

SKRIPSI

PEMANFAATAN MADU SEBAGAI BAHAN EKSTENDER UNTUK KRIOPRESERVASI SPERMA IKAN GABUS (*Channa striata*)

***THE UTILIZATION OF HONEY AS EXTENDER FOR
STRIPPED SNAKEHEAD (*Channa striata*) SPERM
CRYOPRESERVATION***



**Anugerah Al Amin Mangkunegara
05121005032**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2019**

SUMMARY

ANUGERAH AL AMIN MANGKUNEGARA. The Utilization of Honey as Extender for Stripped Snakehead (*Channa striata*) Sperm Cryopreservation (Supervised by **SEFTI HEZA DWINANTI** and **M. SYAIFUDIN**).

Cryopreservation of stripped snakehead is needed to improve reproduction quality of seeds and broodstock. Some components are important for cryopreservation including quality and quantity of extender. The aim of this study was to investigate the influence honey as extender at different ratio on channa sperm cryopreservation quality. The research used response surface methodology (RSM) with three treatments (T); 300 mg. ml⁻¹ (T1), 400 mg. ml⁻¹ (T2) and 500 mg. ml⁻¹ (T3), which all treatments was replicated 3 times. The processed semen was equilibrated at 5°C for 3 h (chilling), packed into straws (0.25 ml), frozen and stored in a liquid nitrogen tank for 24 h before thawing and assessment of quality. Parameters observed were sperm characteristics such as (color, pH, concentration and sperm volume), motility and viability before and after cryopreservation. The results of this study indicated best treatment was honey concentration at 400 mg.ml⁻¹ (T2). After 7 days preservation, the motility value was about 40 – 70 % (4 score), viability percentage was 64.15% and no abnormality was occurred on stripped snakehead.

Keywords: *Stripped snakehead sperm, cryopreservation, honey*

RINGKASAN

ANUGERAH AL AMIN MANGKUNEGARA. Pemanfaatan Madu Sebagai Bahan Ekstender Untuk Kriopreservasi Sperma Ikan Gabus (*Channa striata*) (Dibimbing oleh **SEFTI HEZA DWINANTI** and **M. SYAIFUDIN**).

Kriopreservasi pada ikan gabus dibutuhkan untuk pengembangan kualitas reproduksi benih dan induk ikan gabus. Komponen penting yang menentukan keberhasilan kriopreservasi adalah kualitas dan kuantitas ekstender. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh madu sebagai ekstender pada rasio yang berbeda, untuk mempertahankan motilitas dan viabilitas sperma ikan gabus. Penelitian ini menggunakan *response surface methodology* (RSM), menggunakan 3 perlakuan (P); 300 mg. ml⁻¹ (P1), 400 mg. ml⁻¹ (P2) dan 500 mg. ml⁻¹ (P3) dengan pengulangan 3 kali. Semen yang tersedia di equilibrasi pada suhu 5°C selama 3jam, dimasukan ke dalam straws (0,25 ml), dibekukan dan disimpan dalam kontainer selama 24 jam sebelum pencairan dan pengamatan kualitas semen. Parameter yang diamati meliputi karakteristik sperma seperti (warna, pH, konsentrasi dan volume sperma), motilitas dan viabilitas sebelum dan sesudah kriopreservasi. Hasil dari penelitian ini mendapatkan perlakuan terbaik pada konsentrasi 400 mg ml⁻¹ madu (P2), Setelah 7 hari penyimpanan, pengamatan motilitas 40 – 70% (4 skor) dihari 7, persentase viabilitas 64,15 % dan tidak terdapat abnormalitas yang terjadi pada sperma ikan gabus.

Kata Kunci : *Kriopreservasi, madu, sperma ikan gabus.*

SKRIPSI

PEMANFAATAN MADU SEBAGAI BAHAN EKSTENDER UNTUK KRIOPRESERVASI SPERMA IKAN GABUS (*Channa striata*)

Diajukan Sebagai Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Perikanan
pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya



**Anugerah Al Amin Mangkunegara
05121005032**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

PEMANFAATAN MADU SEBAGAI BAHAN EKSTENDER UNTUK KRIOPRESERVASI SPERMA IKAN GABUS (*Channa striata*)

SKRIPSI

Sebagai Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Perikanan
pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya

Oleh:

Anugerah Al Amin Mangkunegara
05121005032

Indralaya, Juli 2019
Pembimbing II

Pembimbing I

Sefti Heza Dwinanti, S.Pi., M.Si.
NIP. 19840901201222003

M. Syaifudin, S.Pi., M.Si., Ph.D.
NIP. 197603032001121001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Andy Mulyana, M.Sc.
NIP. 196012021986031003



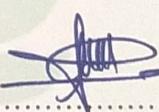
Skripsi dengan Judul "Pemanfaatan Madu Sebagai Bahan Ekstender Untuk Kriopreservasi Ikan Gabus (*Channa striata*)" oleh Anugerah Al Amin Mangkunegara telah dipertahankan di hadapan Komisi Penguji Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 19 Juli 2019 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

Komisi Penguji

- | | |
|---|--|
| 1. Sefti Heza Dwinanti, S.Pi. M.Si.
NIP 198409012012122003 | Ketua

(.....) |
| 2. M. Syaifudin, S.Pi., M.Si., Ph.D.
NIP 197603032001121001 | Sekretaris

(.....) |
| 3. Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si.
NIP 197609102001122003 | Anggota

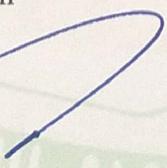
(.....) |
| 4. Tanbiyaskur, S.Pi., M.Si.
NIP 198604252015041002 | Anggota

(.....) |

Indralaya, Juli 2019

Koordinator Program Studi
Budidaya Perairan

Mengetahui,
Ketua Jurusan Perikanan
Fakultas Pertanian


Dr. Dade Jubaedah, S.Pi., M.Si.
NIP 197707212001122001


Herpandi, S.Pi., M.Si., Ph.D.
NIP 197404212001121002

PERNYATAAN INTEGRITAS

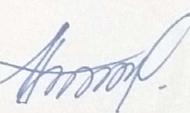
Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Anugerah Al Amin Mangkunegara
NIM : 05121005032
Judul : Pemanfaatan Madu Sebagai Bahan Ekstender Untuk Kriopreservasi sperma ikan gabus (*Channa striata*)

Menyatakan bahwa semua data dan informasi yang dimuat di dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri di bawah supervisi pembimbing, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya dan bukan hasil penjinplakan/plagiat. Apabila dikemudian hari ditemukan unsur plagiasi dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar dari Universitas Sriwijaya.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak mendapat paksaan dari pihak manapun.



Indralaya, Juli 2019

[Anugerah Al Amin Mangkunegara]

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Darmstadt pada tanggal 19 Mei 1995. Anak kedua dari empat bersaudara. Orang tua bernama Amrifan Saladin Mohruni dan R.A. Erna Yuliwati

Penulis memulai pendidikan dasar di SD Muhammadiyah 14 Palembang pada tahun 2000 dan menerima ijazah kelulusan pada tahun 2006. Selanjutnya penulis meneruskan pendidikan di SMP Negeri 9 Palembang dan selesai pada tahun 2009. Penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Palembang dan selesai pada tahun 2012. Penulis melanjutkan pendidikan di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya melalui jalur SNPTN pada tahun 2012. Saat ini penulis sedang menyelesaikan tugas akhir untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada perguruan tinggi tersebut.

Penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Dasar-Dasar Mikrobiologi Akuatik dan Ekosistem Rawa.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia yang diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. Shalawat beriring salam tidak lupa disanjungkan kepada Nabi Muhammad SAW. beserta keluarga dan para sahabatnya. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua tercinta, Amrifan Saladin Mohruni (Ayah) dan R.A. Erna Yuliwati (Bunda) serta keluarga yang telah memberikan doa, semangat, motivasi, harapan dan dukungan selama ini (Alif Tias.M, Noordin As Shiddiq.M, M. Raffif Al Farouq.M, M Fattah Al Barr .M)
2. Dosen pembimbing yaitu Ibu Sefti Heza Dwinanti, S.Pi., M.Si. dan bapak M. Syaifudin, S.Pi., M.Si. Ph.D. yang didalam kesibukannya selalu sabar dalam memberikan bimbingan, saran dan motivasi yang berharga dalam penyusunan skripsi.
3. Bapak Ir. Muhammad Yamin, MP. selaku kepala balai, yang telah memberi fasilitas dan izin untuk melakukan penelitian di Balai Inseminasi Buatan.
4. Bapak dan Ibu dosen penguji Ibu Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si. dan Bapak Tanbiyaskur, S.Pi., M.Si.yang telah memberikan saran dan masukan terhadap penulisan skripsi.
5. Ibu Indah selaku analis, bapak Narto selaku penjaga balai dan seluruh bapak ibu Balai Inseminasi Buatan yang tidak dapat disebutkan namanya satu satu.
6. Segenap Dosen Program Studi Budidaya Perairan yang secara langsung ataupun tidak langsung telah memberi banyak masukan kepada penulis (Bapak Danang Yonarta.)
7. Bapak Gatot dan Om Armin yang telah memberikan masukan dan berbagi pengalaman terhadap penulis.
8. Orang-orang inspirasi Cut Dhien Nissa Shella, Herlian Dwi Septiadi, Ferry Artha, Ade Pria Irawan, Fiar Doa Ibu, Irianyes Cahya Gozali, Prasandi GS, M Arief Mukhlis, Ismail Saputra, Kocu Nasution, Mongol, M.Surya Nabil, Galih Wibawa, Pascha, Septika Putri A, Adela Reta Jayanti, Annisa Siregar, Dino

Permana, Nabilla S, Ratu Brata T.M, Taufik, Jaka, Dinni P, Annisa Betha B, Edly Emil, Abok, Dimas N, Barbara Cilla Yasmine atas kerjasama, bantuannya selama masa kuliah dan skripsi.

9. Seluruh pihak yang tidak dapat disebut satu persatu yang telah membantu penulis selama ini.

Kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan sebagai bahan pertimbangan dan perbaikan di kemudian hari. Semoga skripsi ini dapat digunakan sebagaimana mestinya dan dapat bermanfaat baik bagi pembaca pada umumnya maupun penulis pada khususnya.

Indralaya, Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan dan Kegunaan	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Kriopreservasi Sperma	5
2.2. Ekstender	5
2.3. Krioprotektan	6
2.4. Ikan Gabus (<i>Channa striata</i>)	6
2.5. Response Surface Methodology (RSM)	7
2.6. Desain Faktorial (<i>Factorial Design</i>)	7
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	9
3.1. Tempat dan Waktu	9
3.2. Bahan dan Metoda	9
3.3. Analisis Data	14
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1. Hasil	15
4.2. Pembahasan	18
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	22
3.1. Kesimpulan	22
3.2. Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 4.1. Viabilitas Sperma Ikan Gabus ; (A) Sperma hidup ; (B) Sperma mati.....	16
Gambar 4.2. Grafik Pengaruh Waktu Penyimpanan dan Dosis Madu Terhadap Viabilitas Sperma Ikan Gabus.....	16
Gambar 4.3. Kontur Pengaruh Waktu Penyimpanan dan Dosis Madu Terhadap Viabilitas Sperma Ikan Gabus.....	17
Gambar 4.4. Morfologi Sperma Ikan Gabus ;(A) Kepala ;(B) Badan ;(C) Ekor ..	18

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1.Bahan–bahan yang akan digunakan dalam penelitian	9
Tabel 3.2.Alat - -alat yang akan digunakan dalam penelitian	10
Tabel 3.3.Kriteria motilitas spermatozoa	13
Tabel 4.1.Karakteristik Sperma Segar Ikan Gabus.....	15
Tabel 4.2.Motilitas Sperma Ikan Gabus	15
Tabel 4.3.Morfologi Sperma Ikan Gabus	17

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Jumlah bahan per perlakuan	27
Lampiran 2. Viabilitas Hari 1	28
Lampiran 3. Viabilitas Hari 4	32
Lampiran 4. Viabilitas Hari 7	33
Lampiran 5. Kriteria motilitas spermatozoa	37
Lampiran 6. ANOVA model kuadratik untuk viabilitas sperma ikan gabus	38
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian	39

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ikan gabus (*Channa striata*) salah satu komoditas air tawar yang bernilai ekonomis tinggi dan dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan protein hewani serta industri farmasi (Hossain et al., 2008). Produksi ikan gabus untuk terpenuhinya kebutuhan masyarakat saat ini mengandalkan tangkapan alam, tidak ada produksi skala besar sehingga eksploitasi ikan gabus dikhawatirkan semakin meningkat (Rahim et al., 2012). Domestikasi ikan gabus dari alam ke dalam lingkungan yang terkontrol sudah dilakukan untuk berbagai ukuran dengan tingkat kelangsungan hidup mencapai 100% yang dipelihara pada kolam beton selama 5 bulan (Muslim dan Syaifudin, 2012). Benih ikan gabus yang dipelihara dalam waring menunjukkan kelangsungan hidup mencapai 100% dan mengalami perkembangan gonad secara normal (Muslim dan Syaifudin, 2013). Salah satu upaya pengembangan untuk menunjang keberlangsungan dan memperoleh benih unggul adalah kriopreservasi stok sperma (Sharifuddin dan Azizah, 2014).

Kriopreservasi merupakan suatu metode penyimpanan sperma yang tidak mempengaruhi fungsi fisiologis, biologis dan morfologis di dalam sel melalui reduksi aktifitas metabolisme terhadap sperma. Metode kriopreservasi menggunakan teknik penyimpanan dengan suhu yang ekstrim dan dapat mencapai (-196°C) apabila digunakan cairan nitrogen (Boediono, 2003). Penyimpanan sperma telah digunakan dalam program konservasi, perbaikan genetik populasi liar dan budidaya dalam pemilihan karakteristik ikan tertentu berdasarkan pada kinerja reproduksinya, sehingga dapat menguntungkan industri akuakultur (Cabrita et al., 2010).

Penyimpanan sperma diperlukan disebabkan secara alamiah spermatozoa ikan air tawar di alam bebas sangat singkat masa hidupnya maka dibutuhkan tempat penyimpanan sperma setelah keluar dari testis (Toelihere, 1985). Keberhasilan kriopreservasi sperma ditentukan oleh bahan ekstender, krioprotektan, rasio pengenceran, laju pembekuan dan pencairan (*freezing* dan

thawing rate) dan larutan pengencer pada pembuahan (Billard *et al.*, 1995).

Krioprotektan merupakan bahan yang terdapat di dalam kriomedia untuk melindungi sperma pada saat kejutan dingin dan panas selama. Ada banyak jenis krioprotektan yang digunakan ke dalam kriopreservasi antara lain gliserol, DMSO, methanol, propilen glikol dan etilen glikol yang di gunakan terhadap ikan yang berbeda seperti ikan lele, gabus dan mas. Seluruh krioprotektan memiliki pengaruh baik terhadap kualitas sperma saat dipreservasi akan tetapi pengaruh yang paling effektif ditunjukan oleh gliserol di bandingkan dengan DMSO, etilen glikol, propilen glikol dan methanol (Linhart *et al.*, 1993., Richardson *et al.*, 1995., Ohta *et al.*, 2001). Motilitas spermatozoa dapat lebih efektik di pertahankan dengan menggunakan gliserol pada proses post thawing selain itu gliserol dapat mencegah terbentuknya kristal es pada saat kriopreservasi berlangsung sehingga terjadinya kematian dari spermatozoa pada saat dibekukan (Diwan *et al.*, 2010).

Ekstender adalah media untuk mencairkan sperma dan untuk mendapatkan jumlah yang lebih besar dari sperma yang diencerkan untuk pemijahan buatan dan juga berperan penting dalam kriopreservasi, menginduksi motilitas awal dan peningkatan fertilisasi sperma kriopreservasi (Muchhlisin, 2005). Ekstender yang banyak digunakan dalam kriopreservasi sperma antara lain, larutan fisiologis seperti NaCl sampai larutan kompleks kombinasi dari beberapa garam seperti Ringer laktat (Alavi dan Cosson, 2006). Menurut Babiak *et al.* (2001) penggunaan ekstender yang berbahan dasar gula atau kombinasi gula dapat menggunakan glukosa, sukrosa, fruktosa, dan laktosa. Sejalan dengan itu dibutuhkan adanya nutrisi dan energi dari bahan ekstender agar spermatozoa dapat mempertahankan kelangsungan hidupnya (Isnaini dan Suyadi, 2000)

Energi seperti fruktosa dan glukosa yang berbentuk gula sederhana (monosakarida) yang dibutuhkan oleh spermatozoa ini tersedia di dalam kandungan madu. Pengencer yang mengandung glukosa atau fruktosa dapat memperkuat kelangsungan hidup spermatozoa pada saat pasca pengenceran Hal ini mengakibatkan terbentuknya Adenosin Dififat (ADP) dan Adenosin Trifosfat (ATP) karena hal ini dibutuhkan untuk mempertahankan motilitas spermatozoa (Salisbury dan VanDemark, 1985). Fruktosa dan glukosa adalah komponen utama

yang ditemukan dalam madu. Unsur lainnya, adalah asam organik, mineral, protein, senyawa dan asam amino bebas (Akbulut *et al.*, 2009). Madu sebagai ekstender memiliki beberapa sifat yang bermanfaat antara lain antibakteri, antioksidan, antikarsinogenik, antiinflamasi, antiatherogenik, aktivitas antitrombotik, imunemodulasi dan analgesic (Weston, 2000). Madu dengan kekayaan nutrisi didalamnya diharapkan cocok sebagai bagian dari kriomedia untuk pengawetan sperma ikan gabus. Pada proses kriopreservasi, ekstender yang diharapkan bukan semata mata berfungsi sebagai pengencer sperma tetapi berfungsi juga sebagai sumber nutrisi untuk spermatozoa. Hal ini berakibat fungsi serta kualitas sperma bertahan (Tiersch, 2006). Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan motilitas, viabilitas dan morfologi yang optimal untuk sperma ikan gabus pada proses kriopreservasi dengan memanfaatkan madu sebagai ekstender.

1.2. Rumusan Masalah

Kriopreservasi sperma sudah dikerjakan pada lebih dari 230 spesies organisme akuatik (Dong *et al.*, 2007). Teknologi kriopreservasi ini merupakan suatu metode penyimpanan sperma dalam keadaan beku untuk mereduksi aktivitas metabolisme sperma tanpa mempengaruhi fungsi-fungsi sel sperma. Metode kriopreservasi menggunakan suhu rendah (-196°C) dalam nitrogen cair (Boediono, 2003). Keberhasilan pengawetan sperma ditentukan oleh bahan ekstender, bahan krioprotektan, rasio pengenceran, laju pembekuan dan pencairan kembali (*freezing dan thawing rate*) dan larutan pengencer pada pembuahan (Billard *et al.*, 1995).

Pada penelitian Ogretmen (2014), komposisi madu untuk kriopreservasi sperma ikan mas adalah 300 mg ml⁻¹ di dalam kriomedia dengan hasil motilitas mencapai $75,3 \pm 5,1\%$. Selain itu penelitian Sumathi (2004) menguji efektifitas beberapa krioprotektan menggunakan gliserol dan DMSO dimana gliserol lebih efektif dibandingkan dengan krioprotektan yang lainnya. Penggunaan gliserol 10% pada sperma ikan gabus mendapatkan motilitas yang lebih tinggi dibandingkan DMSO 10% yaitu $74,28 \pm 1,12$ dan $73,24 \pm 3,29$ dengan menggunakan ekstender NaCl dan KCl. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan motilitas, viabilitas dan morfologi yang lebih baik dengan

penggunaan madu sebagai ekstender yang dapat berfungsi untuk mempertahankan kemampuan sperma membuat telur setelah mengalami proses kriopreservasi.

1.3. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji motilitas, viabilitas dan morfologi sperma ikan gabus sebelum dan sesudah penyimpanan pada kriomedia yang menggunakan madu sebagai ekstender dan menentukan optimum konsentrasi madu untuk mendapatkan viabilitas yang terbaik dengan menggunakan *response surface methodology*. Selain itu, kegunaan dari penelitian ini adalah memperpanjang umur gamet dengan teknik penyimpanan menggunakan temperatur rendah dan memperkaya teknologi pengawetan sperma ikan gabus.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbulut, M., Özcan, M.M., & Çoklar, H., 2009 Evaluation of antioxidant activity, phenolic, mineral contents and some physicochemical properties of several pine honeys collected from Western Anatolia. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 60, 7 577–589.
- Alavi, S.M.H., Cosson, J., 2006. Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: a review. *Cell Biol. Int.* 30, 1–14.
- Babiak, I., Glogowski, J., Goryczko, K., Dobosz, S., Kuzminski, H., Strzezek, J. & Demianowicz, W. (2001). Effect of extender composition and equilibration time on fertilization ability and enzymatic activity of rainbow trout cryopreserved spermatozoa. *Theriogenology* 56: 177–192.
- Bijaksana, U. 2017. Status reproduksi ikan gabus, *Channa striata*, pp. 28–39.
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., Suquet, M. 1995. Sperm Physiology and Quality. In: Broodstock Management and Egg and Larval Quality pp. 25-52. Blackwell Science, Oxford.
- Boediono, A. 2003. Vitrifikasi vs pembekuan lambat pada pembekuan embrio. Symposium Perkumpulan Teknologi Reproduksi Indonesia (PATRI). Denpasar.hlm. 24 – 32.
- Cabrita, E., Sarasquete, C., Martínez-Páramo, S., Robles, V., Beirão, J and Pérez-Cerezales, S., 2010. Cryopreservation of fish sperm: Applications and perspectives, *Journal of Applied Ichthyology*, 26 (5), pp. 623–635. doi: 10.1111/j.1439-0426.2010.01556.x.
- Chao, N.H. 1991. Fish sperm cryopreservation in Taiwan: Technology advancement and extention efforts. *International Symposium on Reproductive Biology in Aquaculture*. Taipei: Department of Aquaculture, Taiwan Fisheriesv Research Institute
- Diwan, A.D., S. Ayyapan, K.K. Lal, and W.S. Lakra. 2010. Cryopreservation of Fish Gametes and Embryos. Indian Journal of Animal Sciences, 80 (4) : 109-124.
- Gaffar, A.K., Muthmainnah, D. and Suryati, N.K., 2012. Perawatan Benih Ikan Gabus (*Channa Striata*) Dengan Perbedaan Padat Tebar Dan Perbedaan Volume Pakan, in Karmiadji, D.W. et al. (eds) *Prosiding InSINas 2012*. Bandung, 29-30 November 2012: Asdep Relevansi Program Riptek, Deputi Bidang Relevansi dan Produktivitas Iptek, Kementerian Riset Dan Teknologi, pp. 303–306.

- Gazali, M dan S. N. Tambing. 2002. *Kriopreservasi Sel Spermatozoa*. *Hayati*, 9 (1) : 27-32.
- Guest W.C, Avault J.W, Rousel J.A. 1976. Sper-matogeny study of chanel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Transactions of the American Fisheries Society*, 105(5):463-468.
- He, S and Woods, L.C. III. 2004. Effects of Dimethyl Sulfoxide and Glycine on Cryopreservation Induced Damage of Plasma Membranes and Mitochondria to Striped Bass (*Morone saxatilis*) Sperm. *Cryobiology*, 48:254–262.
- Horokhovatskyi, Y., Dietrich, M A., Lebeda, I., Fedorov, P., Rodina, M., Dzyuba, B. 2018 Cryopreservation effects on a viable sperm sterlet (*Acipenser ruthenus*) subpopulation obtained by a Percoll density gradient method, *Cryopreservation effect on sterlet sperm biodiversity*. PLOS ONE, pp. 1–23. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202514>.
- Hossain, M.K., Latifa, G.A. and Rahman, M.M., 2008. Observations on induced breeding of snakehead murrel, *Channa striatus* (Bloch, 1793)', *Int. J. Sustain. Crop Prod.*, 3(5), pp. 65–68.
- Linhart, O., R. Billard, and J.P. Proteau. 1993. Cryopreservation of European catfish (*Silurus glanis L*) spermatozoa. *Aquaculture* 115: 347-359.
- Listiyanto, N. and Andriyanto, S., 2009. Ikan Gabus (*Channa striata*) Manfaat Pengembangan dan Alternatif Teknik Budidayanya, *Jurnal Media Akuakultur*, 4(1), pp. 18–25.
- Mohd Sharifuddin, M. and Siti Azizah, M.N., 2014. Preliminary studies on cryopreservation of snakehead (*Channa striata*) embryos, *Cryobiology*. Elsevier Inc., 69(1), pp. 1–9. doi: 10.1016/j.cryobiol.2014.04.001.
- Muchhlisin, Z. A., 2005. Current Status of Extenders and Cryoprotectants on Fish Spermatozoa Cryopreservation, *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 6(1), pp. 66–69. doi: 10.13057/biodiv/d060114.
- Muslim dan Syaifudin, M. 2012. Domestikasi calon induk ikan gabus (*Channa striata*) dalam Kolam Beton. *Majalah Ilmiah Sriwijaya*, Vol XXII (15) : 21-27.
- Muslim dan Syaifudin, M. 2013. Perkembangan Gonad Ikan Gabus (*Channa striata*) Hasil Domestikasi dalam Media Budidaya. Prosiding Seminar Nasional Biologi tanggal 28-30 Oktober 2013 di Universitas Pandjajaran. Bandung.
- Nilna, *Standar Operasional Pekerjaan Prosesing Semen*. Sumatera Barat: Dinas Peternakan Propinsi (2010).

- Isnaini, N. dan Suyadi, "Kualitas Semen Ayam Kedu pada Suhu Kamar dalam Pengencer Larutan NaCl Fisiologis dan Ringer's," *J. Ternak Tropika*, Vol. 1, No. 2 (2000) 55-56
- Ögretmen, F. and İnanan, B. E. 2014 'Evaluation of cryoprotective effect of turkish pine honey on common carp (*Cyprinus Carpio*) spermatozoa', *Cryo-Letters*, 35(5), pp. 427–437. doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.10.013.
- Ohta, H., K. Kawamura, T. Unuma, and Y. Takegoshi. 2001. Cryopreservation of the sperm of the Japanese bitterling. *Fish Biology* 58: 670-681.
- Rahim, M.H.A., Ismail, P., Alias, R., Muhammad, N., Mat Jais, A.M., 2012. PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA cytochrome b gene among Haruan (*Channa striatus*) in Malaysia, *Gene*, 494(1), pp. 1–10. doi: 10.1016/j.gene.2011.12.015.
- Richardson, G.F., L.W. Crim, Z. Yao, and C. Short. 1995. Cryopreservation of yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*) semen. In: Goetz, F.W, and P. Thomas, (eds.). Proc. of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, 2-8 July, 1995, The University of Texas, Austin-Texas. 136p.
- Salisbury, C.W. dan Van Demark, N.L., Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi, Yogyakarta: Gajah Mada University Press. (1985).
- Sumathi, R.S. 2004 *Cryopreservation of spermatozoa of three fresh water fishes heteropneustus fossilis Channa striatus and Channa punctatus*. Manonmaniam Sundaranar University. Available at: <http://hdl.handle.net/10603/64457>.
- Sunarma, A., Budihastuti, D. W. and Sistina, Y. 2010. Penggunaan Ekstender Madu yang Dikombinasikan dengan Krioprotektan Berbeda pada Pengawetan Sperma Ikan Nilem (Indonesian Sharkminnow, *Osteichilus hasseltii* Valenciennes, 1842), *Omni-Akuatika*, 9(11), pp. 51–55
- Tiersch, T. R. 2006. Fish Sperm Cryopreservation for Genetic Improvement and Conservation in Southeast Asia. *Fish for the People*, 4(2):21-33.
- Toelihere, M. R., 1985. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Bandung : Angkasa
- Weston, R.J. 2000 The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chemistry* 71, 235-239.
- Yamaner, G., Ekici, A., Tuncelli, G., Memis, D., 2015. A Brief Overview on Cryopreservation Method Of Sturgeon Sperm, *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 30(2), pp. 14–20. doi: 10.18864/ijfas.11849.