



Fisiologi dan derajat pembuahan sperma ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) diencerkan menggunakan air kelapa muda dan gliserol [Physiology and degree of fertilization of Siamese catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) sperm diluted using young coconut water and glycerol]

Mahdaliana¹, Rachmawati Rusydi¹, Aminah¹

¹Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian, Universitas Malikussaleh. Kampus utama Reuleut, Kabupaten Aceh Utara, Aceh, Indonesia

ABSTRACT | Siamese catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) is a freshwater fish that is widely cultivated widely in Indonesia. The aim of this research is to see the best and the best dose for sperm dilution and determine the effect of sperm dilution using young coconut water and glycerol on spermatozoa motility, spermatozoa survival, degree of egg fertilization, degree of egg hatching and water quality. The study was conducted in May to June 2018 at the UPT Aquaculture Department of the city of Agriculture and Marine city of Medan Tuntungan. The method used a non factorial completely randomized design with five treatments and three reapplication, namely A (control), B (60% young coconut water + glycerol 40%), C (50% young coconut water + glycerol 50%), D (young coconut water 40% + glycerol 60%) and E (young coconut water 30% + glycerol 70%). The results showed that spermatozoa motility, degree of fertilization of eggs and degree of hatching of eggs were not significantly different but significantly affected the survival of spermatozoa. The best treatment is in treatment B with sperm dilution using 60% young coconut water and 40% glycerol.

Key words | Siamese catfish, motility, survival, degree of fertilization, degree of hatching.

ABSTRAK | Ikan Patin Siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) merupakan ikan air tawar yang banyak dibudidayakan secara luas di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk melihat dosis terbaik dan yang paling bagus untuk pengenceran sperma serta mengetahui pengaruh pengenceran sperma menggunakan air kelapa muda dan gliserol terhadap motilitas spermatozoa, kelangsungan hidup spermatozoa, derajat pembuahan telur, derajat penetasan telur serta kualitas air. Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Mei sampai Juni 2018 bertempat di UPT Budidaya Dinas Pertanian dan Kelautan Kota Medan Tuntungan. Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial yang terdiri dari 5 perlakuan dan 3 ulangan yaitu A (kontrol), B (air kelapa muda 60% + gliserol 40%), C (air kelapa muda 50% + gliserol 50%), D (air kelapa muda 40% + gliserol 60%) dan E (air kelapa muda 30% + gliserol 70%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa, derajat pembuahan telur dan derajat penetasan telur tidak berbeda nyata tetapi berpengaruh sangat nyata terhadap kelangsungan hidup spermatozoa. Perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan B dengan pengenceran sperma menggunakan air kelapa muda 60% dan gliserol 40%.

Kata kunci | Ikan patin siam, motilitas, kelangsungan hidup, derajat pembuahan, derajat penetasan.

Received | 27 April 2022, **Accepted** | 25 Mei 2022, **Published** | 29 Mei 2022.

***Koresponden** | Mahdaliana, Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian, Universitas Malikussaleh. Kampus utama Reuleut, Kabupaten Aceh Utara, Aceh, Indonesia. **Email:** mahdaliana87@gmail.com

Kutipan | Mahdaliana, M., Rusydi, R., & Aminah, A. (2022). Fisiologi dan derajat pembuahan sperma ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) diencerkan menggunakan air kelapa muda dan gliserol. *Arwana: Jurnal Ilmiah Program Studi Perairan*, 4(1), 50-60.

p-ISSN (Media Cetak) | 2657-0254

e-ISSN (Media Online) | 2797-3530



© 2022 Oleh authors. [Arwana: Jurnal Ilmiah Program Studi Perairan](#). Artikel ini bersifat open access yang didistribusikan di bawah syarat dan ketentuan [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](#).

PENDAHULUAN

Ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) merupakan ikan air tawar

yang banyak dibudidayakan secara luas di Indonesia. Ikan patin siam diintroduksi dari Thailand pada tahun 1972, dan dikenal juga sebagai lele Bangkok. Ikan patin siam memiliki

beberapa keunggulan diantaranya yaitu laju pertumbuhan cepat, mempunyai daya toleransi yang tinggi pada perairan yang tidak mengalir dengan kandungan oksigen terlarut rendah serta responsif terhadap pemberian pakan tambahan. Dengan keunggulan tersebut ikan patin siam ini menjadi salah satu komoditas perikanan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi, baik dalam usaha pembenihan maupun usaha pembesarannya (Susanto, 2009). Tingginya permintaan pasar mendorong para pembudidaya untuk menambah jumlah produksi dalam kegiatan budidaya ikan patin siam. Namun, penyediaan benih patin siam yang berkualitas dan berkesinambungan mengalami hambatan karena terbatasnya ketersediaan induk jantan yang matang gonad dan siap dipijahkan. Frekuensi pemijahan ikan patin siam masih tergolong rendah, karena pemijahannya hanya terjadi pada musim penghujan (Rahardhianto *et al.*, 2012). Masrizal dan Efrizal (1997) menyatakan bahwa salah satu permasalahan fertilisasi pada budidaya ikan patin siam adalah rendahnya tingkat fertilisasi dari spermatozoa di dalam air. Hal ini mengakibatkan banyaknya sel telur yang tidak terbuahi secara sempurna. Permasalahan lain adalah kurangnya ketersediaan cairan spermatozoa pada waktu pembuahan buatan. Rendahnya pembuahan spermatozoa dalam fertilisasi buatan ini juga disebabkan oleh aktivitas spermatozoa yang relatif singkat (Nurman, 1998). Permasalahan umum disebabkan oleh singkatnya waktu viabilitas dan motilitas dari spermatozoa, sehingga kemampuan spermatozoa untuk menembus lubang mikrofil pada sel telur rendah. Volume cairan spermatozoa dapat ditingkatkan dengan rangsangan hormonal, sedangkan menurut (Masrizal dan Efrizal, 1997) volume cairan spermatozoa dapat juga dilakukan dengan pengenceran serta penambahan larutan fisiologis. Pengenceran dibutuhkan untuk mensuplai nutrisi dan bersifat isotonik dimana dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai sehingga sperma dapat bertahan hidup. Salah satu bahan yang digunakan sebagai bahan pengencer adalah air kelapa muda dan gliserol. Air kelapa muda merupakan salah satu sumber nutrisi bagi spermatozoa karena mengandung glukosa dan fruktosa yang juga terkandung dalam cairan semen sehingga dapat dijadikan sebagai sumber energi bagi spermatozoa untuk membuahi telur

(Toelihere, 1981). Toelihere, (1985) menyatakan bahan pengencer harus mengandung unsur-unsur yang hampir sama dengan semen dan tidak mengandung zat yang bersifat racun. Dengan demikian air kelapa mudadiharapkan mampu menggantikan cairan NaCl sebagai bahan pengencer spermatozoa ikan patin siam. Selain air kelapa muda sebagai bahan pengencer gliserol juga diperlukan sebagai pelindung (protective agent) spermatozoa. Gliserol dapat berdifusi ke dalam sel dan membentuk fruktosa sebagai sumber energi sehingga dapat digunakan untuk melindungi sel dari proses difusi media sekitarnya. Penambahan gliserol dalam pengencer dapat melindungi sperma dari suhu rendah yang dapat mematikan sperma (Mumu, 2009). Penelitian terdahulu dari Isnan *et al.*, (2013) menyatakan bahwa penambahan air kelapa dan gliserol berpengaruh terhadap fertilisasi spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio* L) dan spermatozoa masih bertahan hidup selama penyimpanan 4 hari, namun semakin lama disimpan motilitas akan semakin menurun. Hasil terbaik dari penelitian ini adalah penyimpanan sperma dengan perbandingan dosis 50% air kelapa dan 50% gliserol. Berdasarkan hal tersebut di atas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang “fisiologi dan derajat pembuahan sperma ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) diencerkan menggunakan air kelapa muda dan gliserol”. Penelitian ini bermanfaat sebagai acuan untuk kalangan pembudidaya dalam hal pengenceran sperma ikan dengan menggunakan air kelapa muda dan gliserol, sehingga dapat meningkatkan produksi ikan patin siam kedepannya.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni 2018. Penelitian ini dilakukan di UPT Budidaya Dinas Pertanian dan Kelautan Kota Medan Tuntungan.

Metode dan Rancangan Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode dengan menggunakan analisis data Rancangan Acak Lengkap non faktorial. Penelitian terdiri atas 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Adapun faktor dari perlakuan dalam penelitian ini adalah fisiologi dan derajat

pembuahan sperma ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) diencerkan dengan menggunakan air kelapa muda dan gliserol. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: perlakuan A : Kontrol (menggunakan NaCl), perlakuan B : 0,5 ml sperma dengan Pengencer gliserol 40% + 60% air kelapa, perlakuan C : 0,5 ml sperma dengan Pengencer gliserol 50% + 50% air kelapa dan perlakuan D : 0,5 ml sperma dengan pengencer gliserol 60% + 40% air kelapa, serta perlakuan E : 0,5 ml sperma dengan pengencer gliserol 70% + 30% air kelapa.

Wadah untuk pemijahan induk

Wadah yang digunakan untuk pemijahan induk ikan berupa bak fiber yang berukuran 163×113×69 cm³ sebanyak 2 buah. Sebelum wadah tersebut digunakan di cuci dan disikat terlebih dahulu kemudian dibilas dengan air bersih kemudian dikeringkan selama 1 hari. Setelah itu bak fiber diisi air dengan ketinggian ±50 cm.

Wadah pengenceran sperma

Wadah yang digunakan untuk pengenceran sperma berupa baskom dengan ukuran, lebar 20 cm dan tinggi 7 cm sebanyak 5 buah. Sebelum digunakan, wadah tersebut dicuci dengan air sampai bersih kemudian dikeringkan.

Wadah inkubasi telur

Wadah inkubasi telur menggunakan baskom dengan ukuran lebar 30 cm, tinggi 14 cm, jumlah wadah yang digunakan sebanyak 15 buah. Sebelum wadah digunakan terlebih dahulu dibersihkan dengan deterjen lalu dibilas dengan air bersih kemudian dikeringkan. Setelah kering diisi air sebanyak 10 cm. Selanjutnya dipasang aerasi sebagai penyuplai oksigen.

Persiapan biota uji

Ikan yang digunakan pada saat penelitian ini adalah ikan patin siam jantan dan betina yang matang gonad, ikan yang digunakan sebanyak 2 ekor jantan dan 1 ekor betina. Induk ikan patin siam jantan dan betina berumur 2 tahun, berat induk ikan jantan 1,5kg dan 1,8kg sedang berat induk ikan betina 2kg. Sebelum dilakukan pemijahan induk jantan dan betina disuntik terlebih dahulu dengan menggunakan hormon ovaprim untuk mempercepat merangsang proses pemijahan. Induk jantan dan betina disuntik dengan menggunakan hormon ovaprim, proses

penyuntikan dilakukan 2 kali yaitu pagi dan malam pada jam 10 malam dan jam 10 pagi.

Persiapan bahan pengencer

Bahan pengencer yang digunakan dalam penelitian ini adalah air kelapa muda dan gliserol yang ditambahkan dengan 5 macam perlakuan air kelapa muda dan gliserol yang berbeda. Penggunaan air kelapa muda 60%, 50%, 40% dan 30%, sedangkan gliserol yang digunakan dalam penelitian yaitu 40%, 50% 60% dan 70%. Adapun konsentrasi tersebut diperoleh melalui penentuan berikut:

$$\text{Air kelapa dan gliserol \%} = \frac{\text{persentase air kelapa muda} \times \text{jumlah pengencer}}{100}$$

Pengambilan telur dan sperma

Pengambilan telur dilakukan setelah penyuntikan kedua, induk dimasukkan kedalam bak fiber selama 6-8 jam. Pada saat itu, induk betina sudah siap untuk dikeluarkan telurnya dengan cara di striping. Wadah untuk penampungan telur berupa baskom kemudian siapkan bulu ayam untuk pengadukan pencampuran telur dengan sperma. Penangkapan induk betina dengan serok, kemudian induk bagian tubuhnya semua dilap dengan kain dan selimuti tubuh induk dengan kain lap kecuali bagian lubang telurnya. Pengambilan telur dan sperma dilakukan striping dengan cara stiping yaitu mengurut bagian perut ikan ke arah lubang pengeluaran hingga telur dan sperma keluar. Telur dan sperma yang keluar ditampung didalam baskom secara terpisah.

Pencampuran bahan pengencer

Sperma yang telah dikeluarkan dari induk jantan harus segera dicampur dengan telur yang telah disiapkan sebelumnya. Hal itu bertujuan agar telur dan sperma tersebut tidak mati. Berikut adalah langkah-langkah pencampuran sperma dengan telur. Masukkan NaCl sebanyak 0,5 ml kedalam baskom. Masukkan bahan pengencer air kelapa muda dan gliserol dengan konsentrasi yang sudah ditentukan kedalam baskom yang lain sebanyak 4 buah, kemudian masukkan sperma sebanyak 0,5 ml dan telur sebanyak 100 butir kedalam baskom yang telah berisi air kelapa dan gliserol. Setelah bercampur air kelapa muda, gliserol, telur dan sperma kemudian semuanya diaduk dengan menggunakan bulu ayam hingga merata selama satu menit. Setelah itu buang larutan pengencer

secara perlahan agar telurnya tidak ikut keluar. Apabila sudah siap telur ditebar kedalam wadah penetasan.

Parameter Pengamatan

Pengamatan motilitas spermatozoa

Pengamatan motilitas dilakukan dengan cara mengambil satu tetes sperma dengan menggunakan pipet ($\pm 0,01$ ml) dan diletakkan pada *obyek glass* kemudian diteteskan dengan aquades diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400X. Menurut Utami *et al.*, (2016) pengamatan persentase motilitas spermatozoa dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Motilitas spermatozoa} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa yang Motil Progresif}}{\text{Jumlah Spermatozoa yang Diamati}} \times 100\%$$

Kelangsungan hidup spermatozoa

Penentuan persentase hidup sperma dilakukan dengan metode pewarnaan dengan menggunakan larutan pewarna *eosin*. Satu tetes sperma yang telah diencerkan diletakkan pada *obyek glass* kemudian ditambah dengan cairan pewarna *eosin* dan dihomogenkan. Selanjutnya dibuat preparat ulas dengan cara menekan dan mendorong menggunakan *cover glass* membentuk sudut 45° kemudian dilihat dibawah mikroskop untuk dihitung jumlah spermatozoa yang hidup dan berapa jumlah spermatozoa yang mati agar dapat diperoleh kelangsungan hidup spermatozoa. Sperma yang mati akan menyerap zat warna merah dan yang hidup akan tetap berwarna transparan pada bagian dalam selnya. Pengamatan kelangsungan hidup spermatozoa dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x (Susilowati *et al.*, 2010).

$$\text{Kelangsungan hidup spermatozoa} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa yang Hidup}}{\text{Jumlah Spermatozoa yang Mati}} \times 100\%$$

Derajat pembuahan telur

Perhitungan derajat pembuahan telur dapat dilakukan dengan menggunakan rumus menurut (Yusnita, 2003). Perhitungan jumlah telur menetas berdasarkan rumus dibawah ini:

$$\text{FR} = \frac{\text{Jumlah Telur Terbuahi}}{\text{Jumlah Total Telur}} \times 100\%$$

Derajat penetasan telur

Pengamatan tingkat penetasan telur dilakukan setelah 24 jam dengan melihat banyaknya telur yang menetas. Menurut Effendi, (2002) derajat penetasan adalah banyaknya telur yang

menetas menjadi larva dari total telur yang dibuahi. Adapun derajat penetasan telur dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Derajat penetasan} = \frac{\sum \text{Telur yang Menetas}}{\sum \text{Telur yang Terbuahi}} \times 100\%$$

Analisis Data

Dari hasil penelitian, data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, selanjutnya dianalisis dengan uji F (ANOVA). Apabila $F_{hitung} > F_{tabel}$ (berbeda nyata), maka selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan uji Tukey. Analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS versi 17.0.

HASIL

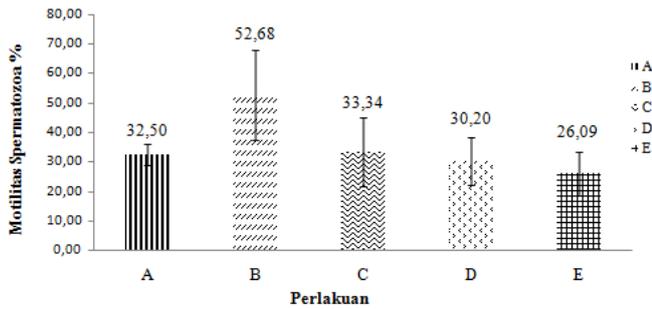
Selama penelitian, pengamatan spermatozoa ikan patin siam yang dihasilkan yaitu 3,1 ml dari 2 ekor induk jantan dengan berat induk masing-masing 1,8 kg dan 2,0 kg serta umur ikan patin siam 2 tahun. Induk ikan patin siam yang digunakan yaitu matang gonad, induk yang matang gonad apabila diurut bagian perut ke arah anus akan mengeluarkan telur dan spermatozoa berwarna putih susu. Spermatozoa hasil striping, dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Volume spermatozoa ikan patin siam dihasilkan dari hasil penelitian yaitu 1,4 ml dan 1,7 ml dengan berat induk 1,8kg dan 2,0 kg (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Pengamatan Sperma Ikan Patin Siam.

No.	Parameter	Hasil
1.	Volume	1,4 ml dan 1,7 ml
2.	Warna	Putih susu
3.	Bau	Amis
4.	Konsistensi	Kental

Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk bergerak maju (progresif). Motilitas spermatozoa juga salah satu faktor yang menentukan kelayakan kualitas spermatozoa setelah pengenceran karena sangat mempengaruhi kemampuan untuk membuahi sel telur. Hasil pengamatan motilitas spermatozoa tersebut dapat dilihat pada Gambar 1 dibawah ini:



Gambar 1. Motilitas Spermatozoa (%)

Keterangan:

Perlakuan A NaCL (kontrol)

Perlakuan B Pengenceran sperma menggunakan gliserol 40% + air kelapa muda 60%.

Perlakuan C Pengenceran sperma menggunakan gliserol 50% + air kelapa muda 50%.

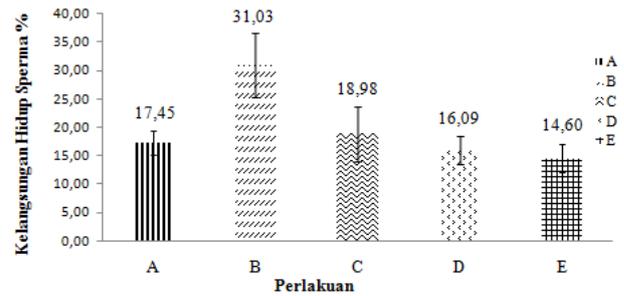
Perlakuan D Pengenceran sperma menggunakan gliserol 60% + air kelapa muda 40%.

Perlakuan E Pengenceran sperma menggunakan gliserol 70% + air kelapa muda 30%.

Berdasarkan hasil penelitian motilitas spermatozoa terlihat bahwa perlakuan yang paling baik adalah perlakuan B dengan nilai 52,68%. Selanjutnya diikuti perlakuan C dengan nilai 33,34%, A dengan nilai 32,50% kemudian perlakuan D dengan nilai 30,20% dan terendah adalah perlakuan E dengan nilai 26,09%. Motilitas spermatozoa juga dapat dipengaruhi oleh bahan pengencer, adapun bahan pengencer yang digunakan yaitu air kelapa muda dan gliserol. Hasil analisis statistik (ANOVA) menunjukkan bahwa pengenceran sperma menggunakan gliserol dan air kelapa muda tidak berbeda nyata, dengan nilai $F_{hitung} 3.224 < F_{tabel(0,0,5)} 3,48$.

Kelangsungan Hidup Spermatozoa

Kelangsungan hidup spermatozoa adalah seberapa banyak jumlah sperma yang hidup selama pengenceran dengan menggunakan gliserol dan air kelapa muda setelah menggunakan larutan eosin. Berdasarkan hasil penelitian kelangsungan hidup sperma terlihat bahwa perlakuan yang paling tinggi terdapat pada perlakuan B dengan nilai 31,03%. Selanjutnya diikuti perlakuan C dengan nilai 18,98%, A dengan nilai 17,45% kemudian perlakuan D dengan nilai 16,09% sedangkan hasil terendah terdapat pada Perlakuan E dengan nilai 14,60%. Hasil pengamatan kelangsungan hidup sperma tertinggi terdapat pada perlakuan B, hanya memiliki nilai persentase sebesar 31,03%.



Gambar 2. Kelangsungan Hidup Sperma (%)

Keterangan:

Perlakuan A NaCL (kontrol)

Perlakuan B Pengenceran sperma menggunakan gliserol 40% + air kelapa muda 60%.

Perlakuan C Pengenceran sperma menggunakan gliserol 50% + air kelapa muda 50%.

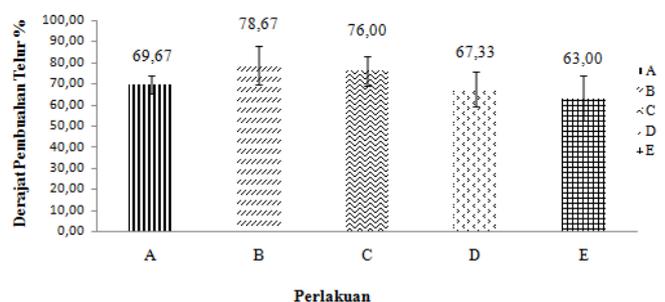
Perlakuan D Pengenceran sperma menggunakan gliserol 60% + air kelapa muda 40%.

Perlakuan E Pengenceran sperma menggunakan gliserol 70% + air kelapa muda 30%.

Nilai yang diperoleh dari hasil kelangsungan hidup spermatozoa cukup rendah jika dibandingkan dengan nilai motilitas spermatozoa, derajat pembuahan telur dan derajat penetasan telur. Adapun nilai 31,03% yang dihasilkan dari pengamatan kelangsungan hidup spermatozoa dari tiap-tiap perlakuan memiliki nilai tertinggi dari pada perlakuan A, C, D dan E. Berdasarkan hasil uji analisis statistik (ANOVA) pada penelitian ini menunjukkan bahwa kelangsungan hidup sperma ikan patin siam berbeda nyata dengan nilai $F_{hitung} 9.238 > F_{tabel(0,0,5)} 3,48$.

3.1. Derajat Pembuahan Telur

Derajat pembuahan telur merupakan proses bergabungnya inti sperma dengan inti sel telur dalam sitoplasma sehingga membentuk zigot (Murtini, 2005). Proses derajat pembuahan telur sangat dipengaruhi oleh kualitas telur, sperma dan kecepatan sperma untuk bergerak spontan sehingga mampu masuk ke dalam lubang mikropil telur.



Gambar 3. Derajat Pembuahan Telur (%)

Keterangan:

Perlakuan A NaCL (kontrol)

Perlakuan B Pengenceran sperma menggunakan gliserol 40% + air kelapa muda 60%.

Perlakuan C Pengenceran sperma menggunakan gliserol 50% + air kelapa muda 50%.

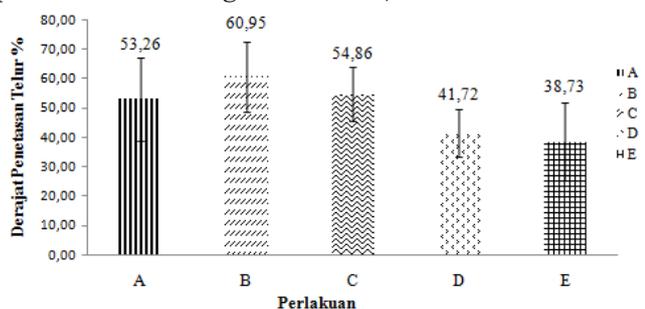
Perlakuan D Pengenceran sperma menggunakan gliserol 60% + air kelapa muda 40%.

Perlakuan E Pengenceran sperma menggunakan gliserol 70% + air kelapa muda 30%.

Berdasarkan hasil penelitian, persentase derajat penguatan telur ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) pada semua perlakuan tergolong tinggi karena berada di atas 50%. Hal ini sesuai dengan pendapat Fani *et al.*, (2018) persentase telur ikan yang terbuahi di atas 50% tergolong tinggi, sedangkan 30-50% tergolong sedang dan dibawah 30% tergolong rendah. Rata-rata derajat penguatan telur pada perlakuan A adalah 69,67%, perlakuan B 78,67%, perlakuan C 76,00% kemudian perlakuan D 67,33% dan perlakuan E 63,00%. Hasil analisis statistik (ANOVA) menunjukkan bahwa pengenceran sperma menggunakan gliserol dan air kelapa muda tidak berbeda nyata, dengan nilai $F_{hitung} 1.875 < F_{tabel(0,0.5)} 3,48$.

Derajat Penetasan Telur

Derajat penetasan telur merupakan persentase jumlah telur yang menetas dari sejumlah telur yang dibuahi. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa derajat penetasan telur tertinggi terdapat pada perlakuan B dengan nilai 60,95% selanjutnya pada perlakuan C dengan nilai 54,86%, diikuti lagi perlakuan A dengan nilai 53,26%, D dengan nilai 41,72% dan perlakuan E dengan nilai 38,73%.



Gambar 4. Derajat Penetasan Telur (%)

Keterangan:

Perlakuan A NaCL (kontrol)

Perlakuan B Pengenceran sperma menggunakan gliserol 40% + air kelapa muda 60%.

Perlakuan C Pengenceran sperma menggunakan gliserol 50% + air kelapa muda 50%.

Perlakuan D Pengenceran sperma menggunakan gliserol 60% + air kelapa muda 40%.

Perlakuan E Pengenceran sperma menggunakan gliserol 70% + air kelapa muda 30%.

Derajat penetasan telur berhubungan erat dengan tingkat penguatan, apabila tingkat perkembangan embrio pada derajat penguatan telur baik maka tingkat penetasanpun akan tinggi. Derajat penetasan telur tertinggi terdapat pada perlakuan B dengan nilai 60,95%. Hasil analisis statistik (ANOVA) menunjukkan bahwa pengenceran sperma menggunakan gliserol dan air kelapa muda tidak berbeda nyata, dengan nilai $F_{hitung} 1.939 < F_{tabel(0,05)} 3,48$.

PEMBAHASAN

Penggunaan air kelapa muda dan gliserol memberikan perlindungan untuk spermatozoa secara intraseluler dan ekstraseluler. Mekanisme perlindungan intraseluler dipengaruhi oleh gliserol dengan cara memasuki sel dan menggantikan sebagian air yang bebas kemudian mendesak keluar elektrolit-elektrolit tersebut serta mengurangi daya rusaknya terhadap spermatozoa (Toelihere, 1993). Sedangkan perlindungan secara ekstraseluler juga diberikan oleh air kelapa muda karena air kelapa muda mengandung glukosa, fruktosa, mineral, vitamin dan protein yang berfungsi menyediakan kebutuhan fisik dan kimiawi sehingga dapat mempertahankan motilitas serta kelangsungan hidup spermatozoa.

Motilitas sperma tertinggi terdapat pada perlakuan B dengan nilai 52,68% menunjukkan bahwa kualitas spermatozoa baik. Hal ini sejalan dengan pendapat Lopes, (2002) menyatakan bahwa motilitas spermatozoa dinyatakan baik apabila memenuhi kriteria lebih dari 50%. Motilitas spermatozoa tertinggi dipengaruhi oleh bahan pengencer, adapun konsentrasi bahan pengencer yang digunakan pada perlakuan tersebut sesuai untuk pengenceran sperma serta penggunaan air kelapa muda lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini sesuai dengan literatur Isnain *et al.*, (2013) menyatakan komposisi air kelapa muda lebih banyak dari gliserol sehingga kombinasi tersebut efektif dalam mensuplai nutrisi dan melindungi sel sperma.

Motilitas spermatozoa terendah terdapat pada perlakuan E dengan nilai 26,09%. Hal ini sejalan dengan pendapat Toelihere, (1981) persentase motilitas spermatozoa yang dikatakan kurang baik dalam proses penguatan telur apabila di bawah 40%. Motilitas spermatozoa kurang baik

dipengaruhi oleh bahan pengencer yang tidak sesuai, berkurangnya cadangan makanan yang dibutuhkan oleh spermatozoa sehingga spermatozoa mengalami kelelahan dan menyebabkan kematian. Hal ini sesuai dengan pernyataan Diana, (2015) menyatakan bahwa, penurunan motilitas spermatozoa disebabkan oleh berkurangnya cadangan zat-zat makanan dalam larutan pengencer yang digunakan untuk pergerakan dan mempertahankan hidupnya sehingga pada kondisi tertentu menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa dan mengalami kematian.

Penurunan motilitas spermatozoa juga disebabkan karena konsentrasi gliserol lebih banyak dibandingkan dengan bahan pengencer air kelapa muda. Penggunaan gliserol yang tinggi dapat menyebabkan berkurangnya sumber energi sehingga dapat memicu terjadinya kerusakan langsung yang berpengaruh pada struktur dan fungsi seluler, salah satunya yaitu penurunan motilitas spermatozoa. Gliserol akan memberikan perlindungan yang efektif terhadap sperma apabila konsentrasi di dalam pengencer optimal, dan apabila tidak optimal akan menimbulkan gangguan pada sperma berupa penurunan motilitas dan kualitas spermatozoa. Adapun penyebab lain dari penurunan motilitas sperma dapat disebabkan oleh efek gliserol yang kurang berjalan dengan lancar dalam menggantikan air bebas dan mendesak keluar elektrolit-elektrolit pada proses pengenceran, sehingga elektrolit menumpuk dan merusak dinding sel serta permeabilitas membran plasma akan menurun. Apabila membran plasma spermatozoa sudah mengalami kerusakan, maka metabolisme spermatozoa akan terganggu dan mulai kehilangan motilitasnya sehingga mengakibatkan kematian spermatozoa. Hal ini juga sejalan dengan pendapat Kusuma (1990), kerusakan metabolisme spermatozoa dapat menyebabkan cadangan makanan berkurang dan larutan elektrolit menjadi tidak seimbang sehingga spermatozoa mengalami kelelahan dan mati.

Nilai kelangsungan hidup spermatozoa tinggi dipengaruhi oleh bahan pengencer masih aktif sehingga sperma memiliki makanan dan sumber energi untuk bertahan hidup. Hal ini sesuai dengan pendapat Yani *et al.*, (2001) persentase kelangsungan hidup spermatozoa masih tinggi disebabkan masih tersedianya zat energi yang

dibutuhkan oleh sperma, larutan penyanggah yang masih stabil, tekanan osmotik yang masih isotonis, serta umur spermatozoa yang masih segar.

Pada perlakuan A mengalami penurunan kelangsungan hidup spermatozoa dengan nilai 17,45%, hal ini disebabkan spermatozoa tidak terdapat cukup makanan dari pengenceran spermatozoa menggunakan NaCl, karena NaCl tidak sepenuhnya memberikan sumber energi dan makanan untuk sperma akan tetapi diperlukan bahan pengencer yang lain untuk pengenceran sperma yang dapat mempertahankan dan melindungi spermatozoa agar kelangsungan hidup spermatozoa tetap tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Tilman, (1983) menambahkan bahwa kekurangan zat-zat makanan pada bahan pengencer dapat mengurangi pergerakan spermatozoa, daya membuahi sel telur dan jumlah kelangsungan hidup spermatozoa.

Kelangsungan hidup spermatozoa terendah terdapat pada perlakuan E dengan nilai 14,60%. Terjadinya penurunan kelangsungan hidup disebabkan karena kekurangan cadangan makanan yang dimanfaatkan spermatozoa untuk bergerak dan bertahan hidup pada saat pengenceran. Hal ini sesuai dengan pendapat Danang *et al.*, (2012) bahwa semakin berkurangnya cadangan makanan, dan ketidakseimbangan cairan elektrolit akibat metabolisme spermatozoa dapat menyebabkan kerusakan membran sel spermatozoa. Kerusakan membran sel spermatozoa akan berdampak pada membran yang pada awalnya mempunyai sifat semi permeabel tidak lagi mampu menyeleksi keluar masuknya zat, sehingga pada saat dilakukan uji warna eosin zat tersebut masuk ke dalam plasma dan sperma tersebut banyak mengalami kematian.

Tingginya derajat pembuahan telur pada perlakuan B yang mencapai 78,67% dikarenakan bahan pengencer yang digunakan pada saat pengenceran masih aktif dan memberikan sumber energi untuk spermatozoa. Menurut pendapat Masrizal dan Efrizal (1997) derajat pembuahan telur tinggi berhubungan erat dengan bahan pengencer yang mampu memberikan sumber energi dan perlindungan untuk spermatozoa. Adapun pergerakan spermatozoa aktif dan licik dipengaruhi oleh spermatozoa yang mempunyai kemampuan dan energi untuk menembus

lubang mikrofil telur. Hal ini sesuai dengan pendapat Lismawati *et al.*, (2016) bahwa derajat pematangan telur dapat didukung oleh kualitas telur spermatozoa yang baik.

Motilitas spermatozoa pada perlakuan A dengan nilai 32,50% tidak mengalami peningkatan disebabkan karena pemberian NaCl fisiologis saja tidak memberikan sumber energi yang cukup, serta energi yang tersedia di dalam NaCl kurang untuk pengenceran spermatozoa sehingga spermatozoa mengalami penurunan motilitas. Hal ini sesuai dengan pendapat Solichah, (2007) bahwa semakin berkurangnya cadangan makanan, dan ketidak seimbangan cairan elektrolit akibat metabolisme spermatozoa dapat menyebabkan penurunan serta kerusakan membran sel spermatozoa.

Perlakuan A mengalami penurunan derajat pematangan telur dengan nilai 69,67%, Hal ini dikarenakan dengan penggunaan NaCl yang tinggi tanpa ada bahan pengencer yang lain dapat menyebabkan derajat pematangan telur menurun dan tidak memberikan sumber energi yang cukup serta telur tidak berkembang dengan baik sehingga mengalami penurunan derajat pematangan telur. Menurut pendapat Ardias, (2008) pemberian larutan NaCl dengan dosis yang tinggi dapat menyebabkan telur yang berhasil dibuahi tidak berkembang dengan baik.

Derajat pematangan telur terendah terdapat pada perlakuan E dengan nilai 63,00 butir/ekor hal ini disebabkan oleh bahan pengencer tidak dapat memberikan energi bagi spermatozoa sehingga spermatozoa untuk menembus lubang mikrofil telur rendah dan spermatozoa banyak mengalami kematian. Pada telur yang tidak mengalami pematangan, disebabkan oleh spermatozoa tidak dapat masuk ke dalam lubang mikrofil. Masuknya spermatozoa ke dalam sel telur melalui lubang mikrofil hanya berlangsung antara 45-60 detik kemudian lubang mikrofil tertutup sehingga dapat menyebabkan derajat pematangan menjadi rendah. Riehl, (1991) menyatakan bahwa kegagalan pematangan telur disebabkan karena sperma tidak dapat memasuki lubang mikrofil telur dan mengalami kematian.

Adapun Derajat penetasan telur pada saat penelitian dianggap tinggi karena memiliki nilai di atas 50%. Hal ini sesuai dengan pendapat Hijriyati, (2012) menjelaskan bahwa derajat penetasan dengan nilai di atas 50% tinggi dan

30%-50% adalah dianggap rendah. Derajat penetasan tertinggi dipengaruhi oleh embrio dapat berkembang dengan baik serta kualitas sperma yang masih bagus dan persediaan makan untuk spermatozoa masih cukup sehingga sperma bisa bertahan hidup dan bisa menembus lubang mikrofil dengan cepat. Hal ini sejalan dengan pendapat Kurniasih dan Gustiano, (2007) yang menyatakan bahwa keberhasilan derajat pematangan telur ikan ditentukan oleh keberhasilan penetrasi sperma terhadap mikrofil telur.

Derajat penetasan pada perlakuan A mengalami penurunan dengan nilai 53,26%. Hal ini dapat disebabkan karena NaCl tidak sepenuhnya memberikan sumber energi bagi sperma maka diperlukan bahan pengencer lain yang dapat memberikan sumber makanan dan energi untuk bisa bergerak karena spermatozoa membutuhkan energi menuju lubang mikrofil telur. Hal ini sesuai dengan pendapat Adipu *et al.*, (2011) pada kondisi pergerakan sperma aktif dan lincah, sperma mempunyai kemampuan dan energi untuk menembus lubang mikrofil telur.

Sedangkan nilai daya tetas telur terendah terdapat pada perlakuan E dengan nilai 38,73% hal ini sesuai dengan pernyataan Hijriyati, (2012) menjelaskan bahwa derajat penetasan dengan nilai 30%- 50% adalah dianggap rendah. Derajat penetasan telur rendah disebabkan oleh sperma tidak mampu berkembang setelah membuahi telur karena kekurangan energi pada saat sperma bergerak dan berenang kemudian spermatozoa kesulitan menembus mikrofil telur sehingga banyak telur yang tidak menetas. Menurut Zairin *et al.*, (2005) faktor yang diduga menyebabkan rendahnya penetasan telur yaitu telur tidak berkembang setelah terbuahi, perubahan kemampuan fisiologi telur saat embriogenesis, atau dapat pula disebabkan karena kerusakan telur pada saat pematangan. Kerusakan telur patin siam dapat terjadi karena telur tersebut bersifat lengket dan mudah tenggelam sehingga dapat menyebabkan telur banyak yang mengalami pembusukan kemudian telur tidak menetas. Hal ini sesuai dengan pendapat Slembrouck *et al.*, (2005) telur ikan patin siam dapat menempel satu sama lain atau pada substrat melalui selaput lendir lengket yang menutupi seluruh permukaan telur kemudian telur banyak yang tidak menetas.

Jumlah sperma ikan sangat tergantung pada umur, berat tubuh, pemberian pakan dan

frekuensi pengeluaran sperma (Salisbury and VanDemark, 1985). Warna spermatozoa ikan patin siam pada saat penelitian adalah putih susu, bau spermatozoa yaitu amis dan konsistensi yaitu kental. Hal ini sesuai dengan penelitian Japet (2011) sperma berwarna krem-putih susu serta bau sperma amis dan konsistensi sperma kental. Sperma erat kaitannya dengan motilitas spermatozoa. Motilitas sperma merupakan indikator kualitas spermatozoa sebagai prasyarat pembuahan dan berhubungan erat dengan keberhasilan pembuahan (Rurangwa *et al.*, 2004). Adapun motilitas spermatozoa tertinggi juga terjadi karena tersedianya sumber energi yang cukup untuk sperma sehingga sperma masih bisa bergerak, dimana motilitas sel spermatozoa berhubungan erat dengan proses metabolisme spermatozoa. Metabolisme bertujuan untuk menghasilkan ATP dan ADP yang digunakan untuk motilitas spermatozoa. Hal tersebut sesuai dengan Salisbury and Vandemark, (1961) menyatakan bahwa tingginya nutrisi yang dibutuhkan, selain itu spermatozoa dapat memanfaatkan energi berupa ATP untuk bergerak.

Pergerakan sperma dipengaruhi oleh makanan yang menghasilkan energi seperti halnya pada sel-sel hidup lainnya. Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa diperoleh dari gula sederhana seperti glukosa dan fruktosa (Affandi dan Tang, 2004). Glukosa dan fruktosa terkandung dalam air kelapa yang berfungsi menyediakan kebutuhan fisik dan kimiawi sehingga dapat meningkatkan motilitas spermatozoa. Menurut Soehartojo, (1995) bahan utama yang dipakai spermatozoa sebagai sumber energi dari luar testis adalah fruktosa yang diubah menjadi asam laktat dan energi dengan enzim fruktolisin. Faktor lain terjadinya peningkatan motilitas spermatozoa diduga karena fruktosa dapat mengurangi kecepatan rusaknya permeabilitas spermatozoa di dalam air (Nainggolan *et al.*, 2015). Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan derajat pembuahan telur ikan patin siam yaitu kualitas spermatozoa. Spermatozoa yang memiliki tingkat motilitas yang tinggi dapat membuahi sel telur lebih tinggi, dikarenakan lama waktu aktifitas spermatozoa menjadi panjang sehingga spermatozoa memperoleh banyak waktu untuk menemukan dan membuahi sel telur. Keberhasilan dari derajat pembuahan telur oleh

spermatozoa sangat dipengaruhi oleh motilitas spermatozoa karena kelangsungan hidup spermatozoa yang panjang belum tentu dapat menghasilkan derajat pembuahan yang tinggi oleh sebab itu pada keadaan ini spermatozoa sangat membutuhkan banyak energi untuk membuahi sel telur. Derajat pembuahan telur mengikuti apa yang terjadi pada tingkat kualitas spermatozoa, dimana motilitas spermatozoa yang tinggi menghasilkan derajat pembuahan yang tinggi pula begitu juga sebaliknya. Hal ini diperkuat oleh Utami, (2010) bahwa kualitas spermatozoa yang rendah menyebabkan derajat pembuahan telur juga rendah.

KESIMPULAN

Pengenceran sperma menggunakan air kelapa muda dan gliserol berpengaruh nyata terhadap kelangsungan hidup sperma tetapi tidak berbeda nyata terhadap motilitas sperma, derajat pembuahan telur dan derajat penetasan telur. Motilitas sperma tertinggi terdapat pada perlakuan B dengan nilai 52,68%, kelangsungan hidup sperma tertinggi terdapat pada perlakuan B dengan nilai 31,03%, derajat pembuahan telur tertinggi terdapat pada perlakuan B dengan nilai 78,67% dan derajat penetasan telur tertinggi terdapat pada perlakuan B dengan nilai 60,95%. Kisaran kualitas air untuk mendukung pemijahan dan penetasan telur ikan patin siam berada pada kisaran yang baik suhu (28,7-30,5 oC), pH (7-8,5) dan DO (6,5-7,5 mg/l).

DAFTAR PUSTAKA

- Adipu, Y. H. Sinjal, dan J. Watung. (2011). *Ratio Pengenceran Sperma Terhadap Motilitas Spermatozoa, Fertilisasi Dan Daya Tetas Telur Ikan Lele (Clarias sp)*. Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis Vol. 7. 48-55.
- Affandi, R. Tang, M.U. (2004). *Biologi Reproduksi Ikan*. Uni Pres. Riau. Hal 20-34.
- Ardias, N. (2008). *Peranan NaCl Terhadap Derajat Pembuahan, Penetasan Telur dan Kelangsungan Hidup Larva Ikan Koi Cyprinus Carpio*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. 48 hlm.
- Danang, D.R., dan Isnaini dan P. Trisunuwati. (2012). *Pengaruh Lama Simpansemen Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung Dalam Pengencer Ringer's Pada Suhu 4°C*. Jurnal Ternak Tropika, 13(1): 47-57.

- Diana, F., Rizal, M., & Mariani, D. (2015). Pengaruh Penggunaan Konsentrasi Air Kelapa Muda Pada Pengencer NaCl Fisiologis Terhadap Motilitas Dan Mortalitas Spermatozoa Ikan Tawes (*Puntius javanicus*). *Jurnal Perikanan Tropis*, 2(2).
- Effendi, M. I. (2002). *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta.
- Fani, F., Audia, A., Rani, Y., Ayunin, Q., & Evi, T. (2018). Penggunaan Tanah Liat Untuk Keberhasilan Pemijahan Ikan Patin Siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) [The Use of Clay for Successful Spawning Patin Siam (*Pangasianodon hypophthalmus*)]. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 10(2), 91-94.
- Hijriyati, K. H. (2012). *Kualitas Telur Dan Perkembangan Awal Larva Ikan Kerapu Bebek (*Cromuileptes altivelis*) Di Desa Air Saga, Tanjung Pandang, Belitung*. [Tesis]. Universitas Indonesia. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Depok.
- Isnain, Y. K. Basuki, F. Dan Susilowati, T. (2013). *Penambahan Air Kelapa Dan Gliserol Pada Penyimpanan Sperma Terhadap Motilitas Dan Fertilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*)* *Jurnal Of Akuacultur Managemen And Teknology*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Japet, N. (2011). *Karakteristik Semen Ikan Ekonomis Budidaya: Mas (*Cyprinus carpio*), dan patin (*Pangasius hypophthalmus*)*. Fakultas Pertanian dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Skripsi.
- Kurniasih, T., R. Gustiano. (2007). *Hibridisasi sebagai Alternatif untuk Penyediaan Ikan Unggul*. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar. Bogor. 3 Halaman.
- Lismawati, N., A. Hendri dan Mahendra. (2016). *Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Tawes (*Puntius javanicus*) dari Sperma Pasca Penyimpanan pada Temperatur 40C*. *Jurnal Perikanan Tropis*, 3(1):77-84.
- Lopes, F. P. (2002). *Semen Collection And Evaluation In Ram*. ANS 33161. University Of Florida.
- Masrizal dan Efrizal. (1997). *Pengaruh Rasio Pengencer Madu Terhadap Fertilisasi Sperma dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*)*. *Fisheries Journal*. Garing 6. Hal. 1-9.
- Mumu, M. I. (2009). Viabilitas semen sapi simental yang dibekukan menggunakan krioprotektan gliserol. *Agroland: Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*, 16(2).
- Murtini, A., (2005). *Pengaruh Dosis Larutan Ringger Terhadap Tingkat Pembuahan Dan Daya Tetas Telur Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)*. Laporan Skripsi Fakultas Perikanan UNLAM.
- Nainggolan, R., R. D. Monijung, dan W. Mingkid. (2015). *Penambahan Madu dalam Pengenceran Sperma untuk Motilitas Spermatozoa, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)*. *Jurnal Budidaya Perairan*, 3(1):131-140.
- Nurman Helmi, M. (1998). *Une analyse de la compétitivité pour la logistique service client* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 2).
- Rahardhianto, A., N. Abdulgani dan N Trisyani. (2012). *Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu Dalam NaCl Fisiologis Terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius-Pangasius*) Selama Masa Penyimpanan*. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 1 (1): 58-63.
- Riehl, R dan Appelbaum, S. (1991). *A Unique Adhesion Apparatus On The Eggs Of The Catfish *Clarias Gariepinus* (Teleostei, Clariidae)*. *Japanese Journal Of Ichthyology* Vol 38 No 2.
- Rurangwa, E., D. E. Kime, F. Ollevier & J. P. Nash. (2004). *The Measurement Of Sperm Motility And Factors Affecting Sperm Quality In Culture Fish*. *Aquaculture*, 234: 1-28.
- Salisbury, G. W., & VanDemark, N. L. (1961). Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle. *Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle*.
- Salisbury, G. W., & Vandemark, N. L. (1985). Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi. Alih Bahasa Djanuar R. Yogyakarta.
- Slembrouck, J., O. Komarudin, Maskur, dan M. Legendre. (2005). *Petunjuk Teknis Pembenihan Ikan Patin Indonesia. Pangasius Djambal*. Terjemahan: Subandi, A Dan Khan, Z. IRD Dan Pusat Riset Perikanan Budidaya. Badan Riset Kelautan Dan Perikanan. Jakarta.
- Soehartojo, H. (1995). *Ilmu Kemajiran Pada Ternak*. Airlangga University Surabaya.
- Solicah, A. 2007. *Pengaruh Konsentrasi Tris Aminomethan Yang Berbeda Dalam Pengencertris Kuning Telur Dan Lama Penyimpanan Terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)*. Skripsi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Negeri Malang. Malang. 71 halaman.
- Suryaningrat, E. (2016). *Manajemen Asuhan Kebidanan Antenatal dengan Kasus Hiperemesis Gravidarum Tingkat II di RSKD Ibu dan Anak Pertiwi Tahun 2016* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar).
- Susanto H. (2009). *Pembenihan dan Pembesaran Patin*. Penebar Swadaya. Jakarta. 132 Halaman.
- Susilowati, S. Harydijanto, T.W. Suprayogi, T. Sardjito, dan T. Hernawati. (2010). *Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan*. Airlangga University. Surabaya.
- Teolihere, M. R. 1985. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*, Penerbit Angkasa, Bandung.

- Teolihere, M. R. (1993). *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Teolihere, M. S. (1981). *Inseminasi Buatan Pada Ternak*, Penerbit Angkasa. Bandung. Hal 43-39.
- Tilman, D. (1983). Plant succession and gopher disturbance along an experimental gradient. *Oecologia*, 60(3), 285-292.
- Utami, I. P. (2010). *Fertilisasi Spermatozoa Ikan Tawes (Barbonymus gonionotus, Bleeker) Satu Hari Pascakriopreservasi Menggunakan Campuran Metanol dan Susu Skim sebagai Krioprotektan*. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok.
- Utami, R. T., Nuraini, N., & Sukendi, S. (2016). *The Effect Opavrim Injection of Different Dosage to The Ovulation excibility, fertiliti, and the survival of larva ingir-ingir (Mystus nigriceps)* (Doctoral dissertation, Riau University).
- Yani, A., Nuryadi, dan T. Pratiwi. (2001). *Pengaruh Tingkat Subtitusi Santan Kelapa Pada Pengencer Tris Dan Waktu Penyimpanan Terhadap Kualitas Semen Kambing Peranakan Ettawah(PE)*. Jurnal Biosain 22-23.
- Yusnita, (2003). *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Sacara Efisien*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Zairin, J. M., S. Handayani, dan I. Supriatna. (2005). *Kualitas Sperma Ikan Batak (Tor soro) Hasil Kriopreservasi Semen Menggunakan Dimetil Sulfoksida (DMSO) dan Gliserol 5,10 Dan 15%*. Jurnal Akuakultur Indonesia. 4 (4):145-151.