

## Kualitas Spermatozoa dan Struktur Histologis Gonad Jantan Tiga Spesies Ikan Famili Cyprinidae di Sungai Banjaran

Habibulah Ahmad Al Gifari, Priyo Susatyo\*, Atang, Sugiharto

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. dr. Suparno 63 Purwokerto 53122

\*Correspondent email : [priyo.susatyo@unsoed.ac.id](mailto:priyo.susatyo@unsoed.ac.id)

### Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 21/12/2022

Disetujui : 06/03/2023

### Abstract

Fisheries researchers reveal that many species of native wild fish are threatened with extinction due to uncontrolled fishing, things that can threaten their existence in nature, one of which is in the Banjaran River. The aims of this study were: to determine the quality of fish spermatozoa, to determine the gonadal maturity index (IKG), to determine the Gonad Maturity Level (TKG), and to determine the histological description of the male gonads in order to obtain data for conservation purposes. The research was conducted by survey method, the sample was taken by purposive random sampling technique. The results of the study during the March-May period showed that the sperm quality of Nilem Fish was best in May, which had a milt volume of 0.21 mL, a spermatozoa concentration of  $2.3454 \times 10^9$  cells/mL, Motility 3, and viability of 82.55%. In Brek Fish the highest volume of milt was found in May, namely 0.25 mL, the highest concentration of spermatozoa was in April  $34.465 \times 10^9$  cells/mL, with viability 88.62%, and motility 2.9. The best quality of Lunjar fish sperm was found in May which had a milt volume of 0.02 mL, spermatozoa concentration of  $22.435 \times 10^9$  cells/mL, 80% viability, and motility 3. All sperm samples were white with a pH of 7-8. Based on TKG and IKG, it can be seen that many Nilem fish are found spawning in April and May, Brek and Lunjar fish are found spawning every month. Histological structure of male gonads in Nilem, Brek and Lunjar fish had the same composition, in immature fish the spermatogenic cell composition observed was dominated by spermatocytes, spermatids, and spermatogonia, in mature fish the gonads were dominated by spermatozoa cells. and spermatids, whereas in post-spawning fish spermatozoa and spermatogonia were found in large number.

**Key Words:** *Cyprinidae, Male gonad histological, Native fish, Spermatozoa Quality*

### Abstrak

Para peneliti perikanan mengungkapkan bahwa banyak jenis ikan asli perairan liar terancam punah akibat penangkapan yang tidak terkendali, hal ini dapat mengancam keberadaan sumber daya ikan di alam salah satunya di Sungai Banjaran. Tujuan penelitian ini yaitu: mengetahui kualitas spermatozoa ikan, mengetahui Indeks kematangan gonad (IKG), mengetahui Tingkat Kematangan Gonad (TKG), dan mengetahui gambaran histologis gonad jantan agar diperoleh data untuk kepentingan konservasi. Penelitian dilakukan dengan metode survei, sampel diambil dengan teknik purposive random sampling. Hasil penelitian selama periode Maret-Mei menunjukkan kualitas spermatozoa Ikan Nilem yang terbaik adalah pada bulan Mei yakni memiliki volume milt 0,21 mL, konsentrasi spermatozoa  $2,3454 \times 10^9$  sel/mL, Motilitas 3, dan viabilitas 82,55%. Pada Ikan Brek jumlah volume milt yang tertinggi terdapat pada bulan Mei yakni 0,25 mL, konsentrasi spermatozoa tertinggi terdapat pada bulan April  $34,465 \times 10^9$  sel/mL, dengan viabilitas 88,62%, dan motilitas 2,9. Kualitas sperma Ikan Lunjar terbaik dijumpai pada bulan Mei yakni memiliki volume milt 0,02 mL, konsentrasi spermatozoa  $22,435 \times 10^9$  sel/mL, viabilitas 80%, dan motilitas 3. Semua sampel sperma berwarna putih dengan pH 7-8. Berdasarkan TKG dan IKG dapat diketahui bahwa Ikan Nilem banyak ditemukan memijah pada bulan April dan Mei, Ikan Brek dan Lunjar banyak ditemukan memijah setiap bulannya. Struktur histologis gonad jantan pada Ikan Nilem, Brek dan Lunjar memiliki komposisi yang sama, pada ikan yang belum matang gonad komposisi spermatogenik yang teramati lebih di-dominasi oleh spermatogonium, spermatosit, dan spermatid, pada ikan yang matang gonad di-dominasi oleh spermatozoa dan spermatid, sedangkan pada ikan pasca memijah lebih banyak dijumpai spermatozoa dan spermatogonium.

**Kata kunci:** *Cyprinidae, Histologis gonad jantan, Ikan tangkapan, Kualitas spermatozoa*

## PENDAHULUAN

Sungai Banjaran banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar, diantaranya adalah untuk irigasi, sumber air bersih, dan perikanan, hal ini dapat diketahui melalui tingginya kegiatan penangkapan

ikan di Sungai Banjaran. Sungai Banjaran telah dieksplorasi sumber daya ikannya secara luas untuk memenuhi kebutuhan perikanan masyarakat sekitar. Sungai Banjaran merupakan habitat yang banyak dihuni oleh berbagai spesies ikan (Bhagawati *et al.*, 2013).

Menurut para peneliti dan praktisi perikanan mengungkapkan bahwa banyak jenis ikan liar endemik terancam punah akibat penangkapan yang tidak terkendali. Berbagai macam ancaman tersebut dapat menyebabkan banyak jenis ikan asli Indonesia terutama dari perairan liar terancam punah (Lestari *et al.*, 2018). Tingginya minat masyarakat terhadap konsumsi ikan liar air tawar dapat mengancam kelestarian ikan-ikan tersebut di alam. Penelitian terkait reproduksi hewan tersebut harus dikaji lebih lanjut guna memperoleh data yang dapat dimanfaatkan dalam pengembangan budidaya ikan. Salah satu aspek reproduksi yang penting untuk dikaji dalam pengembangan budidaya ikan adalah gambaran histologis reproduksi selama masa perkembangan gonad (Susatyo *et al.*, 2012). Pengkajian terkait perkembangan gonad ini bertujuan untuk mengetahui status reproduksi ikan pada periode, dan musim tertentu (Ochokwu *et al.*, 2015).

Menurut Ningrum *et al* (2019), beberapa ikan tangkapan pemijahannya bergantung pada musim sehingga pembudidayaannya sukar dilakukan. Dalam rangka menunjang keberhasilan pembudidayaan ikan-ikan tangkapan secara berkelanjutan maka diperlukan upaya data-data profil reproduksi ikan tangkapan sungai, yang berpedoman pada penggalian informasi atau data dasar mengenai biologi dan ekologi, aspek reproduksi, fisiologi, perilaku/kebiasaan makan, pemijahan, dan karakteristik habitatnya di alam (Naylor *et al.*, 2000). Keberhasilan proses fertilisasi sangat bergantung pada kualitas spermatozoa. Beberapa ikan seperti ikan lele dan ikan patin diketahui memiliki tingkat fertilisasi yang relatif rendah pada kondisi normal, hal ini diduga dapat terjadi karena viabilitas spermatozoa yang tidak optimal (Ibrahim *et al.*, 2020).

Menurut Rahardhianto *et al* (2012), dalam penelitiannya disebutkan bahwa pemeriksaan kualitas spermatozoa diperlukan untuk menentukan kelayakan spermatozoa yang akan disimpan sebagai stok. Spermatozoa yang layak digunakan sebagai stok adalah spermatozoa yang memiliki kualitas yang baik. Diketahui bahwa spermatozoa yang layak digunakan sebagai stok adalah spermatozoa yang memiliki pH 7,14-7,85 dan viabilitas lebih dari 70%.

Indeks kematangan gonad (IKG) merupakan nilai perbandingan bobot gonad dengan berat somatik yang dinyatakan dalam persen (%). Data hasil pengukuran IKG digunakan untuk menentukan stadium kematangan gonad dengan melihat hubungan antara pertumbuhan somatik dan perkembangan gonadnya, selain itu IKG juga dapat digunakan untuk memperkirakan waktu pemijahan suatu spesies ikan. Hasil perhitungan IKG pada individu jantan dapat diperkuat dengan melakukan pengamatan perkembangan spermatogenik melalui pengamatan struktur histologis testis (Nurhidayat *et al.*, 2017).

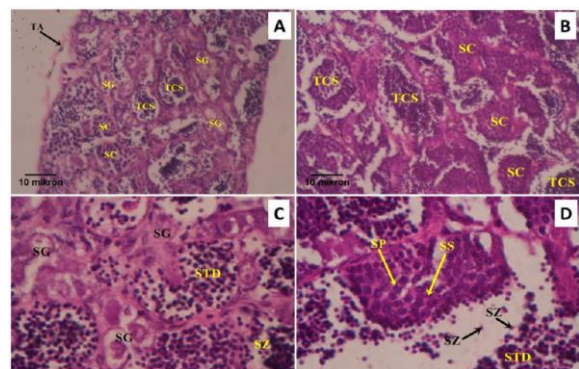
Menurut Nurhidayat *et al* (2017), analisis tingkat kematangan gonad (TKG) pada individu jantan dapat dilakukan dengan mengamati

morfologinya. Tingkat kematangan gonad dapat diketahui dengan membandingkan morfologi testis dengan tabel tingkat kematangan gonad (Effendie, 1979).

Menurut Uribe *et al* (2014), tipe testis tubular banyak dimiliki oleh ikan dengan tingkatan taksa yang rendah seperti cyprinid. Pendapat tersebut didukung oleh Nurhidayat *et al* (2017) yang menyatakan, sebagian besar ikan dari Famili Cyprinidae memiliki tipe testis tubular dengan *anastomose*. Testis tipe ini memiliki tubula yang tidak langsung berujung keluar namun di antara tubula tersebut saling berhubungan dan membentuk percabangan, sebelum nantinya bersatu membentuk saluran yang akan menuju ke *porus urogenitalis*.

Pengamatan histologis gonad jantan dilakukan untuk mengevaluasi komposisi spermatogenik yang dapat digunakan untuk menentukan tahapan spermatogenesis. Pada ikan uceng yang telah matang gonad terdapat banyak spermatosit sekunder, spermatid, dan spermatozoa dalam testisnya sedangkan komposisi kista spermatogoniumnya lebih sedikit. Pada ikan uceng yang belum matang gonad komposisi spermatozoanya relatif lebih sedikit dibanding kondisi testis dalam keadaan matang gonad dan kista spermatogoniumnya lebih banyak (Gambar 1) (Nurhidayat *et al.*, 2017).

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kualitas spermatozoa beberapa spesies ikan tangkapan dari Famili Cyprinidae baik secara makroskopis maupun mikroskopis, mengetahui nilai Indeks Kematangan Gonad (IKG), mengetahui Tingkat Kematangan Gonad (TKG), mengetahui gambaran histologis gonad jantan ikan tangkapan dari Famili Cyprinidae. Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi terkait biologi reproduksi Ikan dari Famili Cyprinidae sebagai dasar penanganan kegiatan domestikasi atau budidaya.



**Gambar 1.** Histologis gonad jantan Ikan Uceng (*Nemacheilus fasciatus*). Sumber: Nurhidayat *et al.*, 2017.

Keterangan: (A) & (C) Struktur histologis testis Ikan Uceng (*Nemacheilus fasciatus*) belum matang gonad; (B) & (D) Struktur histologis testis Ikan Uceng (*Nemacheilus fasciatus*) matang gonad. (TCS, Tubulus Contortus Seminiferus; SC, Spermatogenic cell; SG, Spermatogonium; STD, spermatid; SP, spermatosit primer; SS, spermatosit sekunder; SZ, spermatozoa)

## MATERI DAN METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah termometer, alat bedah, akuarium, aerator, botol sampel, timbangan analitik (ketelitian 0,01 g), objek glass, *cover glass*, sarung tangan lateks, masker, *Staining jar*, mikroskop, baki preparat, mikrotom putar, Inkubator, haemocytometer, spuit injeksi 1 mL tanpa jarum, *hand counter*, *cavity slide*, pipet, bunsen, dan pipet thoma.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, Larutan formalin 10%, Alkohol bertingkat (70%, 80%, 96%, dan absolut), tissue, label, parafin, xylol, akuades, gelatin, *entellan new*, carazzi haematoxylin, kertas pH universal, NaCl fisiologis, Eosin dan spirtus.

Lokasi pengambilan sampel penelitian dilakukan di Sungai Banjaran Purwokerto. Setiap lokasi ditentukan titik koordinat dan ketinggian wilayahnya dengan menggunakan aplikasi Altimeter Ler. Pengambilan sampel dibagi menjadi 3 stasiun yakni hulu, tengah, dan hilir. Proses pembedahan, pembuatan sediaan histologi dan analisis data dilaksanakan di Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Waktu pengambilan sampel dimulai pada bulan Maret-Mei 2021

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode Survei. Sampel diambil dengan teknik *purposive random sampling*. Pengambilan sampel setiap bulan dilakukan sebanyak satu kali dalam kurun waktu 3 bulan yakni pada bulan Maret, April, dan Mei tahun 2021 pada pekan terakhir.

Variabel yang diamati pada penelitian ini yaitu aspek biologi reproduksi tiga spesies ikan jantan dari famili cyprinidae. Parameter yang diukur pada penelitian ini yaitu, panjang tubuh ikan, bobot tubuh ikan, bobot gonad jantan, morfologi gonad jantan, dan struktur histologis gonad jantan.

### Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan di 3 titik stasiun pada ruas sungai banjaran. Ketinggian lokasi diukur dengan menggunakan aplikasi Altimeter Ler, pH air diukur dengan kertas pH meter universal dan temperatur air menggunakan termometer. Pengambilan sampel dilakukan oleh pemancing dengan menggunakan kail berukuran #1 pada waktu siang (08.00-13.00 WIB) dan malam hari (19.00-12.00). Umpan yang digunakan berupa lumut dan serangga kecil. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies ikan yang memiliki kelimpahan tertinggi dan merupakan ikan konsumsi yang digemari. Sampel diambil pada bulan Maret-Mei di pekan terakhir.

### Proses penampungan sampel sebelum diamati

Ikan yang telah ditangkap dari Sungai Banjaran Purwokerto, kemudian dimasukkan ke dalam akuarium yang dilengkapi dengan aerator. Tujuannya agar ikan yang telah ditangkap dari lokasi

pengambilan sampel tersebut tetap hidup sebelum dilakukan pembedahan dan pengamatan.

### Proses analisis kualitas spermatozoa

Proses analisis kualitas spermatozoa dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Ikan yang volume miltnya kurang dari 0,01 mL tidak dianalisis spermnya secara keseluruhan hanya cukup menganalisis beberapa parameter yang memang masih memungkinkan untuk dianalisis. Tahapan analisis spermatozoa secara makroskopis yaitu: (1) ikan diurut pada bagian abdomennya kearah porus urogenitalis kemudian milt yang keluar ditampung dengan menggunakan spuit injeksi 1 mL tanpa jarum; (2) milt yang diperoleh diukur volumenya menggunakan skala yang tertera pada spuit; (3) milt kemudian diteteskan pada objek glass diamati warnanya (4) milt selanjutnya diukur nilai pH-nya menggunakan kertas pH meter universal.

Tahapan analisis sperma secara mikroskopis: (1) Konsentrasi spermatozoa ditentukan dengan cara thoma dan dinyatakan dalam angka. Prosedur pengukuran diawali dengan milt yang ditampung diambil dengan pipet thoma hingga mencapai tanda 0,5, selanjutnya ujung pipet dibersihkan terlebih dahulu, setelah dibersihkan milt dalam pipet diencerkan dengan menghisap eosin 2% hingga angka 101 pada pipet thoma, selang pipet kemudian ditekuk dan pipet selanjutnya dikocok membentuk angka 8 agar homogen, selanjutnya sebanyak 5 tetes larutan dibuang dan ujung pipet dibersihkan dengan tissue, lalu konsentrasi spermatozoa dihitung dengan meneteskan larutan dalam pipet thoma ke dalam *counting chamber* yang terdapat pada *haemocytometer*. Penghitungan dilakukan dengan menggunakan bilik terkecil pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x (Zairin *et al.*, 2005).

Selanjutnya sel yang teramati dihitung dengan menggunakan rumus menurut Zairin *et al.* (2005) berikut:

$$\text{Jumlah sel tiap bilik} \times 10 \times 10^6 \text{ sel/mL}$$

(2) Analisis selanjutnya yakni viabilitas yang. Mula-mula 1 tetes milt diambil, lalu diletakkan pada gelas objek, kemudian diteteskan Eosin, Selanjutnya dibuat preparat apus kemudian dikering-anginkan, lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Spermatozoa yang mati akan menyerap zat pewarna sehingga sperma yang hidup dan mati dapat dibedakan (Rahardianto *et al.*, 2012). Hasil pengamatan kemudian dihitung menggunakan rumus menurut Condro *et al.* (2012):

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah sel hidup}}{\text{sel teramati}} \times 100\%$$

(3) Analisis selanjutnya yakni motilitas, pengamatan motilitas dilakukan dengan cara milt diteteskan sebanyak 1 tetes pada *cavity slide*, kemudian diteteskan air 1 tetes lalu diamati motilitasnya di

bawah mikroskop dengan perbesaran 100x, untuk mempermudah penilaian motilitas maka karakter gerakan dari spermatozoa dibuat dalam bentuk notasi yang mengacu pada penelitian Kurniawan *et al* (2013), sebagai berikut: (++++) : Gelombang yang dihasilkan dari pergerakan spermatozoa besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif bergerak cepat; (++) : Gelombang yang dihasilkan dari pergerakan spermatozoa kecil, dengan bayangan tipis, jarang, kurang jelas, dan gerakannya lamban; (+) tidak terlihat gelombang tapi hanya terlihat gerakan spermatozoa aktif progresif; (0) sedikit bergerak atau tidak ada individu yang bergerak sama sekali.

#### Penimbangan Bobot dan Panjang Total Ikan

Ikan yang telah dianalisis kualitas spermanya kemudian dimatikan dengan menusuk otaknya kemudian ikan ditimbang menggunakan timbangan analitik (ketelitian 0,01 g). Panjang total ikan diukur dengan kertas milimeter blok.

#### Tingkat Kematangan Gonad (TKG)

Ikan selanjutnya dibedah dari bagian porus urogenitalis ke arah anterior searah medio-ventral untuk mengamati gonadnya, gonad kemudian diamati morfologi, ukuran, dan warnanya, kemudian dibandingkan dengan tabel tingkat kematangan gonad ikan (Effendie, 1979).

#### Indeks kematangan gonad (IKG)

Ikan yang telah ditimbang bobot totalnya dan telah dibedah, kemudian diambil dan ditimbang gonadnya menggunakan timbangan analitik (ketelitian 0,01 g). Indeks kematangan gonad diperoleh dengan membandingkan bobot total tubuh ikan dengan bobot gonad (Effendie, 1979).

$$IKG = \frac{\text{Bobot gonad}}{\text{Bobot tubuh}} \times 100 \%$$

#### Pembuatan Sediaan Histologis Gonad Jantan

Proses pembuatan sediaan histologi dilakukan dengan menggunakan metode parafin. Tahapan tersebut meliputi: (1) gonad diisolasi lalu dipartisi menjadi 3 bagian yakni anterior, medial, dan posterior (2) kemudian difiksasi menggunakan formalin 10%, (3) Selanjutnya sampel diproses untuk mengetahui gambaran histologis gonad jantan.

#### Pengamatan struktur histologis gonad jantan

Preparat histologis gonad jantan diamati dengan menggunakan perbesaran 100x, 400x dan 1000x. Setiap preparat gonad jantan (baik bagian anterior, medial dan posterior) diamati pada 5 lapang pandang mikroskopis. Teknik penentuan lapang pandang dilakukan dengan pola Z selanjutnya setiap sampel diidentifikasi spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid, dan spermatozoa.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengambilan sampel ikan Cyprinidae yang dilakukan di sungai banjaran didapati 3 spesies yang memiliki kelimpahan

tertinggi yakni, Ikan Nilem (*Osteochilus sp.*), Ikan Brek (*Barbonymus sp.*) dan Ikan Lunjar (*Rasbora sp.*).

#### Analisis Sperma Makroskopik

Hasil penelitian mengenai analisis sperma Ikan Nilem secara makroskopik dalam kurun waktu selama 3 bulan tersaji dalam tabel berikut:

**Tabel 1.** Data analisis makroskopik sperma rata-rata Ikan Nilem dalam 3 bulan

Bulan	JumLah Sampel (Ikan)	Volume (mL)	Warna	pH
Maret	5	0,03	Putih	7-8
April	11	0,04	Putih	7-8
Mei	15	0,21	Putih	7-8

Berdasarkan tabel 1. dapat diketahui bahwa rata-rata volume milt yang dapat dihitung dengan menggunakan spuit 1 mL secara berurutan dari rendah ke tinggi yakni, bulan Maret dengan volume 0,03 mL, bulan April dengan volume 0,04 mL, dan bulan Mei dengan volume 0,21mL. Menurut Hastuti & Riviani (2020), Ikan Nilem matang gonad yang sehat memiliki milt rata-rata volume sebesar 2,8 mL, sehingga dapat diketahui bahwa volume rata-rata milt Ikan Nilem bulan Maret dan April memiliki perbedaan yang cukup jauh, sedangkan rata-rata milt Ikan Nilem pada bulan Mei sudah mendekati dan sesuai dengan literatur.

Menurut Yulianto *et al* (2020) perbedaan atau variasi volume milt pada spesies yang sama dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu perbedaan berat tubuh ikan, usia, dan perbedaan siklus reproduksi antar organisme. Pendapat ini diperkuat oleh hasil penelitian Shabila (2013), yang menyatakan bahwa volume milt pada ikan jantan dapat dipengaruhi oleh ukuran tubuh, umur, dan kondisi lingkungan. Ikan Nilem berukuran < 18 cm memiliki rata-rata milt sebesar  $0,17 \pm 0,10$  mL. Berdasarkan tabel 1. juga dapat diketahui bahwa rata-rata milt ikan nilem berwarna putih dengan nilai pH berkisar antara 7-8. Nilai pH tersebut telah sesuai dengan hasil penelitian Hastuti & Riviani (2020), yakni ikan nilem memiliki milt berwarna putih dan pH berkisar antara 7,5-8.

**Tabel 2.** Data analisis makroskopik sperma rata-rata Ikan Brek dalam 3 bulan

Bulan	JumLah Sampel (Ikan)	Volume (mL)	Warna	pH
Maret	10	0,19	Putih	7-8
April	10	0,12	Putih	7-8
Mei	12	0,25	Putih	7-8

Berdasarkan tabel 2. dapat diketahui bahwa rata-rata volume milt yang dapat dihitung dengan

menggunakan spuit 1 mL secara berurutan dari rendah ke tinggi yakni, bulan April dengan volume 0,12 mL, bulan Maret dengan volume 0,19 mL dan bulan Mei dengan volume 0,25 mL. Hasil penelitian yang diperoleh sedikit berbeda dengan literature menurut Yulianto *et al* (2020), pada penelitiannya disebutkan bahwa Ikan Brek memiliki rata-rata milt sebanyak 0,3 mL. Perbedaan ini dimungkinkan dapat terjadi karena perbedaan berat tubuh ikan, usia, dan perbedaan siklus reproduksi antar organisme.

**Tabel 3.** Data analisis makroskopik sperma rata-rata Ikan Lunjar dalam 3 bulan

Bulan	Jumlah Sampel (Ikan)	Volume (mL)	Warna	pH
Maret	3	0,01	Putih	7-8
April	3	0,02	Putih	7-8
Mei	2	0,02	Putih	7-8

Berdasarkan tabel 3. juga dapat diketahui bahwa ikan brek memiliki milt berwarna putih dengan pH 7-8, hasil analisis makroskopis sperma pada ikan Brek ini telah sesuai dengan literatur. Menurut Yulianto *et al* (2020) Ikan Brek hasil tangkapan di sungai Serayu Banjarnegara memiliki milt berwarna putih susu dengan nilai pH sebesar 7,73.

Berdasarkan tabel 3. dapat diketahui bahwa rata-rata volume milt yang dapat dihitung dengan menggunakan spuit 1 mL secara berurutan dari rendah ke tinggi yakni, bulan Maret dengan volume sebesar 0,01 mL, lalu diikuti dengan volume milt pada bulan April dan Mei yakni sebesar 0,02 mL. Menurut Putri *et al* (2020) dalam penelitiannya pada ikan *Rasbora argyrotaenia* diketahui bahwa volume miltnya adalah sebesar  $9,11 \mu\text{l} \pm 0,95 \mu\text{l}$ , sehingga nilai milt yang diperoleh dari hasil penelitian ini sudah sesuai dengan literatur. Berdasarkan tabel tersebut juga dapat diketahui bahwa Ikan Lunjar memiliki milt berwarna putih dan nilai pH berkisar

antara 7-8. Hasil penelitian tersebut telah sesuai dengan pendapat Arifiantini (2012) bahwa kualitas milt yang baik secara umum berwarna putih dan memiliki pH berkisar antara 7.5-8,5.

### Analisis Sperma Mikroskopik

Berdasarkan tabel 4. tersebut dapat diketahui bahwa konsentrasi spermatozoa Ikan Nilem dari yang terendah hingga tertinggi secara berturut-turut adalah bulan Maret dengan nilai konsentrasi sebesar  $1,9968 \times 10^9$  sel/mL, bulan April dengan nilai konsentrasi sebesar  $2,2744 \times 10^9$  sel/mL, dan bulan Mei dengan konsentrasi terbesar yakni  $2,3454 \times 10^9$ . Hasil tersebut telah sesuai dengan hasil penelitian menurut Shabila (2013), yakni diketahui bahwa nilai konsentrasi rata-rata Ikan Nilem adalah senilai  $1.6428 \pm 0.4245 \times 10^9$  sel/mL. Berdasarkan tabel 4. tersebut juga dapat diketahui bahwa viabilitas terendah adalah 81,116% pada bulan Maret, dan nilai viabilitas tertinggi adalah 85,56% pada bulan April. Nilai motilitas pada Ikan Nilem yang diuji juga tergolong sehat dengan nilai 3 (+++) pada bulan Maret dan Mei, nilai motilitas yang terkecil yakni pada bulan April yakni senilai 2,857 (++) yang sebenarnya masih tergolong sehat dan normal.

Menurut Rahardhianto *et al* (2012), spermatozoa ikan dikatakan sehat apabila memiliki nilai viabilitas lebih dari 70%. Ikan dengan nilai viabilitas diatas 70% sudah bisa digunakan sebagai stok dan disimpan untuk masa mendatang menggunakan teknik kriopreservasi. Menurut Kurniawan *et al* (2013), motilitas ikan dengan nilai +++ tergolong sangat baik yang ditandai dengan spermatozoa membentuk gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif bergerak cepat ketika diberi stimulus. Motilitas ikan dengan nilai ++ tergolong baik yang ditandai dengan spermatozoa membentuk gelombang-gelombang kecil, dengan bayangan tipis, jarang, kurang jelas, dan bergerak lamban.

**Tabel 4.** Data analisis mikroskopik spermatozoa rata-rata Ikan Nilem dalam 3 bulan

Bulan	Konsentrasi Spermatozoa (sel/mL)	Viabilitas	Motilitas (1-3)
Maret	$1,9968 \times 10^9$ (n=5)	81,116% (n=6)	3 (n=6)
April	$2,2744 \times 10^9$ (n=11)	85,56% (n=11)	2,857 (n=14)
Mei	$2,3454 \times 10^9$ (n=5)	82,55% (n=10)	3(n=10)

**Tabel 5.** Data analisis mikroskopik spermatozoa rata-rata Ikan Brek dalam 3 bulan

Bulan	Konsentrasi Spermatozoa (sel/mL)	Viabilitas	Motilitas (1-3)
Maret	$29,078 \times 10^9$ (n=10)	84,86% (n=10)	3 (n=11)
April	$34,465 \times 10^9$ (n=10)	88,62% (n=10)	2,9 (n=10)
Mei	$28,101 \times 10^9$ (n=12)	83,05 (n=12)	3(n=12)

**Tabel 6.** Data analisis mikroskopik spermatozoa rata-rata Ikan Lunjar dalam 3 bulan

Bulan	Konsentrasi Spermatozoa (sel/mL)	Viabilitas	Motilitas (1-3)
Maret	20,06x10 <sup>9</sup> (n=3)	73,81% (n=9)	2,54 (n=11)
April	17,75x10 <sup>9</sup> (n=3)	80,19% (n=11)	2,92 (n=14)
Mei	22,435x10 <sup>9</sup> (n=2)	80 (n=8)	3 (n=10)

Berdasarkan tabel 5. tersebut dapat diketahui bahwa konsentrasi spermatozoa Ikan Brek dari yang terendah hingga tertinggi secara berturut-turut adalah bulan Mei dengan nilai konsentrasi sebesar 28,101x10<sup>9</sup> sel/mL, bulan Maret dengan nilai konsentrasi sebesar 29,078x10<sup>9</sup> sel/mL, dan bulan April dengan konsentrasi terbesar yakni 34,465x10<sup>9</sup> sel/mL. Hasil penghitungan konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini sedikit lebih kecil apabila dibandingkan dengan hasil penelitian menurut Yulianto *et al* (2020) pada Ikan Brek di Sungai Serayu yakni memiliki konsentrasi spermatozoa senilai 58,17 x10<sup>9</sup> sel/mL. Perbedaan konsentrasi dapat disebabkan oleh perbedaan ukuran tubuh, bobot tubuh, dan perbedaan nutrisi (Condro *et al.*, 2012).

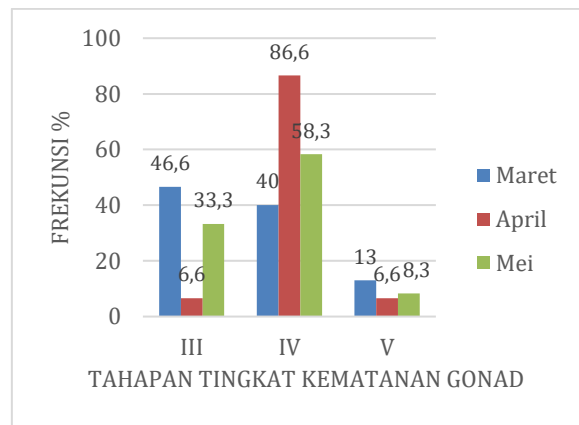
Berdasarkan tabel 5. tersebut juga dapat diketahui bahwa nilai viabilitas Ikan Brek dalam 3 bulan senilai lebih dari 80% yang mengindikasikan bahwa sperma Ikan tersebut sehat dan normal (Rahardhianto *et al.*, 2012). Nilai Motilitasnya juga tergolong normal, dan sangat baik karena pada bulan Maret dan Mei didapati nilai motilitasnya adalah 3 (+++), hanya pada bulan April yang nilai motilitasnya senilai 2,9 (++) yang masih tergolong dalam kategori baik (Kurniawan *et al.*, 2013).

Berdasarkan tabel 6. tersebut dapat diketahui bahwa konsentrasi spermatozoa Ikan Lunjar dari yang terendah hingga tertinggi secara berturut-turut adalah bulan April dengan nilai konsentrasi sebesar 17,75x10<sup>9</sup> sel/mL, bulan Maret dengan nilai konsentrasi sebesar 20,06x10<sup>9</sup> sel/mL, dan bulan Mei dengan konsentrasi tertinggi yakni 22,435x10<sup>9</sup> sel/mL. Menurut Putra (2010) *Rasbora lateristriata* yang sudah diinduksi dengan NaCl 0,65% sebanyak 1 mL memiliki rata-rata nilai konsentrasi sebesar 30,36 x 10<sup>9</sup>, hasil ini sedikit lebih tinggi apabila dibandingkan dengan hasil penelitian pada bulan Maret, April dan Mei. Perbedaan yang terjadi dimungkinkan karena perbedaan spesies ataupun frekuensi pengambilan sperma. Menurut Condro *et al* (2012), konsentrasi spermatozoa ikan dipengaruhi oleh seberapa sering pengambilan sperma pada ikan tersebut dilakukan, hal ini karena gonad memiliki kisaran waktu tertentu untuk melaksanakan proses spermatogenesis hingga konsentrasi spermatozoa benar-benar kembali ke kondisi prima.

Berdasarkan tabel 6 tersebut juga dapat diketahui bahwa nilai viabilitas Ikan Brek dalam 3 bulan senilai lebih dari 70% yang mengindikasikan bahwa sperma Ikan tersebut sehat dan normal (Rahardhianto *et al.*, 2012). Nilai Motilitas yang

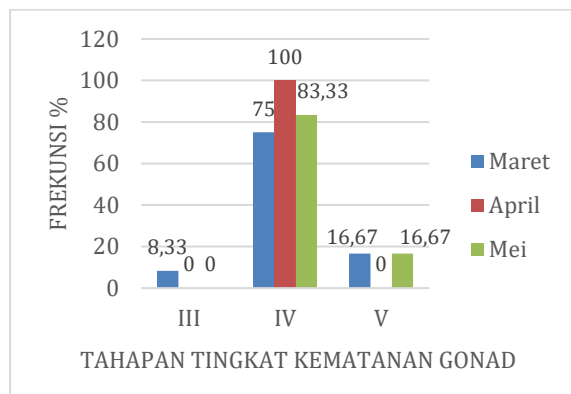
terendah terdapat pada bulan maret dengan nilai 2,54 (++) kemudian disusul dengan motilitas pada bulan April yakni senilai 2,95 (++)). Motilitas tertinggi terdapat pada bulan mei yakni (+++). Berdasarkan pengujian motilitas spermatozoa pada tiap bulannya dapat diketahui bahwa nilai motilitasnya masih tergolong normal, hal ini karena motilitasnya masih dikategorikan sebagai baik (++) hingga sangat baik (+++) (Kurniawan *et al.*, 2013).

#### Tingkat Kematangan Gonad (TKG)

**Gambar 1.** Tingkat kematangan gonad Ikan Nilem

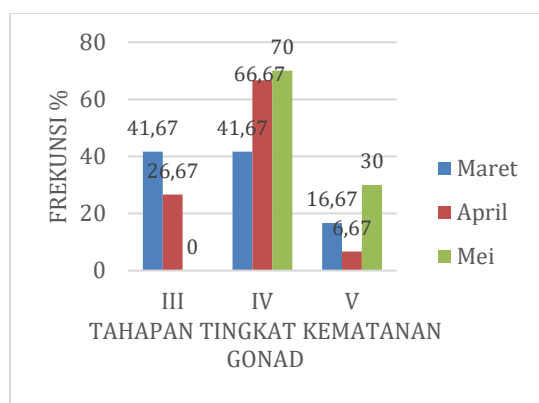
Berdasarkan gambar 1. berikut dapat diketahui bahwa pada bulan Maret didominasi oleh kelompok ikan pada tahapan TKG III (46,6%) dan IV (40%), sedangkan Tahapan TKG V hanya sebesar 13%. Tahapan tingkat kematangan gonad pada bulan April didominasi oleh kelompok ikan pada tahapan TKG IV (86,6%) lalu diikuti oleh kelompok ikan pada TKG III (6,6%) dan TKG V (6,6%). Tahapan tingkat kematangan gonad pada bulan Mei didominasi oleh kelompok ikan pada tahapan TKG IV (58,3%) dan III (33,3%), sedangkan Tahapan TKG V hanya sebesar 8,3%. Berdasarkan data tersebut maka diketahui bahwa puncak pemijahan Ikan Nilem di Sungai banjaran selama periode Maret-Mei terjadi pada bulan April. Menurut BMKG bulan April dan Mei 2021 merupakan masa peralihan dari musim penghujan ke musim kemarau, sehingga pada bulan ini hujan masih sangat sering terjadi (Media Indonesia, 2021). Hasil Penelitian ini selaras dengan pernyataan Fujaya (2004) yang menyatakan bahwa Ikan Nilem tidak dapat memijah setiap saat, musim pemijahan baru akan berlangsung ketika musim penghujan.





Gambar 2. Tingkat kematangan gonad Ikan Brek

Berdasarkan gambar 2 tersebut dapat diketahui bahwa bulan Maret, bulan April, dan bulan Mei didominasi oleh kelompok ikan pada tahapan TKG IV. Berdasarkan data tersebut maka dapat diketahui bahwa Ikan Brek memijah tidak bergantung pada musim. Menurut Haryono dan Gema (2020) Ikan Brek memijah pada malam hari menjelang pagi pada malam pertama setelah matang gonad. Pendapat tersebut diperkuat oleh hasil penelitian menurut Suryaningsih *et al* (2012), bahwa Ikan Brek baik Brek jantan maupun betina memiliki tipe pemijahan *asynchronous spawner*. Dalam penelitiannya mengenai Ikan Brek selama 12 bulan disebutkan bahwa ikan yang telah matang gonad (TKG IV) selalu dijumpai dalam setiap bulannya dalam frekuensi yang beragam, maka dapat disimpulkan bahwa masa pemijahan Ikan brek berlangsung lama, namun puncak pemijahan terjadi pada bulan September-Oktober.

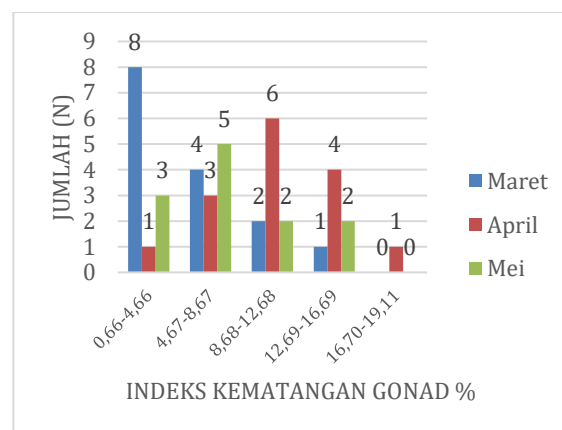


Gambar 3. Tingkat kematangan gonad Ikan Lunjar

Berdasarkan gambar 3. dapat diketahui bahwa bulan Maret didominasi oleh kelompok ikan pada TKG III (41,67%) dan TKG IV (41,67%), sedangkan ikan pada kelompok ikan pada TKG V hanya dijumpai sebanyak 16,67%. Bulan April didominasi oleh kelompok ikan pada TKG IV (66,67%), kemudian diikuti oleh kelompok ikan pada TKG III

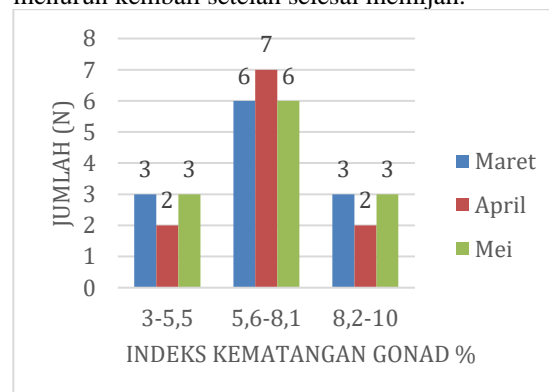
(26,67%), dan yang terendah adalah kelompok ikan pada TKG V yakni 6,67%. Bulan Mei tidak didapati ikan pada TKG I, TKG II ataupun TKG III. Bulan Mei didominasi oleh kelompok ikan pada TKG IV (70%) dan diikuti oleh kelompok ikan pada TKG V (30%). Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa Ikan Lunjar yang matang gonad (TKG IV) selalu dijumpai pada setiap bulannya dengan frekuensi yang relatif tidak berbeda jauh. Menurut Ahmad & Nofrizal (2011) pada penelitiannya mengenai Ikan Lunjar (*Rasbora argyrotaenia*) Ikan Lunjar melakukan pemijahan berulang kali (*partial spawner*) namun puncak pemijahannya terjadi pada musim penghujan yakni sekitar bulan September-November.

### Indeks Kematangan Gonad (IKG)



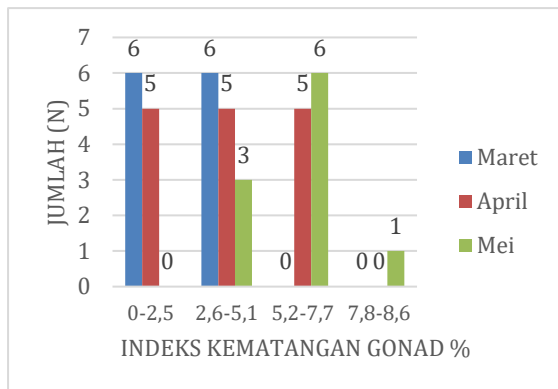
Gambar 4. Indeks kematangan gonad Ikan Nilem

Berdasarkan gambar 4. tersebut dapat diketahui bahwa indeks kematangan gonad Ikan Nilem yang tertinggi yakni, 19,11%. Nilai IKG tertinggi ini ditemui pada bulan April namun hanya dijumpai sejumlah 1 individu. Nilai IKG yang tinggi mengindikasikan bahwa ikan sudah matang gonad dan siap memijah. Menurut Fatimah *et al* (2019), Nilai IKG suatu individu akan semakin tinggi nilainya hingga sesaat sebelum memijah, dan mulai menurun kembali setelah selesai memijah.



Gambar 5. Indeks kematangan gonad Ikan Brek

Berdasarkan gambar 5. tersebut dapat diketahui bahwa indeks kematangan gonad Ikan Brek yang tertinggi berkisar antara 8,2-10%. Nilai IKG tertinggi ini selalu ditemui pada bulan Maret, April, dan Mei. Ikan Brek yang ditemui mencapai nilai IKG 8,2-10% pada bulan Maret dan Mei dijumpai sebanyak 3 individu, sedangkan pada bulan April dijumpai sebanyak 2 individu. Berdasarkan nilai IKG yang tersaji pada gambar 5. tersebut dapat diketahui bahwa pada tiap bulannya (Maret-Mei) selalu dijumpai individu yang telah siap memijah, hal ini mengindikasikan bahwa Ikan Brek memiliki rentang pemijahan yang luas (Suryaningsih *et al.*, 2012).



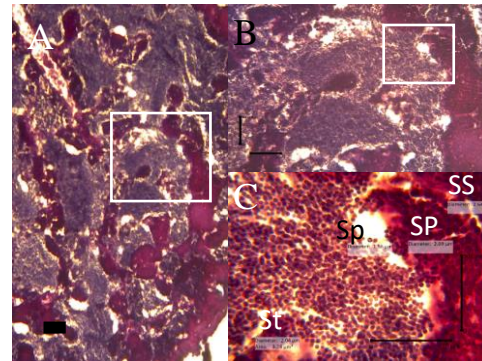
**Gambar 6.** Indeks kematangan gonad Ikan Lunjar

Berdasarkan gambar 6. tersebut dapat diketahui bahwa nilai IKG Ikan Lunjar yang tertinggi adalah senilai 8,6%. Nilai IKG tertinggi ini hanya dijumpai pada bulan Mei, namun hanya ditemui sebanyak 1 individu. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, Nilai IKG yang tinggi mengindikasikan bahwa ikan tersebut sudah siap memijah. Menurut Fatimah *et al* (2019), Nilai IKG diperoleh dengan cara membagi bobot gonad dengan bobot tubuh lalu dikalikan dengan 100%. Ikan yang gonadnya semakin matang akan cenderung bertambah bobotnya, namun pada ikan jantan pertambahan bobotnya tidak sebesar pada ikan betina. Ikan yang sudah siap memijah bobot gonadnya akan semakin tinggi namun bobot tubuhnya akan menurun, hal ini dapat terjadi karena pasokan energi akan dialihkan untuk perkembangan gonad. Pertambahan bobot gonad ini kemudian akan mempengaruhi nilai IKG suatu individu.

#### Pengamatan Struktur Histologis Gonad Jantan

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan struktur histologis gonad jantan antara yang belum matang gonad dengan yang sudah matang gonad. Perbedaan ini dapat diidentifikasi melalui komposisi tahapan perkembangan spermatogenik yang terdapat di dalam testis, yakni dari keberadaan spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid, dan spermatozoa.

Spermatogonium umumnya dijumpai di dekat membrana basalis.



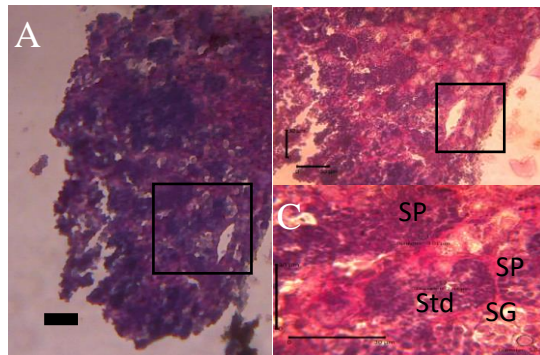
**Gambar 7.** Histologi testis Ikan Nilem (*Osteochilus sp.*) belum matang gonad.

Keterangan: (A) Struktur histologis testis Ikan Nilem lensa objektif 10x; (B) Struktur histologis testis Ikan Nilem lensa objektif 40x; (C) Struktur Histologis Testis Ikan Nilem lensa objektif 100x. (SG, Spermatogonium; SP, Spermatosit Primer; St, Spermatid)

Spermatogonium merupakan sel induk yang memiliki ukuran paling besar apabila dibandingkan dengan spermatogenik lainnya (Gambar 7). Spermatogonium memiliki ciri berwarna pucat dan memiliki nukleus yang besar. Spermatogonium ini kemudian akan membelah secara mitosis menjadi spermatosit. Spermatosit memiliki sitoplasma yang lebih padat karena terlindungi oleh benang-benang kromatin yang merupakan persiapan untuk memulai pembelahan secara meiosis. Spermatosit primer memiliki bentuk sedikit oval dan berukuran lebih kecil apabila dibandingkan dengan spermatogonium. Spermatosit primer kemudian mengalami pembelahan meiosis menjadi spermatosit sekunder yang memiliki bentuk lebih bulat dan lebih kecil ukurannya apabila dibandingkan dengan spermatosit primer. Pembelahan secara meiosis menyebabkan spermatosit sekunder bersifat haploid. Spermatosit sekunder ini kemudian mengalami pembelahan meiosis kembali menjadi spermatid, yang ukurannya lebih kecil lagi dan memiliki bentuk yang lebih bulat, selanjutnya spermatid akan berdiferensiasi membentuk struktur kepala dan ekor yang disebut spermatozoa (Nurhidayat *et al.*, 2017; Koc *et al.*, 2015).

Berdasarkan gambar 8. tersebut dapat diketahui bahwa testis didominasi spermatosit primer, spermatid, dan spermatogonium, hal ini mengindikasikan bahwa testis belum matang dan belum siap memijah. Spermatogenik yang terdapat di dalam testis di-dominasi oleh spermatosit primer dan sekunder yang sudah mulai bermigrasi ke arah lumen, lalu dijumpai pula spermatogonium yang jumlahnya kurang dari spermatosit, hal ini mengindikasikan bahwa testis ikan sedang berada dalam tahap *mid-spermatogenesis*. Tahap *mid-spermatogenesis* ini banyak dijumpai pada ikan



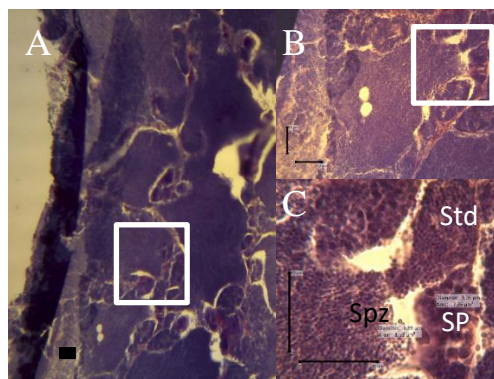


**Gambar 8.** Histologi testis Ikan Nilem (*Osteochilus* sp.) sudah matang gonad.

Keterangan: (A) Struktur histologis testis Ikan Nilem lensa objektif 10x; (B) Struktur histologis testis Ikan Nilem lensa objektif 40x; (C) Struktur Histologis Testis Ikan Nilem lensa objektif 100x. (SP, Spermatosit Primer; SS, Spermatosit Sekunder; Std, Spermatid; Spz, Spermatozoa).

dengan TKG III. Menurut Suryaningsih *et al.* (2012) ikan yang berada pada TKG III memiliki struktur histologis yang didalamnya mulai tampak spermatosit yang berkembang menjadi spermatid.

Berdasarkan gambar 8. tersebut dapat diketahui bahwa komposisi spermatogenik yang terdapat di dalam testis didominasi oleh spermatid yang sudah bermigrasi ke arah lumen dan spermatozoa, hal ini mengindikasikan bahwa testis sudah matang dan siap untuk memijah. Lumen semakin membesar kemudian komposisi spermatogenik yang terdapat didalam testis didominasi oleh keberadaan spermatozoa maka hal ini mengindikasikan bahwa testis sedang berada pada tahapan *Spawning* yang berarti sudah siap untuk melakukan pemijahan. Tahapan *Spawning* banyak dijumpai pada ikan dengan TKG IV.

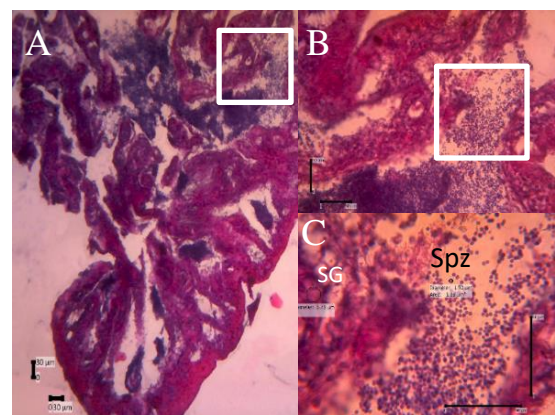


**Gambar 9.** Histologi testis Ikan Brek (*Barbonymus* sp.) sudah matang gonad.

Keterangan: (A) Struktur histologis testis Ikan Nilem lensa objektif 10x; (B) Struktur histologis testis Ikan Nilem lensa objektif 40x; (C) Struktur Histologis Testis Ikan Nilem lensa objektif 100x. (SP, Spermatosit Primer; Std, Spermatid; Spz, Spermatozoa).

Berdasarkan gambar 9. tersebut dapat diketahui bahwa komposisi spermatogenik yang terdapat di dalam testis didominasi oleh spermatid yang sudah bermigrasi ke arah lumen selain itu juga banyak dijumpai spermatozoa. Struktur ini mirip dengan Ikan Nilem pada gambar 8, yang mengindikasikan bahwa ikan sudah siap memijah karena testis sudah berada pada tahap *spawning*. Tahap *spawning* ini banyak dijumpai pada ikan dengan TKG IV.

Berdasarkan gambar 9. tersebut dapat diketahui bahwa komposisi spermatogenik yang terdapat di dalam testis adalah spermatozoa dan spermatogonium dalam jumlah sedikit. Struktur lobusnya sudah mulai mengkerut dan lumen menjadi lebih lega. Ikan yang telah memijah akan masuk ke tahap *spent*.

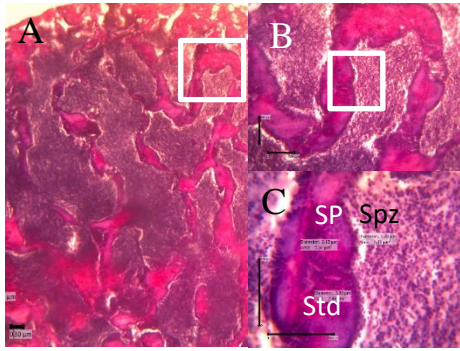


**Gambar 10.** Histologi testis Brek (*Barbonymus* sp.) pasca memijah.

Keterangan: (A) Struktur histologis testis Ikan Nilem lensa objektif 10x; (B) Struktur histologis testis Ikan Nilem lensa objektif 40x; (C) Struktur Histologis Testis Ikan Nilem lensa objektif 100x. (SG, Spermatogonium; Spz, Spermatozoa).

Pada Tahap ini lobus akan mulai mengkerut karena sperma sudah dikeluarkan, biasanya juga akan dijumpai dengan jelas keberadaan pembuluh darah. Pada tahap ini spermatogonia seharusnya merupakan sel yang paling banyak dijumpai. Menurut Suryaningsih *et al.* (2012) ikan pasca memijah dijumpai pada ikan TKG V. Spermatogenik yang terdapat pada ikan dengan TKG V didominasi oleh spermatozoa dan spermatogonium.

Berdasarkan gambar 11 tersebut dapat diketahui bahwa komposisi spermatogenik yang terdapat di dalam testis didominasi oleh spermatid yang sudah bermigrasi ke arah lumen selain itu juga banyak dijumpai spermatozoa. Tahap ini banyak dijumpai pada ikan dengan TKG IV.



**Gambar 11.** Histologi testis Ikan Lunjar (*Rasbora* sp.) sudah matang gonad.

Keterangan: (A) Struktur histologis testis Ikan Nilotilapia lensa objektif 10x; (B) Struktur histologis testis Ikan Nilotilapia lensa objektif 40x; (C) Struktur Histologis Testis Ikan Nilotilapia lensa objektif 100x. (SP, Spermatid Primer; Std, Spermatid; Spz, Spermatozoa).

## SIMPULAN

Kualitas spermatozoa Ikan Nilotilapia yang terbaik adalah pada bulan Mei yakni memiliki volume milt 0,21 mL, konsentrasi spermatozoa  $2,3454 \times 10^9$  sel/mL, Motilitas 3, dan viabilitas 82,55%. Pada Ikan Brek jumlah volume milt yang tertinggi terdapat pada bulan Mei yakni 0,25 mL, konsentrasi spermatozoa tertinggi terdapat pada bulan April  $34,465 \times 10^9$  sel/mL, dengan viabilitas 88,62%, dan motilitas 2,9. Kualitas sperma Ikan Lunjar terbaik dijumpai pada bulan Mei yakni memiliki volume milt 0,02 mL, konsentrasi spermatozoa  $22,435 \times 10^9$  sel/mL, viabilitas 80%, dan motilitas 3. Semua sampel sperma berwarna putih dengan pH 7-8. Berdasarkan TKG dan IKG dapat diketahui bahwa Ikan Nilotilapia banyak ditemukan memijah pada bulan April dan Mei, Ikan Brek dan Lunjar banyak ditemukan memijah pada bulan Maret-Mei. Spermatogenik yang teramati pada ikan belum matang gonad lebih didominasi oleh spermatosit, spermatid, dan spermatogonium, pada ikan matang gonad lebih banyak dijumpai spermatozoa dan spermatid, sedangkan pada ikan pasca memijah lebih banyak dijumpai spermatozoa dan spermatogonium dengan kondisi lobus yang sedikit mengkrut dan lumen yang semakin lega.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, M. & Nofrizal, N. 2011. Pemijahan dan Penjinakan Ikan Pantau (*Rasbora Latestriata*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 16(1), pp.71-78.
- Arifiantini R. I. 2012. *Teknik Koleksi Dan Evaluasi Semen Pada Hewan*. Bogor: IPB Press
- Bhagawati, D., Abulias, M. N. & Amurwanto, A. 2013. Fauna ikan siluriformes dari Sungai

Serayu, Banjarnegara, dan Tajum di Kabupaten Banyumas. *Jurnal Mipa*, 36(2), pp.112-122.

- Condro, H. S., Mubarak, A. S. & Sulmartiwi, L., 2012. Pengaruh Penambahan Madu pada Media Pengencer NaCl Fisiologis dalam Proses Penyimpanan Sperma Terhadap Kualitas Sperma Ikan Komet (*Carassius auratus auratus*). *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(1), pp.1-12.

- Fatimah, A. N., Sugiharto, S. & Setyaningrum, N. 2019. Aspek Reproduksi Ikan Betutu (*Oxyeleotris marmorata* Blkr.) yang Tertangkap di Waduk Penjalin Brebes. *BioEksakta*, 1(2), pp.71-77.

- Fujaya, Y. 2004. *Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknik Perikanan Edisi ke-1*. Jakarta: Rineka Cipta.

- Hamzaoglu, E., Mufit O., Yasemin T. & Melike E. 2015. Macroscopic and Microscopic Examination of Seasonal Gonad Change in *Alburnus istanbulensis* (Battalgil, 1941) (Teleostei: Cyprinidae). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, pp.639-646.

- Haryono & Gema, W. 2020. Pemijahan Ikan Brek (*Barbonymus balleroides*) dan Pemeliharaan Anakan dalam Wadah Budidaya. In. Sulistiono & Haryono, eds. *Domestikasi Ikan Brek untuk Konservasi dan Diversifikasi Ikan Budidaya*. Bogor: IPB Press. pp.71-81.

- Hastuti, D. W. B. & Riviani. 2020. Efektifitas Penggunaan Jenis Ekstender dan Dosis Madu Berbeda Terhadap Motilitas dan Viabilitas Sperma Ikan Nilotilapia (*Osteochilus vittatus*) Setelah Penyimpanan. *Jurnal Airaha*, 9(2), pp.122-129.

- Ibrahim, Y., Fadhilah, R. & Karim, A. 2020. Suplementasi Seng (Zn) Anorganik  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  Dalam Pakan Terhadap Motilitas dan Viabilitas Sperma Ikan Serukan (*Osteochilus* sp.). *Jurnal Akuakultura Universitas Teuku Umar*, 3(1), pp.29-34.

- Koc, N. D., Neslihan T., Mesut U. & Cansu A. 2015. Histological Structure of Zebrafish (*Danio rerio*, Hamilton, 1822) Testicles. *Elixir Aquaculture*, 46, pp.8117-8120.

- Kurniawan, I. Y., Basuki, F., Susilowati, T. 2013. Penambahan Air Kelapa Dan Gliserol Pada Penyimpanan Sperma Terhadap Motilitas Dan Fertilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* L.). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(1), pp.51-65.

- Lestari, W., Zayyana, D. A., Setyaningrum, N. & Amelia, T. 2018. The Guild Composition for Modelling Fish Community in Banjarn River, Purwokerto. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 10(3), pp.698-705.
- Media Indonesia. 2021. BMKG Prediksi Musim Kemarau Mulai April. Diakses pada 27 Oktober 2021 dari <https://mediaindonesia.com/humaniora/393331/bmkg-prediksi-musim-kemarau-mulai-april>.
- Naylor, R. L., Goldburg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C. M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H. & Troell, M. 2000. Effect of Aquaculture on World Fish Supplies, *Journal of Nature*. 4(5), pp.1017-1024.
- Ningrum, D. R. K., Budi, D. S. & Sulmartiwi, L. 2019. Induksi Pemijahan Ikan Wader Pari (*Rasbora argyrotaenia*) Menggunakan Ovaprim TM Dengan Dosis Berbeda. *DEPIK Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan*, 8(2), pp.117-124.
- Nurhidayat, L., Arfiani, F. N. & Retnoaji, B. 2017. Indeks Gonadosomatik dan Struktur Histologis Gonad Ikan Uceng (*Nemacheilus fasciatus*, Valenciennes in Cuvier and Valenciennes, 1846). *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 34(2), pp.67-74.
- Ochokwu, I. J., Apollos, T. G. & Oshoke, J. O. 2015. Effect of Egg and Sperm Quality In Successful Fish Breeding. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 8(8), pp.48-57.
- Putra, R. M., 2010. Pengaruh Kombinasi Penyuntikan hCG dan Ekstrak Kelenjar Hipofisa Ikan Mas Terhadap Volume Semen dan Kualitas Sperma Ikan Pantau (*Rasbora lateristriata* Blkr). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 15(2), pp.161-172.
- Putri, M. W. D., Prayogo & Budi, D. S. 2020. Effect of *Spirulina platensis* Supplementation in The Diet to Sperm Performance of Silver Rasbora (*Rasbora argyrotaenia*). In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 441(1).
- Rahardhianto, A., Abdulgani, N. & Trisyani, N., 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), pp.58-63.
- Shabila, D. 2013. Perbedaan Karakteristik Semen Ikan Nilem (*Osteochilus vittatus*) pada Ukuran Tubuh yang Berbeda. *Skripsi*. pp.1-15.
- Suryaningsih, S., Sagi, M., Nitimulyo, K. H. & Hadisusanto, S. 2012. Beberapa Aspek Pemijahan Ikan Brek *Puntius orphoides* (Valenciennes, 1842) di Sungai Klawing Purbalingga. *Jawa Jurnal Iktiologi Indonesia*, 12(1), pp.35-48.
- Susaty, P., Sugiharto, S. & Winarni, E. T. 2012. Induksi Pematangan Gonad dengan Ovaprim-C: untuk Penyediaan Benih Belut Sawah (*Monopterus albus*) Berkelanjutan. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 29(3), pp.116-126.
- Uribe, M. C., Grier, H. J. & Roa, V. M. 2014. Comparative Testicular Structure and Spermatogenesis in Bony Fishes. Review. *J. Spermatogenesis*. 4(3), pp.1-13.
- Yulianto., Wirdateti & Gema. W., 2020. Karakteristik Spermatozoa Ikan Brek (*Barbonymus balleroides*). In Sulistiono & Haryono, eds. Domestikasi Ikan Brek untuk Konservasi dan Diversifikasi Ikan Budidaya. Bogor: *IPB Press*. pp.57-67.
- Zairin, M. J., Handayani, S. & Supriatna, I. 2005. Kualitas Sperma Ikan Batak (*Tor soro*) Hasil Kriopreservasi Semen Menggunakan Dimetilsulfoksida (DMSO) dan Gliserol 5, 10, dan 15%. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 4(2), pp.145-151.