

PENGARUH KOMBINASI PENYUNTIKAN hCG DAN EKSTRAK KELENJAR HIPOFISA IKAN MAS TERHADAP VOLUME SEMEN DAN KUALITAS SPERMA IKAN PANTAU (*Rasbora lateristriata* Blkr)

(The effects of mixed hCG and hypophysis extract injection toward volume and quality of semen of *Rasbora lateristriata* Blkr)

Ridwan Manda Putra¹⁾

¹⁾Staf Pengajar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

Diterima : 5 September 2010 Disetujui : 27 September 2010

ABSTRACT

This research aims to understand the effect of dosages combination of mixed hCG and hypophysis extract injection toward volume and quality of semen of *Rasbora lateristriata* Blkr. There were 5 treatments applied, namely PA= control (1 ml of Na Cl 0,65 % /kg body weight), PB = hCG 400 IU/kg body weight + CPE 2 dosages, PC = hCG 600 IU/kg body weight + CPE 2 dosages, PD = hCG 800 IU/kg body weight + CPE 2 dosages, PE = hCG 1000 IU/kg body weight + CPE 2 dosages, PF = hCG 1200 IU/kg body weight + CPE 2 dosages. The best result for male fish was the combination of hCG 1000 IU/kg body weight + CPE 2 dosages, the semen volume was 0.87 ml, sperm concentration was $18,43 \times 10^9$ /ml, sperm viability was 88.67% and sperm motility was 86.00%

Key Words: *Rasbora lateristriata*, sperm concentration, sperm viability and Sperm motility

PENDAHULUAN

Ikan pantau (*Rasbora lateristriata* Blkr) adalah salah satu ikan ekonomis penting di daerah Riau, karena pada saat ukuran kecil dapat berperan sebagai ikan hias, memiliki pergerakan dan warna tubuh yang menarik dan setelah ukuran dewasa menjadi ikan konsumsi yang digemari masyarakat karena mengandung protein tinggi dan memiliki rasa daging yang enak. Ikan ini dikonsumsi bukan saja

dalam bentuk segar tetapi juga dalam bentuk ikan olahan yang dikenal dengan istilah ikan asap (ikan salai). Selama ini ikan tersebut diperoleh dari hasil tangkapan di sungai yang ada di daerah Riau khususnya Sungai Kampar dengan ukuran ikan tertangkap bervariasi mulai dari ukuran benih, dewasa bahkan banyak tertangkap ikan yang telah matang gonad. Permasalahannya bila ikan yang tertangkap matang gonad sudah

jas akan merusak keturunan sekaligus merusak kelestariannya dari alam.

Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan menemukan teknologi pembenihan melalui pemijahan buatan dalam rangka menghasilkan benih yang berkualitas dan teknologi budidaya/pembesaran baik di kolam maupun di keramba. Dalam melakukan pemijahan buatan dapat dilakukan dengan rangsangan hormonal yang pada beberapa jenis ikan air tawar telah berhasil dilakukan melalui kombinasi hCG dan ekstrak kelenjar hipofisa ikan mas atau analognya. Pemijahan buatan pada umumnya ditujukan pada spesies ikan yang mengalami kesulitan untuk berkembang biak dengan sempurna pada lingkungan buatan, seperti halnya ikan pantau tersebut diatas. Selain itu juga bertujuan untuk memperoleh benih ikan di luar musim pemijahan, hibridisasi, peningkatan efisiensi produksi, mengurangi kehilangan telur ikan terjadi pada pemijahan secara alami, meningkatkan kelulushidupan larva ikan dan penyediaan telur atau larva ikan untuk praktek ginogenesis (Donaldson and Hunter, 1983).

Keberhasilan pembenihan melalui pemijahan buatan bukan saja tergantung dari kualitas telur, tetapi juga sangat ditentukan oleh kualitas spermatozoa yang dihasilkan oleh induk ikan jantan. Oleh sebab itu penelitian penentuan jenis dan dosis hormon yang tepat untuk merangsang spermiasi dalam

meningkatkan volume semen dan kualitas spermatozoa perlu dilakukan.

METODOLOGI

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, dari awal Juni sampai Desember 2007

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan 6 tarap perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah : PA= Kontrol (1 ml larutan Na Cl fisiologis 0,65 %/kg bobot tubuh), PB = hCG 400 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis, PC = hCG 600 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis, PD = hCG 800 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis, PE = hCG 1000 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis, PF = hCG 1200 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan Model rancangan adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \sum_{ij}$$

dimana : Y_{ij} = Hasil pengamatan individu yang mendapat perlakuan ke - i dan ulangan ke- j

$$\begin{aligned} \mu &= \text{Rata-rata umum} \\ \tau_i &= \text{Pengaruh perlakuan ke-i} \\ \sum_{ij} &= \text{Pengaruh galat perlakuan ke - i ulangan ke - j} \end{aligned}$$

Prosedur Penelitian

Ikan uji di dapat dari Sungai Kampar dan dimatangkan dalam bak fiber di Laboratorium Biologi Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Induk ikan yang akan dimatangkan diseleksi dengan kriteria memiliki tingkat kematangan gonad II dan dari spesies *Rasbora lateristriata* Blkr. Selama pemeliharaan, ikan diberi pakan *Tubifex* sp dan pellet dengan kandungan protein 32 % dengan tujuan agar ikan dapat matang gonad secara homogen dan dalam waktu yang singkat Sebanyak 18 ekor induk jantan ikan pantau yang telah mencapai tingkat kematangan gonad IV, ditempatkan pada 18 akuarium yang berukuran 60 x 60 x 45 cm yang telah diisi air setinggi 30 cm dan dilengkapi aerasi.

Penyuntikan ikan uji dilakukan dua kali secara intramuskular dengan selang waktu 6 jam. Penyuntikan pertama menggunakan hCG sedangkan penyuntikan kedua menggunakan ekstrak kelenjar hipofisa ikan mas sesuai dengan peran kedua hormon tersebut dalam proses reproduksi ikan. Pengurutan dilakukan enam jam setelah penyuntikan kedua, bila

belum menunjukkan tanda-tanda spermiasi pengurutan berikutnya dilakukan setiap satu jam sekali sampai ikan uji ovulasi.

Peubah yang diukur untuk mewakili respons volume semen dan kualitas spermatozoa induk ikan pantau jantan terdiri atas : Volume semen (ml), Konsentrasi Spermatozoa, Motilitas spermatozoa dan Viabilitas spermatozoa. Selanjutnya dilakukan pula pengamatan preparat histologi ovarium ikan uji dari masing-masing perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi hCG dan ekstrak kelenjar hipofisa ikan mas berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap volume semen, konsentrasi, viabilitas dan motilitas spermatozoa.

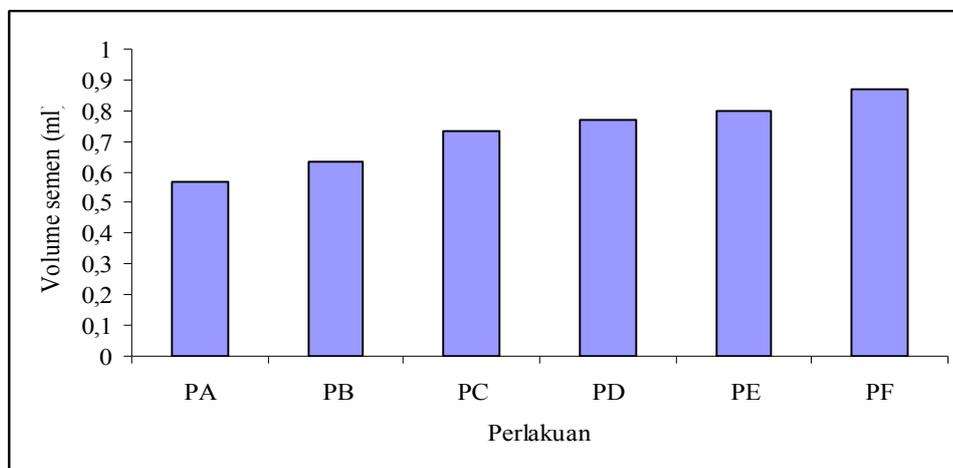
1. Volume Semen

Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa rata-rata volume semen terbesar secara berurutan diperoleh pada perlakuan PF sebesar 0,86 ml, PE 0,80 ml, PD 0,76 ml, PC 0,73 ml, PB 0,63 ml dan PA 0,56 ml (Tabel 1. dan Gambar 1)

Tabel 1. Data volume semen (ml) setelah perlakuan pada induk ikan pantau

Ulangan	Volume semen (ml)					
	P A	P B	P C	P D	P E	P F
1	0,5	0,5	0,7	0,8	0,9	0,9
2	0,6	0,7	0,8	0,8	0,7	0,8
3	0,6	0,7	0,7	0,7	0,8	0,9
Jumlah	1,7	1,9	2,2	2,3	2,4	2,6
Rata-rata	0,567	0,633	0,733	0,767	0,800	0,867
Std D	0,058	0,115	0,058	0,058	0,100	0,047

Keterangan : P. A = Kontrol (1 ml larutan Na Cl fisiologis 0,65 %/kg bobot tubuh)
 P. B = hCG 400 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis
 P. C = hCG 600 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis
 P. D = hCG 800 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis
 P. E = hCG 1000 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis
 P. F = hCG 1200 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis



Gambar 1. Histogram volume semen ikan pantau dari masing-masing perlakuan

Terdapatnya perbedaan volume semen yang dihasilkan oleh kombinasi penyuntikan hCG dan ekstrak kelenjar hipofisa ikan mas membuktikan bahwa masing-masing perlakuan kombinasi memberikan respon berbeda terhadap produksi semen oleh testis pada ikan pantau. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa perlakuan PF berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

terhadap perlakuan PA dan PB tetapi tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap perlakuan PC, PD dan PE. Besarnya volume semen yang dihasilkan dalam pemijahan buatan sangat tergantung pada jenis dan dosis hormon yang digunakan. Dalam penelitian ini dosis kombinasi terbaik adalah pada perlakuan PF (hCG 1200 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis)

Kombinasi hormon yang memiliki fungsi sama dengan hCG dan ekstrak kelenjar hipofisa ini telah berhasil dilakukan untuk meningkatkan volume semen beberapa jenis ikan air tawar, antara lain : kombinasi 0,20 ml ovaprim + 1000 ug PGF 2 α /kg bobot tubuh terhadap ikan lele dumbo (Nurman, 1995), kombinasi 0,250 ml ovaprim + 1250 ug PGF 2 α /kg bobot tubuh terhadap ikan klemak (*Leptobarbus hoeveni* Blkr) (Putra dan Sukendi, 1998), kombinasi 0,300 ml ovaprim + 1250 ug PGF 2 α /kg bobot tubuh terhadap ikan

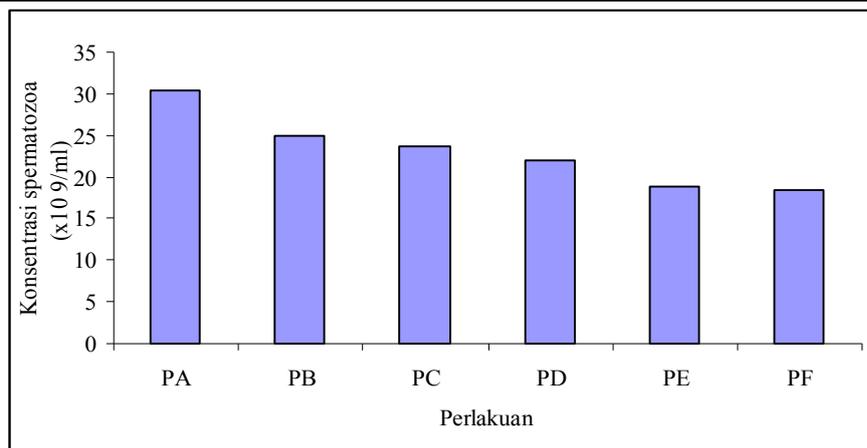
betutu (*Oxyeleotris marmorata* Blkr) (Putra dan Sukendi, 2000) dan kombinasi 0,250 ml ovaprim + 1250 ug PGF 2 α /kg bobot tubuh terhadap ikan baung (*Mystus nemurus* CV) (Sukendi, 2001).

2. Konsentrasi Spermatozoa

Nilai rata-rata konsentrasi spermatozoa terbesar secara berurutan diperoleh pada perlakuan PA sebesar 30,36 x 10⁹/ml, PB 25,03 x 10⁹/ml, PC 25,70 x 10⁹/ml, PD 22,06 x 10⁹/ml, PE 18,86 x 10⁹/ml, dan PF 18,43 x 10⁹/ml (Tabel 2 dan Gambar 2)

Tabel 2. Data konsentrasi spermatozoa (x 10⁹/ml) setelah perlakuan pada induk ikan pantau

Ulangan	Konsentrasi spermatozoa (x 10 ⁹ /ml)					
	PA	PB	PC	PD	PE	PF
1	28,50	25,00	24,10	21,10	20,00	20,00
2	30,10	24,50	23,50	23,10	19,50	18,10
3	32,50	25,60	23,50	22,00	17,10	17,20
Jumlah	91,10	75,10	71,10	66,20	56,60	55,30
Rata-rata	30,367	25,033	23,700	22,067	18,867	18,433
Std D	2,013	0,551	0,346	1,002	1,331	1,429



Gambar 2. Histogram konsentrasi spermatozoa dari masing-masing perlakuan

Perlakuan PF merupakan perlakuan yang terbaik untuk menghasilkan konsentrasi spermatozoa, karena pada perlakuan ini menghasilkan konsentrasi spermatozoa yang terkecil. Pada pemijahan buatan konsentrasi spermatozoa yang kecil maka kadar sodium yang terdapat dalam semen akan semakin banyak, sehingga nilai motilitas akan semakin besar (As *et al.*, 1991). Selanjutnya Gwo *et al* (1974) menyatakan konsentrasi spermatozoa yang tinggi akan dapat menghambat aktivitas spermatozoa, yang disebabkan berkurangnya daya gerak sehingga spermatozoa sukar menemukan atau menembus mikrofil sel telur yang mengakibatkan rendahnya fertilitas spermatozoa. Namun dalam kepentingan pemijahan buatan konsentrasi spermatozoa tidak begitu dipentingkan, tetapi yang sangat menentukan adalah motilitas spermatozoa dalam menuju sel telur.

Peran zat perangsang (hormon) yang diberikan pada ikan jantan juga untuk merangsang pergerakan cairan plasma yang terdapat dalam lobulus testis ke vas different dan selanjutnya akan

dikeluarkan dengan konsentrasi tidak bertambah. Namun bila dosis rangsangan yang diberikan terlalu tinggi akan dapat menyebabkan cairan plasma semen ditarik kembali ke testis yang dikenal dengan istilah hidrasi. Pada proses pemijahan ikan konsentrasi spermatozoa tidak terlalu dipentingkan, hal ini karena pada proses pembuahan antara sel spermatozoa dan sel telur bersifat monospermik, yaitu hanya satu sel spermatozoa yang membuahi satu butir sel telur.

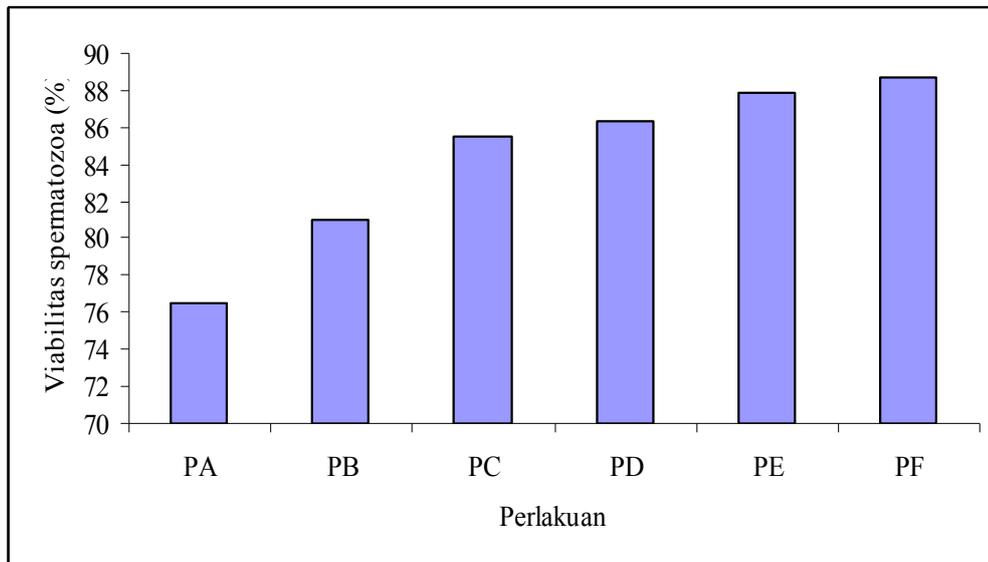
Berdasarkan uji lanjut dengan menggunakan uji Neuman Keuls menunjukkan bahwa perlakuan PA berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap perlakuan PF, PE dan PD serta berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap perlakuan PC dan PB.

3. Viabilitas Spermatozoa

Nilai rata-rata viabilitas spermatozoa terbesar secara berurutan diperoleh pada perlakuan PF sebesar 88,67 %, PE 87,87 %, PD 86,30, PC 85,50 %, PB 81,00 % dan PA 76,50 % (Tabel 3 dan Gambar 3).

Tabel 3. Data viabilitas spermatozoa (%) setelah perlakuan pada induk ikan pantau

Ulangan	Viabilitas spermatozoa (%)					
	PA	PB	PC	PD	PE	PF
1	80,00	80,00	85,00	85,00	88,00	90,50
2	75,00	83,00	88,00	88,50	87,50	87,00
3	74,50	80,00	83,50	85,40	88,10	88,50
Jumlah	229,50	243,00	256,50	258,90	263,60	266,00
Rata-rata	76,500	81,000	85,500	86,300	87,867	88,667
Std D						



Gambar 3. Histogram viabilitas spermatozoa dari masing-masing perlakuan

Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa perlakuan PF berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap perlakuan PA, berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap perlakuan PB dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap perlakuan PC, PD dan PE. Perlakuan PF (1200 IU hCG/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis) menghasilkan viabilitas spermatozoa yang terbesar, hal ini karena pada perlakuan tersebut spermatozoa memperoleh sumber energi yang optimal dari cairan

plasma semen dan asam laktat yang dihasilkan dalam poses metabolisme dapat dinetralsir oleh zat organik yang terdapat dalam cairan plasma semen sehingga nilai viabilitas spermatozoa juga akan semakin tinggi. Kenyataan ini sesuai dengan hasil penelitian Kruger *et al* (1984) terhadap ikan mas yang disuntik dengan hCG akan dapat menghasilkan viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi yaitu 91,12 %. Selanjutnya Inhering *dalam*

Kruger *et al* (1984) menyatakan bahwa penyuntikan ekstrak hipofisa ikan mas pada ikan jantan akan memperpanjang masa hidup spermatozoa yang selanjutnya akan mempertinggi nilai viabilitas spermatozoa

Penggunaan kombinasi hormon yang memiliki peran sama dengan hCG dan ekstrak kelenjar hipofisa ikan mas ini telah dilakukan terhadap beberapa jenis ikan air tawar, antara lain pada ikan kelemak (*Leptobarbus hoeveni* Blkr) penggunaan kombinasi 50 % ovaprim + 50 % prostaglandin F2 α (0,250 ml ovaprim + 1250 ug PG F2 α /kg bobot tubuh) menghasilkan viabilitas spermatoao 95,60 % (Putra dan Sukendi, 1998), pada ikan betutu (*Oxyeletris marmorata* Blkr) dengan penggunaan ekstrak hipofisa karper

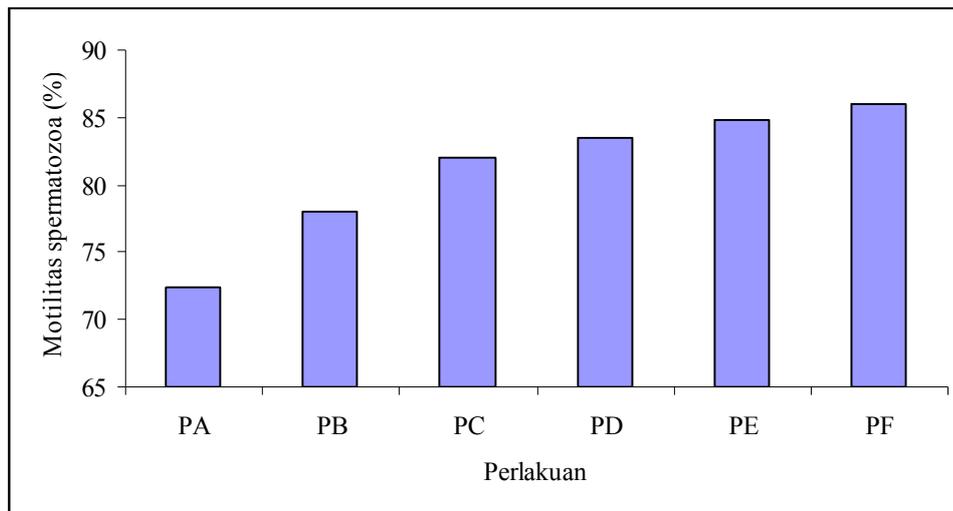
kering sebesar 100 mg/kg bobot tubuh menghasilkan viabilitas spermatozoa 89,40 % (Sukendi dan Aryani, 2001), pada ikan baung (*Mystus nemurus* CV) dengan penggunaan kombinasi penyuntikan 50 % ovaprim + 50 % prostaglandin F2 α (0,250 ml ovaprim + 1250 ug PG F2 α /kg bobot tubuh) menghasilkan viabilitas spermatoao 93,80 % (Sukendi, 2001).

.4. Motilitas Spermatozoa

Nilai rata-rata motilitas spermatozoa terbesar secara berurutan diperoleh pada perlakuan PF sebesar 86,00 %, PE 84,83 % PD 83,53 %, PC 82,00 %, PB 78,00 % dan PA 72,33 % (Tabel 4 dan Gambar 4).

Tabel 4. Data motilitas spermatozoa (%) setelah perlakuan pada induk ikan pantau

Ulangan	Motilitas spermatozoa (%)					
	P A	P B	P C	P D	P E	P F
1	75,00	78,50	83,00	83,00	85,00	87,50
2	72,00	89,99	85,00	86,50	85,00	85,00
3	70,00	75,50	78,00	81,10	84,50	85,50
Jumlah	217,00	234,00	246,00	250,60	254,50	258,00
Rata-rata	72,333	78,000	82,000	83,533	84,833	86,000
Std D	2,517	2,291	3,606	2,739	0,287	1,323



Gambar 4. Histogram motilitas spermatozoa dari masing-masing perlakuan

Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa perlakuan PF berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap perlakuan PA, dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap perlakuan PB, PC, PD dan PE. Perlakuan kombinasi yang terbaik untuk menghasilkan motilitas adalah perlakuan yang teraik untuk menghasilkan beberapa parameter sebelumnya, yaitu perlakuan PF (1200 IU hCG /kg bobot tubuh + CPE 2 dosis).

Nilai motilitas spermatozoa sangat tergantung pada faktor lingkungan antara pH, osmolaritas, jenis pengencer dan zat kimia yang terkandung di dalamnya (Ginzburg, 1974 dan Stoss, 1993). Pada semen yang encer akan dapat meningkatkan motilitas spermatozoa karena plasma semen dapat menyediakan makanan yang cukup (Munkittrick dan Moncia, 1987), dan kadar sodium pada semen yang encer semakin tinggi sehingga motilitas dan fertilitas spermatozoa

semakin tinggi. Sebaliknya pada semen yang kental penyediaan makanan yang ada akan terbatas dan akan menghambat motilitas spermatozoa (Stoos, 1983). Kruger *et al* (1984) menyatakan bahwa pada semen ikan mas mengandung 5,70 mg/100 ml glukosa; 80,69 mg/100 ml lipid; 0,13 mg/100 ml plasma protein serta 10,75 mg/100 ml urea dengan pH 7,53.

5. Histologi Testis Setelah Perlakuan Penyuntikan

Pembuatan preparat histologi testis dilakukan 7,16 jam setelah penyuntikan kedua dari masing-masing perlakuan, sesuai dengan pembuatan preparat histologi ovarium yang berdasarkan waktu aten tersingkat, yaitu pada perlakuan PF (hCG 1200 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis). Hasil pengamatan terhadap preparat histologi testis yang telah dilakukan terlihat adanya perbedaan kepadatan sel-sel

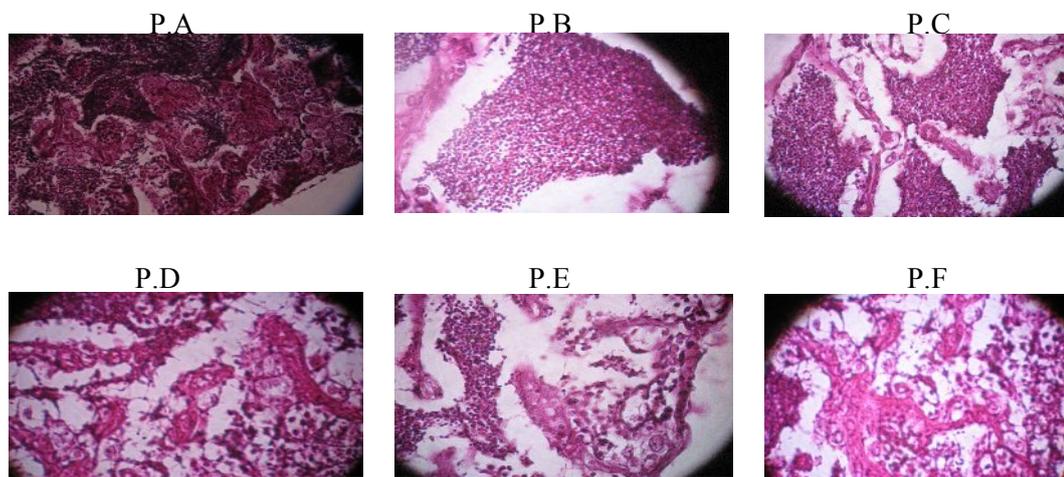
spermatozoa maupun spermatid di dalam tubulus seminiferi dari masing-masing perlakuan (Gambar 5). Kepadatan sel-sel spermatozoa yang ada sesuai dengan hasil pengamatan konsentrasi spermatozoa sebelumnya.

Kepadatan sel-sel spermatozoa atau spermatid yang terkecil secara berurutan dari enam perlakuan yang dicobakan adalah : pada perlakuan PF (hCG 1200 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis), PE (hCG 1000 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis), PD (hCG 800 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis), PC (hCG 600 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis), PB (hCG 400 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis) dan PA (kontrol, 1 ml larutan Na Cl fisiologis 0,65 %/kg bobot tubuh).

Berkurangnya kepadatan spermatozoa atau spermatid di dalam tubuli seminiferi disebabkan karena terjadinya peningkatan jumlah plasma semen, sedangkan konsentrasi spermatozoa

maupun spermatid tetap, sehingga secara keseluruhan konsentrasi akan semakin jarang, sehingga motilitas dan viabilitas spermatozoa akan semakin tinggi. Hal ini akan dapat meningkatkan nilai fertilitas dan daya tetas telur, karena diketahui bahwa untuk proses fertilisasi pada ikan yang penting adalah nilai motilitas dan viabilitas yang tinggi sedangkan nilai konsentrasi tidak terlalu penting, karena sifat fertilisasi adalah monospermik.

Sesuai dengan hasil pengukuran parameter sebelumnya (volume semen, konsentrasi spermatozoa, viabilitas dan motilitas spermatozoa) maka dari hasil pengamatan preparat histologi yang dilakukan perlakuan yang terbaik adalah perlakuan PF (hCG 1000 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis) terlihat kepadatan spermatozoa dan spermatid yang ada sangat kecil bila dibandingkan dengan perlakuan yang lain.



Gambar 5. Histologi testis ikan pantau (*Rasbora lateristrata* Blkr) dari masing-masing perlakuan

KESIMPULAN

Perlakuan yang terbaik untuk induk ikan jantan adalah perlakuan PF (hCG 1200 IU/kg bobot tubuh + CPE 2 dosis) menghasilkan volume semen 0,87 ml, konsentrasi spermatozoa $18,43 \times 10^9$ /ml, viabilitas spermatozoa 88,67 % dan motilitas spermatozoa 86,00 %, dibuktikan dari hasil pengamatan histologis ovarium masing-masing perlakuan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia yang telah mendukung dan memberi bantuan dana penelitian Hibah Bersaing.

DAFTAR PUSTAKA

- Aas, G. H., T. Refstie and B. Gjerbr. 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic Salmon. *Aquaculture*, 95 : 125 – 132.
- Donaldson, E. M., G. A. Hunter. 1983. Induced fish maturation, ovulation and spermiation in cultured fish. pp. 405 -441. In W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson, ed *Fish Physiology*, Volume. IX, Reproduction (Part B). academic Press., New York.
- Ginzburg, A. S. 1972. Fertilization in fishes and problem of polyspermy. T. A. Detlaf (ed). Winer Bidery Ltd. Jerusalem.
- Kruger, J. C. D., G. L. Smit, J. H. Vuren and J. T. Ferreira. 1984. Same Chemical and Physical Characteristics of Semen of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossombicus* Peters. *J. Fish Biol.* 24 : 263 - 273.
- Nurman. 1995. Pengaruh kombinasi penyuntikan ovaprim dan $PGF_2 \alpha$ terhadap kualitas spermatozoa ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus* Burcheel). Tesis Magister Sains Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Putra, R. M., dan Sukendi. 1998. Pengaruh Kombinasi Penyuntikan Ovaprim dan $PGF_2 \alpha$ terhadap volume semen dan kualitas spermatozoa ikan klemak (*Leptobarbus hoeveni* Blkr). Lembaga Penelitian Universitas Riau. Pekanbaru.
- Putra, R. M dan Sukendi. 2000. Peningkatan volume semen dan kualitas spermatozoa ikan baung (*Mystus nemurus* CV) melalui penyuntikan ovaprim. Lembaga Penelitian Universitas Riau Pekanbaru.

- Putra, R. M. Sukendi dan Pardinan. 2000. Pengaruh lama penyimpanan mani pada konsentrasi methanol berbeda terhadap kualitas spermatozoa ikan baung (*Mystus nemurus* CV) melalui penyuntikan ovaprim. Lembaga Penelitian Universitas Riau Pekanbaru.
- Stoos, J. 1983. Fish Gamete Preservation and Spermatozoan Physiology. In : W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson (Eds). Fish Physiology. Vol. IX B. Academic Press, New York.
- Sukendi. 2001. Biologi Reproduksi dan Pengendaliannya dalam Upaya Pembenihan Ikan Baung (*Mystus nemurus* CV) dari Perairan Sungai Kampar Riau. Disertasi Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.