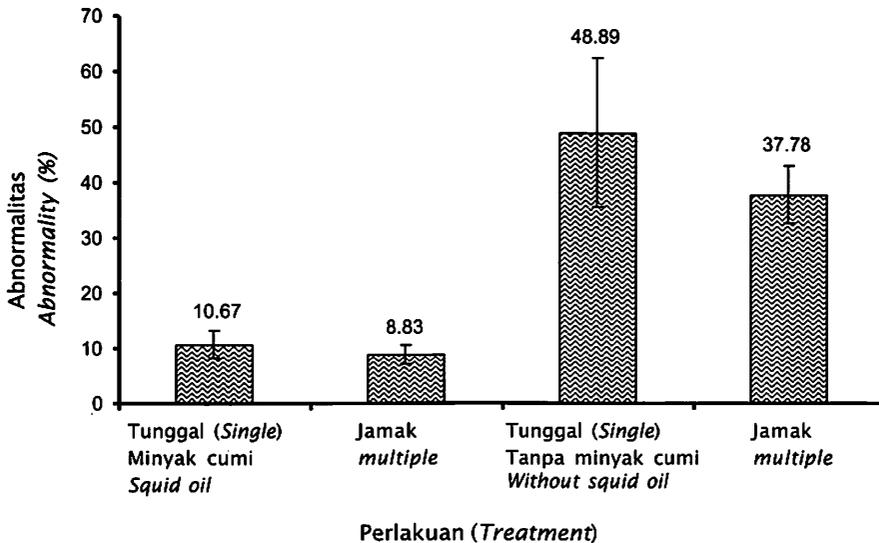
Hasil pada Gambar 4 menunjukkan bahwa persentase abnormalitas tunggal maupun jamak lebih tinggi pada pemeliharaan tanpa minyak cumi dibandingkan dengan minyak cumi pada permukaan air, yaitu masing-masing sebesar 48,89% (*single*); 37,78% (*multiple*) dan 10,67% (*single*); 8,83% (*multiple*). Persentase abnormalitas jamak lebih rendah dibandingkan dengan yang abnormalitas tunggal dan merupakan hal yang umum di dalam ikan hasil budi daya seperti pada *Solea senegalensis*, *Sparus aurata*, *Dentex dentex*, dan *Paralichthys olivaceus* (Dedi *et al.*, 1995; Divanach *et al.*, 1997; Boglione *et al.*, 2001; Koumoundouros *et al.*, 2001; Gavia *et al.*, 2002). Adanya abnormalitas tulang yang jamak pada pemelihara tanpa minyak cumi, dikarenakan kerusakan bagian-bagian tubuh (seperti bagian kaudal dan dorsal) yang dialami oleh larva pada stadia *preflexion* sebelum terbentuknya bagian-bagian tulang (Gambar 2H dan J). Kerusakan tubuh tersebut akan mempengaruhi proses pembentukan tulang tidak hanya satu bagian tetapi pada bagian kaudal seperti *vertebrae* posterior akan diikuti oleh abnormal (fusi, reduksi, percabangan, bengkok atau tambahan) pada tulang *haemal spines*, *neural spines*,

epurals, dan *hypurals* (Gambar 2L dan M). Pada tubuh bagian dorsal akan diikuti oleh abnormal tulang bagian *dorsal proximal radials* (Gambar 2N-P). Sedangkan pemeliharaan dengan minyak cumi diduga karena aktivitas pergerakan larva. Meskipun larva dapat dengan mudah melepaskan diri dari tegangan permukaan air, tetapi sewaktu larva berenang ke permukaan akan menggerakkan bagian kaudal lebih aktif untuk mencapai permukaan air dengan berulang-ulang kali, hal ini diduga mempengaruhi juga proses pembentukan tulang bagian kaudal dan *vertebrae* menjadi abnormal. Kihara *et al.* (2001) melaporkan bahwa ikan dengan aktivitas pergerakan berenang yang tinggi, terutama akan memicu pergerakan di bagian kaudal lebih aktif ternyata dapat menyebabkan abnormal (lordosis atau fusi) pada *vertebrae* bagian tengah pada ikan *Pagrus major*.

Sintasan dan Kualitas Air

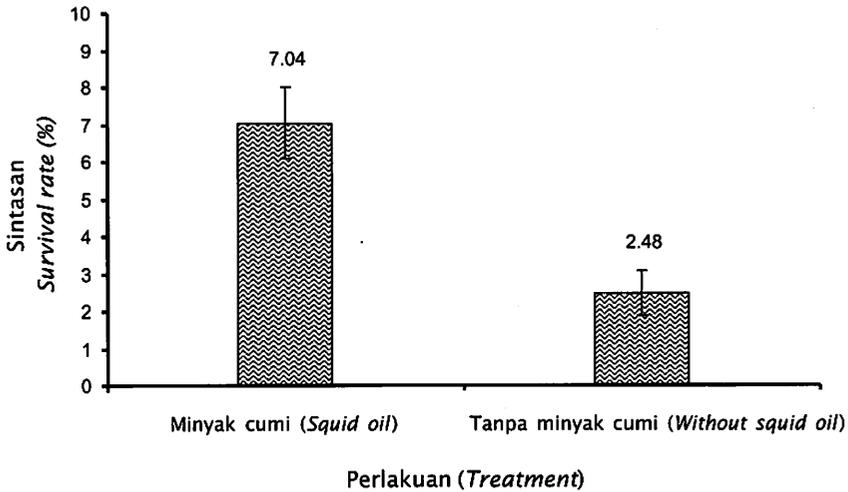
Sintasan pada pemeliharaan dengan dan tanpa menggunakan minyak cumi pada permukaan air dapat dilihat pada Gambar 5.

Pemeliharaan ikan dengan minyak cumi pada permukaan air menghasilkan sintasan yang jauh lebih tinggi (7,04%) daripada tanpa



Gambar 4. Persentase abnormalitas tunggal dan jamak pada pemeliharaan dengan dan tanpa minyak cumi pada permukaan air

Figure 4. Percentage of single and multiple deformities in larvae reared with and without squid oil at the water surface



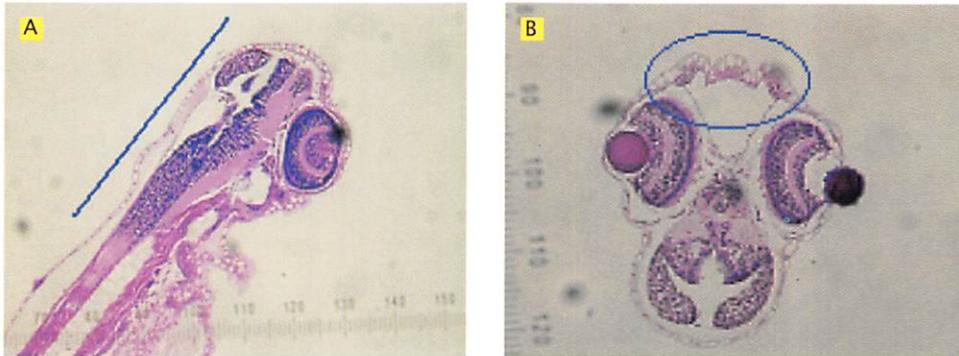
Gambar 5. Sintasan pada pemeliharaan dengan dan tanpa minyak cumi pada permukaan air
 Figure 5. Survival rate of larvae reared with and without squid oil at the water surface

minyak cumi yang hanya 2,48% ($P < 0,0001$). Tingginya sintasan pada pemeliharaan dengan minyak cumi, karena minyak cumi akan membentuk lapisan di permukaan air dan menurunkan tegangan permukaan air, sehingga dapat menekan kematian massal di permukaan air (Yamaoka *et al.*, 2000; Sugama *et al.*, 2001; Setiadi *et al.*, 2003). Kematian larva di permukaan air mulai terjadi pada hari ketiga kemudian mengalami penurunan pada hari ke-7 dan tertinggi kematian massal tersebut dijumpai pada hari ketiga dan keempat (Setiadi *et al.*, 2003). Terjadinya penurunan kematian massal dipermukaan air pada hari ke 6 dan ke 7 dikarenakan calon sirip punggung dan dada mulai tumbuh dan berkembang serta mulai tumbuh duri sirip punggung dan dada yang membantu pergerakan dan keseimbangan bagi larva dalam upaya meloloskan diri dari perangkat tegangan permukaan air. Setiadi dan Tridjoko (2001) melaporkan bahwa duri sirip punggung dan dada larva ikan kerapu bebek mulai tumbuh pada hari ke 7. Kejadian seperti ini dijumpai juga pada larva ikan kerapu sunu (*Plectropomus maculatus*) bahwa duri sirip punggung dan dada mulai tumbuh pada hari ke 7 (Diani *et al.*, 1991). Tingginya kematian massal dipermukaan air pada hari ketiga dan keempat ada hubungannya dengan pertumbuhan dan perkembangan lendir pada tubuh larva. Yamaoka *et al.* (2000) melaporkan bahwa terperangkapnya larva oleh tegangan permukaan air diduga karena lendir dari tubuh larva tersebut. Sugama *et al.* (2001) menyatakan bahwa larva

akan mengeluarkan lendir dan semakin meningkat bila larva dalam keadaan stress. Sel kelenjar lendir mulai tumbuh dan berkembang pada hari ketiga dan keempat serta terkonsentrasi pada bagian belakang kepala dan sebagian tubuh bagian dorsal (Kaji *et al.*, 1995). Telah diketahui bahwa lendir berfungsi sebagai anti predator, antibodi dan melindungi larva secara fisik maupun polutan (Yamaoka *et al.*, 2000; Kaji *et al.*, 1995). Berdasarkan hasil histologi dari larva umur 3 sampai 7 hari menunjukkan bahwa sel kelenjar lendir mulai terlihat tumbuh dan berkembang pada larva umur 3 hari dan terkonsentrasi terutama dibagian atas kepala sampai sebagian tubuh dibagian punggung di belakang kepala (Gambar 6A dan B). Kelenjar lendir tersebut terus tumbuh dan berkembang ke seluruh tubuh sejalan dengan bertambahnya umur larva. Hal ini terbukti bahwa sel kelenjar lendir tersebut sangat berhubungan erat dengan kerusakan atau abnormal larva yang dipelihara tanpa minyak cumi pada permukaan air, menunjukkan bahwa tubuhnya akan rusak di bagian atas kepala sampai sebagian punggung di belakang kepala yang dijumpai pada larva umur 3 hari (Gambar 2H).

Kualitas air seperti suhu, pH, DO, dan salinitas selama penelitian disajikan pada Tabel 1.

Hasil kualitas air pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kisaran kualitas air seperti suhu, DO, salinitas, dan pH masih dalam kisaran yang layak



Gambar 6. Photo histologi potongan memanjang dan melintang pada larva umur 3 hari: (A) potongan memanjang dari tubuh larva (garis biru menunjukkan perkembangan sel kelenjar lendir yang terkonsentrasi dari atas kepala sampai bagian di belakang kepala); (B) potongan melintang dari kepala (lingkaran biru menunjukkan perkembangan sel kelenjar lendir yang terkonsentrasi di atas kepala)

Figure 6. The photograph of long and cross sections histology of the body and the head of the larva 3 DAH: (A) long section of larva body (the blue line showed development of the mucous cell were concentrated from the head up to the back of the head); (B) cross section of the head of larva (the blue circle showed development of the mucous cells were concentrated on the head)

Tabel 1. Kualitas air selama penelitian

Table 1. Water quality during the experimental period

Perlakuan <i>Treatment</i>	Suhu <i>Temperature</i>	pH	Oksigen terlarut <i>Disolved oxygen</i> (mg/L)	Salinitas <i>Salinity</i> (ppt)
Minyak cumi <i>Squid oil</i>	27.20-30.70	7.81-8.17	4.85-6.18	32.00
Tanpa minyak cumi <i>Without squid oil</i>	27.10-30.50	7.91-8.20	4.57-6.13	32.00

untuk pemeliharaan kerapu (Setiadi & Tridjoko, 2001). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa kualitas air bukan merupakan faktor penyebab terjadinya abnormal dalam penelitian ini.

KESIMPULAN

1. Pemberian minyak cumi pada permukaan air media pemeliharaan dapat menurunkan abnormalitas dan meningkatkan sintasan larva ikan kerapu bebek.
2. Abnormal mulai muncul pada stadia *preflexion* sangat berhubungan erat dengan perilaku dan perkembangan fisiologi, seperti fototaksis, pertumbuhan, dan perkembangan kelenjar lendir dengan tegangan permukaan air.
3. Bagian tulang yang rentan terhadap

abnormal, yaitu *vertebrae* bagian tengah dan *hypurals* pada pemeliharaan dengan atau tanpa minyak cumi, sedangkan pada pemeliharaan tanpa minyak cumi dijumpai pada tulang *vertebrae* bagian posterior, *dorsal proximal radials*, dan *hypurals*.

4. Tipe abnormal yang umum dijumpai baik pada pemeliharaan dengan minyak cumi ataupun tidak pada permukaan air adalah lordosis, kiposis, dan fusi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Muslim, Komang, Buda, Fery, dan Kade dari Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali yang telah membantu selama penelitian ini. Terima kasih juga kepada Mujimin yang telah membantu mengerjakan histologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrades, J.A., J. Becerra, and P. Fernandez-Liebrez. 1996. Skeletal deformities in larval, juvenile, and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 141: 1—11.
- Aslianti, T. 1996. Pemeliharaan larva kerapu bebek *Cromileptes altivelis* dengan padat tebar berbeda. *J. Pen. Per. Indonesia*, 2(2): 6—12.
- Barahona-Fernandes, M.H. 1982. Body deformation in hatchery reared European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L). Types, prevalence, and effect on fish survival. *J. Fish. Biol.*, 21: 239—249.
- Boglione, C., F. Gagliardi, F. Scardi, and S. Cataudella. 2001. Skeletal descriptors and quality assessment in larvae and post-larvae of wild-cought and hatchery-reared gilthead sea bream (*Sparus aurata* L. 1758). *Aquaculture*, 192: 1—22.
- Bucke, D. 1974. Vertebral abnormalities in common bream *Abramis brama* (L). *J. Fish Biol.*, 6: 681—682.
- Bucke, D. and C. Andrew. 1985. Vertebral abnormalities in chub, *Leuciscus (Squalius) cephalus* L. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 5(1): 3—5.
- Campbell, W.B. 1995. Genetic variation of vertebral fusion patterns in coho salmon. *J. Fish Biol.*, 46: 717—720.
- Chatain, B. 1994. Abnormal swimbladder development in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) dan sea bream (*Sparus auratus*). *Aquaculture*, 199: 371—379.
- Cobcorft, J.M., P.M. Pankhurst, J. Salder, and P.R. Hart. 2001. Jaw development and malformation in cultured striped trumpeter *Latris lineata*. *Aquaculture*, 199: 267—282.
- Dedi, J., T. Takeuchi, T. Seikai, and T. Watanabe. 1995. Hypervitaminosis and safe levels of vitamin A for larval flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed artemia nauplii. *Aquaculture*, 133: 135—146.
- Diani, S., B. Slamet, dan P.T. Imanto. 1991. Studi pendahuluan pemijahan alami dan perkembangan awal larva ikan kerapu sunu, *Plectropomus maculatus*. *J. Pen. Budidaya Pantai*, 7(2): 10—19.
- Divanach, P., N. Papandroukalis, P. Anastasiadis, G. Koumoundourous, and M. Kentouri. 1997. Effects of water currents on the development of skeletal deformities in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) with fungsional swimbladder during post larval and nursery phase. *Aquaculture*, 156: 145—155.
- Gavia, P.J., M.T. Dinis, and M.L. Cancela. 2002. Osteological development and abnormalities of the vertebral column and caudal skeleton in larval and juvenile stages of hatchery-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 211: 305—323.
- Giri, A.N., B. Slamet, T. Setiadharna, dan Basori. 2001. Pengaruh sumber protein pakan induk terhadap perkembangan gonad dan kualitas telur ikan kerapu batik, *Epinephelus microdon*. *Prosiding Seminar Teknologi Budidaya Laut dan Pengembangan Sea Farming di Indonesia*, Jakarta 7—8 Maret 2001. DKP dan JICA, p. 130—137.
- Haga, Y., T. Takeuchi, and T. Sekai. 2002. Influence of all-trans retinoic acid on pigmentation and skeletal formation in larval Japanese flounder. *Fisheries Science*, 68: 560—570.
- Hilomen-Garcia, G.V. 1997. Morphological abnormalities in hatchery-bred milkfish (*Chanos-chanos* Forskal) fry and juveniles. *Aquaculture*, 152: 155—166.
- Hussain, N.A. and M. Higuchi. 1980. Larval rearing and development of brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsk.). *Aquaculture*, 19: 339—350.
- Ismi, S., Wardoyo, K.M. Setiawati, E. Setiadi, Tridjoko, dan A. Setiyono. 2001. Pemeliharaan larva kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) dengan intensitas cahaya berbeda. *Prosiding Seminar Teknologi Budidaya Laut dan Pengembangan Sea Farming di Indonesia*, Jakarta 7—8 Maret 2001. DKP dan JICA, p. 252—258.
- Kaji, T., K. Yamaoka, T. Isshiki, and T. Yamada. 1995. Mucous cells development on the body surface in larvae of the red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Bull. Mar. Sci. Fish.*, Kochi University, 15: 117—120.
- Kaji, T., M. Kodama., H. Arai., M. Tanaka, and M. Tagawa. 2003. Prevention of surface death of marine fish larvae by the addition of egg white into rearing water. *Aquaculture*, 224: 313—322.
- Kenedy, C.J., E.L. McDonald, R. Loveridge, and M.M. Storrsher. 2002. The effect of bioaccumulated selenium on mortalities and deformities in the eggs, larvae, and fry of wild population of cutthroat trout (*Onchorynchus clarki lewisii*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 39: 46—52.

- Kihara, M., S. Ogata, N. Kawano, I. Kubota, and R. Yamaguchi. 2001. Lordosis induction in juvenile red sea bream, *Pagrus major*, by high swimming activity. *Aquaculture*, 212: 149—158.
- Kitajima, C., T. Watanabe, Y. Tsukashima, and S. Fujita. 1994. Lordotic deformation and abnormal development of swimbladders in some hatchery-bred marine physoclistous fish in Japan. *J. World Aqua. Soc.*, 1: 65—77.
- Koesharyani, I., Zafran, E. Setiadi, K. Yuasa, and S. Kawahara. 1999. Control of benedenian infection in humpback grouper, *Cromileptes altivelis* with hydrogen peroxide, OP 60. In: "Aquatic Animal Health for Sustainable", *Book of Abstract, OP 40, Fourth Symposium on Disease in Asian Aquaculture*, November 22—26, 1999, Ceibu, Philippines.
- Kohno, H., S. Diani, and A. Supriatna. 1993. Morphological development of larval and juvenile grouper, *Epinephelus fuscoguttatus*. *Japan. J. Ichthyol.*, 40: 307—316.
- Koumoundouros, G., F. Gagliardi, P. Divanach, C. Boglione, S. Cataudella, and M. Kentouri. 1997. Normal and abnormal osteological development of caudal fin in *Sparus aurata* L. fry. *Aquaculture*, 149: 215—226.
- Koumoundouros, G., P. Divanach, and M. Kentouri. 2001. The effect of rearing conditions on development of saddleback syndrome and caudal deformities in *Dentex dentex* (L.). *Aquaculture*, 200: 285—304.
- Koumoundouros, G., E. Maingot, P. Divanach, and M. Kentouri. 2002. Kyphosis in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): Ontogeny and effect on mortality. *Aquaculture*, 209: 49—58.
- Kusaka, A., K. Yamaoka, T. Yamada, and M. Abe. 1994. Development of caudal skeleton of the red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Suisanzosoku*, 42(2): 273—278.
- Kusaka, A., K. Yamaoka, T. Yamada, M. Abe, and I. Kinoshita. 2001. Early development of dorsal and pelvic fins and their supports in hatchery-reared red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Ichthyological Research*, 48: 355—360.
- Loy, A., C. Boglione, and S. Cataudella. 1999. Geometrics morphometrics and morphoanatomy: a combined tool in the study of seabream (*Sparus aurata*, sparidae) shape. *J. Appl. Achthyol.*, 15: 104—110.
- Madsen, L. and I. Dalsgaard. 1999. Vertebral column deformities in farmed rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Aquaculture*, 171: 41—48.
- Marzuqi, M., N.A. Giri, K.M. Setiawati, and K. Suwirya. 2001. Pemeliharaan larva kerapu batik, *Epinephelus microdon* dengan awal pemberian pakan mikro pada umur yang berbeda. *Prosiding Seminar Teknologi Budidaya Laut dan Pengembangan Sea Farming di Indonesia*, Jakarta 7—8 Maret 2001. DKP dan JICA, p. 190—196.
- Matsuoka, M. 1987. Development of the skeletal tissues and skeletal muscle in the red sea bream. *Bull. Seikai Reg. Fish. Res. Lab.*, 65: 1—114.
- Paperna, I. 1978. Swimbladder and skeletal deformations in hatchery-bred *Sparus aurata*. *J. Fish Biol.*, 12: 109—114.
- Piron, R.D. 1978. Spontaneous skeletal deformities in the zebra dabioia (*Brachydanio rerio*) bred for fish toxicity test. *J. Fish. Biol.*, 13: 79—83.
- Potthoff, T. 1984. Clearing and Staining Techniques. In: *Ontogenetic and Systematic of Fishes*. Special Publication Number 1. The American Society of Ichthyologists and Herpetologists. Allen Press Inc., Lawrence, USA, p. 36—37.
- Priyono, A. 2004. Karakter pertumbuhan larva dan benih kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* yang dipelihara secara terkontrol. *Prosiding Peranan Biosistemika dalam Menunjang Pemanfaatan Keanekaragaman Hayati*. 25 September 2004, Program Studi Biologi FAMIPA ITS, Surabaya, p. 198—204.
- Rukyani, A. 2001. Strategi pengendalian penyakit viral pada budidaya ikan kerapu. *Prosiding Seminar Teknologi Budidaya Laut dan Pengembangan Sea Farming di Indonesia*, Jakarta 7—8 Maret 2001. DKP dan JICA, p. 27—34.
- SAS Institute Inc. 1989. *JMP Statistic Program* version 3.2.6, USA.
- Setiadarma, T. 2004. Pengamatan sintasan dan pertumbuhan pada pendederan benih ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) di pembenihan skala rumah tangga. *Prosiding Peranan Biosistemika dalam Menunjang Pemanfaatan Keanekaragaman Hayati*. 25 September 2004, Program Studi Biologi FAMIPA ITS, Surabaya, p. 205—211.
- Setiadi, E. dan Tridjoko. 2001. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan, sintasan dan laju pemangsaan larva ikan kerapu bebek

- (*Cromileptes altivelis*). *Prosiding Seminar Teknologi Budidaya Laut dan Pengembangan Sea Farming di Indonesia*, Jakarta 7—8 Maret 2001. DKP dan JICA, p. 235—245.
- Setiadi, E. 2003. *Study on Seedling Production of Red Spotted Grouper, Epinephelus akaara*. MS Thesis, Laboratory of Aquatic Ecology, Department of Aquaculture, Faculty of Agriculture, Kochi University, Kochi, Japan, 21 pp.
- Setiadi, E., S. Tsumira, and K. Yamaoka. 2003. Effects of water color and light intensity on water surface tension-related deaths in larval stage of the red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Suisanzoshoku*, 51: 81—85.
- Setiyadi, I., T. Setiadarma, A. Priyono, Kasprijo, dan A.A. Alit. 2001. Pengaruh pemberian pakan buatan dengan persentase berbeda terhadap pertumbuhan dan sintasan yuwana ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Pertanian*. Departemen Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 6—8 Oktober 2001. Mataram. Lombok, p. 328—331.
- Shimizu, H. and H. Takeuchi. 2002. Bone abnormality of hatchery-reared bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Suisanzoshoku*, 50(1): 71—18.
- Slamet, B., Tridjoko, A. Prijono, T. Setiadarma, dan K. Sugama. 1996. Penyerapan nutrisi endogen, tabiat makan, dan perkembangan morfologi larva kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). *J. Pen. Per. Indonesia*, 2(2): 13—21.
- Spencer, H.B., W.R. Hussein, and B.P. Tchounwou. 2002. Effects of tetrachloroethylene on the viability and development of embryos of the Japanese Medaka, *Oryzias latipes*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 42: 463—469.
- Stefansson, S.O., R. Nortvedt, J.T. Hansen, and L.G. Taranger. 1990. First feeding of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., under different photoperiods and light intensities. *Aquacul. Fish. Manag.*, 21: 435—441.
- Sugama, K., Tridjoko, B. Slamet, S. Ismi, E. Setiadi, and S. Kawahara. 2001. *Manual for Seed Production of Humpback Grouper, Cromileptes altivelis*. GRIM and JICA, 12 pp.
- Sugama, K., Tridjoko, S. Ismi, and K.M. Setiawati. 2004a. Environmental factors affecting embryonic development and hatching of humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) larvae. In: *Advances in Grouper Aquaculture* (Ed. M.A. Rimmer, S. McBride, and K.C. Williams), ACIAR, Australia, p. 17—20.
- Sugama, K., Tridjoko, S. Ismi, and K.M. Setiawati. 2004b. Larval rearing tank management to improve survival of early stage humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) larvae. In: *Advances in Grouper Aquaculture* (Ed. M.A. Rimmer, S. McBride, and K.C. Williams), ACIAR, Canberra, Australia, p. 67—70.
- Sutarmat, T., A. Hanafi, and S. Kawahara. 2003. Grow-out of humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) cultured in floating net cage with commercial pellet. *IMFS 2003. International Seminar on Marine and Fisheries*, 15—16 December 2003, JCC, Jakarta, p. 101—104.
- Suwirya, K., N.A. Giri, and M. Marzuqi. 2001. Pengaruh N-3HUFA terhadap pertumbuhan dan efisiensi pakan yuwana ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. *Prosiding Seminar Teknologi Budidaya Laut dan Pengembangan Sea Farming di Indonesia*, Jakarta 7—8 Maret 2001. DKP dan JICA, p. 201—206.
- Tridjoko, B. Slamet, T. Aslianti, Wardoyo, S. Ismi, J.H. Hutapea, K.M. Setiawati, I. Rusdi, D. Makatutu, A. Priyono, T. Setiadarma, M. Hirokazu, and S. Kumagai. 1996. *Research and Development: The Seed Production Technique of Humpback Grouper, Cromileptes altivelis*. GRSCF and JICA, 56 pp.
- Ukawa, M., M. Higuchi, and S. Mito. 1966. Spawning habits and early life history of a serranid fish, *Epinephelus akaara* (Temminck et schlegel). *Jpn. J. Ich.*, 13: 156—161.
- Wiegand, M.D., M.J. Hataley, L.C. Kithen, and G.L. Buchanan. 1989. Induction of developmental abnormalities in larval goldfish, *Carassius auratus* L., under cool incubation conditions. *Journal of Fish Biology*, 35: 85—95.
- Yamaoka, K., T. Nanbu, M. Miyagawa, T. Isshiki, and A. Kusaka. 2000. Water surface tension-related deaths in prelarval red-spotted grouper. *Aquaculture*, 189: 165—176.
- Zafran, D. Roza, T. Koesharyani, F. Johnny, and K. Yuasa. 1997. *Diagnosis and Treatments for Parasitic Diseases in Humpback Grouper, Cromileptes altivelis Broodstock*. GRSCF, CRIFI, Jakarta, 6 pp.