

Peningkatan Produksi Ikan Nilem di Kabupaten Banyumas Melalui Penerapan Bioteknologi Reproduksi

Gratiana E. Wijayanti dan Isdy Sulistyo

Pendahuluan

Produk perikanan memberikan kontribusi yang cukup besar dalam pencapaian produk domestik bruto. Pada tahun 2008, produk perikanan menyumbangkan 3,12% terhadap produk domestik bruto nasional (BPS, 2009). Dalam empat tahun terakhir konsumsi ikan di Indonesia mengalami kenaikan sebesar 5,96kg/kapita/tahun (BPS Kab. Sukabumi, 2010). Data tersebut menunjukkan bahwa kebutuhan produk perikanan terus meningkat baik untuk konsumsi masyarakat maupun bahan baku industri olahan (BPS Kab. Sukabumi, 2010). Peningkatan konsumsi ikan harus diimbangi dengan peningkatan produksi. Oleh karena itu upaya untuk meningkatkan produksi ikan perlu senantiasa dilakukan.

Salah satu ikan air tawar yang sangat potensial untuk dikembangkan menjadi produk unggulan perikanan budidaya adalah ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.). Ikan nilem sebagai komoditi perikanan memiliki beberapa keunggulan baik dari aspek ekonomi, budidaya maupun kelestarian lingkungan (Samsudin, 2009). Nilai ekonomis ikan nilem semakin meningkat sejak diperkenalkannya produk olahan misalnya *baby fish* goreng, dendeng dan pindang nilem, nilem yang diasap dan dikalengkan (Rahardjo dan Marliani 2007). Telur ikan nilem digemari masyarakat karena rasanya yang lezat dan mempunyai peluang sebagai komoditas ekspor sebagai caviar (Soeminto, 2010). Dari aspek budidayanya ikan nilem mudah dipelihara, memiliki kelangsungan hidup dan reproduksi yang tinggi (Cholik *et al.* 2005) serta tahan terhadap penyakit (Subagja *et al.* 2006a). Sedangkan dari aspek lingkungan ikan nilem berperan sebagai *biocleaning agent* karena sifatnya yang suka memakan detritus, plankton dan perifiton sehingga ikan ini bisa digunakan untuk membersihkan kolam ataupun danau (Syandri, 2004). Dengan keunggulan-keunggulan tersebut maka ikan ini layak untuk dikembangkan sebagai komoditas potensial bagi peningkatan ekonomi masyarakat.

Potensi budidaya ikan nilem di Pulau Jawa sangat besar. Beberapa wilayah seperti Eks Karesidenan Priangan Timur dan Eks Karesidenan Banyumas merupakan sentra produksi ikan nilem yang memiliki perkembangan produksi cukup baik (Pusat Riset Perikanan Budidaya, 2011). Data Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Banyumas, menunjukkan bahwa produksi ikan nilem di Kabupaten Banyumas pada tahun 2006 sebesar 399.296 kg dan tahun 2007 sebesar 441.981 kg (Pusat Riset Perikanan Budidaya, 2009). Pada tahun 2010, produksi ikan nilem meningkat menjadi 529.450 kg (Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Banyumas, 2010).

Meskipun produksi ikan nilem meningkat dari tahun ke tahun, tetapi sebagian besar budidaya ikan nilem di Kabupaten Banyumas masih tradisional; sehingga produksi benih belum optimal baik secara kuantitas maupun kualitas. Hal ini terlihat dari masih didatangkannya benih ikan nilem dari Jawa Barat untuk memenuhi kebutuhan benih untuk pembesaran. Sehubungan dengan kondisi tersebut, perlu dikembangkan teknologi perbenihan untuk meningkatkan produksi ikan nilem (IPTEKMAS, 2010).

Keberhasilan pemberian ikan secara intensif memerlukan pemahaman yang memadai tentang biologi reproduksi ikan yang bersangkutan, baik mengenai aspek anatomi, regulasi hormonal maupun strategi reproduksinya. Penelitian untuk mengkaji aspek anatomi dan sebagian profil hormon reproduksi pada ikan nilem pada saat ini telah dilaksanakan di Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan Fakultas Biologi Unsoed. Informasi tentang aspek anatomi organ reproduksi dan profil hormon baru akan berarti dalam pemahaman biologi reproduksi nilem apabila didukung oleh informasi yang akurat tentang dinamika aktivitas reproduksi dan mekanisme regulasi dari hormon-hormon yang terlibat di dalamnya. Informasi tersebut diperlukan sebagai acuan dalam pemberian nilem secara intensif. Kualitas benih sangat ditentukan oleh kualitas induk; oleh karena itu dalam penelitian ini akan dikembangkan metode pemilihan induk agar dapat diperoleh hasil yang optimal.

Materi dan Metode

Materi Penelitian

Materi penelitian berupa induk ikan nilem jantan dan betina matang gonad dengan kisaran berat tubuh antara 80-220 g. Induk nilem diperoleh dari petani ikan di desa Beji Kecamatan Baturaden dan desa Jipang Kecamatan Karanglewas Kabupaten Banyumas.

Metode Penelitian

Pengasaan dan Seleksi Induk

Penelitian ini dilakukan dengan metode survei dengan teknik pengambilan sampel menurut purposive sampling. Induk nilem jantan dan betina matang gonad dibeli dari petani ikan di desa Kembaran Kulon, Kecamatan Purbalingga, Kabupaten Purbalingga dan desa Karanglewas, Kecamatan Karanglewas, Kabupaten Banyumas. Induk-induk tersebut diaklimati di ruang akuarium Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan Fakultas Biologi Unsoed, Purwokerto.

Induk nilem yang akan diseleksi sebagai induk unggulan dipilih berdasarkan kriteria sebagai berikut: sehat (diindikasikan dengan tidak adanya parasit maupun penyakit, memiliki gerakan

tubuh yang stabil dan nafsu makan yang baik) dan telah matang gonad. Kriteria unggulan untuk induk betina adalah jumlah sel telur yang dihasilkan dalam setiap pemijahan, persentase pembuahan dan persentase penetasan serta kelangsungan hidup benih hingga umur 1 bulan. Kriteria unggulan untuk induk jantan adalah volume milt yang dihasilkan dalam setiap pemijahan, konsentrasi spermatozoa per mL milt, dan viabilitas spermatozoa.

Induksi Pemijahan

Induk nilem yang telah terpilih, diinduksi dengan $0,5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ GnRH analog (Ovaprim) secara intra muscular di daerah punggung (Simanjuntak dan Wijayanti, 2005). Induk-induk tersebut selanjutnya dibagi ke dalam dua kelompok akuarium. Induk pada kelompok I dibiarkan oviposisi secara spontan dan induk pada kelompok II distripping.

Evaluasi jumlah sel telur pada setiap induk.

Pada kelompok I, 30 menit setelah induk memijah, induk-induk tersebut diangkat dari akuarium pemijahan dan ditempatkan di kolam induk pasca mijah. Sel telur hasil pemijahan pada setiap akuarium disipon dan ditampung dalam wadah. Berat seluruh sel diukur (B_{to}) kemudian diambil sampel sebanyak 10% dari berat total (B_{so}). Jumlah sel telur pada sampel dihitung (\sum_{so}). Jumlah sel telur yang dihasilkan oleh masing-masing induk (\sum_{to}) dihitung dengan metode gravimetri menurut rumus berikut.

$$\frac{B_{to}}{\sum_{so}} \times 100 =$$

Pada kelompok II, 8 jam setelah pemberian induksi induk berina distriping, sel telur yang dioviposikan ditampung dalam wadah kemudian ditimbang (B_{to}). kemudian diambil sampel sebanyak 10% dari berat total (B_{so}). Jumlah sel telur pada sampel dihitung (\sum_{so}). Jumlah sel telur yang dihasilkan oleh masing-masing induk (\sum_{to}) dihitung dengan metode gravimetri menurut rumus berikut.

$$\frac{B_{to}}{\sum_{so}} \times 100 =$$

Evaluasi volume milt dan konsentrasi spermatozoa

Evaluasi volume milt dan konsentrasi spermatozoa dilakukan pada induk dari kelompok II. Delapan jam setelah pemberian induksi, induk jantan distripping. Volume milt dari masing-masing induk ditampung dalam spuit tanpa jarum dan diukur volumenya. Milt yang telah diukur volumenya diencerkan dalam larutan Ringer untuk perhitungan konsentrasi spermatozoa menggunakan hemocytometer. Konsentrasi spermatozoa per mL milt dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Konsentrasi spermatozoa} = \frac{\sum \text{sz} \times \text{vol.bilik hitung} \times \text{pengenceran}}{1000}$$

Evaluasi viabilitas spermatozoa

Evaluasi viabilitas spermatozoa dilakukan dengan pewarnaan trypan blue. Sembilan bagian milt yang telah diencerkan dalam larutan Ringer (1000x) ditambah dengan 1 bagian trypan blue, dihomogenkan dan didiamkan selama 1 menit. Spermatozoa dikategorikan viable apabila tidak menyerap pewarna trypan blue. Jumlah spermatozoa yang viable dihitung menggunakan haemocytometer dengan prosedur sebagaimana yang digunakan untuk perhitungan jumlah spermatozoa (butir 7.2.1.c).

Evaluasi persentase pembuahan

Sel telur yang telah terbuahi ditandai dengan warna yolk yang tajam, oolema utuh dan pada kutup animalisnya terbapat blastomer (Wijayanti *et al.*, 1995). Perhitungan persentase pembuahan (FR) dihitung 1 jam setelah pencampuran sel telur dan milt dengan rumus sebagai berikut:

$$FR = \frac{\sum \text{sel telur yang dibuahi}}{\sum \text{sel telur yang dibuahkan}} \times 100\%$$

Evaluasi persentase penetasan.

Set telur yang telah dibuahi diinkubasi dalam bak penetasan yang dilengkapi dengan aerasi. Larva dikatakan memetas pada saat seluruh bagian tubuh telah keluar dari korion. Perhitungan persentase penetasan (HR) dihitung 24 jam setelah percampuran sel telur dan milt menggunakan rumus sebagai berikut:

$$FR = \frac{\sum \text{sel telur yang dibuahi}}{\sum \text{sel telur yang menetas}} \times 100\%$$

Evaluasi sintasan benih hingga umur 1 bulan.

Evaluasi sintasan dilakukan pada umur 1 bulan dengan pertimbangan bahwa pada umur tersebut benih telah melewati masa kritisnya dan sudah siap untuk dipindahkan ke kolam

pemdederan (Wijayanti *et al.*, 1995). Selama pemeliharaan, benih diberi pakan fitoplankton dan pellet berbentuk serbuk mulai umur 6 hari. Penyipiran dan penggantian air media pemeliharaan dilakukan setiap dua hari sekali. Sintasan (SR) benih dihitung menggunakan rumus berikut:

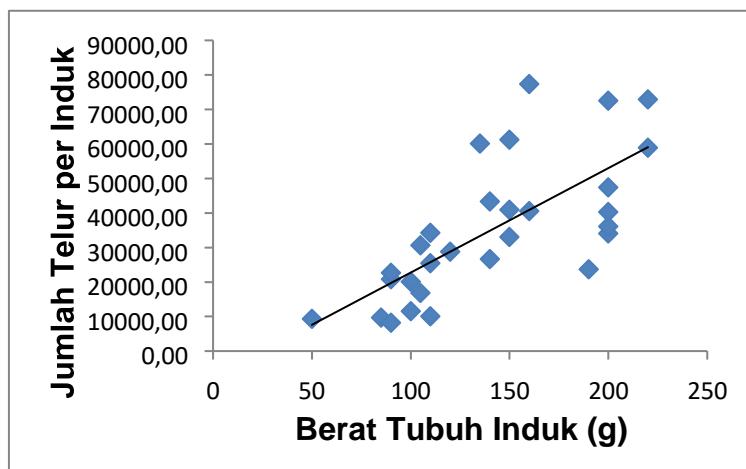
$$SR = \frac{\sum \text{larva yang menetas}}{\sum \text{hidup hingga 1 bulan}} \times 100\%$$

Analisis data

Hubungan antara beart induk dengan jumlah telur tang dihasilkan dianalisis menggunakan uji korelasi. Jumlah sel telur yang dihasilkan melalui stripping dan oviposisi spontan dianalisis dengan uji "t". Data volume milt, konsentrasi spermatozoa per mL dan viabilitas spermatozoa ditabulasikan

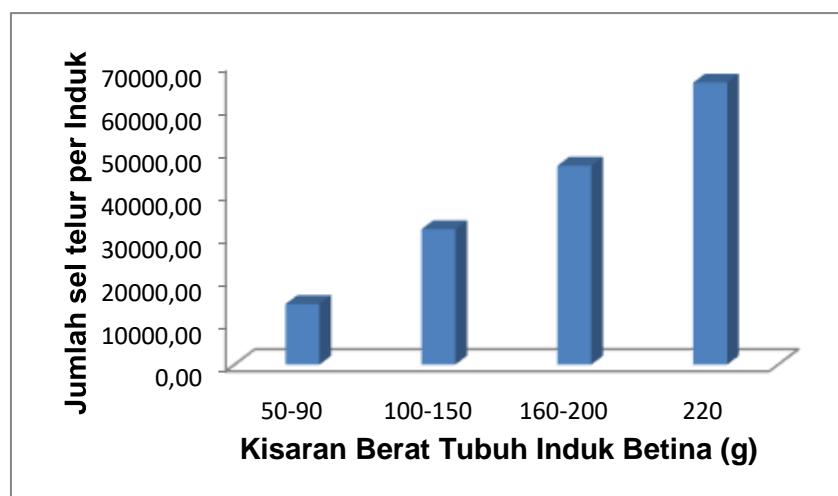
Hasil dan Pembahasan

Dalam rangka mendapatkan induk unggulan telah diseleksi sebanyak 100 pasang induk nilem matang gonad dengan kisaran berat induk betina 80-220g dan induk jantan 80-140g. Pada kelompok I, berhasil diinduksi sebanyak 50 pasang induk nilem dengan jumlah sel telur yang dihasilkan berkisar antara 1.893 butir hingga 77.277 butir per induk. Berdasarkan hasil tersebut selanjutnya dipisahkan induk dengan jumlah telur rendah (<8.000 sel telur/induk) dan induk dengan jumlah telur tinggi (>8.000 sel telur/induk). Menggunakan kriteria tersebut diperoleh 40 ekor induk dengan rerata jumlah sel telur per induk sebesar 35.055 ± 20.081 butir. Hasil analisis korelasi menunjukkan bahwa jumlah sel telur yang dihasilkan oleh induk nilem meningkat seriring dengan meningkatnya berat tubuh induk dengan nilai $r=0,7082$ (Gambar 1).



Gambar 1. Korelasi antar berat tubuh induk dan jumlah telur jang dihasilkan

Apabila jumlah sel telur dikelompokkan menurut kisaran berat tubuh induk betina, maka induk dengan kisaran berat 50-90g menghasilkan jumlah sel telur sebanyak $14.119,78 \pm 6.369,89$, induk dengan kisaran berat 100-150g menghasilkan sel telur sebanyak $31.611,58 \pm 15.726,99$, induk dengan kisaran berat tubuh 160-200g menghasilkan sel telur sebanyak $46.460,36 \pm 18.845,56$ dan induk dengan kisaran berat tubuh 220g menghasilkan sel telur sebanyak $65.876,66 \pm 9.891,44$ (Gambar 2).



Gambar 2. Rerata jumlah telur pada berbagai kisaran berat tubuh induk.

Pada Kelompok II jumlah induk yang terinduksi sebanyak 20 induk dengan rerata jumlah telur yang dihasilkan sebesar $7716,66 \pm 4629,06$ per induk. Hasil analisis korelasi antara berat tubuh induk dengan jumlah telur yang dihasilkan melalui striping ($r=0,4587$) tidak signifikan induk dengan oviposisi spontan. Guna mengetahui metode yang lebih efektif untuk menghasilkan sel telur maka jumlah sel telur yang dihasilkan melalui induksi-oviposisi spontan dan induksistripping dibandingkan dengan uji "t". Hasil analisis menunjukkan bahwa dengan kisaran berat induk yang sama, jumlah sel telur yang dihasilkan melalui induksi-oviposisi spontan secara signifikan lebih banyak dibandingkan dengan jumlah sel telur melalui induksi-stripping ($p=0,016$).

Jumlah sel telur yang dihasilkan oleh induk nilem bervariasi menurut tingkat kematangan, berat tubuh dan faktor lingkungan seperti kualitas pakan dan kondisi pemeliharaan (Rose et al.,

2008). Ikan nilem dengan panjang total 22,4 cm dan berat 82,2 gram mengandung telur sebanyak 26.212 butir, sedangkan ikan nilem dengan panjang 22,4 cm dan berat 96,3 gram mengandung telur sebanyak 73.192 butir (Jangkaro, 1974).

Keberhasilan suatu pemberian tidak hanya diukur berdasarkan jumlah sel telur yang sihasilkan tetapi juga berdasarkan jumlah sel telur yang terfertilisasi, berkembang hingga mencapai penetasan dan bertahan hidup setelah penetasan. Oleh karena itu dalam penelitian ini juga dihitung nilai FR, HR dan sintasan larva hingga umur 1 bulan. Evaluasi pada induk nilem yang diinduksi dengan oviposisi secara spontan menunjukkan nilai FR tinggi berkisar antara 91,3-95,5% ($93,2\pm2,1\%$), HR berkisar antara $98,29-99,75\pm0,59\%$, sintasan (SR) hingga 1 bulan pertama berkisar antara 80-95%. Pada induk nilem yang diinduksi dilakukan stripping memunjukkan nilai FR $98\pm1,85\%$, HR sebesar $81,84\pm20,97\%$ dan sintasan hingga 1 bulan berkisar 80-95%.

Hasil pengukuran perhadap volume milt menunjukkan bahwa induk nilem jantan dengan kisaran berat 80-114g menghasilkan milt sebanyak 0,6-2mL ($0,89\pm0,61$ mL) dengan konsentrasi spermatozoa berkisar antara $5.10^9 - 4,5.10^{12}$ spermatozoa per mL milt, persentase motilitas 80-95%, viabilitas $90,8 \pm 4,37\%$.

Kesimpulan

Daftar Pustaka

- Alabaster, J.S. and Lloyd, R. 1980. *Water quality criteria for Fresh water Fish*. Butterworth. London.
- Arulkwe, A. and Goksoyr, A.. 2003. Egg shell and egg yolk protein in fish, hepatic protein for the next generation. www.comparative-endocrinology.com 5-12-2003
- Asmawi, S. 1984. *Pemeliharaan Ikan dalam Keramba*. Gramedia, Jakarta.
- Berra, T.M., Gomelsky B., Thompson B.A. .and Wedd D.. 2007. Reproductive anatomy, gonad development and spawning seasonality of nurseryfish, *Kurtus gulliveri* (Perciformes: Kurtidae). *Australian journal of Zoology* 55: 211-217
- Dinas Peternakan dan Perikanan Kab Banyumas. 2010. Profil dan Potensi Peternakan dan Perikanan Kabupaten Banyumas. Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Banyumas. Purwokerto
- Fostier, A., Jalabert B., Billard R., and Breton B.. 1983. The gonadal steroid. In: Hoar, W.S. Randall, D.J. and Donaldson, E.M. 9Eds), *Fish Physiology*. Vol IXA. Academis Press, New York. Pp.227-372
- Gier, H.J. 1976. Sperm development in teleost *Oryzias latipes*. *Cell and Tissue Culture Research* 168: 419-431

- Gier, H.J. 1975. Aspect of germinal cyst and sperm development *Poecilia latipinna* (Teleostei: Poeciliidae). *Journal of Morphology* 146: 229-250
- Goetz, F.W., M. Rajan, A.K. Brendtson and P. Duman. 1987. The mechanism and hormonal regulation of ovulation: the role of prostaglandins in teleost. In: D.R. Idler, L.W. Crim and J.M. Walls (Eds) Proceeding of the third International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. St. John's Newfoundland, Canada, August 2-7, 1987. pp 235-238
- Hardjamulia, A., D. Soeseno dan Jangkaru, Z. 1982. *Pelestarian Sifat Keunggulan Ikan Budidaya Air tawar*. Dirjen Pendidikan Perikanan Darat, Bogor.
- Hendrianto 1999. Induksi ovulasi ikan nilam (*Osteochilus hasselti* C.V.) dengan ekstrak kelenjar hipofisis ayam ras dan ekstrak urine wanita hamil. Skripsi. Fakultas Biologi Un soed, Purwokerto.
- Jangkaru, Z. 1974. *Makanan Ikan*. Lembaga Penelitian Perikanan Darat. Direktorat Jenderal Perikanan, Bogor.
- Jeziarska, J. and Bartnicka, B. 1995. The effect of pH on embryonic development of carp (*Cyprinus carpio* L.) *Aquaculture*, 129:133
- Kagawa, H., G. Young, S. Adachi and Y. Nagahama. 1982. Estradiol 17 α production in amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles: role of thecal and granulose cells. *General and Comparative Endocrinology* 47: 440-448
- Kawauchi, H., K. Suzuki, H. Itoh, P. Swanson, N. Naito, Y. Nagahama, M. Nozaki, Y. Nakai and S. Itoh. 1989. The duality of teleost gonadotropins. *Fish Physiologu and Biochemistry* 7: 29-38
- Kottelat, M., A.J. Whitten, S.N. Kartikasari and S. Wirjoatmodjo 1993 Freshwater fishes of Western Indonesia and Sulawesi = Ikan air tawar Indonesia Bagian Barat dan Sulawesi. Periplus Editions, Hong Kong. 344 p.
- Lagler, K.F., Bardach J.E., Miller R.R and. Passino R.R.M. 1979. Ichtyology. John Wiley and Son. New York
- Lin, Y-W.P., Rupnow B.A., Price D.A., Greenberg R.M., and Wallace R.A.. 1992. *Fundulus heteroclitus* gonadotropin. III. Cloning and sequencing of gonadotropic hormone (GTH) I and II subunit using the polymerase chain reaction *Mollecular Cellular Biology* 85:127-139
- Martin, J. 2004. Hormonal and physiological profiles of female *Haplochromis burtoni* as it relate to affiliative behavior. *SURJ*: 55-61
- Murua, H. and F. Saborido-Rey. 2003. Female reproductive strategies of marine fish species of the North Atlantic. *J. Northw. Atl. Fish.Sci.* 33: 23-31
- Nagahama Y., 1987 17 α , 20 α -Dihydroxy-4-pregn-3-one: a teleost maturation-inducing hormone. *Development Growth and Differentiation* 29: 1-12
- Pankhurst, N.W. and Carragher J.F. 1991. seasonal endocrine cycles in marine teleost. In: Scott, A.P., Sumpter J.P. Kime D.E. and Rofle M.S. (Eds) *Reproductove Phyyiology of Fish*. Fish Symposium Sheffield vol.91: 131-135

- Pelissero, C., Foucher J.L., Bennetau B., Donogues J., Fluoriot G.and Sumpter J.P.. 1991. In vitro estrogenic activities of phyoestrogen on liver vitellogenin synthesis in the rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss*). In: A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime, ans M.S. Rolfe (eds). Proeeding of the fourth International Symposium on the Reproductive Pfysiology of Fish. Noewich, UK. 7-12 Juli 1991, Fish Symp91, Sheffield pp 247-249
- Peter, R.E. and. Yu K.L. 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Rev. Fish. Biol. Fisher.* 7:173-197
- Peyon, P., Baloche S. and Burzawa-Gerard. E. 1992. Induction of vitellogenin synthesis by 17 α estradiol and testosterone in silver eel hepatocutes maintained in primary culture. In: Abstract, Second International Symposium on Fish Endocrinology, Saint Malo, June 1-4, 1992, p. P58
- Pusat Riset Perikanan Budidaya. 2009. Dukungan Hasil Riset Terhadap Peningkatan Produktivitas Nilem. Bali Riset Perikanan Budidaya Air Tawar. *Showcase IPTEKMAS*, Purwokerto 9 Desember 2009
- Rencana Strategis Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2010. <http://www.kkp.go.id/upload/BUKU-RENSTRA-2010-FINAL.pdf> diakses 12April 2011
- Risnawati, N.W. 1995. Ukuran dan morfologi beberapa spesies ikan family Cyprinidae. Skripsi. ProgramStudi Budidaya perairan Fakultas Pertanian IPB. Bogor
- Selman, K. and Wallace, R.A.. 1986. Cellular aspect of oocyte growth in teleost. *Zoological Science* 6: 211-231
- Sherwood, N.M. and Coe I.R., 1991. Neuropeptides and their genes in fish. In: A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime, ans M.S. Rolfe (eds). Proeeding of the fourth International Symposium on the Reproductive Pfysiology of Fish. Noewich, UK. 7-12 Juli 1991, Fish Symp91, Sheffield pp 38-40
- Simanjuntak, S.B.I dan G.E., Wijayanti. 2005 Penggunaan Hormon untuk Induksi Pemijahan Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*). *Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Akuakultur Berkelanjutan*. Fakultas Biologi. UNSOED, Purwokerto.
- Simanjuntak, S.B.I.; Darnas, D.; Achmad, M.W.; dan Hambali, S. 2002. Efektivitas *Spirulina* sebagai Imunostimulan pada Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal* Bleeker). *Jurnal Biologi Indonesia III* (3):209-218.
- Simanjuntak, S.B.I.; Darnas, D.; Achmad, M.W.; dan Hambali, S. 2003. Histopatologis Organ Limpa dan Ginjal Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal* Bleeker) akibat Pemberian *Spirulina* dalam Pakan secara Diskontinyu. *Biosfera* 20 (2) :62-66.
- Simanjuntak, S.B.I.; Edy, Y. dan Farida, N.R. 2004. Pengaruh Penyuplemen *Spirulina* dalam Pakan terhadap Hematologis Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.). *Jurnal Pembangunan Pedesaan Vol. 6 (2) : 84-88.*
- Sisneros, J.A., Forlano, P.M. Knapp R.and. Dass A.H. 2004. Seasonal variation of steroid hormone levels in an intertidal-nesting fish, the vocal plainfin midshipman. *General and Comparative Endocrinology* 136: 101-116

- Soeminto, Wijayanti G.E., Simanjuntak S.B.I, Sudarwoso dan Chilmiati. R.1995. Pengaruh Kombinasi PMSG dan Human Crionic Gonadotropin (HCG) terhadap Pertumbuhan Telur Ikan Nilem. *Laporan Penelitian*. Fakultas Biologi UNSOED, Purwokerto (Tidak dipublikasikan).
- Subagja, J., Sularto dan Slembrouck J.. 2003. Rasio Spermatozoa dengan Telur pada Pembuahan Buatan Pangasius (Pangasiidae) Setelah di Suntik dengan Salmon Gonadotropin Realising Hormon Analog (SGNRH-A) dan Dopamin. *Laporan Hasil Riset Proyek Riset Perikanan Budidaya Air Tawar Bogor*
- Sugiharto, Wijayanti, G.E., Simanjuntak, S.B.I. dan Susatyo,P. 2001. Peningkatan fekunditas ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) melalui pencegahan atresia folikel. *Sain Akuatik*. 4(1):40-47
- Sumendap, R.R. 2009. Perkembangan embrio dan larva ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) dalam medium yang mengandung hormone tiroksin. Skripsi. Fakultas Biologi Unsoed, Purwokerto. Belum dipublikasikan
- Sumpter, J.P., Tyler, C.R. and Kawauchi H.. 1991. Action of GTH I and GTH II on ovarian steroidogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. In: A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime, ans M.S. Rolfe (eds). Proceeding of the fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. Noewich, UK. 7-12 Juli 1991, Fish Symp91, Sheffield pp 27
- Sunarma A., Hastuti, D.W.B. dan Sistina Y. 2007. Penggunaan ekstender madu yang dikombinasikan dengan krioprotektant berbeda pada pengawetan sperma ikan nilem (*Indonesian shark nimow*, *Osteochilus hasselti* Valenciennes, 1842). Konferensi Akuakultur Indonesia Surabaya.
- Suzuki, K., Nagahama Y.and Kawauchi H. 1988. Steroidogenic activities of two distinct gonadotropins. *General and Comparative Endocrinology* 71: 452-548
- Swanson, P., Suzuki K., Kawauchi H., and Dickhoff W.W. 1991. Isolation and characterization of two coho salmon gonadotropin, GTH I and GTH II. *Biology of Reproduction* 44: 29-38
- Syandri, H. 2004. Penggunaan Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* CV) dan Ikan Tawes (*Puntius javanicus* CV) sebagai Agen Hayati Pembersih Perairan Danau Maninjau, Sumatera Barat. *Jurnal Natur Indonesia* 6(2): 87-90
- Takashima, F and Hibiya. T.1995. Fish histology an atlas of normal and pathological feature. Kodansha Ltd. Japan pp 192
- Tyler, C.R., Sumpter, J.P. Kawauchi H., and Swanson P.. 1991. Involvement of gonadotropin in the uptake of vitellogenin into vitellogenic oocytes of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology* 84: 291-299
- Van der Kraak, G., Suzuki K., Peter R.E., Itoh H., and Kawauchi. H. 1992. Properties of common carp gonadotropin I and gonadotropin II. *General and Comparative Endocrinology* 85:217-229
- Wallace, R.A. and Begovac. P.C. 1985. Phosvitin in Fundulus oocytes and eggs. *Journal of Biological Chemistry* 260: 11268-11274

- Wallace, R.A. and K. Shelman. 1990. Ultrastructural aspect of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. *Journal of Electron Microscopic Techniques* 16: 175-201
- Wijayanti G.E., Simanjuntak S.B.I. dan Sugiarto. 2005. Optimalisasi Potensi Reproduksi Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) melalui Kajian Gametogenesis. *Seminar Nasional Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*, UNDIP Semarang.
- Wijayanti G.E., Soeminto, Simanjuntak, S.B.I., Susatyp P., dan Pulungsari A.E. 1995. Studi Pendahuluan untuk peningkatan mutu benih ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) melalui seleksi induk dan penetasan dalam akuarium. Laporan Penelitian. Fakultas Biologi Unsoed.
- Wijayanti, G.E. dan Simanjuntak, S.B.I. 2005. Fertilisasi Telur Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*) setelah Penyimpanan pada Temperatur 27°C. *Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Akuakultur*. Fakultas Biologi. UNSOED, Purwokerto.
- Wijayanti, G.E. dan Sugiharto. 2006. Perkembangan Testis Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* CV) Selama Satu Siklus Reproduksi. *Omni Akuatika* 1 (2): 37-43.
- Wijayanti, G.E., Soeminto, S.B.I. Simanjuntak, P. Susatyo dan Anastasia E.P. 1995. Studi Pendahuluan untuk Peningkatan Mutu Benih Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) melalui Seleksi Induk dan Penetasan dalam Akuarium. *Laporan Hasil Penelitian*. Fakultas Biologi UNSOED, Purwokerto (Tidak dipublikasikan).
- Wijayanti, G.E., Sugiharto, P. Susatyo dan A. Nuryanto. 2010. Perkembangan Embrio dan Larva Ikan Nilem yang Diinkubasi pada Media dengan Berbagai Temperatur. Prosiding Semnas Basic Science VII Vol III hal 180-187
- Winarlin, H. Djayasewaka, R. Samsudin dan I. Taufik. Pengaruh Tingkat Kedalaman Air Terhadap Pertumbuhan Dan Sintasan Benih Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*, C.V.). Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor
- Yaron, Z. 1995. Endocrinology control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture* 129: 49-73
- Yoshikuni, M. and Nagahama Y. 1991. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Bull. Inst. Zool. Acad. Sin. Monogr.*, 16: 139-172