

JURNAL

**PENGARUH hCG (Human chorionic gonadotropin) DENGAN DOSIS
BERBEDA TERHADAP OVULASI DAN PENETASAN TELUR IKAN SIBAN
(*Osteochilus hasselti*)**

OLEH

DESI INDRIYANI MANALU



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2020**

**PENGARUH hCG (Human chorionic gonadotropin) DENGAN DOSIS
BERBEDA TERHADAP OVULASI DAN PENETASAN TELUR IKAN SIBAN
(*Osteochilus hasselti*)**

Oleh :

**Desi Indriyani Manalu¹⁾, Sukendi²⁾, Nuraini²⁾
Laboratorium Pembenihan dan Pemuliaan Ikan
Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Riau
Email : desiindri1996@gmail.com**

ABSTRAK

Penelitian dilakukan pada April - Juni 2019 di Laboratorium Pembenihan dan Pemuliaan Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh hCH (Human chorionic gonadotropin) Dengan Dosis Berbeda Terhadap Ovulasi Dan Penetasan Telur Ikan Sibian (*Chyclocheilichtys apogon*) dan Untuk Mengetahui Dosis Terbaik Untuk Merangsang Ovulasi dan Penetasan Telur Ikan Sibian (*Cyclocheilichtys apogon*). Perlakuan Yang digunakan Adalah : PO Control Menggunakan NaCl 0,9%. P1: hCG 1000 IU/Kg. P2: hCG 1200 IU/Kg. P3: hCG 1400 IU/Kg. Hasil terbaik dari perlakuan ini diperoleh pada perlakuan P₂ : penyuntikan menggunakan hCG 1200 IU/Kg Menghasilkan rata-rata waktu laten 6 jam 18 menit, menghasilkan telur sebanyak 60 butir/g, Derajat pembuahan 78,36%, Derajat Penetasan 73,80% dan Kelulushidupan 74,79%. Pengukuran kualitas air yaitu: Suhu 27-30⁰C, DO 5,2-6,6 ppm, dan pH 5-7.

Kata Kunci : Hormon hCG, Pembuahan. Kelulushidupan, *Cyclocheilichtys apogon*.

¹⁾ Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

²⁾ Dosen Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

THE EFFECT hCG (Human chorionic gonadotropin) TO OVULATION AND HATCHING OF FISH EGG OF SIBAN (*Cyclocheilichthys apogon*)

By:

Desi Indriyani Manalu¹⁾, Sukendi²⁾, Nuraini²⁾
Fish Hatchery and Breeding Laboratory
Faculty of Fisheries and Marine
University of Riau
Email: desiindri1996@gmail.com

ABSTRACT

This research was conducted from April to Mei 2019 an the Hatchery and fish breeding Laboratory, Faculty of Fisheries and Marine, Riau University. The aims of this research was to know the effect of hCG (Human Chorionic Gonadotropin) pituitary gland injected with different dose on ovulation and survivaln rate of Siban (*Cyclocheilithys apogon*) and To find the best dose ot the pituitary gland to stimulate ovulation and survivaln rate of Siban (*Cyclocheilithys apogon*). The treatment used is as follows : PO Control using NaCL 0,9 %. P1 : hCG with dose 1000 IU/kg. P2 : hCG with dose 1200 IU/kg. P3 : hCG with dose 1400 IU/kg. The best result of the research is P2: Injection of hCG with dose 1200 IU/kg weight of test fish the with an average latent time 6 hours and 18minutes, amount eggs(items)/g 60 items,Fertilization Rate 78,36 % Hatching Rate 73,80 %, Survival Rate (SR) 74,79 % Water quality measurements range from: temperature 27-30⁰C, DO 5,2-6,6 ppm, and pH 5-7.

Keywords : Hormon hCG, Ovulation, Survival Rate, *Cyclocheilichthys apogon*

- ¹⁾ Student of Aquaculture Depertement, Fisheries and Faculty, University of Riau
²⁾ Lecturer of Aquaculture Depertement, Fisheries and Faculty, University of Riau

PENDAHULUAN

Ikan Sibian (*Cyclocheilichthys apogon*) merupakan sumberdaya perikanan yang hidup diperairan umum di daerah Riau yang berpotensi untuk dikembangkan karena banyak dijumpai di Sungai Kampar. Tingginya tingkat pemanfaatan ikan diperairan umum dikhawatirkan akan menyebabkan kepunahan populasi (Pramono dan Marnani, 2009), termasuk populasi ikan Sibian (*Cyclocheilichthys apogon*).

Langkah awal dalam usaha pembenihan tersebut dapat dimulai dengan mengembangkan pembenihan ikan (breeding program), baik melalui teknik reproduksi alami maupun teknik reproduksi buatan. Kemudian keberhasilan pembenihan bukan saja ditentukan oleh kualitas telur yang dihasilkan oleh induk betina, tetapi juga ditentukan oleh kualitas sperma yang dihasilkan oleh induk jantan. Untuk itu perlu melibatkan usaha budidaya yang lebih maju dengan melibatkan teknologi, yaitu menggunakan hormon, baik hormon sintesis maupun hormon yang diekstrak dari hipofisis.

Human chorionic gonadotropin (hCG) adalah hormon gonadotropin yang merupakan sel-sel sintesa tropblas dari plasenta yang identik dengan Folicle stimulating hormon (FSH) pada air seni wanita hamil. Secara fisiologis berperan hanya untuk pematangan gonad, sehingga bila ikan-ikan yang berTKG rendah diberi suntikan dengan FSH akan dapat matang lebih cepat. Sedangkan untuk merangsang ovulasi diperlukan Luteinizing hormon (LH) yang dibutuhkan dalam jumlah kecil karena

hanya berperan pemecahan lapisan folicle oosit yang telah matang gonad untuk segera terjadi ovulasi (Matty, 1985).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan hCG pada ikan Sibian (*Cyclocheilichthys apogon*) belum pernah dilakukan oleh karena itu penulis ingin melakukan penelitian pengaruh dosis hCG terhadap ovulasi dan penetasan telur ikan Sibian (*Cyclocheilichthys apogon*).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Juni 2019 di Laboratorium Pembenihan dan Pemuliaan Ikan Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru.

Ikan uji yang digunakan adalah induk ikan Sibian (*Cyclocheilichthys apogon*) betina dan jantan. Ikan yang digunakan sebanyak 12 ekor. Induk ikan Sibian yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari sungai Kampar di desa penyasawan. Zat perangsang yang digunakan adalah ovaprim dan oksitosin.

Zat perangsang yang digunakan dalam penelitian ini adalah Hormon hCG. Larutan pembuahan berguna untuk melihat kematangan telur (inti telur yang menepi), Larutan transparan terdiri dari komposisi sebagai berikut alkohol 95 % sebanyak 85 cc, formaldehid sebanyak 10 cc, asam asetat sebanyak 5 cc.

Alat yang digunakan adalah bak fiber, baskom, tapisan santan, mikroskop olympus CX21, kamera digital, spluit (volume 1 ml), perlengkapan aerasi, timbangan analitik, DO meter, pH indikator,

termometer, tangguk, bulu ayam, dan mangkuk kecil.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan 4 taraf perlakuan dan 3 kali ulangan dengan Perlakuan yang digunakan sebagai berikut :

P₀ = Ikan uji yang disuntik dengan larutan Fisiologis NaCl 0,9% (terkontrol)

P₁ = Ikan uji disuntik hCG dengan dosis 1000 IU/Kg ikan uji

P₂ = Ikan uji disuntik hCG dengan dosis 1200 IU/KG ikan uji

P₃ = Ikan uji disuntik hCG dengan dosis 1400 IU/KG ikan uji

Air yang digunakan untuk penelitian ini adalah air yang berasal dari air sumur bor laboratorium pembenihan dan pemuliaan ikan (PPI), yang sebelum digunakan terlebih dahulu diendapkan selama 3 hari sambil diberi aerasi. Wadah yang digunakan untuk pemeliharaan induk berupa bak fiber berukuran 120x80x40 cm dan wadah yang digunakan untuk inkubasi yaitu baskom plastik dengan diameter 30cm.

Kemudian ikan uji dipuasakan sehari sebelum penyuntikan, tujuannya agar hormon yang di suntikkan memberikan efek yang lebih baik dan untuk mengosongkan lambung sehingga sedikit terbentuk feses yang akan mengganggu pada saat pengeluaran telur. Induk ditimbang, untuk menentukan dosis penyuntikan.

Penyuntikan pertama dilakukan pada pukul 21:00 WIB induk ikan yang sudah matang gonad kemudian ditangkap dan dipegang menggunakan

kain basah agar ikan tidak stres dan meloncat. Kemudian ikan disuntik dengan menggunakan hCG dengan dosis perlakuan. Penyuntikkan induk ikan betina dilakukan dua kali secara intramuscular pada otot punggung diatas gurat sisi dan dibawah sirip punggung bagian depan dengan kemiringan jarum suntik 45°. setelah disuntik ikan dikembalikan ke wadah akuarium.

Dilakukan penyuntikan kedua maka ikan uji dikembalikan ke wadah akuarium dan dibiarkan selama 6 jam untuk memberi waktu hormon bekerja dalam tubuh ikan uji. Setelah lebih kurang 6 jam selanjutnya dilakukan stripping terhadap ikan-ikan uji tersebut.

Stripping dilakukan dengan selang waktu 7-8 jam setelah penyuntikan kedua (Anggraini, 2015). Menurut uji pendahuluan stripping dilakukan 6-7 jam setelah penyuntikan kedua, sedangkan pada penelitian sesungguhnya 5-6 jam. Ikan uji dinyatakan ovulasi apabila dilakukan pengurutan (dengan memberikan tekanan yang halus sepanjang abdomen kearah genital) dan keluar telur ikan melalui lubang genitalnya. Pengurutan dihentikan apabila telur yang dikeluarkan bercampur darah

Pembuahan dilakukan secara buatan yaitu dengan mencampurkan telur dengan sperma, dimana telur diperoleh dari hasil pengurutan (*stripping*) diletakan dalam mangkok kecil yang kering dan sperma induk jantan ditampung pada wadah yang berbeda. Kemudian sperma dan telur dicampurkan dan diambahkan larutan pembuahan, selanjutnya diadakan menggunakan bulu ayam agar pembuahan terjadi secara merata.

Selanjutnya telur ditebar pada wadah yang airnya telah dilengkapi dengan aerasi.

Adapun parameter yang akan diukur dalam penelitian ini adalah waktu laten (jam), jumlah telur hasil striping (butir/angka pembuahan (%FR), angka penetasan (%HR) dan angka kelulushidupan (%SR₅ hari) dan pengukuran kualitas air.

Dari hasil penelitian diperoleh rata-rata waktu laten (jam), jumlah telur hasil striping (butir), nilai ovisomatik indeks (%), pertambahan diameter telur (mm) pertambahan kematangan telur (%) angka pembuahan (%FR), angka penetasan (%HR) dan angka kelulushidupan (%SR) pada ikan nilem (*Osteochilus hasselti*) dicantumkan pada tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Rata-Rata Waktu Laten (Jam), Jumlah Telur Hasil Striping (Butir), Angka Pembuahan (%FR), Angka Penetasan (%HR) Dan Angka Kelulushidupan (%SR) Pada Ikan Nilem (*Osteochilus Hasselti*)

Dosis hcG (IU/kg induk)	Waktu Laten (Jam, menit)	ΣTelur Hasil Striping (Butir/g Induk)	Derajat Pembuahan (%)	Derajat Penetasan (%)	Kelulushidupan Larva (%)
0	TO	TO	TO	TO	TO
1000	6.39±0.02	46±10.26	52.37±6.98	52,82±15,14	42,65±19,93
1200	6.18±0.04	60±16.52	78.36±1.22	73,80±12,19	74,79±16,43
1400	6.23±0.04	47±2.64	65.60±18.06	63,34±15,26	57,86±8,0

Waktu Laten

Dari hasil penelitian penyuntikan hormon hCG dengan dosis berbeda terhadap ikan Sibian (*Cyclocheilictys apogon*) menunjukkan waktu laten yang berbeda-beda pada setiap perlakuan. Rata-rata waktu laten tersingkat adalah pada P1200 IU/kg berat induk dengan rata-rata waktu laten 6 jam 18 menit, kemudian P1400 IU/kg berat induk dengan rata-rata waktu laten 6 jam 23 menit dan waktu laten terpanjang pada P1000 IU/kg berat induk dengan rata-rata waktu laten 6 jam 39 menit.

Adapun perlakuan P0 atau perlakuan kontrol tidak mengalami ovulasi.

P1200 IU/kg berat induk memberikan waktu laten tersingkat dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa dosis hCG 1200 IU/kg berat induk memberikan kontribusi yang lebih baik untuk waktu laten ikan Sibian (*Cyclocheilictys apogon*). Untuk mengalami ovulasi sel-sel telur harus mencapai tingkat kematangan tertentu, dosis 1200 IU/kg induk diduga mampu berkontribusi lebih baik mempercepat

proses kematangan akhir oosit dalam persiapan ovulasi. Perkembangan telur mencapai ovulasi diatur oleh hormon gonadotropin, yang dibentuk dan disimpan dalam kelenjar hipofisa dan dikeluarkan kedalam aliran darah. Gonadotropin yang sudah dilepaskan akan mencapai gonad dan merangsang proses preovulasi dan akhir ovulasi. Pemberian dosis hCG 1200 IU/kg induk mampu meningkatkan gonadotropin yang dilepaskan ke dalam darah lebih baik dari perlakuan lainnya sehingga proses ovulasi pada perlakuan P2 lebih cepat dan waktu laten yang dihasilkan juga lebih singkat. Oosit yang telah berkembang menjadi telur akan segera diovulasikan apabila telah mendapat rangsangan hormonal yang sesuai. Hal ini juga sesuai dengan Indira dalam Muhammad *et al*, (2001) yang menyatakan kemampuan ovulasi ikan sangat berkaitan dengan penggunaan dosis yang efektif untuk setiap spesies.

Terjadinya ovulasi pada P1000, P1200 dan P1400 menunjukkan bahwa gonadotropin yang terdapat dalam tubuh ikan uji ditambah dengan dosis hCG yang disuntikkan dapat merangsang perkembangan folikel menjadi matang sehingga induk dapat mengalami ovulasi. Sedangkan P0 (perlakuan kontrol) tidak mengalami ovulasi dikarenakan larutan NaCl yang disuntikkan pada induk ikan uji tidak mampu membantu pematangan akhir oosit karena tidak mengandung hormon gonadotropin sehingga ikan uji pada perlakuan P0 hanya mengandalkan hormon gonadotropin yang ada di dalam tubuh saja. Sedangkan gonadotropin sangat dibutuhkan dalam perkembangan telur mencapai ovulasi. Crim *et al dalam*

Waluyo (2009), rangsangan hormon yang diberikan pada ikan betina akan meningkatkan kadar hormon gonadotropin dalam penyeragaman waktu terjadinya ovulasi.

Menurut Sahoo *et al.*, (2005) bahwa dosis yang terlalu tinggi kemungkinan akan membuat telur yang matang gonad akan berlebih menerima hormon, sehingga proses ovulasi akan ditekan dan menyebabkan telur yang akan keluar lebih lama dibandingkan dengan telur yang disuntikkan dengan dosis yang tepat. Selanjutnya Indira dan Wibowo dalam Muhammad *et al.*, (2001) kemampuan ovulasi ikan sangat berkaitan dengan penggunaan dosis yang efektif untuk semua spesies.

Waktu laten pada penelitian ini cukup bervariasi antar perlakuan pada penelitian ini. Fenomena ini disebabkan oleh perbedaan kualitas induk pada setiap perlakuan, seperti tingkat kematangan gonad induk ikan, proses pengangkutan induk ikan, kesehatan dan stres yang dialami induk ikan siban (Arfah *et al.*, 2006)

Waktu laten yang diperoleh pada penelitian ini lebih singkat jika dibandingkan dengan penelitian (Adi, 2018) tentang pengaruh penyuntikan hCG terhadap ovulasi dan penetasan ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* CV) dosis terbaik yaitu P1200 IU/kg bobot tubuh menghasilkan waktu laten 6 jam 3 menit.

Jumlah Telur Hasil Striping (Σ THS)

Jumlah bahwa rata-rata jumlah telur hasil striping tertinggi dihasilkan pada P1200 IU/kg berat induk sebanyak 60 butir/gram induk, kemudian P1400 IU/kg berat induk

sebanyak 47 butir/gram induk dan yang terendah pada P1000 IU/kg berat induk) sebanyak 46 butir/gram induk.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan hormon yang lebih banyak tidak menjamin hasil yang lebih baik. Sutisna (2005) menyatakan tinggi rendahnya hormon gonadotropin yang masuk kedalam darah dapat menyebabkan kemampuan hormon gonadotropin untuk mengovulasikan telur menjadi terbatas.

Nilai jumlah telur hasil striping pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan pada penelitian Adi (2018) tentang pengaruh penyuntikan hCG terhadap ovulasi dan penetasan telur ikan komet (*Carassius auratus*) dengan dosis terbaik yaitu 900 IU/kg bobot tubuh menghasilkan jumlah telur sebanyak 219 butir telur. Kemudian Padria (2010) tentang pengaruh penyuntikan hCG dengan dosis terbaik yaitu 1200 IU/kg bobot tubuh ikan terhadap ovulasi dan penetasan telur ikan Pantau (*Rasbora aurotaenia*) menghasilkan jumlah telur sebanyak 225 butir/gram induk.

Derajat Pembuahan (FR)

Rata-rata angka pembuahan tertinggi adalah pada P1200 IU/kg berat induk dengan nilai 78,36%, kemudian P1400 IU/kg berat induk dengan nilai 65,60% dan yang terendah pada perlakuan P1000 IU/kg berat induk dengan nilai 52,37%.

Penggunaan hormon hCG tidak hanya mendorong induk untuk ovulasi saja, tetapi ada juga kaitannya dengan pembuahan telur. Perlakuan P1400 IU hCG/kg berat induk dan P1000 IU hCG/kg berat induk ternyata menghasilkan angka pembuahan yang menurun. Menurut Desnita (2003)

pembuahan akan bergantung pada kualitas telur yang ditebar, semakin baik kualitas telur ikan yang akan dipijahkan maka angka pembuahan juga akan tinggi, semakin tinggi tingkat kematangan telur ikan maka dapat mempertinggi daya fertilisasi pada telur ikan.

Derajat Penetasan (HR)

Rata-rata persentase penetasan telur ikan siban yang tertinggi terdapat pada P1200 dengan nilai sebesar 73,80%. Kemudian diikuti dengan P1400 dengan nilai sebesar 63,34%, dan sedangkan presentase terendah terdapat pada P1000 dengan nilai sebesar 52,81%.

Tingginya persentase derajat penetasan telur pada P1200 IU/Kg bobot tubuh ikan yaitu dengan nilai sebesar 73,80% dibandingkan dengan P1400 IU/Kg bobot tubuh ikan dan P1000 IU/Kg bobot tubuh ikan diduga karena mutu telur dan kualitas telur lebih baik serta angka pembuahan yang diperoleh juga lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Umumnya persentase penetasan ikan secara normal berkisar antara 50-80%. Rendahnya derajat penetasan telur ikan dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain: kualitas telur, kualitas air media penetasan (inkubasi). Kualitas telur dan kualitas air media penetasan (inkubasi) sangat menentukan keberhasilan proses penetasan telur. Kualitas telur yang baik dan didukung oleh kualitas air media yang memadai dapat membantu kelancaran pembelahan sel dan perkembangan telur untuk mencapai tahap akhir terbentunya embrio ikan.

Kelulushidupan Larva (SR₅ Hari)

Kelulushidupan ikan siban tertinggi selama 5 hari terdapat pada P1200 IU/Kg dengan nilai sebesar 74,79%, diikuti dengan P1400 dengan nilai sebesar 57,87%. Kemudian perlakuan persentase kelulushidupan ikan siban terendah terdapat pada perlakuan P1000 IU/Kg dengan nilai sebesar 42,65%.

Kualitas Air

Air merupakan media hidup organisme perairan dan merupakan faktor yang penting untuk diperhatikan agar dapat memberikan daya dukung untuk kehidupan organisme di dalamnya. Hasil pengukuran parameter kualitas air selama penelitian yaitu pada wadah pemeliharaan berkisar antara : suhu 27-29⁰C, DO 5,2-6,6 ppm, dan pH 5-6,8.

KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh Penyuntikan hormon hCG dengan dosis berbeda terhadap ovulasi dan penetasan pada ikan Siban (*Cyclocheilichthys apogon*). Dosis terbaik adalah P2 dengan dosis 1200 IU/Kg dengan rata-rata: waktu laten 6 jam 18 menit, rata-rata jumlah telur yang diovasikan 1597 butir, dengan rata-rata butir gram 60 butir/g. Kemudian (FR) sebesar 78,36%, daya tetas (HR) 73,80%, dan kelulushidupan larva 5 hari (SR) 74,79% dan suhu berkisar antara 27-30⁰C, pH 5-7 dan DO 5,2-6,6 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

Adi, A. 2018. Pengaruh Penyuntikan hCG Dengan Dosis yang

Berbeda Terhadap Ovulasi dan Penetasan Telur Ikan Komet (*Carrasius auratus*). Jurusan Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru. 70 hlm.

Anggraini, S. 2015. Pengaruh Penyuntikan sGnRH-a + Domperidon Dengan Dosis Berbeda terhadap Daya Rangsang Ovulasi, Mutu Telur dan Kualitas larva ikan Pawas (*Osteochilus haseelti* CV). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru. (Tidak diterbitkan)

Arfah, H. L. Maftucha dan O. Carman. 2006. Pemijahan Secara Buatan pada Ikan Gurame (*Oprhronemus gourami* Lac) dengan Penyuntikan Ovaprim. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 5(2) : 103-112.

Matty, A. J. 1985. Fish Endocrinology. Croohelm London & Sidney Timbers Press. Postland. Oregon. 35 hal.

Muhammad, H. Sanusi, dan H. Ambas. 2001. Pengaruh Donor dan Dosis Kelenjar Hipofisa Terhadap Ovulasi dan daya Tetas Telur Ikan Betok (*Anabas testudineus*). *Jurnal Sains dan teknologi*. Vol 3(3): 94 hal.

Padria, N. 2010. Pengaruh Dosis hCG (Human Chorionic Gonadotropin) Terhadap Ovulasi dan Penetasan Telur

- Ikan Pantau (*Rasbora arptaenia*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru. 50 hal (Tidak di terbitkan).
- Pramono, T. B dan S. Marnani. 2006. Pola Penyerapan Kuning Telur Dan Perkembangan Organogenesis Pada Stadia Larva Ikan Brek (*Puntius orphoides*). Program Sarjana Perikanan. Jurnal Ichtyos. Universitas Soedirman. 67 hal.
- Sahoo, S.K, S.S Giri and. K. Sahu. 2005. Effect on breeding performance and egg quality of (*Clarias batrachus* Linn) at various of ovatide during spawning inductions. Asian Fisheries Science. 83 hal.
- Sutisna, D. H. 2005. Pembenihan Ikan Air Tawar. 45 hlm.
- Waluyo, I. 2009. Mikrobiologi Lingkungan. Malang:UMM Press. 42 hal.
- .