

Penggunaan Minyak Biji Pala (*Myristica fragrans*, Houitt) Sebagai Bahan Anestesi Dalam Proses Pengangkutan Kualitas Spermatozoa Untuk Pemijahan Induk Ikan Nilem (*Osteochillus hasselti*, C.V.)

Sata Yoshida Srie Rahayu¹ dan Sanan Supriatna²
^{1,2)} FMIPA Universitas Pakuan, Bogor

ABSTRACT

Aquaculture of nilem fish needs parent and larvae. The good parent is available from research station with good facilities and management, so it can distribute to farmer by transportation. The important factors that should be notice in transportation process is usage of anaesthetic ingredients to exhilarate fish during transportation process. This research was used nutmeg bean oil contained of miristisin that able to exhilarate. The result of main research showed that the more nutmeg bean oil concentration the more fast nilem fish will be insensible, the lowest concentration (75 mg/l) sensible time of 97,11 minutes while the highest concentration (150 mg/l) showed insensible time of 10,13 minutes. The result of conscious time observation showed that 75 mg/l resulted conscious time of 17,5 second while 150 mg/l resulted concious time of 740 second. 150 mg/l concentration is the best concentration because it has the fastest insensible time of 10,13 minutes, the longest concious time of 740 second, has hatch value degree and the longest larvae-life and effective for exhilarate nilem fish. Nutmeg bean oil has influence towards sperm quality, but all of the treatments have the same effect (not significant) towards sperm quality, egg-impregnation degree, egg hatch and nilem fish larvae-life.

Keywords: *nutmeg bean oil, anaesthetic ingredients in delivery process, spermatozoa quality for spawning, nilem fish*

PENDAHULUAN

Ikan nilem (*Osteochilus hasselti*, C.V), adalah salah satu komoditas budidaya ikan air tawar yang terkonsentrasi di pulau Jawa, terutama di wilayah Priangan. Secara umum, budidaya ikan nilem saat ini masih bersifat tradisional, bahkan hanya berupa produk sampingan dari hasil budidaya ikan secara polikultur dengan ikan mas, mujaer atau nila dan gurame, sehingga hasil budidaya tidak optimal (Subagja dkk, 2007), sedangkan ikan nilem mempunyai potensi masa depan yang cukup baik. Kebutuhan benih yang baik diperoleh dari induk yang unggul. Induk yang unggul masih diperoleh dari balai-balai penelitian atau tempat budidaya ikan yang sudah memiliki fasilitas yang baik, sehingga untuk distribusi ke petani memerlukan transportasi. Transportasi yang biasa dilakukan masyarakat adalah dengan cara tertutup

dan cara terbuka. Ternyata dalam kegiatan transportasi termasuk penanganan pasca transportasi terjadi kematian yang sangat tinggi yaitu 30-40% (Dharma dkk, 2004).

Penggunaan bahan anestesi untuk mengurangi keaktifan ikan selama pengangkutan dengan media air telah banyak dilakukan, antara lain menggunakan MS₂₂₂, Benzocaine dan 2-Phenoxyethanol. Dari beberapa bahan kimia yang digunakan tersebut hanya MS₂₂₂ yang terdaftar secara resmi di USA dengan ketentuan digunakan 21 hari sebelum penjualan (Pratiwi, 2000). Hal tersebut dikhawatirkan bahan kimia tersebut dapat meninggalkan residu yang dapat membahayakan kesehatan. Adanya kendala tersebut maka dicari bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan anestesi yang dapat digunakan sebagai bahan anestesi dan diharapkan tidak menimbulkan efek negatif terhadap ikan selama anestesi. Beberapa senyawa yang

Penggunaan Minyak Biji Pala Sebagai Bahan Anestesi (Srie Rahayu dan Sanan)

diketahui dapat dipakai sebagai bahan anastesi antara lain ekstrak cairan biji karet, ekstrak algae laut genus *Caulerpa* dan biji pala (Pratiwi, 2000).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi bahan anastesi dengan menggunakan minyak biji pala dan penerapannya dalam pengangkutan sistem tertutup serta pengaruhnya terhadap kualitas sperma akibat pembiusan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam penggunaan bahan anastesi minyak biji pala untuk pengangkutan induk ikan nilam (*Osteochilus hasselti*, C.V.) sehingga dapat tetap menjaga kualitas spermatozoanya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Instalasi Riset Plasma Nutfah Perikanan Budidaya Air Tawar, Cijeruk Bogor. Bahan-bahan yang digunakan adalah 1. induk ikan nilam (*Osteochilus hasselti*, C.V) jantan dan betina yang telah matang gonad. Induk ikan nilam jantan yang digunakan memiliki bobot rata-rata 40 ± 5 g/ekor. Jumlah induk ikan nilam yang digunakan masing-masing sebanyak 56 ekor jantan dan 5 ekor betina. 2. Minyak biji pala yang digunakan merupakan produk tidak berlabel dan dibeli dari Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. 3. NaCl Fisiologis 0,9%, sebagai pengencer sperma ikan uji. 4. Oksigen. 5. Alkohol 70% sebagai pelarut bahan anastesi. 6. Aquades untuk membersihkan alat dan untuk pemijahan. 7. Ovaprim untuk merangsang ovulasi.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : 1. Mikroskop untuk mengamati motilitas sperma. 2. Akuarium ukuran $50 \times 40 \times 30 \text{ cm}^3$ untuk mencampurkan bahan anastesi. 3. Bak fiber kapasitas 1000 liter sebagai media simulasi transportasi. 4. Aerator, untuk mensuplai oksigen dari luar. 5. Timbangan elektronik merk ACIS dengan ketelitian 0,1 g untuk

menimbang bobot ikan dan bahan anastesi. 6. S spuit, untuk mengambil sperma ikan uji. 7. Plastik polyetilen ukuran $25 \times 50 \text{ cm}$, untuk wadah pengangkutan ikan uji. 8. Objek glass dan cover glass. 9. *Hemocytometer* untuk pengamatan motilitas sperma. 10. Stopwatch, untuk menghitung waktu induksi, waktu pulih sadar dan umur sperma ikan uji. 11. Mangkok, untuk mencampurkan telur dan sperma ikan uji. 12. Bulu ayam, untuk pengaduk sperma dan telur pada saat dilakukan proses pembuahan. 13. Blower, sebagai alat untuk simulasi pengangkutan penghasil guncangan.

Metode penelitian terdiri dari 2 tahap yaitu : 1. Penelitian Pendahuluan dilakukan untuk menentukan *median lethal concentration* (LC_{50}) dan konsentrasi minyak biji pala yang akan digunakan sebagai perlakuan pada penelitian utama. 2. Penelitian utama untuk mengetahui pengaruh minyak biji pala sebagai bahan anastesi terhadap kualitas spermatozoa untuk pemijahan induk ikan Nilam (*Osteochilus hasselti*, C.V) dengan konsentrasi yang berbeda.

Penelitian utama terdiri dari beberapa tahapan yaitu : persiapan, pelaksanaan dan penelitian efek penggunaan minyak biji pala (*Myristica fragrans*, Houtt) sebagai bahan anastesi dalam proses pengangkutan terhadap kualitas spermatozoa untuk pemijahan induk ikan nilam (*Osteochilus hasselti*, C.V).

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah : 1. Waktu Pingsan. 2. Lama Waktu Pulih Sadar. 3. Lama waktu pulih sadar dihitung ketika ikan uji dimasukkan dalam air segar sampai ikan sadar seperti keadaan normal. Lama waktu pulih sadar dihitung dengan menggunakan stopwatch. 4. Umur Sperma. 5. Umur sperma dihitung dari sperma mulai aktif bergerak sampai sperma tidak bergerak dengan menggunakan stopwatch di bawah mikroskop. 6. Motilitas spermatozoa ikan

Penggunaan Minyak Biji Pala Sebagai Bahan Anastesi (Srie Rahayu dan Sanan)

diidentifikasi berdasarkan kriteria penilaian motilitas sperma ikan. 7. Nilai derajat pembuahan dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Effendie, 1979).

$$\text{Derajat Pembuahan} = \frac{\text{Jumlah telur yang dibuahi}}{\text{Jumlah Total Telur}} \times 100\%$$

8. Nilai derajat penetasan dapat dihitung dengan rumus (Effendie, 1979).

$$\text{Derajat Penetasan} = \frac{\text{Jumlah telur yang menetas}}{\text{Jumlah Total Telur}} \times 100\%$$

9. Tingkat kelangsungan hidup dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Effendie, 1979).

Tingkat kelangsungan Hidup

$$= \frac{\text{Jumlah ikan pada akhir percobaan}}{\text{Jumlah ikan pada awal percobaan}} \times 100\%$$

Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap 4 kali untuk ulangan dan 4 perlakuan (Steel and Torrie 1991) dengan model sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Y_{ij} = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Rata-rata (nilai tengahrespon)

T_i = pengaruh perlakuan ke-i yang akan kita uji

E_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dengan ulangan ke-j

Uji lanjut menggunakan uji Duncan's.

Analisis statistik menggunakan program SPSS Ver.11,5.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan nilai ambang atas dan nilai ambang bawah. Berdasarkan hasil pengamatan dapat diketahui bahwa LC_{50} (Median Lethal Concentration) 24 jam yaitu 243,22 mg/l. Hasil pengamatan waktu pingsan ikan uji menunjukkan semakin Penggunaan Minyak Biji Pala Sebagai Bahan Anestesi (Srie Rahayu dan Sanan)

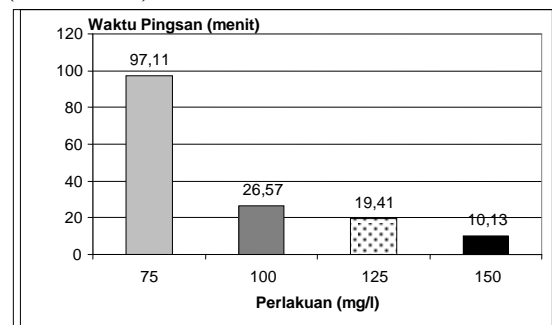
tinggi konsentrasi minyak biji pala maka semakin cepat waktu pingsan ikan uji.

Hasil pengamatan menunjukkan semakin tinggi konsentrasi minyak biji pala keadaan fisiologis ikan semakin terganggu. Semakin lama waktu dedah, ikan uji bergerak semakin lambat. Berdasarkan penelitian pendahuluan, diperoleh konsentrasi minyak biji pala yang akan digunakan pada penelitian utama yaitu sebesar 75 mg/l, 100 mg/l, 125 mg/l, dan 150 mg/l.

Penelitian utama menghasilkan waktu pingsan ikan nilem, waktu sadar ikan nilem, motilitas spermatozoa ikan nilem, umur sperma ikan nilem, derajat pembuahan, derajat penetasan dan kelangsungan hidup larva ikan nilem, seperti yang disampaikan berikut ini.

Waktu pingsan

Waktu pingsan merupakan waktu yang dibutuhkan ikan dalam keadaan normal sampai ikan mengalami pingsan (Gambar 1).

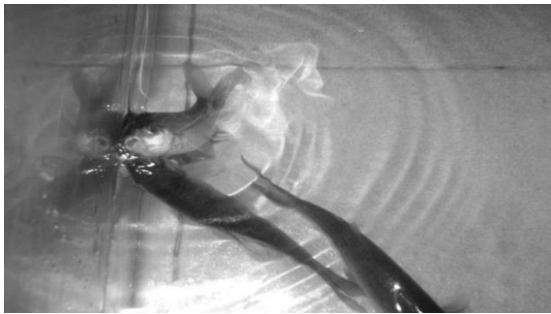


Gambar 1. Rata-rata Waktu Pingsan Ikan Nilem

Senyawa miristisin yang terkandung dalam minyak biji pala sebagai bahan pembius yang mudah larut dalam air dan lemak, maka proses difusi zat pembius tersebut ke dalam darah melalui insang terjadi sangat cepat. Masuknya bahan anestesi ke dalam sistem aliran darah akan disebarkan ke seluruh tubuh termasuk otak dan jaringan lainnya.

Bahan anestesi akan menghambat kerja enzim *sitokhrome* yang menyebabkan penurunan pasokan oksigen dan glukosa ke

otak. Kurangnya oksigen dalam jaringan otak menyebabkan ikan pingsan. Pada fase pingsan, konsumsi oksigen dari tiap individu ikan berada pada kadar dasar yang dibutuhkan ikan agar dapat hidup (Willford, 1970). Stadium pembiusan pada ikan dapat di lihat pada Gambar 2, Gambar 3, Gambar 4, dan Gambar 5.

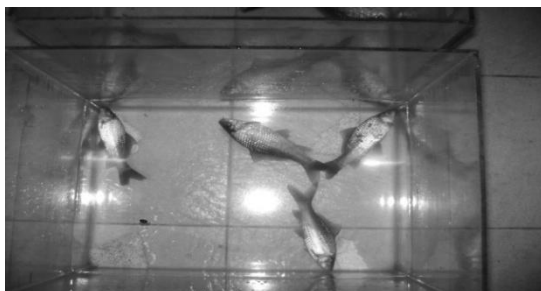


Gambar 2. Stadium 1 (Hilangnya reaksi terhadap rangsangan luar)



Gambar 3. Stadium 2 (sebagian keseimbangan hilang)

Keseimbangan tubuh ikan uji semakin cepat terganggu seiring dengan bertambahnya konsentrasi minyak biji pala. Hasil pengamatan menunjukkan semakin tinggi konsentrasi minyak biji pala keadaan fisiologis ikan semakin terganggu.



Gambar 4. Stadium 3 (seluruh keseimbangan hilang)

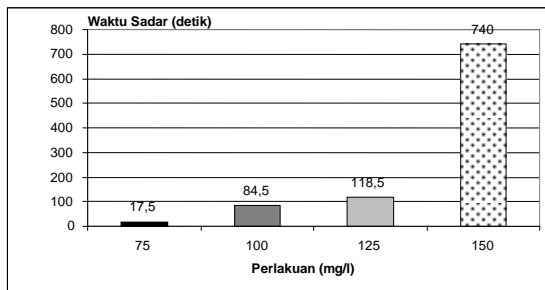


Gambar 5. Stadium 4 (pingsan)

Semakin lama waktu dedah, ikan uji bergerak semakin lambat. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak biji pala menyebabkan waktu pingsan ikan nilem semakin cepat. Hal ini dapat dilihat pada konsentrasi 75 mg/l waktu pingsan 97,11 menit yang lambat pingsannya dibandingkan konsentrasi 100 mg/l, 125 mg/l dan 150 mg/l sebesar 26,57 menit, 19,40 menit, 10,13 menit, ini diduga berkaitan dengan kecepatan bahan anastesi untuk berdifusi ke dalam tubuh yang menyebabkan terjadinya penyerapan bahan anastesi ke dalam aliran darah, dengan demikian maka semakin tinggi konsentrasi bahan anastesi semakin cepat hewan uji memberikan respon. Sebaliknya, difusi bahan pembius dengan konsentrasi rendah terjadi secara perlahan-lahan ke dalam tubuh melalui aliran darah sehingga respon pingsan lebih lama.

Waktu Sadar Ikan Nilem

Waktu sadar merupakan waktu yang dibutuhkan ikan dalam keadaan pingsan sampai ikan kembali dalam keadaan normal. Rata-rata waktu sadar ikan nilem dari berbagai konsentrasi minyak biji pala disajikan pada Gambar 6.



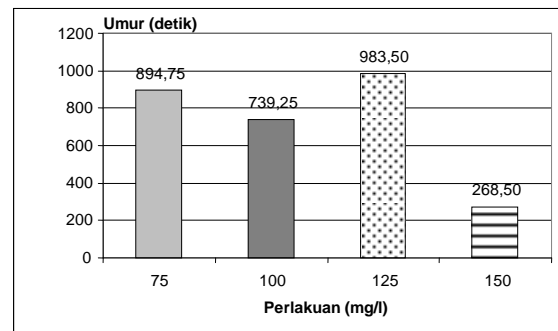
Gambar 6. Rata-rata Waktu Sadar Ikan Nilem

Hasil pengamatan menunjukkan semakin tinggi konsentrasi minyak biji pala semakin lambat waktu sadar ikan Nilem. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi dan mudah larutnya bahan anastesi minyak biji pala dalam air dan lemak maka semakin cepat dan banyak minyak pala yang masuk ke dalam sistem aliran darah yang kemudian akan disebar ke seluruh tubuh termasuk otak dan jaringan lainnya, sehingga membutuhkan waktu yang lama untuk mengembalikan tubuh ke keadaan normal kembali. Bahan anastesi akan menghambat kerja enzim *sitokhrome* yang menyebabkan penurunan pasokan oksigen dan glukosa ke otak. Kurangnya oksigen dalam jaringan otak menyebabkan ikan pingsan.

Penggunaan minyak biji pala dalam proses anastesi induk ikan Nilem dengan konsentrasi 150 mg/l merupakan konsentrasi terbaik dibandingkan dengan konsentrasi 75 mg/l, 100 mg/l dan 125 mg/l. minyak biji pala dengan konsentrasi 150 mg/l memiliki waktu pingsan 608 detik dan waktu pulih sadar paling lama yaitu 740 detik.

3. Umur Spermatozoa Ikan Nilem

Rata-rata umur spermatozoa ikan Nilem dari berbagai konsentrasi minyak biji pala disajikan pada Gambar 7.

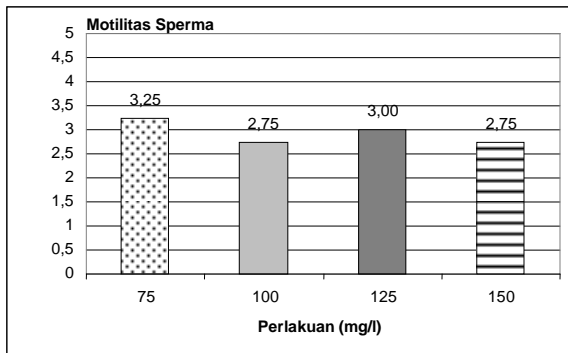


Gambar 7. Rata-rata Umur Spermatozoa Ikan Nilem

Lamanya spermatozoa motil dipengaruhi oleh umur dan kematangan spermatozoa, temperatur dan faktor-faktor lingkungan lain seperti ion-ion, pH dan osmolalitas. Sebagian besar spermatozoa ikan air tawar dapat motil tidak lebih dari 2-3 menit setelah bersentuhan dengan air (Fujaya, 2004). Hasil penelitian menunjukkan, bahwa umur spermatozoa terendah adalah 268,5 detik (4 menit 28 detik), hasil ini lebih besar dari hasil penelitian Fujaya (2004) yaitu spermatozoa ikan air tawar dapat motil tidak lebih dari 2-3 menit. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian minyak biji pala sebagai bahan anastesi tidak mempengaruhi umur spermatozoa ikan uji.

Motilitas Spermatozoa Ikan Nilem

Motilitas merupakan parameter paling umum yang digunakan untuk mengevaluasi kualitas sperma (Robert, 1995). Rata-rata motilitas ikan Nilem dari berbagai konsentrasi minyak biji pala disajikan pada Gambar 8. Berdasarkan pengamatan menunjukkan nilai motilitas spermatozoa tertinggi dari beberapa konsentrasi terdapat pada konsentrasi 75 mg/l.



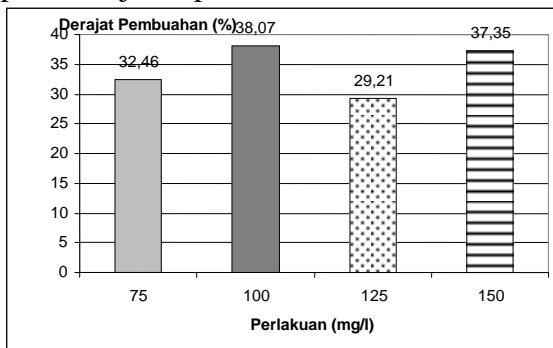
Gambar 8. Rata-rata Motilitas Spermatozoa Ikan Nilem

Rendahnya motilitas sperma diduga karena stress pada ikan setelah mengalami pengangkutan dan pemberian bahan anastesi pada proses pengangkutan, terutama pada ikan yang telah matang gonad. Menurut Pickering (1981) stress dapat berpengaruh negatif pada ikan yaitu mengurangi kekebalan tubuh, resistensi terhadap penyakit, mengurangi kualitas telur dan spermatozoa dalam viabilitasnya serta menghambat pertumbuhan.

Derajat Pembuahan Telur Ikan Nilem

Proses pembuahan pada ikan nilem bersifat monospermik, yaitu hanya satu sperma yang akan melewati mikrofil dan membuahi sel telur, dan setiap spermatozoa memiliki kesempatan yang sama untuk membuahi satu sel telur (Effendie, 1997).

Rata-rata derajat pembuahan ikan nilem dari berbagai konsentrasi minyak biji pala disajikan pada Gambar 9.

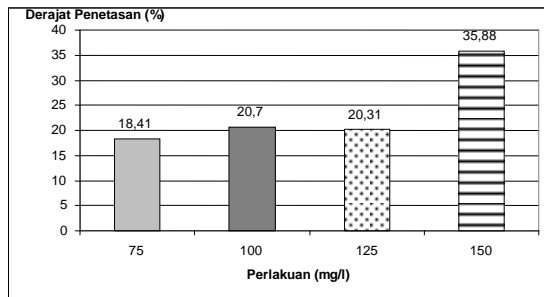


Gambar 9. Rata-rata Derajat Pembuahan Ikan Nilem

Keberhasilan fertilitas bukan saja ditentukan dari kualitas telur, tetapi juga ditentukan oleh kualitas spermatozoa. Berdasarkan pengamatan menghasilkan derajat pembuahan yang bervariasi sekitar 29,21 % - 38,07 %. Derajat pembuahan tertinggi rata-rata didapatkan pada perlakuan 100 mg/l. Rendahnya derajat pembuahan diduga karena motilitas yang rendah akibat stress pada ikan setelah mengalami pengangkutan dan pemberian bahan anastesi. Harvey dan Hoar (1979) dalam Pangestuningtyas (1993), menyatakan bahwa kemampuan membuahi sperma tidak hanya dipengaruhi motilitasnya saja, tetapi sperma yang sudah mulai berkurang motilitasnya hanya mempunyai waktu singkat untuk membuahi. Menurut Fowler (1999), akibat stress yang berlangsung lama berimplikasi pada penurunan keefektifan sistem imun, sistem syaraf dan endokrin di dalam tubuh. Lebih lanjut, dinyatakan bahwa stress dapat menimbulkan respon-respon yang tidak mempengaruhi kesejahteraan, kesenangan dan reproduksi hewan. Menurut Hawari (2001), stress dapat menimbulkan perubahan berbagai fungsi endokrin. Selye (1973) menjelaskan bahwa respon stress melibatkan sistem endokrin dalam hal pengaturan sistem tubuh oleh hipotalamus dan hipofisis, serta mempengaruhi hormon reproduksi.

Derajat Penetasan Telur Ikan Nilem

Hasil penelitian menunjukkan, bahwa semua perlakuan tidak menghasilkan perbedaan nyata ($P > 0,05$) untuk tingkat kelangsungan hidup benih ikan nilem. Kelangsungan hidup berkisar 18,41-35,88 %. Rata-rata derajat penetasan telur ikan nilem pada semua perlakuan disajikan pada Gambar 10. Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa rendahnya derajat penetasan telur dipengaruhi oleh motilitas sperma untuk membuahi sperma.

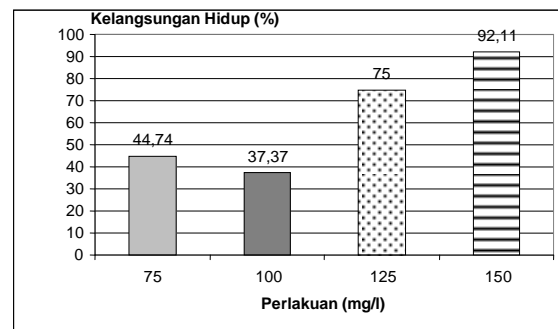


Gambar 10. Rata-rata Derajat Penetasan Ikan Nilem

Kualitas sperma tersebut dipengaruhi oleh kondisi stress pada ikan setelah mengalami pengangkutan dan pemberian bahan anastesi sehingga mengganggu reproduksi ikan tersebut. Menurut Tang dan Affandi (2002) semakin cepat embrio bergerak, maka akan semakin cepat terjadi penetasan. Motilitas yang rendah berakibat pada lambatnya penetasan telur, sehingga nilai derajat penetasan rendah. Rendahnya derajat penetasan telur disebabkan oleh kegagalan proses pembuahan, yaitu kemampuan spermatozoa untuk mencapai mikrofil sel telur, untuk mencapai mikrofil maka motilitas sperma haruslah tinggi. Rendahnya motilitas sperma akibat stress pada ikan mengakibatkan rendahnya derajat penetasan telur (Subroto, 1986).

Hasil penelitian nilai derajat penetasan menunjukkan konsentrasi 150 mg/l merupakan konsentrasi terbaik untuk derajat penetasan dibandingkan konsentrasi 75 mg/l, 100 mg/l dan 125 mg/l karena memiliki nilai derajat penetasan tertinggi yaitu 35,88 %.

7. Tingkat Kelangsungan Hidup Larva Ikan Nilem berkisar 37,37-92,11 %. Rata-rata tingkat kelangsungan hidup larva ikan Nilem pada semua perlakuan disajikan pada Tabel 13 dan Gambar 11. Kualitas sperma yang dihubungkan dengan kelangsungan hidup benih, merupakan hal yang sangat menarik untuk diteliti. Kualitas sperma dipengaruhi oleh karakteristik induk jantan, baik secara genetik, stres, kondisi, ukuran tubuh, masa bereproduksi dan dengan pengecualian pada faktor genetik,



Gambar 11. Rata-rata Kelangsungan Hidup Ikan Nilem

Rendahnya tingkat kelangsungan hidup disebabkan oleh faktor dalam dan faktor luar. Faktor dalam yaitu kemampuan ikan untuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya, kematian alamiah dan penyakit serta kualitas sperma untuk membuahi sel telur yang mengakibatkan kondisi larva yang tidak baik, sedangkan faktor luar adalah kualitas air. Motilitas merupakan parameter paling umum yang dipergunakan untuk mengevaluasi kualitas sperma (Robert, 1995). Data yang ada menunjukkan adanya korelasi positif antara kualitas sperma dan kelangsungan hidup larva. Rendahnya derajat kelangsungan hidup larva diduga karena kualitas sperma yang kurang baik, dapat dilihat dari motilitas yang rendah. Hal ini diduga karena kondisi ikan jantan yang menghasilkan sperma dalam kondisi stress setelah mengalami pengangkutan dan pemberian bahan anastesi dalam proses pengangkutan. Menurut Hopher dan Pruginin (1984), ikan-ikan yang masih berukuran benih akan lebih rentan terhadap penyakit dan penanganan yang kurang hati-hati dalam proses pemeliharaan dapat menurunkan tingkat kelangsungan hidup ikan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan minyak biji pala dalam proses anastesi induk ikan Nilem dengan konsentrasi 150 mg/l merupakan konsentrasi terbaik karena memiliki nilai kelangsungan hidup larva tertinggi yaitu

Penggunaan Minyak Biji Pala Sebagai Bahan Anastesi (Srie Rahayu dan Sanan)

92,11 % dibanding konsentrasi 75 mg/l, 100 mg/l dan 125 mg/l.

KESIMPULAN

1. Minyak biji pala mengandung senyawa miristisin yang dapat digunakan sebagai bahan pembius ikan.
2. Berdasarkan hasil analisis probit diperoleh nilai LC_{50} minyak biji pala terhadap ikan nilem (*Osteochilus hasselti*, C.V) pada pemaparan 24 jam adalah 243,22 mg/l.
3. Semakin tinggi konsentrasi minyak biji pala menyebabkan waktu pingsan ikan nilem semakin cepat, konsentrasi terendah (75 mg/l) waktu pingsan 97,11 menit sedangkan konsentrasi tertinggi (150 mg/l) menghasilkan waktu pingsan 10,13 menit. Sedangkan untuk waktu sadar semakin tinggi konsentrasi minyak biji pala semakin lambat waktu sadar ikan nilem, konsentrasi terendah (75 mg/l) waktu sadar 17,50 detik sedangkan konsentrasi tertinggi (150 mg/l) menghasilkan waktu sadar 740,00 detik.
4. Konsentrasi 150 mg/l merupakan konsentrasi terbaik karena waktu pingsan tercepat serta nilai derajat penetasan dan nilai kelangsungan hidup larva tertinggi. Minyak biji pala berpengaruh terhadap kualitas sperma.

DAFTAR PUSTAKA

- Dharma, L., Abdul, W., Zafril, I., dan Yosmaniar. 2004. *Penelitian Teknik Transportasi dan penanganan Pasca transportasi Ikan Betutu untuk Menekan Mortalitas*. Laporan Hasil Riset. Balai Riset Perikanan Budidaya air Tawar. Bogor. hlm. 209-215.
- Effendie, M.I. 1979. *Metode Biologi Perikanan*. Yayasan Dewi Sri. Bogor.
- Effendie, M.I. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusatama. Yogyakarta. 163 hlm.
- Fowler. M.E. 1999. *Zoo and Wild Animal Medicine*. Ed ke-4. W.B. Saunders Company. Philadelphia. hlm 34-35.
- Fujaya, Y. 2004. *Fisiologi Ikan*. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hlm.
- Hawari, D. 2001. *Manajemen Stres, Cemas dan Depresi*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. hlm 28-109.
- Hepher and Pruginin. 1984. *Commercial Fish Farming, with the Special Reference to Fish Culture in Israel*. Jhon Willey and Sons. New York. 261p.
- Pangestuningtias, J.W. (1993). *Study tentang Pengaruh Radiasi Sinar Ultra Violet dan Waktu Penyimpanan Sperma Ikan Mas (Cyprinus carpio L) Terhadap Persentase Pembuahan dan Persentase Penetasan Telur*. Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Pickering, A.D. 1981. *Stress and Fish*. Academic Press. London. 367 Pp.
- Pratiwi, T. 2000. *Pengkajian Pengaruh Pembiusan dengan Minyak Biji Pala pada Ikan Nila (Oreochromis niloticus) Gift dan Penerapannya dalam Pengangkutan*. Tesis. Program Studi Teknologi Pasca Panen. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Roberts, R. J. 1995. *Sperm Physiology and quality*. Dalam : *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Bromage, N. R (Eds). Institute of Aquaculture, University of Stirling. Scotland. hlm 25-52.
- Selye, H. 1973. *Studies on Adaptation*. *Endocrinology* 21. hlm 169-188.
- Steel, R. G. D., dan Torrie, J. H. 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Suatu Pendekatan Biometrik. Edisi II. Penerbit Gramedia. Jakarta. hlm.234 dan 688-702.
- Subagja, J., Rudhy, G., dan Hidayat, D. 2006. *Penentuan Dosis Hormon Steroid dan Teknik Pemberian untuk Feminisasi Ikan Nilem (Osteochilus hasselti C.V)*. Laporan Hasil Riset. Balai Riset

Penggunaan Minyak Biji Pala Sebagai Bahan Anestesi (Srie Rahayu dan Sanan)

- Perikanan Budidaya air Tawar. Bogor. hlm. 300-310.
- Subroto, N. 1986. Pengaruh temperature Terhadap Masa Inkubasi dan Derajat Penetasan Telur Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*). Fakultas Peternakan. Universitas Dipenogoro. 40 hlm.
- Tang, U. M. dan Affandi. 2002. *Fisiologi Hewan Air*. Unri Press. Pekan Baru. hlm 172-195.
- Willford, W.A. 1970. *Effect of MS-222 on Electrolyte and Water Content in the Brain of Rainbow Trout*. Us Bureau of Sport Fisheries and Wild Life Investigation in Fish Control.