

Pengaruh Macam Media Pengencer terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Tombro (*Cyprinus carpio*) Selama Penyimpanan pada Suhu 4-5°C

Effect of Different Extender on Motility of Common Carp (Cyprinus Carpio) Spermatozoa during Short-Term Preservation

Kukuh Juni Handoko*, Nur Ducha, Tarzan Purnomo

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

*kukuhjuni@gmail.com

ABSTRAK

Media pengencer dibutuhkan dalam penyimpanan semen ikan untuk mengurangi kerapatan spermatozoa dan memperpanjang lama penyimpanan spermatozoa. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh berbagai macam media pengencer terhadap motilitas dan durasi motilitas spermatozoa ikan tombro selama penyimpanan pada suhu 4-5°C. Desain penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan dan lima kali pengulangan. Perlakuan tersebut meliputi tanpa pemberian media pengencer sebagai kontrol, media KCl, media Kurokura, serta media FRE. Semen segar ikan tombro didapatkan dengan cara *stripping*. Semen segar diencerkan dengan rasio 1:4 pada tiga media pengencer yang berbeda. Parameter penelitian yang diukur meliputi persentase motilitas dan durasi motilitas spermatozoa yang diamati setiap hari selama penyimpanan. Persentase motilitas didapatkan dari estimasi spermatozoa yang bergerak maju kedepan dengan menggunakan mikroskop cahaya elektrik pada perbesaran 400X. Durasi motilitas dihitung dari lama waktu spermatozoa bergerak sampai tidak bergerak dalam satuan detik. Data dianalisis menggunakan uji ANAVA satu arah. Hasil penelitian menunjukkan media pengencer terbaik adalah media KCl dalam mempertahankan motilitas spermatozoa selama enam hari penyimpanan dengan persentase motilitas 42.50±4.60 serta durasi motilitas 116.60±18.35 detik. Simpulan dalam penelitian ini adalah pemberian media pengencer yang berbeda berpengaruh nyata terhadap motilitas dan durasi motilitas spermatozoa selama penyimpanan pada suhu 4-5°C.

Kata kunci: media pengencer; penyimpanan spermatozoa; spermatozoa ikan tombro; motilitas spermatozoa

ABSTRACT

Extender is requiring in fish sperm preservation to reduce sperm density and to improve sperm storage duration. The present study was purposed to evaluate the effect of different extenders on sperm motility of short-term preservation common carp spermatozoa. This research used completely randomized design with four treatments and five replications. The treatments were undiluted semen as a control, KCl medium, Kurokura medium, and FRE medium. Common carp fresh milt was collected by hand stripping method. Fresh milt was diluted at a ratio 1:4 with three different extenders. Percentage of sperm movement and sperm movement duration were observed every day during preservation. Percentage of sperm movement was estimated of forward moving spermatozoa used light microscope with 400X magnification. Motility duration was calculated by total time of moving sperm in second. Data were analyzed use on way ANOVA. KCl medium was found best in extending sperm motility under six days preservation with motility up to 42.50±4.60% and motility duration up to 116.60±18.35 second. It could be concluded that was different extenders gave real effect to spermatozoa motility and motility duration.

Key words: extender; sort-term preservation; common carp spermatozoa; sperm motility

PENDAHULUAN

Ikan tombro (*Cyprinus carpio*) adalah salah satu jenis ikan air tawar yang banyak dipilih untuk dibudidayakan. Keunggulan dari ikan ini adalah daya adaptasi tinggi terhadap kondisi lingkungan dan makanan yang tersedia. Ikan tombro juga mudah untuk dipijahkan, tahan terhadap berbagai penyakit dan pertumbuhannya cepat (Widiastuti, 2009). Meskipun budi daya ikan tombro terbilang cukup mudah, namun ketersediaan benih yang baik kualitas maupun kuantitas yang memadai

merupakan syarat yang menentukan keberhasilan suatu budi daya ikan. Masalah utama yang dihadapi dalam memproduksi benih adalah hasil benih yang didapatkan sedikit (Widiana dkk., 2013).

Salah satu alternatif yang bisa dilakukan untuk menyediakan benih ikan sepanjang tahun yaitu melalui fertilisasi buatan. Dalam menunjang hal tersebut dibutuhkan ketersediaan spermatozoa sepanjang tahun. Dengan demikian diperlukan teknik untuk penyimpanan spermatozoa. Metode

penyimpanan spermatozoa membutuhkan suatu media pengencer. Syarat media pengencer pada penyimpanan spermatozoa ikan adalah memiliki sifat sebagai penyangga dengan pH sekitar 7-8, mengandung konsentrasi potasium yang tinggi dan bersifat isotonis (Cabrita *et al.*, 2009; Islam dan Akhter, 2011; Alavi dan Cosson, 2006).

Pada umumnya spermatozoa ikan akan tetap tidak aktif bergerak pada saat berada pada seminal plasma. Keberadaan konsentrasi ion potasium pada seminal plasma yang tinggi merupakan faktor penghambat motilitas spermatozoa. Kandungan konsentrasi ion potasium pada media pengencer juga dapat mempertahankan motilitas spermatozoa Cyprinidae selama penyimpanan (Alavi dan Cosson, 2006). Spermatozoa menjadi motil dan metabolismenya menjadi aktif setelah berada di dalam air. Secara alami spermatozoa ikan membutuhkan *hypo-osmotic shock* untuk mengaktifasi motilitas spermatozoa di lingkungannya (Islam dan Akhter, 2011).

Media pengencer pada ikan telah banyak dikembangkan, namun tidak setiap media pengencer cocok terhadap penyimpanan semen pada semua jenis ikan. Banyak faktor yang memengaruhi kecocokan jenis media pengencer terhadap kualitas spermatozoa ikan misalnya konsentrasi ion, pH, maupun tekanan osmotik dari media pengencer tersebut (Islam dan Akhter, 2011; Alavi dan Cosson, 2006). Penelitian ini dilakukan untuk menguji pengaruh pemberian media pengencer yang berbeda terhadap motilitas dan durasi motilitas spermatozoa ikan tombro dalam penyimpanan semen cair pada suhu 4-5°C.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian adalah eksperimen murni. Penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2016 di (Unit Pengelola Budidaya Air Tawar) UPBAT Puntan kota Batu. Ikan tombro yang digunakan dalam penelitian ini sejumlah 10 ekor dengan rentang umur 6 bulan hingga 5 tahun dan ukuran berat minimal 800 gram/ekor serta telah matang gonad dan masih produktif. Semen segar ikan tombro didapatkan dengan metode *stripping*. Media pengencer yang digunakan dalam penelitian ini adalah media KCl (1,147 gram KCl) berdasarkan Agarwal *et al.* (2013), media Kurokura (0.75 gram NaCl, 0.02 gram KCl, 0.02 gram CaCl₂ and 0.02 gram NaHCO₃) berdasarkan Bozkurt (2005), dan Media FRE (*Fish Ringer Extender*) (0.75 gram NaCl, 0.10 gram KCl, 0.016 gram CaCl₂, 0.023 gram MgSO₄,

0.041 gram NaH₂PO₄ dan 0.10 gram Glukosa berdasarkan Kamaruding *et al.* (2012) dan kontrol (tanpa pemberian media pengencer). Setiap media tersebut dihomogenkan dengan 100 ml *distilled water*. Media aktivator dalam penelitian ini menggunakan VKA-2 (Vasil Kostadinov Atanasov) (2,567 gram sukrosa; 0,2237 gram KCl; 0,122 gram MgCl₂.6H₂O; 0,272 gram K₂HPO₄ dalam 100 ml *bidistilled water*) berdasarkan Atanasov (2006). Pemeriksaan kualitas semen segar yang meliputi warna semen, pH, konsistensi, motilitas, dan durasi motilitas dilakukan terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan rasio perbandingan 1:4 (semen:media pengencer) pada suhu 18-21°C sebelum dilakukan penyimpanan pada suhu 4-5°C.

Pengamatan motilitas spermatozoa dan durasi motilitas dilakukan setiap hari selama penyimpanan. Persentase motilitas spermatozoa didapatkan dengan membandingkan persentase spermatozoa yang bergerak maju dan tidak bergerak, diamati menggunakan mikroskop cahaya elektrik dengan perbesaran 400X pada suhu 18-21°C (Agarwal *et al.*, 2013; Ducha dkk., 2012; Bozkurt, 2005). Durasi motilitas didapatkan dengan menghitung menggunakan *stopwatch* spermatozoa yang bergerak hingga tidak ada pergerakan dari spermatozoa (Betsy dan Kumar, 2014). Data berupa persentase motilitas ditransformasikan terlebih dahulu dengan menggunakan transformasi arc sin. Selanjutnya data hasil tranformasi persentase motilitas dan data durasi motilitas dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 20 *for windows*. Normalitas data persentase motilitas dan durasi motilitas diuji dengan uji *One Sample Kolmogorov-Sminorv* untuk menentukan distribusi data. Data persentase motilitas dan durasi motilitas per hari masing-masing diuji dengan menggunakan ANAVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL

Berdasarkan hasil pengamatan persentase motilitas pada hari ke-1 sampai hari ke-7 diketahui bahwa bahwa pada setiap perlakuan terjadi kecenderungan menurun (Gambar 1). Rerata persentase motilitas pada hari ke-4 sampai hari ke-7 rerata persentase motilitas tertinggi terdapat pada perlakuan dengan pemberian media KCl dengan nilai 63,00±5,48; 48,00±3,57; 42,50±4,60 dan 28,00±4,67. Perlakuan dengan pemberian media KCl merupakan perlakuan terbaik dengan mempertahankan motilitas spermatozoa pada

hari ke-7 dengan rerata persentase motilitas sebesar $28,00 \pm 4,67$. Perlakuan media Kurokura dan media FRE merupakan perlakuan terendah dengan rerata persentase motilitas sebesar $2,00 \pm 7,07$ dan $3,50 \pm 8,09$ pada hari ke-7. Nilai standar deviasi menjadi tinggi dikarenakan pada pengamatan hari tersebut ada beberapa pengulangan yang memiliki motilitas 0% (Tabel 1).

Berdasarkan hasil pengamatan rerata durasi motilitas pada hari ke-1 sampai hari ke-7 diketahui bahwa pada setiap perlakuan terjadi kecenderungan menurun (Gambar 2). Pada hari ke-3 terjadi penurunan drastis pada perlakuan dengan penambahan media KCl dan

penambahan media Kurokura dengan nilai rerata durasi motilitas sebesar $832 \pm 26,02$ detik menjadi $186 \pm 8,21$ detik dan $362 \pm 20,89$ detik menjadi $181 \pm 23,50$ detik. Data rerata durasi motilitas tertinggi terdapat pada perlakuan pemberian media KCl dengan nilai $44 \pm 9,78$ detik pada hari ke-7 penyimpanan. Pada perlakuan pemberian media FRE merupakan rerata durasi motilitas paling rendah dengan nilai $8 \pm 11,72$ detik pada tujuh hari penyimpanan. Nilai standar deviasi menjadi tinggi dikarenakan pada pengamatan hari tersebut ada beberapa pengulangan yang memiliki durasi motilitas 0 detik (Tabel 2).

Tabel 1. Rerata persentase motilitas spermatozoa ikan tombro selama penyimpanan pada suhu 4-5°C

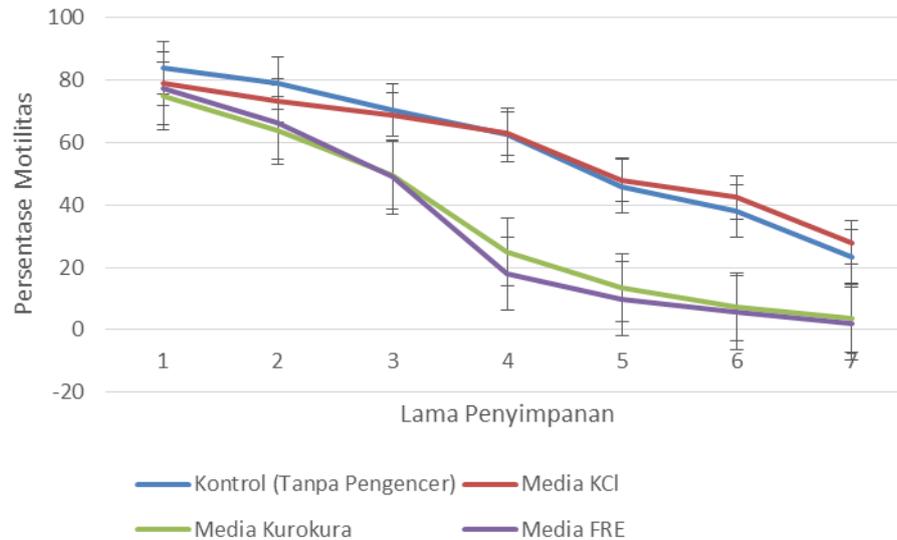
Perlakuan	Rerata Motilitas selama Penyimpanan (%) \pm Standar Deviasi						
	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Hari ke-5	Hari ke-6	Hari ke-7
Tanpa pengencer	84.00 ^a ± 5.57	79.00 ^b ± 4.81	70.50 ^b ± 6.82	62.50 ^b ± 5.99	46.00 ^b ± 4.03	38.00 ^b ± 3.94	23.50 ^b ± 6.41
Media KCl	79.00 ^a ± 5.43	73.50 ^{b,a} ± 5.89	69.00 ^b ± 6.64	63.00 ^b ± 5.48	48.00 ^b ± 3.57	42.50 ^b ± 4.60	28.00 ^b ± 4.67
Media Kurokura	75.00 ^a ± 5.73	64.00 ^a ± 6.06	49.50 ^a ± 5.35	25.00 ^a ± 10.92	13.50 ^a ± 13.25	7.50 ^a ± 9.74	3.50 ^a ± 8.09
Media FRE	77.50 ^a ± 3.25	66.50 ^a ± 4.48	49.00 ^a ± 5.25	18.00 ^a ± 12.72	10.00 ^a ± 12.07	5.50 ^a ± 10.43	2.00 ^a ± 7.07

Keterangan: superskrip dengan huruf kecil yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0.05$)

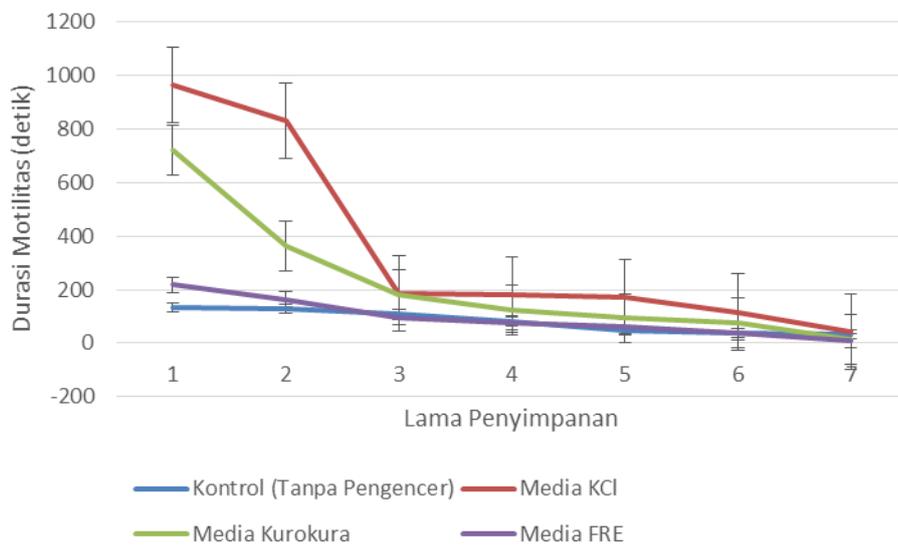
Tabel 2. Rerata durasi motilitas spermatozoa ikan tombro selama penyimpanan pada suhu 4-5°C

Perlakuan	Rerata Durasi Motilitas selama Penyimpanan (detik) \pm Standar Deviasi						
	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Hari ke-5	Hari ke-6	Hari ke-7
Tanpa pengencer	135 ^a ± 14.43	131 ^a ± 3.92	110 ^a ± 5.52	83 ^a ± 12.42	47 ^a ± 6.34	37 ^a ± 3.35	31 ^{b,c} ± 3.67
Media KCl	964 ^d ± 49.97	832 ^d ± 26.02	186 ^b ± 8.21	182 ^c ± 5.32	172 ^d ± 8.87	117 ^c ± 18.35	44 ^c ± 9.78
Media Kurokura	720 ^c ± 27.53	362 ^c ± 20.89	181 ^b ± 23.50	125 ^b ± 14.43	93 ^c ± 14.92	75 ^b ± 9.49	14 ^{b,a} ± 20.32
Media FRE	218 ^b ± 18.23	164 ^b ± 9.68	96 ^a ± 8.64	76 ^a ± 6.40	61 ^b ± 7.30	39 ^a ± 11.97	8 ^a ± 11.72

Keterangan: superskrip dengan huruf kecil yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0.05$)



Gambar 1. Rerata persentase motilitas spermatozoa ikan tombro selama penyimpanan pada suhu 4-5°C.



Gambar 2. Rerata durasi motilitas spermatozoa ikan tombro selama penyimpanan pada suhu 4-5°C.

PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian macam media pengencer memiliki pengaruh terhadap motilitas spermatozoa selama penyimpanan. Berdasarkan uji Duncan ($\alpha = 0.05$) pada motilitas menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan media KCl tidak memiliki perbedaan nyata dengan perlakuan tanpa penambahan media pengencer. Hal ini dikarenakan semen ikan yang termasuk hewan polikiloterm tidak akan mengalami cold-shock pada saat disimpan pada suhu 4-5°C dengan tanpa dilakukan pengenceran. Menurut Cabrita *et al.* (2009) spermatozoa ikan dapat disimpan pada suhu 4-5°C tanpa dilakukan penambahan pengencer, dikarenakan pada saat penyimpanan

spermatozoa hewan akuatik tidak mengalami *cold-shock* seperti pada spermatozoa mamalia. Hal ini didukung dengan hasil penelitian dari Betsy dan Kumar (2014) bahwa semen segar *Cyprinus carpio* dapat disimpan pada suhu 4-5°C selama 4 hari dengan motilitas sebesar 90-95%, sedangkan semen yang telah diencerkan dengan menggunakan 0,85% *physiological saline solution* hanya sebesar 70-80% pada penyimpanan 4 hari. Akan tetapi, keuntungan dalam melakukan penyimpanan semen dengan penambahan pengencer yaitu mengurangi kepadatan dari spermatozoa, mempertahankan pH serta mengurangi dampak dari tercampurnya semen segar dengan urine (Cabrita *et al.*, 2009; Yasui *et al.*, 2014).

Penambahan media KCl dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sebesar 60% pada 4 hari penyimpanan. Akan tetapi, media Kurokura dan media FRE hanya dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sebesar 50% pada penyimpanan 2 hari. Pada penelitian Agarwal *et al.* (2013) menunjukkan bahwa media KCl dapat mempertahankan motilitas spermatozoa *Schizothorax progastus* pada 4 hari penyimpanan dengan nilai motilitas $2,7 \pm 0,6$ atau sekitar 65%. Penelitian Şahin *et al.* (2013) menunjukkan media Kurokura dapat mempertahankan motilitas spermatozoa *Oncorhynchus mykiss* pada 3 hari penyimpanan dengan nilai motilitas sebesar 20%. Menurut Betsy dan Kumar (2014) bahwa penyimpanan spermatozoa ikan *carp* pada suhu 4°C akan mempertahankan motilitas spermatozoa tetap tinggi pada hari ke-2 dan selanjutnya turun drastis hingga 0% setelah 6 sampai 8 hari.

Perlakuan dengan penambahan media KCl merupakan perlakuan terbaik dengan mampu menjaga motilitas spermatozoa ikan tombro diatas 40% pada penyimpanan 6 hari. Hasil dari uji Duncan ($\alpha = 0.05$) menunjukkan perlakuan dengan penambahan media KCl memiliki perbedaan nyata terhadap perlakuan dengan penambahan media Kurokura dan perlakuan dengan penambahan media FRE. Dengan nilai osmolaritas sebesar 155 mOsmol/kg media KCl tidak memenuhi syarat dari nilai osmolaritas pengencer dalam menahan motilitas dari spermatozoa. Spermatozoa ikan air tawar seperti *Cyprinus carpio* akan tetap tidak motil jika diencerkan pada larutan yang sama osmolaritasnya dengan seminal plasma (300 mOsmol/kg) dan akan motil jika diencerkan dengan larutan osmolaritasnya lebih rendah dari pada seminal plasma (<200 mOsmol/kg) (Islam dan Akhter, 2011). Menurut Cabrita *et al.* (2009) nilai osmolaritas dipengaruhi kandungan konsentrasi beberapa ion, seperti ion potasium, ion sodium serta ion kalsium dalam pengencer. Perlakuan dengan pemberian media KCl hanya memiliki nilai osmolaritas sebesar 155 mOsmol/kg, nilai osmolaritas ini lebih kecil jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya seperti media Kurokura (300 mOsmol/kg), media FRE (335 mOsmol/kg), maupun osmolaritas dari semen segar (295 mOsmol/kg).

Nilai osmolaritas bukan satu-satunya faktor dalam menghambat motilitas, konsentrasi ion dalam pengencer juga memiliki pengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Hal ini dapat dilihat pada kandungan ion potasium pada media KCl lebih besar dari pada media

Kurokura dan media FRE, dibuktikan dengan jumlah KCl yang lebih banyak digunakan dalam pembuatan media KCl yaitu 1,147 gram (153 mM) dibandingkan dengan 0,02 gram pada Kurokura (2,7 mM) dan 0,1 gram pada FRE (13,4 mM). Konsentrasi ion potasium yang tinggi pada seminal plasma (82,4 mM) dibandingkan dengan di dalam spermatozoa (60,5 mM) merupakan penghambat utama pada motilitas spermatozoa (Islam dan Akhter, 2011; Alavi dan Cosson, 2006). Selain itu, Menurut Agarwal (2011) bahwa kandungan KCl memiliki fungsi dalam menahan aktifnya spermatozoa. Menurut Cabrita *et al.*, (2009) bahwa media pengencer yang dapat menahan aktivasi dari motilitas spermatozoa membutuhkan setidaknya 6 mM potasium.

Semen ikan air tawar seperti *Salmonidae* dan *Cyprinidae* jenis konsentrasi ion potasium yang tinggi dalam media pengencer menyebabkan penghambatan motilitas spermatozoa, namun munculnya penghambatan dari ion potasium tergantung sensitivitas spermatozoa terhadap ion potasium tersebut. Penurunan konsentrasi ion potasium pada lingkungan perairan menyebabkan *efflux* ion potasium melalui kanal membran, yang menyebabkan membran hiperpolarisasi dan menginisiasi motilitas spermatozoa ikan (Islam dan Akhter, 2011; Alavi dan Cosson, 2006)

Perlakuan dengan penambahan media KCl merupakan hasil yang terbaik dengan durasi motilitas sebesar 116.60 ± 18.35 detik pada penyimpanan hari ke-6. Hal ini sesuai dengan penelitian Agarwal *et al.* (2013), media KCl dapat mempertahankan durasi motilitas *Schizothorax progastus* sebesar 48 detik pada penyimpanan hari ke-6. Durasi motilitas pada hewan akuatik umumnya kurang dari 1 menit setelah diaktivasi menggunakan air (Chew dan Zulkafli, 2012). Dengan aktivasi menggunakan air persentase motilitas akan tinggi akan tetapi akan menurunkan durasi motilitas dengan cepat. Kerusakan yang diakibatkan oleh osmolaritas pada spermatozoa merupakan faktor pembatas dari durasi motilitas spermatozoa. Spermatozoa yang berada dalam larutan hipotonik dalam jangka waktu yang lama akan mengalami pembengkakan dan sel spermatozoa akan lisis dan mati (Cosson, 2004).

Perlakuan dengan penambahan media KCl merupakan hasil yang terbaik dengan durasi motilitas sebesar $44 \pm 9,78$ detik pada penyimpanan hari ke-7. Hal ini sesuai dengan penelitian Agarwal *et al.* (2013), media KCl dapat mempertahankan durasi motilitas *Schizothorax progastus* sebesar 48 detik pada

penyimpanan hari ke-6. Durasi motilitas pada hewan akuatik umumnya kurang dari 1 menit setelah diaktivasi menggunakan air (Chew dan Zulkafli, 2012). Menurut Cosson (2004) spermatozoa dari *Carp* hanya akan aktif dalam beberapa detik setelah diaktivasi dengan air. Dengan aktivasi menggunakan air persentase motilitas akan tinggi akan tetapi akan menurunkan durasi motilitas dengan cepat. Kerusakan yang diakibatkan oleh osmolaritas pada spermatozoa merupakan faktor pembatas dari durasi motilitas spermatozoa. Spermatozoa yang berada dalam larutan hipotonik dalam jangka waktu yang lama akan mengalami pembengkakan dan sel spermatozoa akan lisis dan mati.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan berbagai macam pengencer memiliki pengaruh terhadap motilitas dan durasi motilitas spermatozoa dalam mempertahankan motilitas spermatozoa ikan tombro selama penyimpanan 4-5°C. Media KCl merupakan pengencer yang paling baik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa ikan tombro sebesar 28,00±4,67% dan durasi motilitas sebesar 44±9,78 pada hari ke-7.

Penelitian lanjutan dapat dilakukan dengan penambahan konsentrasi antibiotik tertentu untuk mempertahankan persentase motilitas spermatozoa selama penyimpanan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada (Unit Pengelola Budidaya Air Tawar) UPBAT Puntan kota Batu yang telah bersedia menyediakan indukan ikan tombro, sehingga penelitian mengenai pengaruh macam media pengencer terhadap motilitas spermatozoa ikan tombro (*Cyprinus carpio*) selama penyimpanan pada suhu 4-5°C dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal NK, Sini V, and Raghuvanshi SK, 2013. Characterization and Short-Term Storage of Semen of a Coldwater Himalayan Fish Species. *Biojournal*. 8(1): 1-8.
- Alavi SMH and Cosson J, 2006. Sperm Motility in Fishes (II) Effects of Ions and Osmolality: a Review. *Cell Biology International*. 30: 1-14.
- Atanasov V, Staikov Y, and Nikolov G, 2006. Sperm Diluent VKA-3 for Artificial Propagation of Carps (*Cyprinus carpio* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 12: 176-184.
- Betsy CJ dan Kumar JSS, 2014. Effect of Dilution On The Motility Parameters of *Cyprinus carpio* Spermatozoa Under Short Term Preservation. *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*. 4(3): 136-139.
- Bozkurt Y, 2005. Effect of Different Cryoprotectants on Viability of Mirror Carp (*Cyprinus carpio*) Spermatozoa. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*. 1 (1): 63-67.
- Cabrera E, Robles V, and Herráez P, 2009. *Reproductive Aquaculture*. Florida: CRC Press.
- Chew PC dan Zulkafli AR, 2012. Sperm Cryopreservation of Some Freshwater Fish Species in Malaysia. *Current Frontiers in Cryopreservation*. Igor Katkov (Ed.). Croatia: InTech.
- Cosson J, 2004. The Ionic and Osmotic Factors Controlling Motility of Fish Spermatozoa. *Aquaculture International*. 12: 69-85.
- Ducha N, Susilawati T, Aulanni'am, dan Wahyuningsih S, 2013. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan Pada Refrigerator Dalam Pengencer CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 7 (1): 5-8.
- Islam MS and Akhter T, 2011. Tale of Fish Sperm and Factors Affecting Sperm Motility: A Review. *Advances in Life Sciences*. 1(1): 11-19.
- Kamaruding NA, Embong WKW, and Ramli, 2012. Frozen-thawed Sperm Motility Characteristics of African Catfish (*Clarias gariepinus*) by Using Glycerol or DMSO Based Extender. *International Journal of Environmental Science and Development*. 3(1): 49-55.
- Widiana A, Kusumorini A, dan Handayani S, 2013. Potensi Fitoplankton Sebagai Sumber Daya Pakan pada Pemeliharaan Larva Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) di BBP BAT Sukabumi. *Jurnal Biologi Al - Kaunyah*. 6 (2): 108-112.
- Widiastuti IM, 2009. Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup (*Survival Rate*) Ikan tombro (*Cyprinus carpio*) yang Dipelihara Dalam Wadah Terkontrol Dengan Padat Penebaran Yang Berbeda. *Jurnal Media Litbang Sulteng*. 2 (2): 126-130.

Yasui GS, Senhorini JA, Shimoda E, Pereira-Santos M, Nakaghi LSO, Fujimoto T, Arias-Rodriguez L, and Silva L.A. 2014. Improvement of Gamete Quality and Its

Short-term Storage: an Approach for Biotechnology in Laboratory Fish. *The Animal Consortium*. 1: 1-7.