

SKRIPSI

**PENGARUH KRIOPROTEKTAN DIMETIL SULFOKSIDA
DOSIS BERBEDA DALAM EKSTENDER MADU TERHADAP
KUALITAS SPERMA IKAN BELIDA (*Chitala lopis*)
SELAMA MASA PENYIMPANAN**

***THE EFFECT OF DIFFERENT DOSES OF
CRYOPROTECTANT DIMETHYL SULFOXIDE IN HONEY
EXTENDER ON THE QUALITY OF FEATHERBACK FISH
(Chitala lopis) SPERM DURING THE STORAGE PERIOD***



**M Fery Artha Kusuma
05051181621043**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2021**

SUMMARY

M FERY ARTHA KUSUMA.The Effect of Different Doses of Dimethyl Sulfoxide Cryoprotectant in Honey Extender on Sperm Quality of Featherback Fish (*Chitala lopis*) During the Storage Period. (Supervisor **MOCHAMAD SYAIFUDIN** and **TANBIYASKUR**).

Cryoprotectant plays a role in saving biological material during cryopreservation. Dimethyl sulfoxide (DMSO) as a cryoprotectant has the ability to quickly penetrate into the cell at equilibration and leave the cell at thawing procedure. This study aims to determine the best dose of DMSO in honey extender to the characteristics of the featherback Fish spermatozoa cells in the cryopreservation process. This study used a completely randomized design (CRD) consisting of P0 control (0.5% honey in Ringer's solution) and three different doses of DMSO, namely P1 (0.5% honey in Ringer's solution + 10% DMSO), P2 (0.5% honey in Ringer's solution + 15% DMSO), and P3 (0.5% honey in Ringer's solution + 20% DMSO). The results showed that at storage time of 14 days, P3 gave the best results on motility (score 4), and the viability value was 77.44%, higher than Control, P1 and P2. In addition, the treatment did not show any abnormalities that occurred in the featherback fish sperm.

Key words: dimethyl sulfoxide, cryopreservation, featherback fish sperm.

RINGKASAN

M FERY ARTHA KUSUMA. Pengaruh Krioprotektan Dimetil Sulfoksida Dosis Berbeda Dalam Ekstender Madu Terhadap Kualitas Sperma Ikan Belida (*Chitala lopis*) Selama Masa Penyimpanan. (Pembimbing **MOCHAMAD SYAIFUDIN** dan **TANBIYASKUR**).

Krioprotektan merupakan salah satu bahan yang berperan dalam penyelamatan bahan biologis pada kriopreservasi. Dimetil sulfoksida (DMSO) sebagai krioprotektan memiliki kemampuan cepat untuk penetrasi ke dalam sel pada saat *equilibrasi* (penurunan suhu) dan meninggalkan sel pada saat *thawing* (pencairan kembali). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penggunaan dosis terbaik dari larutan krioprotektan yang menggunakan DMSO dalam ekstender madu terhadap karakteristik dari sel spermatozoa ikan belida pada proses kriopreservasi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari kontrol P0 (madu 0,5% dalam larutan ringer) dan tiga perlakuan dosis DMSO yang berbeda sebagai krioprotektan, yaitu P1 (madu 0,5% dalam larutan ringer + 10% DMSO), P2 (0,5% madu dalam larutan ringer + 15% DMSO), P3 (0,5% madu dalam larutan ringer + 20% DMSO). Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama waktu penyimpanan selama 14 hari pada P3 memberikan hasil terbaik terhadap motilitas (skor 4), nilai viabilitas sebesar 77,44%, lebih tinggi dari Kontrol, P1 dan P2. Selain itu, pada perlakuan tersebut tidak ditemukan adanya abnormalitas yang terjadi pada sperma ikan belida.

Kata kunci: dimetil sulfoksida, kriopreservasi, sperma ikan belida.

SKRIPSI

PENGARUH KRIOPROTEKTAN DIMETIL SULFOKSIDA DOSIS BERBEDA DALAM EKSTENDER MADU TERHADAP KUALITAS SPERMA IKAN BELIDA (*Chitala lopis*) SELAMA MASA PENYIMPANAN

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



M Fery Artha Kusuma
05051181621043

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH KRIOPROTEKTAN DIMETIL SULFOKSIDA
DOSIS BERBEDA DALAM EKSTENDER MADU TERHADAP
KUALITAS SPERMA IKAN BELIDA (*Chitala lopis*)
SELAMA MASA PENYIMPANAN**

SKRIPSI

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

Oleh :

**M Fery Artha Kusuma
05051181621043**

**Indralaya, April 2021
Pembimbing II**

Pembimbing I



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



**Tanbiyaskur, S. Pi, M.Si
NIP 198604252015041002**

**Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian**



**Dr. Ir. A. Muslim, M.Agr
NIP 196412291990011001**

Skripsi dengan Judul "Pengaruh Krioprotektan Dimetil Sulfoksida Dosis Berbeda Dalam Ekstender Madu Terhadap Kualitas Sperma Ikan Belida (*Chitala lopis*) Selama Masa Penyimpanan" oleh M Fery Artha Kusuma telah dipertahankan di hadapan Komisi Penguji Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 01 April 2021 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

Komisi Penguji

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

Ketua

(.....)

2. Tanbiyaskur, S.Pi., M.Si.
NIP 198604252015041002

Sekretaris

(.....)

3. Yulisman, S.Pi., M.Si.
NIP 197607032008011013

Anggota

(.....)

4. Danang Yonarta, S.St.Pi., M.P.
NIDN. 0014109003

Anggota

(.....)

Ketua Jurusan
Perikanan



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

Mengetahui,
Koordinator Program Studi
Budidaya Perairan

(.....)

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

PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : M Fery Artha Kusuma

NIM : 05051181621043

Judul : Pengaruh Krioprotektan Dimetil Sulfoksida Dosis Berbeda Dalam Ekstender Madu Terhadap Kualitas Sperma Ikan Belida (*Chitala lopis*) Selama Masa Penyimpanan.

Menyatakan bahwa semua data dan informasi yang dimuat dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri dibawah supervisi pembimbing, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya, dan bukan hasil penjiplakan / plagiat. Apabila di kemudian hari ditemukan adanya 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, April 2021



[M Fery Artha Kusuma]

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jambi, pada tanggal 25 Juli 1998 yang merupakan putra pertama dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Angger Suprianto dan Ibu Liati.

Pendidikan penulis bermula di SDN 143/IX Tenggeris pada tahun 2004 hingga tahun 2010. Setelah itu melanjutkan pendidikan pada tahun 2010 ke jenjang Sekolah Menengah Pertama atau SMP tepatnya di SMPN 17 Muaro Jambi dan lulus pada tahun 2013, setelah lulus di Sekolah Menengah Pertama penulis melanjutkan studi ke Sekolah Menengah Atas di SMAN 1 Muaro Jambi selama 3 tahun dan pada tahun 2016 penulis melanjutkan masa studinya di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan, Fakultas Peratanian, Universitas Sriwijaya, melalui jalur SNMPTN dan mendapatkan beasiswa Bidikmisi.

Selama masa kuliah penulis aktif dalam kegiatan organisasi jurusan di Himpunan Mahasiswa Akuakultur (HIMAKUA) periode 2016-2017 sebagai Badan Pengurus Harian dengan menjabat sebagai sekretaris Dinas Media dan Informasi dan pada periode 2017-2018 penulis diamanahkan menjabat sebagai Wakil Ketua Umum Himpunan Mahasiswa Akuakultur. Selain di organisasi internal kampus, penulis juga aktif diorganisasi eksternal yakni di Keluarga Mahasiswa Bidikmisi Unsri (Kadiksri) pada tahun 2017-2018 sebagai Sekretaris Departemen Media dan Informasi. Serta organisasi kedaerahan yakni menjadi anggota di Himpunan Mahasiswa Jambi pada tahun 2016 hingga sekarang.

Pada tahun 2018 hingga sekarang penulis dipercayai sebagai asisten dosen pada beberapa mata kuliah diantaranya, Dasar-dasar Akuakultur, Ekologi Perairan, Perikanan Rawa, Ikhtiologi, Teknik Pemijahan Ikan (TPI), Manajemen Hatchery dan Budidaya Ikan Rawa. Penulis juga pernah mendapatkan juara di beberapa kompetisi di tingkat nasional seperti, Best Poster pada LKTI tingkat nasional di Universitas Hasanudin Makassar pada tahun 2016, penerima bantuan Kompetisi Bisnis Mahasiswa Indonesia (KBMI) pada tahun 2018, juara Harapan 1 pada LKTI nasional di Universitas Pancabudi Medan pada tahun 2017. Penulis telah mengikuti kegiatan Magang di BPBAT Sungai Gelam Jambi pada tahun 2018 dan melaksanakan kegiatan praktek lapangan di lingkungan masyarakat.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Pengaruh Krioprotektan Dimetil Sulfoksida Dosis Berbeda Dalam Ekstender Madu Terhadap Kualitas Sperma Ikan Belida (*Chitala lopis*) Selama Masa Penyimpanan".

Shalawat beriring salam tidak lupa disanjungkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabatnya. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada:

1. Kedua orang tua dan segenap keluarga yang tentunya selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapak Mochamad Syaifudin, S.Pi., M.Si., Ph.D dan Bapak Tanbiyaskur, S.Pi., M.Si selaku pembimbing atas kesabaran dan perhatiannya dalam memberikan arahan dan bimbingannya kepada penulis sejak perencanaan, pelaksanaan dan analisis hasil penelitian sampai penyusunan dan penulisan dalam bentuk skripsi ini.
3. Pihak Laboratorium Balai Pembibitan dan Hijauan Pakan Ternak (BPHPT) Sembawa yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mempergunakan fasilitas Balai selama penelitian berlangsung.
4. Bapak Danang Yonarta, S.St.Pi., M.P dan Ibu Madyasta Anggana Rarassari, S.Pi., M.P yang telah banyak memberikan doa, arahan dan materi sehingga penulis dapat menjalankan tugas akhir dengan sebaik-baiknya.
5. Bapak Dr. Mohamad Amin, S.Pi., M.Si selaku pembimbing akademik yang telah banyak memberikan arahan sehingga penulis bisa maju pada tahap penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Herpandi, S.Pi., M.Si., Ph.D selaku Ketua Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.
7. Bapak Dr, Ferdinand Hukama Taqwa, S.Pi., M.Si selaku Sekretaris Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.
8. Ibu Dr. Dade Jubaedah, S.Pi., M.Si selaku Koordinator Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Sriwijaya.

9. Bapak Yulisman, S.Pi., M.Si selaku Penguji Pertama pada ujian komprehensif yang telah memberikan saran dan masukan sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
10. Kepada semua Bapak Ibu dosen dan admin , analis Laboratorium Program Studi Budidaya Perairan atas bimbingan selama kegiatan perkuliahan dan praktikum sehingga penulis dapat maju pada tahap penulisan skripsi ini.
11. Kepada temang-teman angkatan 2016 Budidaya Perairan yang turut berkontribusi dan membantu dalam pelaksanaan maupun penulisan skripsi ini.
12. Kepada Ani Hardiyanti Budidaya Perairan 2016 yang telah banyak meluangkan waktu nya untuk selalu menemani mulai dari awal masuk kuliah hingga penyelesaian skripsi ini.
13. Kepada Anugrah Al-Aminn atas arahan serta saran selama kegiatan penelitian dilakukan.
14. Kepada Rupi Sanjaya Budidaya Perairan 2018 atas partisipasinya dalam membantu selama pelaksanaan penelitian.

Indralaya, April 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan dan Kegunaan	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Klasifikasi dan Morfologi Ikan Belida.....	4
2.2. Habitat dan Penyebaran.....	5
2.3. Reproduksi.....	5
2.3.1. Organ Reproduksi dan Proses Spermatogenesis.....	6
2.3.2. Morfologi Spermatozoa.....	8
2.3.3. Kandungan Spermatozoa.....	9
2.4. Kriopreservasi.....	10
2.4.1. Ekstender.....	13
2.4.2. Krioprotektan.....	14
2.4.3. <i>Thawing</i>	17
BAB 3. PELAKSANAAN PENELITIAN.....	19
3.1. Tempat dan Waktu.....	19
3.2. Bahan dan Metoda.....	19
3.3. Analisa Data.....	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1. Karakteristik Sperma Segar Sebelum Kriopreservasi.....	26
4.2. Morfologi Sperma.....	28
4.3. Motilitas Sperma.....	29
4.4. Viabilitas Sperma.....	31
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	35

5.1. Kesimpulan	35
5.2. Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian.....	19
Tabel 3.2. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian.....	20
Tabel 3.3. Pembagian motilitas spermatozoa.....	22
Tabel 4.1. Karakteristik sperma segar sebelum kriopreservasi.....	26
Tabel 4.2. Morfologi spermatozoa setelah proses kriopreservasi.....	29
Tabel 4.3. Rata-rata motilitas sperma pasca kriopreservasi.....	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1. Morfologi sperma segar ikan belida.....	27
Gambar 4.2. Morfologi sperma setelah kriopreservasi.....	28
Gambar 4.3. Viabilitas sperma ikan belida pasca kriopreservasi.....	31
Gambar 4.4. Viabilitas sperma ikan belida (<i>Chitala lopis</i>).....	33

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Perkembangan teknologi yang dilakukan pada kegiatan budidaya ikan baik ikan air tawar maupun ikan air laut yang terdapat di Indonesia pada saat ini terus mengalami kemajuan. Namun dibalik kemajuan teknologi tersebut, beberapa spesies ikan yang sudah dibudidayakan dengan tingkat keberhasilan dari kegiatan tersebut masih belum maksimal, serta keberadaannya di alam semakin sedikit dan terancam punah, salah satu spesies ikan air tawar yang keberadaannya semakin sedikit yaitu ikan belida (Kottelat *et al.*, 1993). Ikan belida dengan nama latin *Chitala lopis* banyak ditemukan di beberapa kepulauan yang ada di Indonesia seperti, Pulau Jawa, Sumatera, dan Kalimantan (Kottelat *et al.*, 1993).

Upaya yang perlu dilakukan dalam mengatasi kepunahan yakni dengan cara domestikasi ikan belida dalam lingkungan yang terkontrol. Kriopreservasi merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam proses penyimpanan atau penyelamatan bahan biologis dengan menggunakan suhu yang sangat rendah, yang nantinya mampu mempertahankan sesempurna mungkin sifat - sifat biologis yang terdapat pada sel spermatozoa terutama viabilitas dari spermatozoa setelah dikembalikan ke suhu normal (Supriatna dan Pasaribu, 1992). Menurut Shaw *et al.* (2000), proses kriopreservasi atau proses penyimpanan pada suhu rendah telah banyak dilakukan pada sel gamet, yaitu pada sel telur dan sel spermatozoa. Keberhasilan pada proses kriopreservasi juga dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya bahan pengencer dan bahan krioprotektan (Zaenab, 2007).

Larutan ekstender merupakan larutan pengencer dari sel spermatozoa pada proses kriopreservasi yang mengandung ion-ion garam yang mampu menyerupai kondisi tekanan osmotik sehingga mampu mencegah proses terjadinya aktivitas pada spermatozoa (Billard *et al.*, 1995). Pada proses kriopreservasi larutan krioprotektan merupakan zat kimia non elektrolit yang memiliki fungsi untuk mereduksi pengaruh dari letal pada proses pemaparan kriopreservasi sel, baik yang berupa efek larutan maupun pembentukan kristal es intraseluler (Ernawati, 1999). Larutan yang banyak digunakan sebagai krioprotektan adalah dimetil

sulfoksida (DMSO) (He dan Woods, 2004). Rurangwa *et al.* (2001), menyatakan bahwa dimetil sulfoksida (DMSO) merupakan krioprotektan yang mempunyai kemampuan cepat untuk masuk ke dalam sel pada saat pembekuan dan meninggalkan sel pada saat pencairan kembali sehingga banyak digunakan pada proses kriopreservasi.

Penggunaan DMSO sebagai krioprotektan telah dilakukan pada penelitian Sunarma *et al.* (2010), diantaranya ikan nilam dengan dosis terbaik penggunaan 0,5 % madu ditambahkan DMSO dengan konsentrasi terbaik 15 % menunjukkan motilitas dan tingkat penetasan telur yang dibuahi sperma masing-masing sebesar 63,33% dan 87,97%. Pada penelitian Sutarjo (2014), yang menggunakan krioprotektan DMSO dengan sukrosa pada ikan mas menghasilkan tingkat fertilisasi telur ikan mas sebesar 71,60% dan daya tetas sebesar 69,89%. Sedangkan menurut Mangkunegara *et al.* (2019), dengan pemanfaatan madu pada kriopreservasi sperma ikan gabus dengan dosis madu 400 mg/ml dengan menghasilkan nilai motilitas sebesar 40-70% dan viabilitas 64,15%. Oleh karena itu, dilakukan penelitian kriopreservasi sperma pada ikan belida menggunakan madu dengan berbagai dosis DMSO yang berbeda.

1.2. Rumusan Masalah

Perkembangan teknologi dalam kegiatan budidaya terus mengalami kemajuan setiap tahunnya, namun dibalik kemajuan teknologi tersebut, masih terdapat beberapa spesies ikan yang masih belum bisa dibudidayakan, salah satu spesies ikan tersebut yaitu ikan belida. Kriopreservasi merupakan suatu proses yang mampu mengawetkan sel spermatozoa maupun sel telur dari ikan belida dalam jangka waktu yang cukup lama. Stok dari Sel spermatozoa yang dilakukan pengawetan bisa digunakan dalam proses pemijahan sehingga kegiatan pemijahan dari ikan belida bisa dilakukan meski ketersediaan induk di alam sangat terbatas.

Keberhasilan dari proses kriopreservasi juga dipengaruhi oleh larutan krioprotektan yang digunakan, pada penelitian sebelumnya sudah banyak penggunaan dimetil sulfoksida (DSMO) sebagai larutan krioprotektan dapat memberikan pengaruh terhadap pengawetan sperma ikan nilam. Oleh karena itu

dibutuhkan kajian yang lebih dalam mengenai teknik kriopreservasi sperma pada ikan belida menggunakan krioprotektan dimetil sulfoksida (DSMO) dengan dosis berbeda sehingga dapat menjadi solusi dalam mengatasi kepunahan dari ikan belida.

1.3. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penggunaan dosis terbaik dari larutan krioprotektan yang menggunakan DSMO dalam ekstender madu terhadap karakteristik dari sel spermatozoa ikan belida pada proses kriopreservasi. Selain itu, kegunaan dari penelitian ini yaitu untuk memperpanjang umur gamet dengan teknik penyimpanan menggunakan DMSO dan memperkaya teknologi pengawetan sel spermatozoa ikan belida.

DAFTAR PUSTAKA

- Abinawanto., Mariana, D., Bayu., Retno, L. dan Sunarma, A., 2011. Peranan dimetil sulfoksida sebagai krioprotektan dalam mempertahankan kualitas spermatozoa ikan gurami (*Osphronemus goramy* Lacepede, 1801) dua puluh empat jam pascakriopreservasi. *Biota*, 16 (1),10–15.
- Affandi, R. dan Tang, U. M., 2001. *Fisiologi Hewan Air*. Unri Press. Pekanbaru.
- Alvarenga, M. A., Papa, F. O., Landim Alvarenga, F. C. and Medeiros, A. S. L., 2005. Amides as cryoprotectant sforfreezing stallion semen. A Review. *Anim Reprod Sci*, 89,105-113.
- Barcelo, F. M. and Seidel Jr G. E., 2007. Effects of fetal calf serum, phenazine ethosulfate and either glucose or fructose during in vitro culture of bovine embryos on embryonic development after cryopreservation. *Molecular Reprod. Develop*, 74, 1395 – 1405.
- Barth, A. D and Oko, R. J., 1989. *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa State University Press: Iowa.
- Billard, R., Cosson, G. J. and Percheand Linhart, O., 1995. Biology of sperma and artificial reproductionin carp. *Aquaculture vol, 129, 95-112*.
- Billard, R., Cosson, J., Claudette, J. and Francoise, F., 1998. Initiation of carp spermatozoa motility and early ATP reduction after milt contamination by urine. *Elsevier Science, Aquaculture: 160, 317-328*.
- Boediono, A., 2005. *Kriopreservasi Embrio*. Surabaya. Konas II PERMI & Temu Ilmiah II FER, 3-5 Februari.
- Cabrita, E., Robles, V. and Herraiez, P., 2008. *Methods in Reproductive Aquaculture Marine and Freshwater Species*. CRC Press: New York.
- Chen, S. U., Lien, Y. R., Chen, H. P., Chang, L. J., Tsai, Y. Y and Yang, Y.S., 2005. Observational clinical follow-up of oocyte cryopreservation using a slow-freezing method with 1,2-propanediol plus sucrose followed by ICSI. *Human Reprod*, 20, 1975 – 1980.
- Choa, N. H. and Liao, I. C., 2001. Cryopreservasi of finfish and shellfish gametes and embryos. *Aquaculture*, 197, 161 – 189.
- Dacie, J.V. and Lewis, S.M., 1984. *Practical haematology*. Churchill Livingstone. London.
- Davy, B. F and Chouinard, A., 1980. *Induced fish breeding in Southeast Asia*. DRC Ottawa: 176-182.

- Day, J. G and Stacey. G. N., 2007. *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*. Second Edition. Humana Press. Totowa : New Jersey.
- Diez, C., Heyman, Y., Le Bourhis, D., Guyader-Joly, C., Degrouard, J and Renard, J.P., 2001. Delipidating in vitro-produced bovine zygotes: Effect on further development and consequences for freezability. *Theriogenology*, 55, 923 – 936.
- Ernawati, Y., 1999. *Efisiensi implantasi LHRH dan 17 -metiltestosteron serta pembekuan sperma dalam upaya peningkatan produksi benih ikan jambal siam (Pangasius hypophthalmus)*. Disertasi. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Ermayanti, N.G.A.M., Suarni, N.M.R., 2010. Kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) setelah perlakuan infus kayr-r amargo quassia amara Linn.) dan pemulihannya. *JBio*. 1:15-49.
- Fahy, G.M., 1986. The Relevance of cryoprotectant toxicity to cryobiology. *Cryobiology*, 1 -13.
- Fahy, G. M., Lilley, T. H., Linsdel, H., Douglas, M. S. and Meyman, H. T., 1990. Cryoprotectant toxicity and crioprotectant toxicity reduction: research of moluculer mechanisms. *Cryobiology*, 247-268.
- Faranita, O. V., (2009). *Kualitas Spermatozoa Pada Tikus Wistar Jantan Diabetes Melitus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Fujaya, Y., 2004. *Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknik Perikanan*. Cetakan pertama. Rineka Putra. Jakarta.
- Fujaya, Y., 2002. *Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknik Perikanan*. Direktorat Jendral pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.
- Gazali, M dan S. N. Tambing., 2002. Kriopreservasi sel spermatozoa. *Hayati*, 9 (1) : 27-32
- Gerzilov, V., 2010. Influence of various cryoprotectants on the sperm mobility of Muscovy semen before and after cryopreservation. *Agric Sci Technol* 2: 57-60.
- Guest, W.C., Avault, J.W. and Rousel, J.A., 1976. Spermatogeny study of chanel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Transactions of the American Fisheries Society*, 105 (5) : 463-468.
- Hafez, E. S. E., 1987. *Reproduction In Farm Animal*. 4 th Edition. Lea and Fibiger. Philadelfia. USA.

- He, S. and Wood, L. C., 2003. The effects of osmolality, cryoprotectant and equilibration time on striped bass sperm motility. *Journal of World Aquaculture Society*, 34, 255 - 265.
- Herrick, J. B. and Self, H. L., 1962. *Evaluation of Fertility in the Bull and Boar*. Iowa State University Press. Ames. Iowa. USA.
- Japet, Nuah., 2011. *Karakteristik semen ikan ekonomis budidaya: mas (Cyprinus carpio), dan patin (Pangasius hypophthalmus)*. Skripsi. Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kasai, M., Komi, J. H., Takakamo, A., Tsudera, H., Sakurai, T. and Machida, T., (1990). A simple method for mouse embryo cryopreservation in a low toxicity vitrification solution, without appreciable loss of viability. *Reproduction*, 89(1), 91-97.
- Keeley, T., McGreevy, P.D. and O'Brien, J.K., 2012. Cryopreservation of epididymal sperm collected postmortem in the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). *Theriogenology* 78, 315-325.
- Kostaman, T. dan Setioko, A. R. ., 2011. Perkembangan penelitian teknik kriopreservasi untuk penyimpanan semen unggas. *Wartazoa*, 21(3), 145-152.
- Kottelat, M., Whitten, A. J., Kartikasari, S. N. and Wiroatmodjo, S., 1993. *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Edisi Dwi Bahasa Inggris Indonesia. Periplus Edition (HK) Ltd. Bekerjasama dengan Kantor Menteri KLH, Jakarta.
- Kristanto, A. H., Nuryadi., Yosmaniar dan Sutrisno., 2008. Perkembangan telur dan sperma induk ikan belida (*Notopterus chitala*) yang di pelihara di kolam. *J. Ris. Akuakultur*, 3 (1), 73-82.
- Kurokura, H., Hirano, R., Tomita, M. and Iwahashi, M., 1984. Cryopreservation of carp semen. *Aquaculture*, 347 -359.
- Lane, M., Bavister, B. D., Lyons, E. A. and Forest, K. T., 1999. Container-less vitrification of mammalian oocytes and embryos. *Natural Biotechnology*. 1234-1236.
- Liebermann, J., Nawroth, F., Isachenko, V., Isachenko, E., Rahimi, G. and Tucker, M. J., 2002. Potential importance of vitrification in reproductive medicine. *Biol Reprod*, 67,1671-1680.
- Luz, M. R., Holanda, C. C., Pereira, J. J., Teixeira, N. S., Vantini, R., Freitas, P. M. C. A. E. P., Salgado, S. B., Oliveira, C. R. F., Guaitolini and Santos, M. C., 2009. Survival rate and in vitro development of in vivo-produced and

- cryopreserved dog embryos. *Reprod. Fertil, Develop*, 22, 208 – 209 (abstract).
- Madang, K., 1999. *Morfologi, habitat, dan keragaman genetic kerabat ikan belida (Malacopterygii: Notopteridae) di perairan Sumatera Selatan*. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Mangkunegara, A. A. A., Dwinanti, S. H., Syaifudin, M., 2019. Pemanfaatan madu sebagai bahan ekstender untuk kriopreservasi sperma ikan gabus (*Channa striata*). Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Pertanian. Universitas Sriwijaya. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 7(2), 123 - 134.
- Marati, K., 2007. *Pengaruh dosis dan lama penyimpanan pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas semen ikan mas (Cyprinus carpio L.)*. Thesis. Universitas Islam Negri Malang.
- Masrizal dan Efrizal., 1997. Pengaruh rasio pengenceran terhadap fertilisasi sperma dan daya tetas telur ikan mas (*Cyprinus carpio L.*). *Jurnal Perikanan*, 7 (6), 1 - 9.
- Morris, I., Berghmans, S., Zahrieh, D., Dona, S., John, N. and Thomas, A., 2003. Zebrafish sperm cryopreservation (*Cyprinus carpio L.*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Biosain*. Fakultas Perikanan dan MIPA Biologi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Notman, R., Den Otter, W.K., Noro, M.G., Briels, W.J. and Anwar, J., 2007. The permeability enhancing mechanism of DMSO in ceramide bilayers simulated by molecular dynamics. *Biophys J* 93(6): 2056- 2068.
- Pangestuningtias, J.W., (1993). Study tentang pengaruh radiasi sinar ultra violet dan waktu penyimpanan sperma ikan mas (*Cyprinus carpio L.*) terhadap persentase pembuahan dan persentase penetasan telur. Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Park, C. and Chapman, F. A., 2005. An extender slution for the short term storage of sturgeon semen. *North American Journal of aquaculture*, 67,52-57.
- Park, J.E. and Graham, J.K., 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology* 38,209-222.
- Partodihardjo, S., 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara Press: Jakarta.
- Rahardja, Boedi Setya., Mubarak, A. Shofy dan Sulisty Rini, Permana., 2010. Penambahan ekstender madu dalam proses penyimpanan sperma beku terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan komet (*Carassius auratusauratus*). Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 2 (2), November 2010.

- Rall, W. F. and Fahy, G. M., 1985. Ice - free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification. *Nature*, 313, 573-575.
- Rohmah, Qudrati., Santoso, Hari dan Zayadi, Hasan., 2020. Pengaruh kombinasi bahan pengencer air kelapa, kuning telur dan gliserol terhadap normalitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio L.*). *Jurnal Ilmiah SAINS ALAMI (Known Nature)*. 2(2).
- Rurangwa, E., Volckaert, F. A. M., Huyskens, G., Kime, D. E. and Ollevier, F., 2001. Quality control of refrigerated and cryopreserved semen using Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA), viable staining and standardized fertilization in african catfish (*Clarias gariepinus*). *Theriogenology*, 55, 751–769.
- Rustidja., 2004. *Pemijahan Buatan Ikan-Ikan Tropis*. Bahtera Press. Malang
- Rustidja., 2001. *Feromon Ikan*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rustidja., 2000. *Pemisahan Spermatozoa x dan y Ikan Mas (Cyprinus carpio)*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rustidja., 2000. *Prospek Pembekuan Sperma*. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Saha, S. R., Rajarna hendran., Sumantri, B. and Suzuki, T., 1996. Viability of bovine blastocysts obtained after 7, 8, or 9 day of culture in vitro following vitrification and one – step dehydration. *Theriogenology*, 46, 331-343.
- Shaw, J. M., Oranratnachai, A. and Trounson, A.O., 2000. *Cryopreservation of Oocytes and Embryos*. In Trounson AO, Gardner DK (eds). *Hand book of In Vitro Fertilization*, 2nd Ed. CRC Press, Boca Raton FL, pp 373-412.
- Shahverdi, A., Hezavehei, M., Kouchesfahani, H. M., Sharafi, M., Henkel, R., Esmaeili, V. and Agarwal, A., 2018. Sperm cryopreservation: A review on current molecular cryobiology and advanced approaches – A review. *Reproductive Bio Medicine Onlajur*, 37(3): 327-338.
- Stoss, J., 1983. Fish gametes preservation and spermatozoan physiology. In *Fish Physiology 9 (B)*, 305 – 350.
- Sukendi, R. M., Putra dan Yurisman., 2011. *Pengembangan teknologi pembenihan dan budidaya ikan motan (Thynnichthys thynnoides Blkr)* dalam rangka menjaga kelestariannya dari alam. Laporan Kegiatan Hibah III. Universitas Riau.
- Sunarma, A., Budihastuti, D. W. dan Sistina, Y., 2010. Penggunaan ekstender madu yang dikombinasikan dengan krioprotektan berbeda pada pengawetan

- sperma ikan nilam (Indonesian sharkminnow, *Ostechilus hasseltii* Valenciennes, 1842), *Omni-Akuatika*, 9(11), 51–55.
- Supriatna, I. dan Pasaribu, F. H., 1992. *In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio, dan Pembekuan Embrio*. Bogor. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor.
- Susilowati, F dan Istriyati., 2008. Pengaruh ekstrak etanol biji jarak (*Ricinus communis L*) terhadap struktur histologis testis tikus sawah (*Ratus argentiventer robinson & kloss*). *J. Manusia dan Lingkungan*, 15(2), 47-58.
- Susilowati, S., 2008. Komplek insulin like growth faktor mempengaruhi presentase membran plasma utuh dan kadar malondialdehid spermatozoa. *Jurnal Veteriner*, 9 (4).
- Sutarjo, Ganjar, A., 2014. Pengaruh konsentrasi sukrosa dengan krioprotektan dimetil sulfoksida terhadap kualitas telur ikan mas (*Cyprinus carpio*) pada proses kriopreservasi. *Jurnal Gamma*, 9 (2), 20-30.
- Sutkevidiene. N. and Zilinskas. H., 2004. Spem Morphology and Fefillity in Boar Artificial Insemination. *Vet Ir Zootech*, 26 (48), I-13.
- Tang, M. U. dan Affadi, R., 2001. *Biologi Reproduksi Ikan*. P2KP2 unri. Riau. 165 hlm.
- 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., 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Toelihere., 1994. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Utomo, A. D dan Krismono., 2006. *Aspek biologi beberapa jenis ikan langka di Sungai Musi Sumatra Selatan*. In M. F. Rahardjo, Djaja Subardja Sjafei, Ike Rachmatika, Charles, P. H. Simanjuntak, Ahmad Zahid (Penyunting). Prosiding Seminar Nasional Ikan IV. Jatiluhur, 29-30 Agustus 2006. 318-319 hlm.
- Valerdi, M.R., Eftekhari, P., Yazdi., Karimian, L., Hassani, F. and Movaghar, B., 2009. Vitrification versus slow freezing gives excellent survival, post warming embryo morphology and pregnancy outcomes for human cleaved embryos. *J Assist Reprod Genet*, 26, 347- 354.
- Ville., Walker. and Barnes., 1984. *General Zoology Sixth Edition*. CBS College Publishing. Terjemahan Oleh N. Soegiri. 1988. Zoologi Umum Edisi Keenam. Penerbit Erlangga. Jakarta. 484 hlm.

- Wibowo, Sunarmo, M. T. D. dan Subagdja., 2008. Status keragaman ikan belida (*Chitala spp*) di Sungai Tulang Bawang berdasarkan karakter morfometrik dan indeks fluktuasi asimetrik. *Jurnal staf peneliti Balai Riset Perikanan Perairan Umum (BRPPU) Palembang*. 13 hlm.
- Widyastuti, Y. E., 1993. *Flora Fauna Maskot Nasional dan Provinsi*. Penebar Swadaya. Jakarta. 67 hlm.
- Zaenab, S., 2007. *Motilitas spermatozoa dalam berbagai pengencer dan krioprotektan pada proses kriopreservasi*. Thesis. Universitas Airlangga. Surabaya. hal 72.
- Zairin, J. R., Handayani, S., Supriatna, I., 2005. Kualitas sperma ikan batak (*Torosoro*) hasil kriopreservasi semen menggunakan dimetil sulfoksida (DMSO) dan gliserol 5, 10 dan 15%. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 4 (2), 145 – 151.
- Zhu, W.J., Liu, X.G., 2000. Cryodamage to plasma membrane integrity in head and tail regions of human sperm. *Asian J Andrology* 2: 135-138.