

**FERTILISASI DAN DAYA TETAS TELUR IKAN TAWES
(*Puntius javanicus*) DARI SPERMA PASCA PENYIMPANAN PADA
TEMPERATUR 4°C**

**FERTILIZATION AND HATCHING RATE OF TAWES FISH EGGS
(*Puntius javanicus*) AFTER CRYOPRESERVATION IN TEMPERATURE 4°C**

Nuri Lismawati¹, Afrizal Hendri², Mahendra²

¹Mahasiswa Program Studi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar,
Aceh Barat

²Program Studi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar,
Aceh Barat

Korespondensi : hendri2020@gmail.com

Abstract

This research aims to know the level of fertilization and hatching rate of tawes fish eggs (*Puntius javanicus*) after cryopreservation sperm in temperature 4°C. This research has been carried out in the mini laboratory (Meunasah Krueng Village of Beutong Subdistrict Nagan Raya Regency) on 19-20 August 2015. This research is both experimental, using a complete Randomized Design with 5 treatments and 3 replicates. Sperm that is used is the result of storage with the dilution of physiological NaCl and green coconuts water including P₁ 0% NaCl only, P₂ 3%, P₃ 5%, P₄ 7% and P₅ 9%. The results showed that the addition of green coconut water on sperm storage provides a real effect against fertilization and hatching rate of tawes fish eggs ($p < 0.05$). The highest levels of fertilization found in the treatment of P₄ (64.3%, 0.7 mL of diluent in green coconut water + physiological NaCl solution), while the lowest fertilization found on P₁ registration (25%, physiological NaCl solution). For the level of hatching rate, the highest value is found in the treatment of P₄ (61.7%), and the lowest is present on the P₁ registration (14.3%).

Keywords: Fertilization, Hatching rate, Physiological NaCl, *Puntius javanicus*

I. Pendahuluan

Ikan tawes merupakan salah satu ikan konsumsi yang hidup diperairan tawar. Dalam perkembangannya ikan ini mulai banyak dibudidayakan oleh masyarakat. Budidaya ikan sangat dipengaruhi oleh teknologi pembenihan, terutama dalam pengadaan benih ikan. Sering kali timbul masalah dalam pengadaan benih yaitu dikarenakan masa pematangan gamet induk ikan jantan dan betina terkadang tidak terjadi secara bersamaan. Salah satu alternatif pemecahan masalah tersebut yaitu melalui penerapan bioteknologi reproduksi berupa penyimpan sperma (Murtidjo, 2001).

Pada proses fertilisasi, kualitas sperma ikan sangat menentukan sukses atau tidaknya fertilisasi tersebut. Pada beberapa kasus pembenihan ikan secara buatan, sering terjadi tenggang waktu antara ketersediaan sperma dengan keberadaan sel telur (kematangan gonad ikan jantan dan ikan betina yang tidak sinkron) atau ada perbedaan jarak antara keberadaan sperma dengan keberadaan telur sehingga untuk mengatasinya sperma perlu dilakukan penyimpanan sperma/bank sperma (Hidayaturrahmah, 2007).

Fertilisasi merupakan proses penyatuan antara sel telur dengan sel spermatozoa untuk membentuk zigot. Fertilisasi dapat dibagi menjadi dua, yaitu fertilisasi internal dan eksternal. Fertilisasi yang umumnya terjadi pada ikan merupakan jenis fertilisasi eksternal, dikarenakan terjadi di luar tubuh induk (Fujaya 2002). Keberhasilan proses fertilisasi dipengaruhi oleh kemampuan sperma untuk membuahi sel telur. Sperma yang tidak disimpan (*fresh sperm*), memiliki kemampuan fertilisasi yang lebih tinggi dibandingkan sperma hasil penyimpanan. Hal tersebut dikarenakan teknik penyimpanan menyebabkan terjadinya penurunan kualitas sperma, seperti terjadinya perubahan dalam motilitas dan durasi pergerakan (Akçay *et al.* 2004). Penelitian mengenai fertilisasi spermatozoa pasca penyimpanan telah banyak dilakukan. Sultana *et al.* (2010), hasilnya menunjukkan penurunan tingkat fertilisasi akibat proses penyimpanan, yaitu dari 88% menjadi hanya 32-37%. Penelitian Horvath *et al.* (2003) juga menunjukkan terjadinya penurunan kemampuan fertilisasi ikan mas pasca penyimpanan dari persentase 84% (kontrol) menjadi hanya sekitar 71-74%. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui tingkat fertilitasi spermatozoa ikan tawes pasca penyimpanan.

Menurut Isnaini (2000) dalam Sandy (2005), menyatakan bahwa larutan NaCl fisiologis sering digunakan sebagai bahan pengencer sperma yang memberikan sifat buffer dan mampu mempertahankan pH sperma ikan dalam suhu freezer. Selain itu NaCl fisiologis dapat memperpanjang umur sperma karena bersifat isotonis dengan cairan sel. Penyimpanan sperma dalam larutan pengencer NaCl fisiologis sebaiknya digunakan tidak lebih dari 60 menit setelah penampungan. Salah satu cara untuk memperpanjang waktu simpan sperma yaitu diperlukan substitusi bahan pengencer lain yang mengandung protein atau bahan-bahan yang dapat mempertahankan motilitas spermatozoa.

Perkembangan telur ikan diawali dengan pembuahan sel telur oleh spermatozoa. Menurut Heryadi *et al.* (1995), proses penetasan telur terjadi mulai dari telur dibuahi hingga telur menetas. Perkembangan telur pada umumnya dimulai dari 1 sel hingga beberapa sel sampai ketahap pra blastula- blastula-grastula- neurola- embrio-penetasan. Telur yang dibuahi akan mati dan akan berubah morfologinya menjadi bewarna putih dan keruh (Sumantadinata, 1981). Menurut Sinjal (2014) untuk menentukan tingkat penetasan telur data yang diperlukan adalah banyaknya telur yang menetas pada masing-masing perlakuan, *Hatching rate* adalah jumlah total telur yang menetas, dari total telur yang ditebar. Lama penetasan telur bergantung dari temperatur air dan kandungan oksigen disekelilingnya (Minjoyo, 1993). Penggunaan air kelapa muda sebagai pengencer dalam penyimpanan spermatozoa ikan tawes belum pernah dilakukan, hal ini penulis perlu mengetahui untuk mendapatkan pengencer spermatozoa yang mengandung fruktosa sehingga selain dapat meningkatkan motilitas dan lama hidup juga dapat meningkatkan proses fertilisasi dan daya tetas telur

II. Metode Penelitian

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada tanggal 19 – 20 Agustus tahun 2015, bertempat di UPR Meunasah Krueng Kecamatan Beutong Kabupaten Nagan Raya.

2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ditunjukkan pada Tabel 1 berikut :

Tabel 1. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian

Alat	Fungsi
Suntik/syringe, 1 cc	Menginjeksi larutan/hormon kedalam tubuh ikan
Toples	Wadah penetasan hasil perlakuan
Mangkok	Untuk penampungan sperma dan telur
Pipet tetes, 1 cc	Untuk mengambil sampel perlakuan
Mikroskop biologi	Untuk mengamati objek penelitian
DO meter	Untuk mengukur oksigen yang terlarut dalam air
pH Universal	Untuk mengukur tingkat keasaman
Siphon akuarium	Membersih kotoran didasar wadah
Thermometer	Untuk mengukur suhu
Aerasi	Untuk Instalasi udara/oksigen
Hiblow, 80 hp	Untuk Sumber oksigen
Kamera	Media dokumentasi
Alat tulis	Untuk mencatat data selama penelitian
Sendok teh	Untuk mengambil telur dari mangkok

Tabel 2. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian :

Bahan	Fungsi
Induk tawes betina, 250 g	Objek dasar dalam penelitian
Induk tawes jantan, 250 g	Objek dasar dalam penelitian
NaCl fisiologis	Pengencer semen
Air kelapa muda	Pengencer semen
Bulu ayam	Membantu dalam pengadukan, fertilisasi
Tissu	Membersihkan darah atau kotoran
Cleo mineral water	Membantu dalam pengenceran sperma dengan telur
Ovaprin, syndel	Untuk merangsang pengeluaran gonad induk jantan dan betina

2.3. Tahapa-Tahapan Penelitian

1. Seleksi Induk

Induk yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah induk ikan tawes yang sudah matang gonad yang bertujuan untuk mendapat sperma/telur yang berkualitas, didapatkan dari kolam pembudidaya ikan di Kabupaten Nagan Raya.

2. Penyuntikan Induk

Induk yang telah diseleksi, selanjutnya dilakukan penyuntikan dengan dosis 0.1 mL/kg induk dengan ovaprim, induk dimasukkan kedalam bak.

3. Striping

Setelah 12 jam pasca penyuntikan, ikan tawes dilakukan pengambilan/koleksi semen dengan striping pada bagian bagian perut diurut ke arah urogenital, semen ditampung menggunakan spuit/syringe 2 cc.

a. Persiapan Pengencer NaCl Fisiologis dan Air Kelapa Muda

Penelitian ini menggunakan pengencer air kelapa muda dengan NaCl sebanyak 5 konsentrasi dan 1 konsentrasi hanya menggunakan NaCl tanpa campuran air kelapa muda, 4 konsentrasi menggunakan NaCl campuran air kelapa muda yaitu pengencer air kelapa muda dengan konsentrasi 3%, 5%, 7%, dan 9% serta 0% hanya NaCl saja (Mariani, 2015). Pengenceran tiap konsentrasi dalam penelitian sebanyak 10 ml gunanya untuk mempermudah penekaran jumlah persentase air kelapa muda dan NaCl fisiologis, adapun konsentrasi tersebut diperoleh melalui penentuan berikut:

$$\text{Air kelapa muda(konsentrasi)\%} = \frac{\text{persentase air kelapa muda} \times \text{jumlah pengencer}}{100}$$

Sperma (1): pengencer (9)

0,2 ml : 1,8 ml

1. Air kelapa muda 3% $= \frac{3 \times 10 \text{ ml}}{100} = 0,3 \text{ ml}$
2. Air kelapa muda 5% $= \frac{5 \times 10 \text{ ml}}{100} = 0,5 \text{ ml}$
3. Air kelapa muda 7% $= \frac{7 \times 10 \text{ ml}}{100} = 0,7 \text{ ml}$
4. Air kelapa muda 9% $= \frac{9 \times 10 \text{ ml}}{100} = 0,9 \text{ ml}$

b. Pencampuran Sperma dengan Pengencer NaCl Fisiologis, Air Kelapa Muda

Sperma yang telah diperoleh dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan pengencer(Air kelapa muda dan NaCl fisiologis) dari tiap perlakuan pengencer yang telah dibuat sebelumnya. Adapun konsentrasi pengencer Air kelapa muda dan NaCl yaitu (3%, 5%, 7% dan 9%). Sebagai kontrol adalah sperma ikan tawes hanya menggunakan NaCl.

4. Penyimpanan dan Fertilisasi

Penyimpanan spermatozoa membutuhkan bahan pengencer yang berfungsi untuk mengurangi aktivitas spermatozoa sehingga menghambat pemakaian energi dan dapat memperpanjang hidup spermatozoa (Sunarma *et al.*, 2007). Sperma ikan tawes yang sudah dicampurkan dengan jenis larutan pengencer air kelapa muda dan NaCl fisiologis kemudian disimpan didalam lemari pendingin/kulkas pada temperatur 4⁰C selama 3 hari.

Telur dikoleksi setelah 12 jam penyuntikan, telur ditampung pada wadah mangkok kecil, jumlah telur yang di uji pada masing-masing percobaan adalah 100 butir. Sedangkan pengamatan angka fertilisasi dilakukan setelah 10 jam.

2.4. Parameter Uji

1. Persentase Pembuahan

Fertilization rate (FR) telur dihitung dengan cara membandingkan telur yang dibuahi dengan jumlah yang diinkubasi. Formulasinya merujuk pada Hui *et al* (2012) :

$$FR = \frac{\text{jumlah telur yang terbuahi}}{\text{jumlah telur yang diinkubasi}} \times 100 \%$$

2. Persentase Penetasan

Hatching rate (HR) merupakan kegiatan merawat telur yang telah terbuahi hingga telur tersebut menetas. Telur yang dibuahi berkembang menjadi embrio dan akan menetas menjadi larva sedangkan telur yang tidak terbuahi akan mati. HR telur ikan tawes dihitung dengan cara menghitung larva satu persatu, kemudian dinyatakan dalam persen. Formulasinya merujuk pada Hui *et al*, (2012) :

$$HR = \frac{\text{jumlah telur yang menetas}}{\text{jumlah telur yang terbuahi}} \times 100 \%$$

2.5. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental, sedangkan rancangan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan masing-masing perlakuan ada tiga kali ulangan, perlakuan dalam penelitian ini yaitu:

P₁= Larutan NaCl fisiologis

P₂= 0,3 ml air kelapa muda dalam pengencer larutan NaCl fisiologis

P₃=0,5 ml air kelapa muda dalam pengencer larutan NaCl fisiologis

P₄=0,7 ml air kelapa muda dalam Pengencer larutan NaCl fisiologis

P₅=0,9 ml air kelapa muda dalam pengencer larutan NaCl fisiologis Penggunaan bahan-bahan diatas mengacu penelitian Mariani (2015).

2.6. Analisis Data

Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan untuk mendapatkan perlakuan terbaik dilakukan uji jarak berganda Duncan taraf signifikansi 5%.

III. Hasil dan Pembahasan

3.1. Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Tawes

Hasil penelitian yang telah dilaksanakan diperoleh data fertilisasi dan daya tetas telur ikan tawes seperti Tabel dan gambar dibawah ini :

Tabel 3. Rataan fertilisasi dan daya tetas telur ikan tawes selama percobaan (sperma pasca penyimpanan)

Parameter uji	Perlakuan				
	P1	P2	P3	P4	P5
Fertilisasi, F (%) ± Stdev	25±4c	34,7±4c	42,7±1b	64,3±4a	51,7±4b
Daya Tetas, HR (%) ± Stdev	14,3±4c	25±3c	32,3±2c	61,7±3a	38,3±1c

Ket : standar deviasi (simpangan baku): menggambarkan seberapa besar perbedaan nilai sampel terhadap rata-ratanya. Semakin besar nilai standar deviasi maka data sampel semakin menyebar (bervariasi) dari rata-ratanya. Sebaliknya jika semakin kecil maka data sampel semakin homogen (hampir sama).

Hasil fertilisasi dan daya tetas telur ikan tawes yang tertera di Tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata dari sperma yang diencerkan dengan NaCl fisiologis dan air kelapa muda yang telah disimpan pada suhu 4°C ($p < 0.05$). Hasil percobaan menunjukkan fertilisasi yang terbaik terdapat pada P₄ dengan (0,7 %) air kelapa muda dalam pengencer NaCl fisiologis dengan nilai rata – rata 64,3 %.

Fertilisasi dapat didukung oleh kualitas spermatozoa yang baik. Kualitas sperma (konsentrasi spermatozoa, motilitas spermatozoa dan komposisi cairan plasma semen) akan berpengaruh terhadap fertilisasi spermatozoa. Tingkat fertilisasi nampaknya mengikuti apa yang terjadi pada tingkat kualitas sperma, jika motilitas yang meningkat memberikan fertilisasi yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Adipu *et al* (2011), bahwa dengan adanya penambahan larutan NaCl dan air kelapa muda pada pengenceran sperma, maka lama waktu aktivitas sperma menjadi panjang sehingga sperma memperoleh banyak waktu untuk menemukan dan membuahi sel telur . Adanya peningkatan waktu tersebut dapat memperpanjang daya tahan hidup dan keaktifan gerak spermatozoa (Hidayatrahmah, 2007). Pada kondisi pergerakan sperma aktif dan lincah sperma mempunyai kemampuan dan 1,38 energi untuk menembus lubang mikrofil telur (Adipu *et al* , 2011). Nurman (1998) menyatakan pembuahan adalah proses terjadinya pertemuan antara spermatozoa dengan sel telur.

Proses pembuahan pada sel telur sangat dipengaruhi oleh kualitas telur, kualitas sperma dan kecepatan sperma untuk bergerak spontan sehingga mampu masuk kedalam lubang mikrofil pada sel telur. Selain itu, Rizal dan Efizal (1997) menambahkan tingginya tingkat pembuahan dikarenakan tingkat pergerakan spermatozoa yang semakin aktif. Pada perlakuan P1(kontrol) tanpa konsentrasi air kelapa muda hanya NaCl saja mengalami fertilisasi terendah dengan nilai rata-rata sebesar (25%) dibandingkan perlakuan P4 sebanyak 64,3, P2 sebanyak 36,6%, P3 sebanyak 42,6% dan P5 sebanyak 51,6%. Diduga dengan NaCl saja tidak memberikan sumber 138 energi yang cukup untuk proses fertilisasi.

Sesuai dengan pendapat Ardias (2008) yang menyatakan bahwa keberhasilan fertilisasi sangat bergantung pada kualitas dan kuantitas sperma, kemudian Iromo *et al.*(2007) juga menjelaskan bahwa tingginya fertilisasi berhubungan dengan komposisi pengencer yang mampu memberikan sumber energi dan perlindungan pada sperma selama disimpan pada suhu rendah. Selanjutnya Adipu *et al.* (2011) menyebutkan motilitas yang semakin menurun mengakibatkan daya fertilisasi sel telur menjadi lemah. Hal ini ditunjukkan pada data pengamatan motilitas, dimana semakin lama sperma disimpan ketersediaan nutrisi sebagai sumber energi pada pengencer akan berkurang sehingga motilitas mengalami penurunan.

Menurut Oyen *et al* (1991) dalam Syandri (1993), faktor internal yang berpengaruh terhadap daya tetas telur adalah perkembangan embrio yang terhambat karena kualitas spermatozoa dan telur kurang baik. Sedangkan faktor eksternal yang

berpengaruh terhadap penetasan telur adalah lingkungan yang didalamnya terdapat temperatur air, oksigen terlarut, pH, dan amoniak. Hal ini didukung oleh pernyataan Masrizal dan Efrizal (1997) bahwa daya tetas telur ikan tawes selalu ditentukan oleh pembuahan sperma, kecuali bila ada faktor lingkungan yang mempengaruhi. Selanjutnya dikemukakan bahwa, faktor internal yang akan mempengaruhi tingkat penetasan telur ikan tawes adalah perkembangan embrio yang terlambat akibat sperma yang kurang motil.

Hasil yang didapatkan pada perlakuan P₄ bisa dilihat dari baiknya tingkat motilitas (82,33 %). Hasil penelitian menunjukkan P₄ dengan konsentrasi air kelapa muda 7% dalam pengenceran NaCl fisiologis spermatozoa dapat mengoptimalkan motilitas, viabilitas dan mortalitas selama penyimpanan 3 hari, diduga bahwa Air kelapa muda dapat mempertahankan Mortalitas dan viabilitas sperma disebabkan kandungan Air kelapa muda yang mampu menutrisi spermatozoa sehingga sperma masih dapat bertahan selama penyimpanan, (Mariani,2015).

Chew dan Zulkafli (2010) melaporkan bahwa hasil percobaan terhadap beberapa spesies ikan dengan nilai fertilisasi tertinggi 20-55 % pada ikan Lele dumbo dengan teknik penyimpanan sperma, sedangkan pada penetasan mendapatkan nilai tertinggi 20-53 % pada ikan Semah Malaysia.

Tabel 4. Fertilisasi dan penetasan pada beberapa spesies ikan

Spesies	Fertilisasi (%)	Penetasan (%)
Bard Jawa	12-100	5-75
Lele Dumbo	21-37	19-32
Isok Duri	1.2-10	0.8-4.6
Semah Malaysia	20-55	20-53

Ket: Extender (DMSO, ethanol, glyserol dan methanol)

3.2. Kualitas Spermatozoa Pasca Penyimpanan

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan diperoleh data kualitas spermatozoa ikan tawes pasca pemberian konsentrasi air kelapa muda dalam NaCl fisiologis, dengan lama penyimpanan selama 3 hari pada suhu 4⁰C. Didapatkan hasil motilitas tertinggi pada perlakuan P₄ sebesar (82,33 %). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa spermatozoa pasca penyimpanan tersebut masih mampu bertahan hidup dan bisa dilanjutkan ketahap fertilisasi.

IV. Kesimpulan

1. Sperma pasca penyimpanan memberikan pengaruh nyata terhadap angka fertilisasi dan daya tetas telur ikan tawes (*Puntius javanicus*).
2. Perlakuan terbaik adalah P₄ (0,7% NaCl fisiologis dan air kelapa) dengan persentase nilai rata-rata yang tertinggi (64,3 %)
3. Daya tetas yang terbaik terdapat pada P₄ dengan nilai 61,6%.

Daftar Pustaka

- Adipu Y, Sinjal H, dan Watung J. 2011. Ratio Pengenceran Sperma Terhadap Motilitas Spermatozoa, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Lele (*Clarias sp*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis* Vol. 7 NP. 1 April 2011. 48-55.
- Akcay E, Y. Bozkurt, S. Secer & N. Tekun. 2004. Cryopreservation Of Mirrol Carp Semen. *Turkey Journal Vetenary Animal Science* 28: 837-843.
- Ardias, N. 2008. Peranan NaCl fisiologis Terhadap Derajat Pembuahan, Penetasan Telur dan Kelangsungan Hidup Larva Ikan Koi *Crypinus Carpio*. (Skripsi). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, 48 hlm.
- Chew P. C dan Zulkifli. A. R. 2010. *Sperm Cryopreservation of Some Freshwater Fish Spesies in Malaysia*. Freshwater Fisheries Research Division, FRI Glami Lemi, Jelevu, Negeri Malaysia.
- Fujaya, Y. 2002. *Fisiologis Ikan: Dasar Pengembangan Teknik Perikanan*, Penerbit Rineka Cipta, Jakarta. Jakarta.
- Heryadi, D., Sutisna dan Sutarmanta. 1995. *Pembenihan Ikan Air Tawar*. Kanisius, Yogyakarta.
- Hidayaturrahmah 2007. Waktu Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa dan Peningkatan Volume Semen dan Kualitas Spermatozoa Ikan belutu Melalui Kombinasi Penyuntikan HCG dan Ekstrak Hipofisa Ikan Mas <http://jurnalpdn.irpi.co.id> diakses
- Horvath, E. Miskolczi dan B. Urbayi. 2003. *Cryopreservation of Common Sperm*. *Aquatic Living Resources* 16: 457 – 460.
- Hui W, Xiaowen Z, Haizhen W, Jun Q, Pao X, dan Ruiwei L. 2012. Joint Effect of Temperatur, Salinity and pH on the Percentage Fertilization and Hatching Rate of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research*. Hal 1-11.
- Iromo, H., I. Supriatna, dan E. Riani. 2007. Efektifitas Pengencer Laktat Ringer, Modifikasi Ringer dan Larutan Fisiologis NaCl Terhadap Viabilitas Preservasi Spermtozoa Ikan Baung (*Mystus nemurus*). *Acuaqultura Indonesia* 8 (1) : 49 - 57.
- Masrizal dan Efrizal 1997. Pengaruh Rasio Pengenceran Mani terhadap Fertilisasi
- Minjoyo, H. 1993. *Teknik Pembenuhan Ikan Air Tawar*. Penebar swadaya, Jakarta.
- Murtidjo. 2011. *Beberapa Metode Pembenuhan Ikan Air Tawar*. Penerbit Kanisius. Jogjakarta.
- Sandy A W. 2005. Pengaruh substitusi Santan Kelapa pada NaCl fisiologis Terhadap waktu Penyimpanan Dan Kualitas Semen Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*) . *Skripsi* . Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya.
- Sinjal, H. 2014. Pengaruh Vitamin C Terhadap Perkembangan Gonad, Daya Tetas Telur dan Sintasan Larva Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp*) . *Jurnal 2* (1) 29-22
- Sultana. M., M. Nahiduzzaman, M.M. Hasan, M.U.H. Khanam dan M.A.R. Hossain, 2010. *J. Zool. Rajshahi. Univ.* 28:51-55.
- Sumantadinata, K., 1981. *Pengembangan Ikan-Ikan Peliharaan Di Indonesia*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sunarma, A. 2007. Kriopreservasi Spermatozoa Ikan Nilem (*Osteochilus hasseltii*) Menggunakan Ekstender Dan Krioprotektan Berbeda. *Tesis*. Program Pascasarjana - Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto: xvii + 73 hlm.
- Syandri H. 1993. Berbagai Dosis Ekstrak Hipofisa dan Pengaruhnya Mani dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cypinus Carpio L*). *Jurnal Terubuku*. Fakultas Perikanan Universitas Bung Hatta. Padang.