



Tinjauan kepustakaan tentang pengembangan kriopreservasi sperma ikan asli Indonesia

A review on the cryopreservation development of sperm of the Indonesian native fish

Siti Maulida¹, Firman M. Nur², Kartini Eriani¹, Zainal A. Muchlisin^{3,4*}

¹Program Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111, Indonesia.

²Program Doktor Matematika dan Aplikasi Sains (DMAS), Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111, Indonesia.

³Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111, Indonesia.

⁴Pusat Riset Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111, Indonesia.

ARTICLE INFO

Keywords:

Extender
 Cryoprotectan
 Freezing
 Thawing

Kata kunci:

Extender
 Krioprotektan
 Freezing
 Thawing

DOI: 10.13170/depik.9.2.16572

ABSTRACT

*Sperm cryopreservation is one of the methods in preserving germplasm and avoid the extinction of native fish. The success of this technique requires proper use of protocol because each species needs a different response to certain protocols. However, very limited of works have been done in Indonesian fish; Presently, there were only 9 species of freshwater, namely; *Channa striata*, *Chromobotia macracanthus*, *Barbonymus gonionotus*, *Mystus nemurus*, *Osphronemus goramy*, *Osteochilus hasseltii* atau *Osteochilus vittatus*, *Poropontius tawarensis*, *Rasbora tawarensis*, and *Tor soro*, and one species marine fish *Ephinephelus lanceolatus* have been successfully developed the cryopreservation protocols. The objective of this review paper is to summarized and evaluate the best protocol for sperm cryopreservation of above species. The reviewed aspects are including the type of extender and cryoprotectant, freezing process (storage time and temperature), thawing (thawing time and temperature) and observations (including the percentage of motility, viability, abnormality, fertility, and hatching rate).*

ABSTRAK

Kriopreservasi sperma adalah salah satu cara untuk melestarikan plasma nutfah Indonesia sehingga dapat terhindar dari kepunahan. Keberhasilan kriopreservasi sangat tergantung pada protokol yang digunakan, karena setiap spesies memiliki respon yang berbeda terhadap protokol tertentu. Namun sayangnya sangat sedikit penelitian terkait kriopreservasi sperma ikan-ikan asli Indonesia. Sampai saat ini hanya 9 spesies ikan air tawar (*Channa striata*, *Chromobotia macracanthus*, *Barbonymus gonionotus*, *Mystus nemurus*, *Osphronemus goramy*, *Osteochilus hasseltii* atau *Osteochilus vittatus*, *Poropontius tawarensis*, *Rasbora tawarensis*, dan *Tor soro*) dan satu spesies ikan laut *Ephinephelus lanceolatus* yang telah tersedia protokol kriopreservasi spermanya. Oleh karena itu, penelitian ini mencoba merangkum dan mengevaluasi protokol terbaik dalam proses kriopreservasi masing-masing spesies yang tersebut diatas. Aspek yang direview adalah jenis extender, krioprotektan, proses *freezing* (lama penyimpanan sperma dan suhu), *thawing* (lama *thawing* dan suhu) dan data hasil pengamatan (meliputi persentase motilitas, viabilitas, abnormalitas, fertilitas dan *hatching rate*).

Pendahuluan

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara yang memiliki biodiversitas tertinggi di dunia termasuk ikan. Berdasarkan data yang tercatat di Fishbase, Indonesia memiliki 4.629 spesies ikan *native*, dan 133

spesies diantaranya adalah endemik (Froese dan Pauly, 2020). Namun demikian, diperkirakan 1.275 spesies ikan di Indonesia telah masuk ke dalam kategori ikan yang terancam punah (IUCN, 2020). Penyebab terjadinya ancaman ini, diantaranya akibat

* Corresponding author.

Email address: muchlisinza@unsyiah.ac.id

penebangan hutan, urbanisasi dan polusi (Viveiros et al., 2009). Penangkapan ikan dengan menggunakan cara-cara yang tidak ramah lingkungan, juga memberikan efek negatif bagi lingkungan dan keberadaan ikan di alam (Muchlisin, 2008), selain itu perubahan iklim juga ikut memberikan dampak negatif pada populasi ikan di alam (Muchlisin, 2015).

Kepunahan spesies menyebabkan berkurangnya stok ikan sehingga berdampak pada kerugian secara ekologis dan ekonomis, khususnya bagi jenis ikan yang memiliki nilai komersial tinggi. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut yaitu melalui metode kriopreservasi sperma. Kriopreservasi sperma adalah bioteknologi yang bertujuan untuk mempertahankan kelangsungan hidup sperma dalam jangka waktu yang lama, sehingga dapat memastikan ketersediaan sperma secara terus menerus dan dapat dimanfaatkan bila diperlukan (Carolsfeld et al., 2003; Bakhach, 2009). Manfaat kriopreservasi adalah memberikan persediaan gamet jantan setiap waktu, meningkatkan *selective breeding* dengan cara memelihara persediaan yang ada secara lebih ekonomis dan efektif, serta untuk bahan percobaan lanjutan, seperti transfer gen (Muchlisin, 2005). Keberhasilan kriopreservasi sperma sangat tergantung pada metode atau protokol kriopreservasi yang diterapkan, meliputi kesesuaian larutan pengencer (*extender*), bahan pelindung (*cryoprotectant* atau *cryoprotective agents*), proses pembekuan (*freezing*) dan pencairan kembali (*thawing*). Oleh karena itu kajian pengembangan protokol kriopreservasi sperma perlu untuk dilakukan, hal ini disebabkan setiap spesies memiliki respon atau kebutuhan yang berbeda terhadap protokol tertentu (Murgas et al., 2014).

Studi terkait penerapan protokol kriopreservasi sperma pada ikan-ikan lokal asli Indonesia telah dilaporkan oleh beberapa peneliti terutama pada ikan bernilai ekonomis tinggi, diantaranya; baung (*Mystus nemurus*) (Muchlisin dan Siti-Azizah, 2009), gabus (*Channa striata*) (Mangkunegara et al., 2019), botia (*Chromobotia macracanthus*) (Abinawanto et al., 2018), batak (*Tor soro*) (Zairin et al., 2005; Alifiani et al., 2020; Fatriani et al., 2020; Harjanti et al., 2020; Laeni et al., 2020; Pamungkas et al., 2020; Putri et al., 2020; Vardini et al., 2020; Wulandari et al., 2020), bader putih (*Barbonymus gonionotus*) (Abinawanto et al., 2013; Abinawanto et al., 2016; Abinawanto et al., 2018), gurami (*Ospbronemus goramy*) (Abinawanto et al., 2011; Abinawanto et al., 2012a; Abinawanto et al., 2012b; Abinawanto et al., 2015; Abinawanto dan Putri, 2017; Abinawanto et al., 2017b), nilem (*Osteochilus basselii* atau *Osteochilus vittatus*) (Sunarma et al., 2007; Sunarma et al., 2008), kawan (*Poropontius tawarensis*)

(Muthmainnah et al., 2019) dan depik (*Rasbora tawarensis*) (Muchlisin et al., 2020). Proses kriopreservasi sperma ikan, secara umum terbagi dalam beberapa tahapan, yaitu; (i) koleksi sperma (ii) penilaian mikroskopis kualitas sperma awal, (iii) pengenceran dengan larutan pengencer (*extender*) dan penambahan bahan pelindung *cryoprotectant* (iv) pembekuan dan penyimpanan, (v) pencairan kembali (*thawing*), (vi) penilaian kualitas sperma pasca penyimpanan (Maria dan Carneiro, 2012).

Extender dan krioprotektan

Extender dan krioprotektan berperan penting dalam proses kriopreservasi sehingga diperlukan berbagai pengujian untuk mendapatkan extender dan krioprotektan yang tepat, hal ini dikarenakan setiap jenis ikan memerlukan extender dan krioprotektan yang berbeda (Muchlisin, 2005) karena secara fisiologis sperma berbeda menurut jenis ikan. Extender adalah media atau bahan pengencer yang ditambahkan pada sperma untuk memperbanyak volume sperma (Muchlisin, 2005; Setyono, 2009). Extender juga berfungsi untuk menghambat aktivasi spermatozoa agar sperma tetap *immotile* (tidak bergerak) sehingga menghemat energi dengan demikian kehidupannya dapat dipertahankan selama proses penyimpanan (Barozha, 2015). Extender yang ideal adalah bersifat isotonik, memiliki kapasitas *buffering* yang baik, mengandung nutrisi, dapat menstabilkan koloid dan antioksidan, bersifat antibakteri dan memiliki kualitas yang baik (Agarwal, 2011). Pada umumnya, extender yang digunakan untuk mengencerkan semen ikan dibuat sesuai dengan komposisi fisikokimia cairan sperma atau semen dari spesies ikan yang diuji (Agarwal, 2011). Komposisi extender yang digunakan, yaitu berupa larutan garam mineral atau glukosa dengan osmolaritas yang sesuai dengan tekanan osmolaritas cairan di dalam sel sperma, dan berisi bahan perlindungan terhadap kejutan suhu (Viveiros et al., 2012). Extender yang umum digunakan dalam kriopreservasi sperma ikan antara lain; larutan Ringer, larutan fisiologis, *marine fish* ringer (MFR), *glucose-base*, *artificial seminal plasma* (ASP), NaCl, *sucrose*, (Chao et al., 2001). Selain itu air kelapa juga dilaporkan dapat digunakan sebagai extender alami (Muchlisin, 2010a).

Krioprotektan adalah zat kimia non elektrolit yang berperan meminimalkan pengaruh luar terutama suhu dan menghindari proses kehilangan atau kemasukan cairan pada sel akibat perbedaan tekanan osmotik selama proses pembekuan serta meminimalkan dampak pembentukan kristal es dalam sel sehingga kelangsungan hidup sel dapat dipertahankan (Muchlisin, 2005; Kurniawan et al., 2013). Selain itu, penambahan krioprotektan berguna

untuk menjaga keutuhan membran sel, meningkatkan potensial osmotik media yang dapat mencegah cairan dari dalam sel keluar, sehingga dehidrasi sel dapat dihindari (Kostaman dan Setioko, 2011).

Berdasarkan sifat-sifat fisikokimia dan daya permeabilitas membran, maka krioprotektan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu krioprotektan intraseluler dan krioprotektan ekstraseluler. Krioprotektan intraseluler atau sering juga disebut krioprotektan permeabel merupakan pelindung zat yang dapat melalui membran (keluar-masuk) sel karena memiliki berat molekul yang kecil, tidak elektrolit dan sangat larut dalam air (Bakhach, 2009; Cuevas-Urbe dan Tiersch, 2011), diantaranya adalah; *Dimetil sulfoksida* (DMSO), gliserol (Gly), metanol (MeOH) (Gazali dan Tambing, 2002), *dimetil asetatamida* (DMA), 1-2 propanediol, etilen glikol (EG), metil glikol (2 methoxyethanol), propilen glikol (PG), dan 2,3-butanadiol (BD) (Tiersch, 2011). Sedangkan krioprotektan ekstraseluler atau krioprotektan non permeabel adalah zat yang tidak dapat melalui membran dan memiliki berat molekul yang besar, diantaranya; monosakarida, disakarida atau polisakarida gula, polivinil pirolidon (PVP) dan hidroksietil pati (HES) (Bakhach, 2009), lipoprotein atau protein yang berasal dari susu, kuning telur dan minyak nabati (Morales et al., 1998) dan madu (Muchlisin, 2005; Muchlisin et al., 2015a). Oleh karena itu, intra selular krioprotektan memberikan perlindungan dari dalam sel, sedangkan ekstra selular krioprotektan memberikan perlindungan dari luar sel.

Sebagaimana telah dijelaskan bahwa keberhasilan kriopreservasi sangat ditentukan oleh protokol kriopreservasi yang tepat, meliputi penggunaan larutan pengencer, krioprotektan, proses *freezing* dan *thawing*. Kopeika et al. (2008) menyatakan bahwa keberhasilan kriopreservasi dipengaruhi oleh variabilitas penggunaan sperma yang berkualitas tinggi. Sperma yang berkualitas yaitu sperma yang tidak cacat, aktif bergerak dan dapat membuahi telur. Proses pembekuan dapat menimbulkan berbagai faktor intrinsik yang dapat mempengaruhi kualitas sperma dalam mempertahankan struktur intraseluler dan fungsi dasar sel sperma. Martinez et al. (2012) menjelaskan bahwa proses kriopreservasi dapat menurunkan kualitas sperma seperti motilitas dan viabilitas sperma, hal ini disebabkan sel sperma dipaparkan dengan kondisi eksternal yang berbeda dengan kondisi fisiologisnya sehingga menimbulkan stres osmotik sel yang kemudian menyebabkan kerusakan sel sperma. Muchlisin dan Siti-azizah (2009a) menambahkan bahwa penggunaan krioprotektan dengan dosis yang tinggi dapat

menyebabkan toksisitas bagi sel sperma, sehingga diperlukan pemberian dosis yang sesuai.

Penurunan aktivitas sperma akibat proses kriopreservasi dipengaruhi oleh tingkat sensitivitas sel terhadap kejutan suhu dan perubahan intraseluler sel yang berkaitan dengan pembentukan kristal es. Kejutan suhu dapat menyebabkan penurunan aktivitas flagella, kerusakan pada membran dan organel sel sperma. Pembentukan kristal es mengakibatkan keluarnya enzim-enzim dari dalam sel keluar sel sehingga merusak organel intraseluler, seperti lisosom dan mitokondria, hal ini dapat menurunkan motilitas dan viabilitas sperma (Ogbuewu et al., 2010; Gazali dan Tambing, 2012). Meskipun terdapat penurunan kualitas sperma pasca kriopreservasi, namun penggunaan metode kriopreservasi ini dapat dijadikan sebagai metode yang aman dalam menjaga kestabilan material genetik, disebabkan angka motilitas dan tingkat fertilitas telur dapat dipulihkan pasca *thawing* (Kopeika et al., 2008). Namun, teknik ini harus diiringi dengan penggunaan protokol kriopreservasi yang sesuai dengan spesies ikan yang digunakan.

Studi terkait penerapan protokol pada kriopreservasi sperma ikan lokal Indonesia telah dilaporkan pada beberapa spesies ikan air tawar, diantaranya gabus *Channa striata* (Mangkunegara et al., 2019), botia *Chromobotia macracanthus* (Abinawanto et al., 2018), bader *Barbonymus gonionotus* (Abinawanto et al., 2013; Abinawanto et al., 2016; Abinawanto et al., 2018), baung *Mystus nemurus* (Muchlisin dan Siti-Azizah, 2009), gurami *Osphronemus goramy* (Abinawanto et al., 2011; Abinawanto et al., 2012a; Abinawanto et al., 2012b; Abinawanto et al., 2015; Abinawanto dan Putri, 2017; Abinawanto et al., 2017b), nilam *Osteochilus hasseltii* atau *Osteochilus vittatus* (Sunarma et al., 2007; Sunarma et al., 2008), kawan *Poropontius tawarensis* (Muthmainnah et al., 2019), depik *Rasbora tawarensis* (Muchlisin et al., 2020), keureling *Tor soro* (Zairin et al., 2005; Alifiani et al., 2020; Fatriani et al., 2020; Harjanti et al., 2020; Laeni et al., 2020; Pamungkas et al., 2020; Putri et al., 2020; Vardini et al., 2020; Wulandari et al., 2020), dan ikan air laut yaitu ikan kerapu, *Ephinephelus lanceolatus* (Afni et al., 2019; Pratiwi et al., 2019; Sudrajat et al., 2019; Widyaningsih et al., 2019).

Ikan asli (*native*) Indonesia yang telah berhasil dikriopreservasi

Berdasarkan kepustakaan yang tersedia masih sangat sedikit metode kriopreservasi sperma ikan-ikan asli Indonesia yang telah dikembangkan, sementara dilain pihak ancaman terhadap kepunahan ikan-ikan asli Indonesia semakin meningkat dari tahun ke tahun. Sampai saat ini hanya ada 10 spesies

ikan asli Indonesia yang telah berhasil dikriopreservasi spermanya, dan sebagian besar adalah ikan air tawar, sebagaimana telah disebut sebelumnya, berikut rangkuman protokol yang telah dikembangkan untuk masing-masing spesies tersebut:

Bader putih (*Barbonymus gonionotus*)

Barbonymus gonionotus salah satu ikan air tawar asli Indonesia yang termasuk ke dalam famili Cyprinidae (Froese dan Pauly, 2020). Menurut The *International Union for Conservation of Nature (IUCN)*, *B. gonionotus* masuk dalam kategori *Least Concern* (belum mendapat perhatian), namun demikian dilaporkan ikan ini semakin terancam keberadaannya hal tersebut disebabkan oleh degradasi dan eksploitasi habitat (Thin et al., 2012; Batubara et al., 2018). Oleh karena itu metode kriopreservasi menjadi salah satu strategi untuk menjaga ketersediaan plasma nutfah *B. gonionotus* (Abinawanto et al., 2013). Penelitian mengenai kriopreservasi sperma *B. gonionotus* telah dilaporkan oleh peneliti diantaranya Abinawanto et al. (2013); Abinawanto et al. (2016) dan Abinawanto et al. (2017a).

Bahan pengencer (extender) dan krioprotektan yang digunakan untuk ikan ini yaitu Ringer (Abinawanto et al., 2016; Abinawanto et al., 2017a) dan *glucose-base* (Abinawanto et al., 2013) sebagai bahan extender sedangkan gliserol 5-20% (Abinawanto et al., 2017a), metanol 5-10% (Abinawanto et al., 2013; Abinawanto et al., 2016), kuning telur 5-17% (Abinawanto et al., 2013) dan susu skim 5-25% (Abinawanto et al., 2016) sebagai krioprotektan. Proses *freezing* yang digunakan berkisar pada suhu -34 °C selama 24 jam dan proses *thawing*, berkisar antara 37-40 °C selama 13-30 detik. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Abinawanto et al. (2013) dengan menggunakan *glucose-base*, 10% metanol dan kuning telur dengan konsentrasi yang berbeda (5-17%), didapatkan bahwa protokol dengan penambahan *glucose-base* + 10% metanol + 15% kuning telur menunjukkan hasil terbaik dalam mempertahankan kualitas sperma pasca pembekuan pada suhu -34 °C selama 24 jam dan *thawing* pada suhu 40 °C selama 30 detik, dengan menghasilkan motilitas, viabilitas dan abnormalitas, sebesar 96,10%; 85,10% dan 16,00%. °C

Penelitian Abinawanto et al. (2016) dengan menggunakan extender Ringer, 5% metanol dan susu skim dengan konsentrasi yang berbeda (5-25%), diperoleh protokol terbaik dengan menggunakan kombinasi larutan Ringer + 5% metanol + 20% susu skim yang menghasilkan persentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas, yaitu 83,23%; 81,75% dan 26,25% pasca pembekuan pada suhu -34 °C

selama 24 jam dan *thawing* pada suhu 40 °C selama 13 detik. Abinawanto et al. (2017a) dengan menggunakan protokol lain melaporkan penggunaan extender Ringer dan gliserol (5-20%), menunjukkan bahwa Ringer + 10% gliserol menjadi protokol terbaik yang menghasilkan nilai motilitas, viabilitas dan abnormalitas sebesar 85,45%; 68,69% dan 33,40% pasca pembekuan pada suhu -34 °C selama 24 jam dan di *thawing* pada suhu 37 °C selama 30 detik. Berdasarkan hasil penelitian pada sperma *B. gonionotus*, dapat disimpulkan bahwa protokol terbaik yang dapat mempertahankan kualitas sperma *B. gonionotus* pasca *thawing* adalah Abinawanto et al. (2013), dengan nilai motilitas, viabilitas dan abnormalitas tertinggi dibandingkan protokol lain yang telah diuji.

Gabus (*Channa striata*)

Ikan gabus merupakan ikan air tawar yang termasuk ke dalam famili Channidae (Froese dan Pauly, 2020), ikan ini sangat diminati oleh masyarakat dan memiliki nilai ekonomis tinggi (Maulidin et al., 2016). Ekstrak ikan gabus telah digunakan untuk pengobatan stroke, penyembuhan pasien pasca operasi dan obat luka bakar (Tawali et al., 2012). Penelitian terkait kriopreservasi sperma ikan gabus telah dilaporkan oleh Mangkunegara et al. (2019). Bahan extender dan krioprotektan yang digunakan pada penelitian tersebut, yaitu NaCl (0,9%) sebagai extender dan gliserol (10%), kuning telur (10%), madu (300-500 mg) sebagai krioprotektan. Proses pembekuan dilakukan pada suhu -196 °C selama 7 hari sedangkan proses *thawing* dilakukan pada suhu 35 °C selama 30 detik. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa protokol yang memberikan hasil terbaik yaitu kombinasi 400 mg madu + 10% gliserol + 10% kuning telur, yang dapat mempertahankan motilitas sekitar 40-70% dan viabilitas sebesar 64,15%.

Botia (*Chromobotia macracanthus*)

Botia atau Enteberring merupakan salah satu ikan air tawar endemik di Indonesia yang termasuk ke dalam famili Cobotidae (Froese dan Pauly, 2020), penyebarannya meliputi Sumatera dan Kalimantan (Kottelat et al., 1993). Ikan endemik lebih rentan terhadap kepunahan karena adaptasi yang rendah terhadap perubahan lingkungan, sehingga diperlukan upaya konservasi untuk mencegah permasalahan tersebut, salah satunya yaitu melalui metode kriopreservasi. Penelitian mengenai kriopreservasi sperma ikan botia telah dilakukan oleh Abinawanto et al., 2018. Bahan extender dan krioprotektan yang digunakan yaitu *glucose-base* sebagai extender dan metanol (10%), kuning telur (5%-17%) sebagai krioprotektan. Pembekuan sperma enteberring

dilakukan pada suhu -196 °C selama 24 jam dan proses *thawing* pada suhu 40 °C selama 13 detik. Protokol terbaik dalam penelitian ini yaitu pada penggunaan kombinasi *glucose-base* + 10% metanol + 15% kuning telur, yang dapat mempertahankan motilitas 96,43%, viabilitas 84,25% dan abnormalitas 11,50%.

Baung sungai (*Mystus nemurus*)

Ikan baung *Mystus nemurus* atau telah direvisi menjadi *Hemibagrus nemurus* merupakan ikan asli di perairan Indonesia yang termasuk ke dalam famili Bagridae (Froese dan Pauly, 2020). Berdasarkan status konservasi IUCN pada tahun 2012, menyatakan bahwa ikan baung dikategorikan sebagai ikan *Least Concern* (belum mendapat perhatian). Salah satu masalah pada reproduksi ikan baung adalah waktu puncak kematangan gonad jantan dan betina terjadi pada masa yang berbeda (Muchlisin et al., 2004), untuk mengatasi permasalahan tersebut dapat dilakukan melalui metode kriopreservasi sperma. Kriopreservasi sperma ikan baung telah dilaporkan oleh Muchlisin et al. (2004) dan Muchlisin dan Siti-Azizah (2009a). Extender dan krioprotektan yang digunakan dalam kriopreservasi sperma ikan baung adalah Ringer sebagai extender dan DMSO (10%), metanol (10%), etanol (10%), gliserol (10%) sebagai krioprotektan. Adapun proses pembekuan sperma ikan baung dilakukan pada suhu -196 °C selama 13 bulan dan di *thawing* pada suhu 40 °C selama 5 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi Ringer + 10% metanol merupakan protokol terbaik dalam mempertahankan motilitas dan abnormalitas sperma pasca *thawing*, yaitu 49,81% dan 62,65%.

Gurami (*Osphronemus goramy*)

Gurami merupakan salah satu jenis ikan air tawar *native* di Indonesia yang termasuk ke dalam famili Osphronemidae (Froese dan Pauly, 2020). Proses budidaya ikan gurami masih dilakukan secara tradisional, hal ini dapat menyebabkan penurunan kualitas material genetik (Alam, 2002). Upaya kriopreservasi menjadi salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk menjaga kualitas material genetik ikan gurami. Penelitian terkait kriopreservasi ikan gurami telah dilaporkan oleh Abinawanto et al. (2011); Abinawanto et al. (2012a); Abinawanto et al. (2012b); Abinawanto et al. (2015); Abinawanto dan Putri (2017); Abinawanto et al. (2017b). Bahan extender dan krioprotektan yang umum digunakan pada ikan gurami adalah Ringer (Abinawanto et al., 2012a; Abinawanto et al., 2012b; Abinawanto et al., 2015; Abinawanto dan Putri, 2017; Abinawanto et al., 2017b), air kelapa (21-29%) (Abinawanto dan Putri, 2017), 189 M extender (Solvent) (Abinawanto et al., 2011) sebagai extender dan gliserol (1-9%)

(Abinawanto et al., 2015), metanol (10%) (Abinawanto et al., 2012a; Abinawanto et al., 2012b) DMSO (5-17%) (Abinawanto et al., 2011; Abinawanto et al., 2017b), susu skim (5-25%) (Abinawanto et al., 2012a), madu (0.1-0.9%) (Abinawanto et al., 2017b), sukrosa (0.1-0.9%) (Abinawanto et al., 2012b) sebagai krioprotektan. Proses *freezing* umumnya berkisar antara suhu -34 °C dan -196 °C dengan lama penyimpanan sekitar 24 jam hingga 48 jam sedangkan proses *thawing* umumnya pada suhu 30-40 °C selama 0,5- 5 menit.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Abinawanto et al. (2011) dengan menggunakan 189 M extender dan DMSO (5-17%), pada pembekuan di suhu -196 °C selama 24 jam dan *thawing* di suhu 30 °C selama 30 detik, diperoleh protokol terbaik yaitu pada penggunaan 189 M extender + 13% DMSO dengan angka motilitas, viabilitas dan abnormalitas sebesar 68,58%; 63,5% dan 29%. Dalam penelitian lainnya, Abinawanto et al. (2012a) melaporkan hasil penelitian kriopreservasi pada gurami dengan menggunakan extender Ringer, 10% metanol dan susu skim (5-25%), diperoleh protokol terbaik pada kombinasi Ringer + 10% metanol + 15% susu skim yang mempertahankan nilai motilitas, viabilitas dan abnormalitas sebesar 80,98%; 84% dan 14%. Penelitian Abinawanto et al. (2012b) dengan menggunakan Ringer, 10% metanol dan sukrosa (0,1-0,9%) didapatkan protokol terbaik yang dapat meningkatkan motilitas, viabilitas dan abnormalitas, yaitu penambahan Ringer + 10% metanol + 0,5% sukrosa, dengan nilai sebesar 81,62%; 82,17% dan 12,50%. Selanjutnya, Abinawanto et al. (2015) juga telah melaporkan hasil penelitiannya, dengan menggunakan kombinasi Ringer dan gliserol (1-9%) yang menunjukkan bahwa Ringer + 5% gliserol sebagai protokol terbaik yang dapat meningkatkan persentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas, yaitu 75,95%; 75,5% dan 14,83%.

Pada penelitian Abinawanto dan Putri (2017) menggunakan kombinasi larutan Ringer, 5% gliserol dan air kelapa (21-29%), menunjukkan bahwa penggunaan protokol Ringer + 5% gliserol + 25% air kelapa sebagai protokol terbaik yang mempertahankan motilitas, viabilitas, abnormalitas sperma, dengan nilai 80,36%; 82% dan 10%. Pada hasil penelitian Abinawanto et al. (2017b) dengan menggunakan Ringer, 10% DMSO dan madu (0,1-0,9), diperoleh protokol dengan nilai motilitas, viabilitas dan abnormalitas terbaik yaitu pada kombinasi larutan Ringer + 10% DMSO + 0,7% air kepala, dengan nilai sebesar 80,48%; 74,83% dan 28,25%. Berdasarkan hasil penelitian pada sperma ikan gurami, dapat disimpulkan bahwa protokol

terbaik yang dapat diterapkan dalam kriopreservasi sperma ikan gurami adalah protokol [Abinawanto et al. \(2012b\)](#), pada proses pembekuan selama 48 jam pada suhu $-34\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan proses *thawing* selama 2 menit pada suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Nilem (*Osteochilus hasseltii*) atau (*Osteochilus vittatus*)

Osteochilus hasseltii atau telah direvisi menjadi *Osteochilus vittatus* dikenal dengan nama lokal nilem sedangkan di Aceh dikenal dengan nama seurukan. Ikan nilem atau seurukan merupakan salah satu ikan *native* di Indonesia dan beberapa negara di kawasan Asia Tenggara. Ikan ini termasuk dalam famili Cyprinidae ([Froese dan Pauly, 2020](#)). Seurukan atau nilem telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai ikan konsumsi ([Sunarma et al., 2007](#)), dimana teknologi pembenihan dan budidayanya sudah cukup berkembang ([Muchlisin et al., 2014](#); [Zulhardi et al., 2016](#); [Adami et al., 2016](#); [Mayana et al., 2017](#)). Namun demikian, pelestarian dan peningkatan produksi ikan nilem perlu dilakukan mengingat jumlahnya yang semakin menurun di alam. Musim pemijahan pada ikan nilem, hanya terjadi pada musim penghujan sehingga kebutuhan benih ikan ini tidak tersedia di setiap waktu ([Fujaya, 2004](#)). Salah satu upaya yang dapat ditempuh untuk menghadapi masalah tersebut adalah dengan penerapan metode kriopreservasi ([Muthmainnah et al., 2018](#)).

Penelitian terkait kriopreservasi sperma ikan nilem telah dilaporkan oleh [Sunarma et al. \(2007\)](#); [Sunarma et al. \(2008\)](#) dan [Muthmainnah et al. \(2018\)](#). Adapun bahan extender dan krioprotektan yang digunakan dalam kriopreservasi sperma nilem, yaitu Ringer ([Sunarma et al., 2008](#) dan [Muthmainnah et al., 2018](#)) sebagai extender, DMSO (5%-15%) ([Sunarma et al., 2007](#); [Sunarma et al., 2008](#) dan [Muthmainnah et al., 2018](#)), metanol (5-15%) ([Sunarma et al., 2007](#); [Sunarma et al., 2008](#)), glukosa ([Sunarma et al., 2008](#)), madu ([Sunarma et al., 2007](#)), kuning telur (5%) ([Muthmainnah et al., 2018](#)) sebagai krioprotektan dan glutathion (0,1-0,5%) ([Muthmainnah et al., 2018](#)) sebagai antioksidan. Proses pembekuan umumnya dengan menggunakan suhu $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 7-15 hari sedangkan proses *thawing* dilakukan pada suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 15 detik hingga 3 menit.

Penelitian [Sunarma et al. \(2007\)](#) pada penggunaan madu, DMSO (5%-15%), metanol (5-15%), dengan proses pembekuan selama 15 hari pada suhu $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan di *thawing* selama 15 detik pada suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, berdasarkan hasil penelitiannya diperoleh bahwa kombinasi madu + 15% DMSO sebagai protokol terbaik yang dapat meningkatkan angka motilitas dan *hatching rate* sebesar 66% dan 89%. Selanjutnya, pada penelitian yang lain dengan menggunakan kombinasi

Ringer, glukosa, DMSO (5%-15%) dan metanol (5-15%), [Sunarma et al. \(2008\)](#) melaporkan bahwa kombinasi Ringer + 10% DMSO sebagai protokol terbaik dalam meningkatkan angka motilitas dan *hatching rate* tertinggi, yaitu 90% dan 50%, pada pembekuan selama 7 hari pada suhu $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan *thawing* selama 15 detik pada suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pada penelitian [Muthmainnah et al. \(2018\)](#), dengan menggunakan extender Ringer, DMSO (15%), kuning telur (5%) dan glutathion (0,1-0,5%), pada proses *freezing suhu* $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 15 hari dan proses *thawing* suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 3 menit, hasil penelitian menunjukkan bahwa protokol terbaik yaitu pada penambahan Ringer + 15% DMSO + 5% kuning telur + 0,5 mg glutathion yang dapat mempertahankan motilitas 45,74%, fertilitas 51,33% dan *hatching rate* 40,33%. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada kriopreservasi sperma ikan nilem, dapat disimpulkan bahwa protokol terbaik merujuk kepada penelitian yang dilakukan oleh [Sunarma et al. \(2007\)](#) dengan memperoleh nilai *hatching rate* tertinggi dari protokol lain yang diuji.

Depik (*Rasbora tawarensis*)

Ikan Depik merupakan spesies endemik di Indonesia yang termasuk ke dalam famili Cyprinidae ([Muchlisin et al., 2010b](#); [Froese dan Pauly, 2020](#)). Ikan ini hidup di Danau Laut Tawar, Aceh Tengah, Provinsi Aceh ([Muchlisin dan Siti-Azizah., 2009b](#)). Berdasarkan status IUCN depik dikategorikan dalam daftar merah spesies ikan hampir punah dalam kategori *Critical Endangered*. Penelitian terkait bioekologi ikan depik sudah didokumentasikan dan telah direview oleh [Muchlisin et al. \(2018\)](#). Penelitian terkait kriopreservasi sperma ikan depik juga telah dilaporkan oleh [Muchlisin et al. \(2020\)](#) dengan menggunakan Ringer sebagai extender dan DMSO (5%), kuning telur (2,5%-5%) sebagai krioprotektan. Proses pembekuan sperma ikan depik dilakukan dengan menggunakan suhu $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 15 hari dan proses *thawing* dilakukan pada suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi 5% DMSO + 5% kuning telur memiliki persentase motilitas dan fertilitas tertinggi (61,00% dan 55,95%) sedangkan kombinasi 5% DMSO memiliki persentase *hatching rate* tertinggi (59,61%) dibanding perlakuan lain yang diuji.

Kawan (*Poropuntius tawarensis*)

Ikan kawan merupakan ikan endemik di Indonesia yang termasuk ke dalam famili Cyprinidae ([Froese dan Pauly, 2020](#)). Ikan ini hanya dapat dijumpai di Danau Laut Tawar, Aceh Tengah, Provinsi Aceh ([Muchlisin dan Siti-Azizah, 2009b](#)). Status IUCN melaporkan bahwa ikan kawan telah termasuk dalam Daftar Merah IUCN sebagai spesies ikan yang

terancam punah sehingga diperlukan program konservasi untuk menjaga ketersediaan spesies ini (Wargasasmita, 2002). Penelitian mengenai kriopreservasi sperma ikan kawan telah dilakukan oleh Muthmainnah et al. (2019) dengan menggunakan Ringer sebagai extender dan DMSO (3-15%), kuning telur (5%) sebagai krioprotektan. Proses pembekuan sperma ikan kawan dilakukan dengan menggunakan suhu -196 °C selama 2 minggu dan *thawing* pada suhu 38 °C selama 5 menit. Protokol terbaik yang dapat mempertahankan kualitas sperma yaitu kombinasi Ringer + 5% Kuning telur + 6% DMSO yang meningkatkan angka motilitas, fertilitas dan *hatching rate*, secara berturut-turut adalah 46,67%; 45,67% dan 19,33%.

Ikan batak (*Tor soro*)

Ikan batak atau ikan semah merupakan ikan air tawar asli Indonesia yang termasuk ke dalam famili Cyprinidae (Froese dan Pauly, 2020). Ikan batak tersebar di beberapa daerah di Indonesia seperti Jawa, Kalimantan, dan Sumatera (Rumondang, 2017), sedangkan di Aceh ikan ini disebut ikan keureling dan tersebar luas di sunga-sungai berair deras (Muchlisin dan Siti-Azizah, 2009b) dan merupakan salah satu ikan air tawar yang bernilai ekonomi tinggi (Muchlisin, 2013). Konservasi sperma ikan batak atau ikan keureling perlu dilakukan, mengingat jumlah populasinya yang semakin menurun di alam, yang disebabkan oleh *overfishing* dan kerusakan habitat (Muchlisin et al., 2015b). Penelitian kriopreservasi sperma ikan batak telah dilaporkan oleh beberapa peneliti diantaranya, Zairin et al. (2005); Alifiani et al. (2020); Fatriani et al. (2020); Harjanti et al. (2020); Laeni et al. (2020); Pamungkas et al. (2020); Putri et al. (2020); Vardini et al. (2020); Wulandari et al. (2020).

Bahan yang umum digunakan dalam kriopreservasi sperma ikan batak adalah Ringer (Zairin et al., 2005; Alifiani et al., 2020; Fatriani et al., 2020; Harjanti et al., 2020; Laeni et al., 2020; Pamungkas et al., 2020; Putri et al., 2020; Vardini et al., 2020; Wulandari et al., 2020) sebagai extender, metanol (10%) (Alifiani et al., 2020; Fatriani et al., 2020; Harjanti et al., 2020; Laeni et al., 2020; Pamungkas et al., 2020; Putri et al., 2020; Vardini et al., 2020; Wulandari et al., 2020), gliserol (5-10%) (Zairin et al., 2005), DMSO (5-10%) (Zairin et al., 2005), susu skim (5-25%) (Harjanti et al., 2020), kurma (5-25%) (Alifiani et al., 2020), madu (5-25%) (Putri et al., 2020), kuning telur (5-25%) (Vardini et al., 2020; Laeni et al., 2020), kuning telur bebek (5-25%) (Wulandari et al., 2020) dan *brown sugar* (5-25%) (Fatriani et al., 2020) sebagai krioprotektan. Proses pembekuan umumnya dilakukan pada -10 °C hingga -196 °C, selama 2-8 hari sedangkan proses *thawing* dilakukan pada suhu 37-40

°C selama 0,5-1 menit. Zairin et al. (2005) melaporkan hasil penelitiannya dengan menggunakan larutan Ringer, gliserol (5-10%), DMSO (5-10%), proses *freezing* (-196 °C, selama 8 hari) dan *thawing* (37 °C selama 30 detik), adapun protokol terbaik yang diperoleh adalah campuran larutan Ringer + 10% DMSO dengan persentase motilitas yaitu 83,33%.

Beberapa penelitian yang menggunakan proses *freezing* dan *thawing* pada suhu dan waktu yang sama yaitu pada suhu -10 °C selama 48 jam atau 2 hari (*freezing*) dan suhu 40 °C selama 1 menit (*thawing*), adapun protokol terbaik dari masing-masing penelitian tersebut adalah sebagai berikut. Alifiani et al. (2020) dengan menggunakan extender Ringer, 10% metanol dan kurma (5-25%), melaporkan hasil terbaik yaitu pada penggunaan protokol Ringer + 10% metanol + 10% kurma yang dapat mempertahankan viabilitas sperma sebesar 80,75%. Pada penelitian Fatriani et al. (2020) dengan penggunaan Ringer, 10% metanol dan susu soybean (5-25%), hasil terbaik yang diperoleh dapat mempertahankan kualitas sperma pasca *thawing* dengan nilai motilitas tertinggi, yaitu 84,37% dengan menggunakan protokol Ringer + 10% metanol + 5% susu soybean.

Harjanti et al. (2020) juga melakukan penelitian pada ikan batak dengan menggunakan kombinasi berbeda, yaitu larutan Ringer, 10% metanol dan susu skim (5-25%), hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penggunaan Ringer + 10% metanol + 10% susu skim dapat mempertahankan kualitas sperma pasca *thawing* dengan nilai motilitas dan fertilitas tertinggi, yaitu 82,90% dan 91,25%. Penelitian lainnya oleh Laeni et al. (2020) kombinasi Ringer dengan 10% metanol dan kuning telur (5-25%) diperoleh bahwa protokol terbaik, pada kombinasi Ringer + 10% metanol + 10% kuning telur, dengan nilai motilitas 85,10%. Pamungkas et al. (2020) mengkombinasikan Ringer dengan 10% metanol dan *brown sugar* (5-25%), hasil yang diperoleh Ringer + 10% metanol + 15% *brown sugar* sebagai protokol terbaik dalam meningkatkan nilai viabilitas pasca *thawing* sebesar 83,75%. Penelitian yang dilakukan oleh Putri et al. (2020) dengan menggunakan Ringer, 10% metanol dan madu (5-25%), diperoleh kombinasi terbaik yaitu pada penambahan Ringer + 10% metanol + 5% madu dengan nilai motilitas 85,92%. Hasil penelitian Vardini et al. (2020) dengan kombinasi Ringer, 10% metanol dan kuning telur (5-25%), diperoleh hasil terbaik, yaitu menggunakan protokol Ringer + 10% metanol + 5% kuning telur dengan nilai motilitas sebesar 84,06%. Penelitian Wulandari et al., (2020) menggunakan kombinasi Ringer, 10% metanol dan kuning telur bebek (5-

25%), diperoleh protokol terbaik dalam penelitiannya, yaitu Ringer + 10% metanol + 10% kuning telur bebek. Berdasarkan berbagai penelitian yang telah dilakukan pada ikan ini, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat 2 protokol terbaik yang dapat mempertahankan kualitas sperma *Tor.soro* pasca *thawing* yaitu pada penelitian Zairin et al. (2005) dan Harjanti et al. (2020), sehingga dapat dijadikan sebagai acuan dalam proses kriopreservasi ikan batak.

Kerapu kertang (*Ephinephelus lanceolatus*)

Kerapu kertang merupakan salah satu jenis ikan air laut *native* di Indonesia yang termasuk ke dalam famili Serranidae (Froese dan Pauly, 2020). Kerusakan habitat dan *overfishing* dalam kurun waktu 20 tahun terakhir menjadi penyebab berkurangnya populasi ikan ini di alam (Man dan Ng, 2006). Metode kriopreservasi dapat dijadikan metode alternatif dalam upaya *breeding* dan *restocking*, sehingga dapat mempertahankan populasi ikan kerapu di alam (Pratiwi et al., 2019).

Penelitian kriopreservasi sperma *E. lanceolatus* telah dilaporkan oleh beberapa peneliti diantaranya, Afni et al. (2019); Pratiwi et al. (2019); Sudrajat et al. (2019); Widyaningsih et al. (2019). Bahan extender dan krioprotektan yang umum digunakan yaitu *Marine Fish Ringer* (MFR) (Afni et al., 2019; Pratiwi et al., 2019; Sudrajat et al., 2019; Widyaningsih et al., 2019) sebagai bahan extender dan gliserol 6% (Afni et al., 2019; Pratiwi et al., 2019; Sudrajat et al., 2019; Widyaningsih et al., 2019), susu *soybean* 5-25% (Afni et al., 2019), susu skim 5-25% (Sudrajat et al., 2019), kurma 5-25% (Widyaningsih et al., 2019), kuning telur 5-25% (Pratiwi et al., 2019) sebagai krioprotektan. Proses pembekuan sperma *E. lanceolatus* dilakukan pada suhu -20 °C selama 48 jam dan di *thawing* pada suhu 45 °C selama 0,5-10 menit. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Afni et al. (2019) dengan menggunakan MFR yang ditambahkan dengan 6% gliserol dan *soybean* dengan konsentrasi yang berbeda (5-25%) pada pembekuan selama 48 jam pada suhu -20 °C dan di *thawing* selama 1 menit pada suhu 45 °C, diperoleh protokol yang memberikan hasil terbaik, yaitu pada penambahan MFR + 6% gliserol + 15% *soybean* dengan perolehan angka motilitas sebesar 81,17%.

Beberapa penelitian lainnya dengan menerapkan proses *freezing* dan *thawing* dengan suhu dan waktu yang sama, yaitu pada -20 °C selama 48 jam atau 2 hari (*freezing*) dan suhu 45 °C selama 0,5 menit (*thawing*). Pratiwi et al. (2019) dengan menggunakan extender MRF, 6% gliserol dan kuning telur (5-25%), melaporkan hasil terbaik pada penambahan MRF + 6% gliserol + 15% kuning telur dengan perolehan nilai motilitas 83,64%. Sudrajat et al. (2019) dengan

mencampurkan MFR dengan 6% gliserol dan susu skim (5-25%) melaporkan hasil terbaik yang didapat adalah penggunaan protokol MRF + 6% gliserol + 20% susu skim yang meningkatkan angka motilitas 80,51%. Penelitian Widyaningsih et al. (2019) dengan mengkombinasikan MRF dengan 6% gliserol dan kurma (5-25%), didapatkan bahwa hasil terbaik yang dapat mempertahankan kualitas sperma pasca *thawing*, yaitu penambahan MRF + 6% gliserol + 10% kurma dengan nilai motilitas 76,70%. Berdasarkan hasil penelitian pada sperma *E. lanceolatus*, protokol terbaik yang dapat digunakan dalam kriopreservasi sperma *E. lanceolatus* merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi et al. (2019) dengan angka motilitas yang lebih tinggi dibanding protokol lainnya.

Kesimpulan

Kriopreservasi sperma ikan-ikan asli Indonesia masih perlu ditingkatkan untuk menjaga kekayaan biodiversitas Indonesia, hal ini penting mengingat ancaman kepunahan spesies ikan lokal Indonesia semakin meningkat. Saat ini hanya tersedia 10 protokol kriopreservasi sperma ikan asli (*native*) Indonesia, sebagian besar adalah ikan air tawar, jumlah tersebut masih sangat minim berbanding jumlah ikan yang dimiliki Indonesia.

Referensi

- Abinawanto, M. D. Bayu, R. Lestari, A. Sonarman. 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.
- Abinawanto, I. Anindita, R. Lestari. 2012a. Cryopreservation of spermatozoa of *Osphronemus goramy* fish using skim milk. *International Journal of Engineering and Innovation Technology*, 2(5): 62-64.
- Abinawanto, N. khairani, R. Lestari. 2012b. The effect if sucrose on sperm quality of *Osphronemus goramy* two days post-cryopreservation. *International Journal of Aquatic Science*, 3 (1): 23-28.
- Abinawanto, S. Rahayu, R. Lestari. 2013. Cryopreservation of Java Barb (*Barbonymus gonionotus*) using egg yolk as a cryoprotectant. *Global Veterinaria*, 10: 318-321.
- Abinawanto, N. Fitrianingrum, R. Lestari, A. Sudaryono, R. Rostika, Y. Fujaya. 2015. The Intracellular Cryoprotectant Effects in Preserving Goramy Spermatozoa after Two Days Sub-Zero Freezing. *Aquacultura Indonesiana*, 16 (1): 16-21.
- Abinawanto, Zuraida, R. Lestari. 2016. The effect of skim milk combined with 5% of methanol on motility, viability, and abnormality of Java barb, *Barbonymus gonionotus* spermatozoa after 24 hours freezing. *AAAL Bioflux*, 9 (2): 326-333.
- Abinawanto, A., Aisyah, A. 2017a. The effect of glycerol on sperm quality of (*Barbonymus gonionotus* Bleeker, 1850) postcryopreservation. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences*, 2017. American Institute of Physics, United States, pp. 020164-1-020164-4.
- Abianawanto, A., I. A. Pratiwi, Lestari, R. 2017b. Sperm motility of giant gourami (*Osphronemus goramy*, Lacepede, 1801) at several concentrations of honey combined with DMSO after short-term storage. *AAAL Bioflux*, 10 (2): 156-163.

- Abinawanto, P. E. Putri. 2017. Goramy spermatozoa quality after sub-zero freezing: The role of coconut water as the cryoprotectant. *Cell Biology and Development*, 1 (1): 1-5.
- Abinawanto, R. Wulandari, Z. A. Muchlisin. 2018. Effect of egg yolk on the spermatozoa quality of the botia *Chromobotia macracanthus* (Bleeker, 1852) (Cyprinidae) after short-term cryopreservation. *AAAL Bioflux*, 11 (6): 1737-1744.
- Adami, Y., N. Fadli, N., Nurfadillah, K. Eriani, Z. Jalil, Z.A. Muchlisin. 2016. A preliminary observation on the effect of sperm extenders on the fertilization and hatching rates of seourukan fish (*Osteochilus vittatus*) eggs. *AAAL Bioflux*, 9(2): 300-304.
- Afni, R. T., A. Abinawanto, R. Lestari, A. Bowolaksono, N. G. Zavitri. 2019. Spermatozoa Motility of Giant Grouper (*Epinephelus lanceolatus*) 48 Hours: The Role of Soybean Milk as a Cryoprotectant. *Proceedings of the 4th International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences*, 2018. American Institute of Physics, United States, pp. 020092-1–020092-6.
- Agarwal, N. K. 2011. Cryopreservation of fish semen. *Himalayan Aquatic Biodiversity Conservation and New Tools In Biotechnology*, 104-127.
- Alam, M.A., M.S.A. Akanda, and S. Alam. 2002. Comparison of genetic variability between a hatchery and a river population of Rohu (*Labeo rohita*) by allozyme electrophoresis. *Pakistan Journal of Biological Science*, 5(9): 959-961.
- Alifiani, D. P., Abinawanto, J. Subagia, A. H. Kristanto. 2020. Effect of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) on spermatozoa viability of kancra fish (*Tor soro* Valenciennes 1842) 48 hours post cryopreservation. *Proceeding of 2nd International Conference on Fisheries and Marine Science*, 2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 012067-1-012067-5.
- Bakhach, J. 2009. The cryopreservation of composite tissues: principles and recent advancement on cryopreservation of different type of tissues. *Organogenesis*, 5: 119–126.
- Barozha, D. L. 2015. The effect of honey to motility and viability Catfish (*Pangasius pangasius*) spermatozoa. *Journal Majority*, 4: 41-46.
- Batubara, A. S., Muchlisin, Z. A., D. Efizon, R. Elvyra, N. Fadli, M. Irham. 2018. Morphometric variation of the Genus *Barbonymus* (Pisces, Cyprinidae) harvested from Aceh waters, Indonesia. *Fisher and Aquatic Life*, 26: 231-237.
- Carolsfeld, J., Harvey, B., Godinho, H. P., Zaniboni-Filho, E. 2003. Cryopreservation of sperm in brazilian migratory fish conservation. *Fish Biology*, 63: 472–481.
- CBSG (Captive Breeding Specialist Group). 2003. Conservation Assessment and management plan for Sumatran threatened species. Apple Valley, MN: IUCN SSC Conservation Breeding Specialist Group.
- Chao, N. H., I. C. Liao. 2001. Current status and perspective of cryopreservation of sperm and blastomeres in fish. *Aquaculture*, 197: 161-189.
- Cuevas-Uribe R., T. R. Tiersch. 2011. Non-equilibrium vitrification: an introduction and review of studies done in fish, in: tiersch tr, green cc (eds) cryopreservation in aquatic species, 2nd edn, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
- Fatriani, R., Abinawanto, O. Z. Arifin, A. H. Kristanto. 2020. Sperm motility of kancra fish (*Tor soro*, Valenciennes 1842) after frozen: the effect of soybean milk as a natural cryoprotectant. *Proceeding of 2nd International Conference on Fisheries and Marine Science*, 2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 012066-1-012066-5.
- Froese R., Pauly, D. 2020. Fishbase (2018, February). In species 2000 and it is catalogue of life, 2020-02-24. Digital resource at www.catalogueoflife.org/col. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi ikan dasar pengembangan teknik perikanan edisi ke-1. Rineka Cipta, Jakarta.
- Gazali, M., Tambing, S. N. 2002. Kriopreservasi sel spermatozoa. *Hayati*, 9: 27-32.
- Harjanti, E. R., Abinawanto, O. Z. Arifin, A. H. Kristanto. 2020. The fertilization of Tor soro fish (Valenciennes, 1842) using post cryopreservation sperm: the effect of skim milk as a cryoprotectant. *Proceeding of 2nd International Conference on Fisheries and Marine Science*, 2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 012061-1-012061-6.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources). 2020. *The IUCN red list of threatened species version 2020-1*, <https://www.iucnredlist.org>. Accessed on March 19, 2020.
- Kopeika, E., Kopeika, J. 2008. Variability of sperm quality after cryopreservation in fish. *Fish spermatology*, Oxford: Alpha Science International, pp. 347-397.
- Kostaman, T., A. R. Setioko. 2011. Perkembangan penelitian teknik kriopreservasi untuk penyimpanan semen unggas. *Wartazoa*, 21: 145-152.
- Kottelat M., Whitten A. J., Kartikasari S. N., Wirjoatmodjo S. 1993. *Freshwater fishes of western Indonesia and Sulawesi*. Periplus Editions, Hong Kong.
- Kurniawan, I. Y., F. Basuki, T. Susilowati. 2013. Penambahan air kelapa dan gliserol pada penyimpanan sperma terhadap motilitas dan fertilitas spermatozoa ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Aquaculture Management and Teknologi*, 2: 51-56.
- Laeni, M., Abinawanto, J. Subagia, A. H. Kristanto. 2020. The effect of various concentration of quail egg yolk on spermatozoa motility of kancra fish (*Tor soro* Valenciennes, 1842) post cryopreservation. *Proceeding of 2nd International Conference on Fisheries and Marine Science*, 2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 012060-1-012060-5.
- Man C. S., W. C. Ng. 2006. *Epinephelus lanceolatus* IUCN Red List of Threatened Species 2006, www.iucnredlist.org. Accessed on April 24, 2020.
- Mangkunegara, A.A., S. H. Dwinanti, M. Syaifudin. 2019. Pemanfaatan madu sebagai bahan ekstender untuk kriopreservasi sperma ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 7(2): 123 – 134.
- Maria, A., P. Carneiro. 2012. Fish semen cryopreservation in Brazil: state of the art and future perspectives. *Ciencia Animal*, 22: 124–131.
- Martinez, P. S., P. Diogo, M. T. Dinis, M. P. Herraes, C. Sarasquete, E. Cabrita. 2012. Sea bass sperm freezability is influenced by motility variables and membrane lipid composition but not by membrane integrity and lipid peroxidation. *Animal Reproduction Science*, 131: 211-218.
- Maulidin, R., Z. A. Muchlisin, A.A. Muhammadar. 2016. Pertumbuhan dan Pemanfaatan Pakan Ikan Gabus (*Channa Striata*) Pada Konsentrasi Enzim Papain Yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 1(3): 280-290.
- Mayana, M., Z. A. Muchlisin, I. Dewiyanti. 2017. Pemanfaatan ekstrak bawang merah (*Allium cepa*) dalam pakan sebagai sumber prebiotik untuk benih ikan seourukan (*Osteochilus vittatus*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 1(1): 25-34
- Mazur, P. 1970. Cryobiology: the freezing of biological systems. *Science*, 168: 939-949.
- Moraes, C. N., J. P. Neves, P. B. D. Goncalves, J. F. C. Oliveira, C. M. Schweitzer. 1998. Etylene glycol for freezing ram semen in pellets. *Ciencia Rural*, 28: 287–292.
- Muchlisin, Z.A., R. Hashim, A.S.C. Chong. 2004. Preliminary study on the cryopreservation of tropical bagrid catfish *Mystus nemurus* spermatozoa: the effect of extender and cryoprotectant on the motility after short-term storage. *Theriogenology*, 62:25-37.
- Muchlisin, Z.A. 2005. Current status of extenders and cryoprotectants on fish spermatozoa cryopreservation. *Biodiversitas*, 6: 66-69.
- Muchlisin, Z.A. 2008. Ikan depik yang terancam punah. *Buletin Leuser*, 6(17): 9-12.
- Muchlisin, Z.A., M.N. Siti-Azizah. 2009a. Influence of cryoprotectants on abnormality and motility of baung (*Mystus nemurus*) spermatozoa after long-term cryopreservation. *Cryobiology*, 58: 166-169.
- Muchlisin, Z. A., Siti-Azizah, M. N. 2009b. Diversity and distribution of freshwater fishes in Aceh waters, Northern Sumatera, Indonesia. *International Journal of Zoological Research*, 5: 62-79.
- Muchlisin Z. A., N. Nadiya, W. N. Nadiyah, M. Musman, M., Siti-Azizah M. N. 2010a. Preliminary study on the natural extenders for artificial breeding of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *AAAL Bioflux*, 3(2):119- 124.
- Muchlisin, Z. A., M. Musman, M. N. Siti Azizah. 2010b. Length-weight relationships and condition factors of two threatened fishes,

- Rasbora Tawarensis* and *Poropuntius Tawarensis*, endemic to lake Laut Tawar, Aceh Province, Indonesia. *Journal of Applied Ichthyology*, 26: 949–953.
- Muchlisin, Z. A. 2013. Study on potency of freshwater fishes in Aceh waters as a basis for aquaculture and conservation development programs. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 13: 91-96.
- Muchlisin, Z.A., G. Arfandi, M. Adlim, N. Fadli, S. Sugianto S. 2014. Induced spawning of seurukan fish, *Osteochilus vittatus* (Pisces: Cyprinidae) using ovaprim, oxytocin and chicken pituitary gland extracts. *AAACL Bioflux*, 7(5):412-418.
- Muchlisin, Z.A. 2015. Refleksi kondisi perikanan aceh untuk menata dan menyongsong masa depan yang gemilang. Orasi Ilmiah Pengukuhan Guru Besar Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Muchlisin, Z.A., W.N. Nadiyah, N. Nadiya, N. Fadli, A. Hendri, M. Khalil, M.N. Siti-Azizah. 2015a. Exploration of natural cryoprotectants for cryopreservation of African catfish, *Clarias gariepinus*, Burchell 1822 (Pisces: Clariidae) spermatozoa. *Czech Journal of Animal Science*, 60 (1): 10–15.
- Muchlisin, Z.A., A.S. Batubara, M. N. Siti-Azizah, M. Adlim, A. Hendri, N. Fadli, A. A. Muhammadiyah, S. Sugianto. 2015b. Feeding habit and length weight relationship of keureling fish, *Tor tambra* Valenciennes, 1842 (Cyprinidae) from the western region of Aceh Province, Indonesia. *Biodiversitas*, 16(1): 89-94.
- Muchlisin, Z.A., I. Hasri, A.S. Batubara. 2018. A mini review on endemic and threatened fish *Rasbora tawarensis* in Lake Laut Tawar, Indonesia. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2016: 012045. doi:10.1088/1755-1315/216/1/012045.
- Muchlisin, Z. A., F. A. Dhea, K. Eriani, P. I. Sarah, H., Iwan, A. S. Batubara, Mustaqim. 2020. Effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) and egg yolk on sperm motility, fertility and hatching rate of depik *Rasbora tawarensis* (Pisces: Cyprinidae) eggs after short-term cryopreservation. *Aquaculture Research*, 51(4): 1700-1705.
- Murgas, L. D. S., V. O. Felizardo, E. S. Andrade, M. R. Ferreira, D. A. J. Paula, A. F. S. Carvalho. 2014. Cryopreservation of sperm in Brazilian migratory freshwater fish. *Intech Open*, Brasil.
- Muthmainnah, C. R. K. Eriani, I. Hasri, M. Irham, A. S. Batubara, Z. A. Muchlisin. 2018. Effect Of glutathione on sperm quality after short-term cryopreservation in seurukan fish *Osteochilus vittatus* (Cyprinidae). *Theriogenology*, 122: 30-34.
- Muthmainnah, C. R., K. Eriani, I. Hasri, N. Fadli, A. Abdullah, Muhammadiyah, Z. A. Muchlisin. 2019. Kriopreservasi sperma ikan kawan (*Poropuntius tawarensis*) menggunakan dimetil sulfoxide (DMSO). *Depik Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan*, 8: 158-166.
- Ng, H. H. 2012. *Hemibagrus nemurus* - The IUCN Red List of Threatened Species 2012. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012-1.RLTS.T180954A1681839.en>. Accessed on April 25, 2020.
- Ogbuewu, I. P., N. O. Aladi, I. F. Etuk, M. N. Opara, M. C. Uchegbu, I. C. Okoli, M. U. Iloeje. 2010. Relevance of oxygen free radicals and antioxidants in sperm production and function. *Research Journal of Veterinary Science*, 3: 138–164.
- Pamungkas, M. A. B., Abinawanto, O. Z. Arifin, A. H. Kristanto. 2020. The spermatozoa viability of kancra fish (*Tor soro*, Valenciennes 1842) 48-hour after freezing: effect of brown sugar as natural cryoprotectant. *Proceeding of 2nd International Conference on Fisheries and Marine Science*, 2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 012063-1-012063-5.
- Pratiwi, T. P., A. Abinawanto, R. Lestari, A. Bowolaksono, N. G. Zavitri. 2019. The Effect of Egg Yolk as Natural Cryoprotectant on Giant Grouper (*Epinephelus lanceolatus*) Spermatozoa Motility. *Proceedings of the 4th International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences*, 2018. AIP Conference Proceedings, 020091-1–020091-5.
- Putri, B. S. D., Abinawanto, O. Z. Arifin, A. H. Kristanto. 2020. Honey effect on sperm motility of kancra fish (*Tor soro* Valenciennes, 1842) after 48 hours freezing. *Proceeding of 2nd International Conference on Fisheries and Marine Science*, 2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 012062.
- Rumondang, A. M. 2017. Growth and mortality of tor fish (*Tor soro* valenciennes 1842) in asahan river. *International Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 2 (4): 23-26.
- Setyono, B. 2009. Pengaruh perbedaan konsentrasi bahan pada pengencer sperma ikan “skim kuning telur” terhadap laju fertilisasi, laju penetasan dan sintasan ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Gamma*, 5: 1-12.
- Sudrajat, A. K., A. Abinawanto, R. Lestari, A. Bowolaksono and N. G. Zavitri. 2019. The Combination Effect 6 % of Glycerol and Skim Milk on Spermatozoa Motility of Giant Grouper *Epinephelus lanceolatus* (Bloch 1970) After Frozen. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences*, 2017. AIP, United States, 020094-1-020094-5.
- Sunarna, A., D. W. B. Hastuti, D. M. Saleh, Y. Sistina. 2008. Kombinasi efektif ekstender dan krioprotektan pada kriopreservasi sperma ikan nilam (*Osteochilus hasseltii* Valenciennes, 1842). *Jurnal Perikanan*, 10(1): 76-84.
- Tawali A. B., M. K. Roreng, M. Mahendradatta, Suryani. 2012. Difusi teknologi produksi konsentrat protein dari ikan gabus sebagai food suplemen di Jayapura. *Proceeding di Ristek Insinas*, pp. 23-27.
- Tiersch, T. R. 2011. Introduction to the second edition. in: tiersch tr, green cc (eds) cryopreservation in aquatic species, 2nd edition. *World Aquaculture Society*, Baton Rouge, Louisiana.
- Thinh, D. V., Van, N. S., Nguyen, T. H. T. 2012. *Barbonymus gonionotus* - The IUCN red list of threatened species 2012. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012-1.RLTS.T166914A1151554.en>. Accessed on November 08, 2016.
- Vardini, N., Abinawanto, J. Subagja, A. H. Kristanto. 2020. The spermatozoa motility of kancra fish (*Tor soro* Valenciennes, 1842) after the frozen process: the application of egg yolk as a cryoprotectant. *Proceeding of 2nd International Conference on Fisheries and Marine Science*, 2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 012065-1-012065-5.
- Viveiros, A. T. M., H. P. Godinho. 2009. Sperm quality and cryopreservation of Brazilian freshwater fish species: a review. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 137–150.
- Viveiros, A. T. M., L. H. Orfao, A. F. Nascimento, F. M. Correa, D. Caneppele. 2012. Effects of extenders, cryoprotectants and freezing methods on sperm quality of the threatened brazilian freshwater fish Pirapitinga-Do-Sul *Brycon opalinus* (Characiformes). *Theriogenology*, 78: 361–368.
- Wargasasmita. 2002. Ikan air tawar endemik Sumatera yang terancam punah. *Jurnal Ikhtiologi Indonesia*, 2(2): 41-49.
- Widyaningsih, W., A. Abinawanto, R. Lestari, A. Bowolaksono, N. G. Zavitri. 2019. Effect of Various Concentrations of Palm Date (*Phoenix dactylifera* L.) on Spermatozoa Motility of Giant Grouper (*Epinephelus lanceolatus*). *Proceedings of the 4th International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences*, 2018. AIP Conference Proceedings, 020093-1-020093-5.
- World Conservation Monitoring Centre. 1992. *Global Biodiversity: Status of the earth's living resources*. Chapman and Hall, London.
- Wulandari, P D., Abinawanto, J. Subagja, A. H. Kristanto. 2020. Viability of Tor fish spermatozoa (*Tor soro*, Valenciennes 1842) 48-hours cryopreservation: the effects of duck egg yolk as a natural cryoprotectant. *Proceeding of 2nd International Conference on Fisheries and Marine Science*, 2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 012102-1-012102-5.
- Zairin, M. S. Handayani, I. Supriatna. 2005. Kualitas sperma ikan batak (*Tor soro*) hasil kriopreservasi semen menggunakan dimetil sulfoxida (DMSO) dan gliserol 5, 10 dan 15%. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 4(2): 145–15.
- Zulhardi, Z., Z.A. Muchlisin, S. Purnawan. 2016. Pengaruh umur zigot pada saat kejutan panas terhadap keberhasilan ginogenesis ikan seurukan (*Osteochilus vittatus*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 1(3): 291-297.

How to cite this paper:

Maulida, S., F. M. Nur, K. Eriani, Z.A. Muchlisin. 2020. Tinjauan kepustakaan tentang pengembangan kriopreservasi sperma ikan asli Indonesia. *Depik Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan*, 9(2): 141-150.