

TINGKAT KEMATANGAN GONAD IKAN LEMPUK (*Gobiopterus* sp) DI RANU GRATI, PASURUAN, JAWA TIMUR

GONAD MATURITY LEVELS OF LEMPUK FISH (*Gobiopterus* sp) IN RANU GRATI LAKE, PASURUAN, EAST JAVA

**Septi Anitasari^{1*}, Uun Yanuhar¹, Abd Rahem Faqih², Ellana Sanoesi²
Surya Rahman Susilowati², Delfina Husniya Sansi²**

¹Program Studi Manajemen Sumber Daya Perairan , Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang

²Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang

* Korespondensi: septi.anitasari@ub.ac.id

ABSTRACT

Pasuruan Regency in East Java Province boasts a natural lake, Ranu Grati, formed by volcanic activity, covering about 50 hectares and home to endemic species Lempuk fish (*Gobiopterus* sp). These fish play a crucial role in Ranu Grati's trophic structure, serving as primary consumers and key planktonic organisms supporting higher trophic levels. The Lempuk fish population faces sustainability challenges due to high demand for this traditional food, leading to overexploitation and decreased reproductive capabilities. Understanding the reproductive biology, particularly gonad maturity levels, is vital for effective resource management. This aim of study to investigate the reproductive biology and gonad maturity levels of Lempuk fish in Ranu Grati. The study conducted from June to August 2023. Results showed revealed a male-biased sex ratio, with significant fluctuations in gonad maturity levels across months. In June, the sex ratio was 1.05, in July 1.17, and in August 1.39, indicating a higher population of males. Histological observations showed asynchronous egg development,

Keywords: *Lempuk Fish; Sex ratio; Gonad maturity levels*

ABSTRAK

Kabupaten Pasuruan di Provinsi Jawa Timur memiliki danau alami yaitu Ranu Grati yang terbentuk oleh aktivitas vulkanik dengan luas sekitar 50 hektar dan menjadi habitat bagi spesies endemik ikan Lempuk (*Gobiopterus* sp.). Ikan ini memainkan peran penting dalam struktur trofik Ranu Grati, berfungsi sebagai konsumen primer dan organisme planktonik kunci yang mendukung tingkat trofik yang lebih tinggi. Populasi ikan Lempuk menghadapi tantangan keberlanjutan karena tingginya permintaan untuk makanan tradisional ini sehingga menyebabkan eksploitasi berlebihan dan penurunan kemampuan reproduksi. Memahami biologi reproduksi, terutama tingkat kematangan gonad, penting untuk pengelolaan sumber daya yang efektif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji biologi reproduksi dan tingkat kematangan gonad ikan Lempuk di Ranu Grati. Penelitian ini dilakukan dari Juni hingga Agustus 2023. Hasil penelitian menunjukkan rasio jenis kelamin yang didominasi oleh jantan, dengan fluktuasi signifikan dalam tingkat kematangan gonad sepanjang bulan. Pada bulan Juni, rasio jenis kelamin adalah 1,05, pada bulan Juli 1,17, dan pada bulan Agustus 1,39, menunjukkan populasi jantan yang lebih tinggi. Pengamatan secara histologis menunjukkan perkembangan telur yang asinkron,

Kata kunci: Ikan Lempuk; Nisbah Kelamin; Tingkat Kematangan Gonad

I. PENDAHULUAN

Ranu Grati adalah danau vulkanik kecil, terletak di Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Danau ini terbentuk secara alami dari aktivitas vulkanik gunung berapi di sekitarnya. Memiliki bentuk seperti corong dan mengandung banyak sedimen mineral, yang menguatkan statusnya sebagai danau vulkanik, terbentuk akibat letusan gunung berapi. Danau ini memiliki luas sekitar 50 hektar dan menjadi habitat bagi organisme endemik (Dharmawan *et al.*, 2019).

Salah satu organisme endemik adalah ikan Lempuk (Anitasari *et al.*, 2024). Populasi mereka tersebar luas Ranu Grati. Secara ekologis, ikan Lempuk memainkan peran penting dalam struktur trofik Ranu Grati, berfungsi sebagai konsumen primer. Ranu Grati juga menjadi habitat bagi berbagai organisme planktonik, yang berperan penting dalam mendukung keberadaan organisme konsumen di tingkat trofik selanjutnya.

Ikan Lempuk adalah salah satu spesies ikan lokal dari Ranu Grati, yang menyerupai ikan teri dengan ukuran 2-3 cm. Ikan ini juga transparan dan berkembang biak secara alami tanpa intervensi manusia (Anitasari *et al.*, 2021).

Penangkapan ikan Lempuk yang terus menerus di Danau Ranu Grati, karena ikan Lempuk merupakan makanan tradisional di Kabupaten Pasuruan, telah menyebabkan peningkatan permintaan sehingga berdampak negatif pada keberlanjutan. Eksploitasi yang tidak terkendali terhadap ikan endemik ini telah mengakibatkan tekanan populasi dan penurunan kemampuan reproduksi. Sehingga untuk mengatasi situasi ini, perlu diterapkan strategi pengelolaan sumber daya untuk ikan Lempuk yang memastikan keberlanjutannya.

Ikan berkembang biak sebagai cara untuk melestarikan spesies mereka dan aspek reproduksi adalah elemen dasar dalam biologi ikan yang sangat penting untuk pengelolaan dan pemanfaatan sumber daya perikanan

secara berkelanjutan termasuk ikan Lempuk (*Gobiopterus* sp.). Reproduksi mereka dipengaruhi oleh banyak faktor. Proses pengamatan reproduksi ikan Lempuk mirip dengan ikan air tawar pada umumnya. Upaya pengelolaan yang efektif memerlukan informasi tentang biologi reproduksi, salah satunya adalah tingkat kematangan gonad. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji biologi reproduksi dan menentukan tingkat kematangan gonad pada ikan Lempuk.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan bulan Juni hingga Agustus 2023. Kegiatan dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama pengumpulan spesimen ikan Lempuk di Ranu Grati, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Tahap kedua meliputi diseksi, penyusunan slide histologi, dan pengamatan anatomi, morfologi, dan bagian jaringan di Laboratorium Hidrobiologi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Pengambilan sampel menggunakan rumpon yang ditempatkan di setiap stasiun penelitian berukuran 3x3 meter yang biasanya digunakan oleh nelayan untuk menangkap ikan. Pengambilan sampel dilakukan pada 5 stasiun disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Stasiun pengambilan sampel

Stasiun	Letak Geografis
A	7°43'28,8" S 113°46,4" T
B	7°43'30,0" S 113°30,2" T
C	7°43'48,2" S 113°41,6" T
D	7°43'39,5" S 113°26,2" T
E	7°43'36,6" S 113°16,4" T

Ikan yang didapatkan langsung diawetkan dengan menggunakan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) selanjutnya dibawa ke Laboratorium untuk dilakukan penghitungan jenis kelamin dan pembedahan gonad untuk

analisis kematangan gonad secara histologis.

Gonad ikan yang didapatkan dianalisis di laboratorium mengikuti langkah Tamizhazhagan dan Pugazhendy (2017), untuk persiapan histologi gonad, yang meliputi *fixation*, *dehydration*, *clearing*, *embedding* dan pengamatan jaringan. Pengamatan jaringan dilakukan menggunakan mikroskop *Inverted* pada perbesaran 100x dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*.

Untuk menentukan rasio jantan dan betina dalam populasi, metode statistik uji chi-square untuk menganalisis apakah rasio yang diobservasi berbeda secara signifikan dari rasio yang diharapkan. Menurut Zar (1999), uji chi-square frekuensi yang diobservasi dibandingkan dengan frekuensi yang diharapkan untuk analisis perbandingan dalam satu atau lebih kategori. Langkah pertama adalah menyusun hipotesis nol (H_0) yang menyatakan bahwa rasio jenis kelamin dalam populasi sesuai dengan rasio yang diharapkan (misalnya, 1:1), dan hipotesis alternatif (H_1) yang menyatakan bahwa rasio jenis kelamin berbeda dari yang diharapkan. Rumus untuk frekuensi yang diharapkan adalah: $E1=E2=(N/2)$, di mana: $E1$ adalah frekuensi yang diharapkan untuk jantan, $E2$ adalah frekuensi yang diharapkan untuk betina, N adalah total populasi.

Nilai yang dihasilkan dibandingkan dengan nilai kritis dari tabel chi-square pada tingkat signifikansi tertentu (misalnya, $\alpha = 0,05$). Jika nilai chi-square yang dihitung lebih besar dari nilai kritis, hipotesis nol ditolak, menunjukkan bahwa rasio jenis kelamin berbeda secara signifikan dari yang diharapkan. Sebaliknya, jika nilai yang dihitung lebih kecil atau sama dengan nilai kritis, hipotesis nol tidak ditolak, yang berarti tidak ada perbedaan signifikan dari rasio yang diharapkan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Rasio Jenis Kelamin

Tabel 2. Rasio jenis kelamin ikan Lempuk

Bulan	Jantan	Betina	Rasio
Juni	291	277	1,05
Juli	155	132	1,17
Agustus	469	337	1,39

Rasio jenis kelamin mengacu pada perbandingan antara jumlah ikan jantan dan betina dalam suatu populasi (Agin *et al.*, 2021). Rasio jenis kelamin ikan Lempuk jantan dan betina di lima titik berbeda disajikan dalam Tabel 2. Hasil analisis rasio jenis kelamin dalam tiga bulan pengambilan sampel ditemukan bahwa populasi ikan jantan lebih besar daripada betina.

Uji Chi-Square kemudian digunakan untuk menentukan apakah rasio jenis kelamin dalam populasi tersebut seimbang (1:1) atau tidak. Uji Chi-Square dilakukan dengan tingkat signifikansi 95% ($n-1$). Hipotesis yang diuji adalah H_0 , Rasio jenis kelamin = 1:1, H_1 : Rasio jenis kelamin \neq 1:1. Jika nilai Chi-Square (X^2) yang dihitung Jika nilai Chi-Square yang dihitung lebih kecil dari nilai tabel Chi-Square (X^2) ($hit < tab$), maka hipotesis nol (H_0) diterima dan hipotesis alternatif (H_1) ditolak. Sebaliknya, jika nilai Chi-Square yang dihitung lebih besar dari nilai tabel (X^2) ($hit > tab$), maka hipotesis alternatif (H_1) diterima dan hipotesis nol (H_0) ditolak.

Analisis Chi-Square (X^2) dilakukan dengan menggunakan $\alpha = 0,05$ dan nilai tabel $X^2 (0,05:1) = 3,841$. Hasil uji menunjukkan bahwa nilai X^2 yang dihitung untuk setiap bulan ditunjukkan dalam Tabel 3.

Uji Chi-Square untuk tiga bulan menghasilkan dua hasil yang berbeda. Pada bulan Juni dan Juli, $X^2 < X^2$ tabel ($hit < tab$), mengarah pada penerimaan H_0 , yang berarti rasio jenis kelamin ikan Lempuk betina terhadap jantan proporsional (1:1). Namun, pada pengambilan sampel ketiga pada bulan

Agustus, X^2 yang dihitung lebih besar dari X^2 tabel ($hit > tab$), mengarah pada penerimaan H_1 , yang berarti jenis kelamin ikan Lempuk betina terhadap jantan tidak proporsional

Tabel 3. Hasil uji chi-square rasio jenis

Bulan	X^2 yang dihitung
Juni	0,34507
Juli	1,843206
Agustus	9,646897

Perbedaan dalam hasil rasio jenis kelamin ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti iklim, musim kawin, dan kualitas air di Ranu Grati (Passos *et al.*, 2013). Populasi yang lebih tinggi dari ikan Lempuk jantan daripada ikan Lempuk betina sangat diduga dipengaruhi oleh musim kawin. Bulan Agustus diduga sebagai bulan pemijahan bagi ikan Lempuk. Hal ini mengakibatkan populasi ikan Lempuk jantan lebih tinggi daripada ikan Lempuk betina selama periode penelitian. Uji Chi-Square untuk rasio jenis kelamin pada bulan Agustus diharapkan terjadi hanya selama bulan pemijahan. Hal ini dimaksudkan untuk menghindari ketidakseimbangan

populasi antara ikan Lempuk jantan dan betina, yang berpotensi mengganggu sumber daya ikan Lempuk di Ranu Grati.

Tingkat Kematangan Gonad

Tingkat kematangan gonad mengacu pada tahapan-tahapan khusus perkembangan gonad sebelum dan setelah pemijahan. Tingkat kematangan gonad ikan Lempuk jantan dan betina ditentukan melalui pengamatan morfologis dan histologis (Anitasari *et al.*, 2024). Distribusi pengukuran tingkat kematangan gonad untuk ikan Lempuk jantan dan betina disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4 di bawah menunjukkan bahwa frekuensi ikan Lempuk jantan lebih tinggi dari dengan ikan Lempuk betina. Hal ini diharapkan karena bulan-bulan ini menandai awal musim pemijahan bagi ikan Lempuk. Rentang ukuran yang luas juga memengaruhi tingkat kematangan gonad. Berdasarkan tabel, terdapat hubungan proporsional antara panjang tubuh dan tingkat kematangan gonad ikan Lempuk. Peningkatan panjang ikan menunjukkan tingkat kematangan gonad yang lebih tinggi (Yanti *et al.*, 2023).

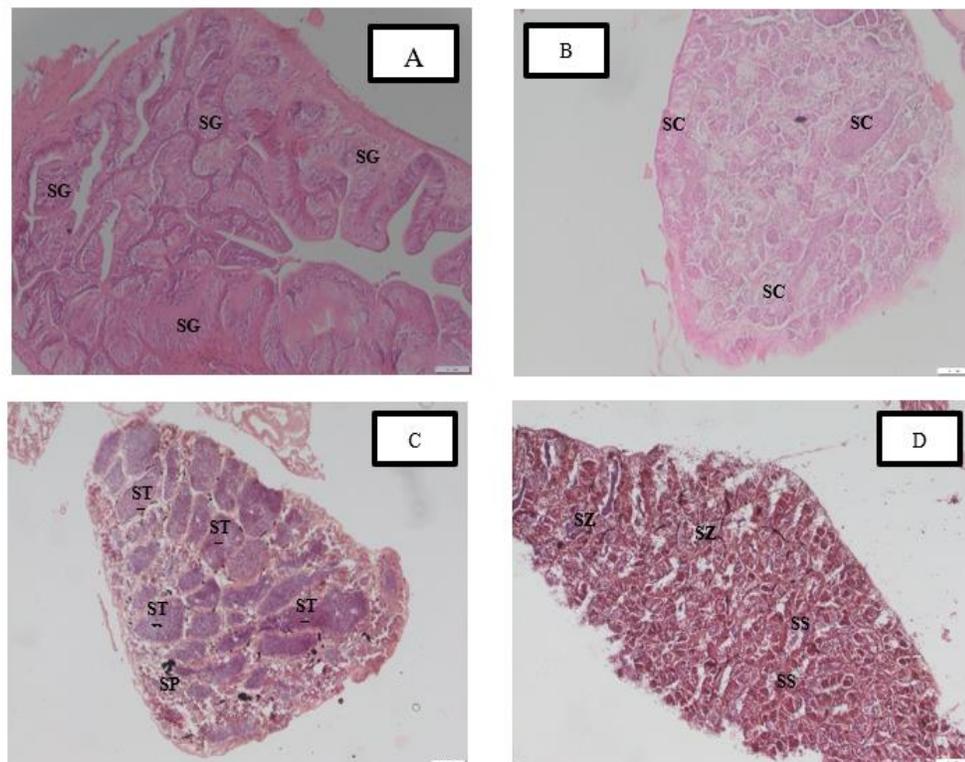
Tabel 4. Distribusi Tingkat Kematangan Gonad (TKG) ikan Lempuk

Bulan	TKG	Total ikan Jantan (n)	Rentang Ukuran Jantan (mm)	Berat Gonad Jantan (Gram)	Total ikan betina (n)	Rentang Ukuran Betina (mm)	Berat Gonad Betina (Gram)
Juni	I	98	11.21 - 15.22	0.0102 - 0.0152	49	12.13 - 16.48	0.0058 - 0.0108
	II	88	14.13 - 17.88	0.0138 - 0.0204	25	14.42 - 18.78	0.0088 - 0.0126
	III	35	17.42 - 20.18	0.0184 - 0.0218	78	17.33 - 20.68	0.0103 - 0.0164
	IV	49	18.34 - 21.19	0.0196 - 0.0231	103	18.88 - 21.05	0.0136 - 0.0186
	V	21	19.33 - 22.74	0.0202 - 0.0246	22	19.48 - 22.46	0.0169 - 0.0204
Juli	I	166	15.32 - 20.19	0.0052 - 0.0089	88	13.28 - 18.52	0.0038 - 0.0079
	II	106	17.66 - 20.98	0.0078 - 0.0112	119	17.44 - 20.36	0.0113 - 0.0138
	III	89	19.44 - 22.04	0.0102 - 0.0174	89	19.77 - 21.76	0.0131 - 0.0216
	IV	30	19.51 - 23.14	0.0125 - 0.0233	30	20.88 - 23.33	0.0154 - 0.0279
	V	78	20.11 - 25.42	0.0277 - 0.042	11	21.04 - 23.77	0.0266 - 0.057
Agustus	I	44	12.22 - 16.34	0.0062 - 0.0096	21	13.13 - 17.88	0.0022 - 0.0084
	II	42	13.29 - 17.91	0.0104 - 0.0142	47	17.52 - 20.12	0.0076 - 0.0122
	III	24	15.44 - 18.14	0.0123 - 0.0168	20	20.44 - 21.39	0.0096 - 0.0142
	IV	33	18.34 - 19.22	0.0125 - 0.0233	35	20.77 - 21.88	0.0108 - 0.0176
	V	12	19.34 - 21.39	0.0266 - 0.0313	9	21.54 - 23.49	0.0159 - 0.021

Ada dua faktor utama yang mempengaruhi kematangan gonad ikan, yaitu faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi spesies ikan dan regulasi hormonal, sedangkan faktor eksternal meliputi suhu, ketersediaan oksigen terlarut, tingkat kecerahan air, dan faktor lingkungan lainnya. (Astuti, 2019). Suwarso dan Sadhotomo (2017) menyebutkan bahwa tingkat kematangan gonad dapat digunakan untuk menentukan apakah sebuah ikan sudah siap untuk berkembang biak atau belum. Secara umum, ikan jantan mencapai kematangan gonad lebih awal daripada ikan betina.

Perbedaan tingkat pemijahan disebabkan oleh perbedaan geografis dan kondisi ikan (Brunel *et al.*, 2018). Kondisi geografis danau Ranu Grati, yang merupakan danau alami yang terbentuk oleh aktivitas

vulkanik, juga memengaruhi perkembangan gonad ikan Lempuk. Proses observasi tingkat kematangan gonad ikan Lempuk juga melibatkan observasi histologis. Hasil observasi histologis disajikan dalam Gambar 1 (jantan) dan Gambar 2 (betina). Data tingkat kematangan gonad sering kali menghadirkan klasifikasi seperti TKG I, TKG II, TKG III, dan TKG IV. Klasifikasi ini menunjukkan kondisi belum matang (TKG I), sedang berkembang (TKG II), hampir matang (TKG III), dan matang (TKG IV). Observasi TKG juga dilakukan melalui metode histologi gonad ikan. Observasi histologis dapat mengungkapkan karakteristik gonad ikan yang bervariasi pada semua tingkat kematangan gonad (TKG), mulai dari TKG I hingga TKG IV (Jatmiko *et al.*, 2015).



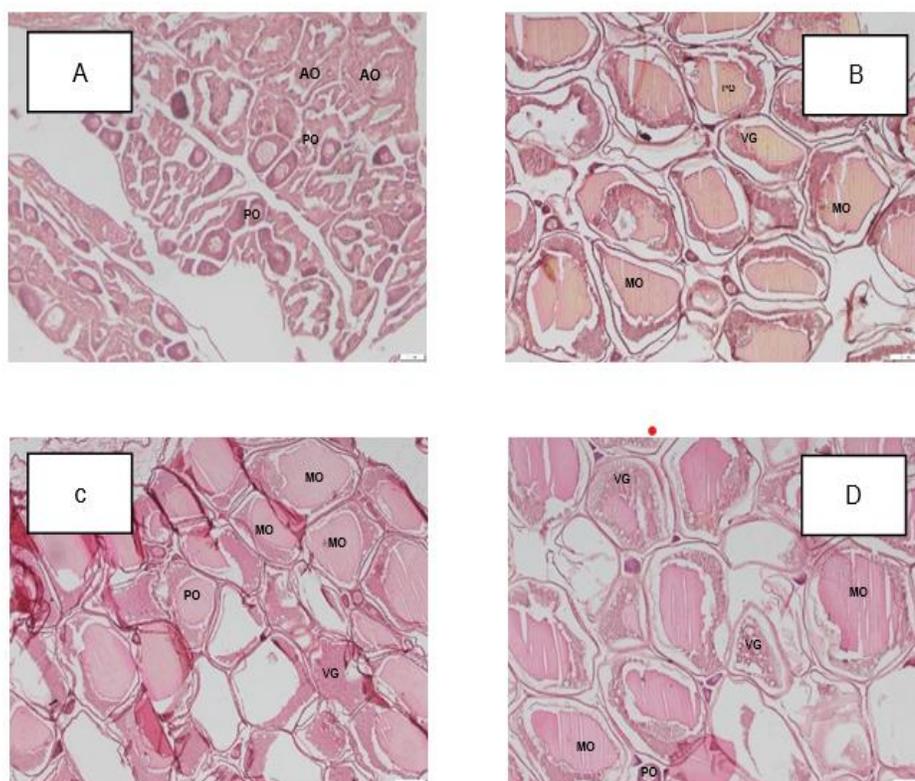
Gambar 1. Observasi histologis gonad pada ikan Lempuk jantan pada TKG I - TKG IV. SC, sel spermatogonium; SG, spermatogonium; SP, spermatosit primer; STD, Spermatid; SS, spermatosit sekunder; SZ, spermatozoa.

Pada TKG I ikan Lempuk jantan, folikel yang mengelilingi sel-sel sperma tidak terlihat dengan jelas. Sel-sel sperma pada TKG I masih belum matang, terlihat cerah. TKG II menunjukkan perkembangan sel yang lebih jelas. Spermatisit primer mulai muncul, dan butiran sel sperma menjadi lebih jelas. Pada TKG III, sel sperma mulai matang, dikelilingi oleh lingkaran folikel. TKG IV menunjukkan beberapa folikel kosong, menandakan bahwa sel sperma telah dibuahi. Pada TKG V, sel sperma kosong, menunjukkan bahwa pemijahan telah terjadi oleh kedua ikan Lempuk jantan dan betina.

Habibi *et al.* (2013), menyatakan bahwa terdapat dua jenis testis, yaitu testis tabung dan testis lobular. Testis tabung memiliki rongga di tengahnya yang berfungsi untuk

menyimpan spermatozoa, yang tergabung dalam struktur yang disebut spermatozeugma. Sementara itu, testis lobular memiliki struktur lobula yang dilapisi oleh sel-sel Sertoli, yang terbentuk dari jaringan ikat serat yang berasal dari kapsul testis.

Dalam lobula ini, spermatogonia mengalami pembelahan mitosis, menghasilkan kista spermatogonium dan restrukturisasi ikan Lempuk dari fase belum matang hingga matang (Yoshida, 2016). Ikan Lempuk memiliki testis tipe lobular, seperti yang terlihat dalam penelitian yang menunjukkan struktur sel lobula yang dilapisi oleh sel-sel Sertoli (Gambar 1). Pengamatan dilakukan pada struktur sel ikan Lempuk jantan dan betina.



Gambar 2. Pengamatan histologi gonad ikan Lempuk (*Gobiopterus sp.*) betina TKG I— TKG IV. PO, Primary Oosit ; AO, Atresia Oosit ; MO, matureoosit ; CA, cortical alveolar ; VG, vitellogenik.

Pembentukan spermatis primer menunjukkan TKG yang sedang matang. TKG III menunjukkan pembesaran kantung tabung seminiferus dan spermatis primer berubah menjadi spermatis sekunder. TKG IV menunjukkan sperma siap untuk pembuahan dengan adanya spermatozoa. Perkembangan gonad ikan Lempuk jantan dipengaruhi oleh banyak faktor, terutama faktor lingkungan. Jenis testis pada ikan juga mempengaruhinya, menunjukkan bahwa pembuahan telah terjadi oleh sel sperma (Liu *et al.*, 2022).

Pada TKG I, ikan Lempuk betina masih menunjukkan folikel dan oosit primer. Inti sel masih belum terlihat dengan jelas. TKG II mulai menunjukkan inti dan oosit primer yang terpisah. Pada fase matang (TKG III), bagian-bagian dari telur terlihat, siap untuk dibuahi oleh sel sperma. TKG IV menunjukkan beberapa telur telah dibuahi oleh sel sperma dan mulai kosong. Folikel kosong pada TKG V menunjukkan terjadinya pembuahan oleh sel sperma.

Secara histologis, ovarium pada gonad TKG I belum matang dan didominasi oleh oogonia dan sedikit oosit. Pada TKG II, telur menjadi lebih besar, didominasi oleh oosit, dan inti sel meningkat. Pada TKG III, ootid terbentuk, diameter telur meningkat, kuning telur, dan tetes minyak mulai terbentuk. Pada TKG IV, ootid berkembang menjadi telur, jumlah kuning telur dan tetes minyak meningkat, dan mereka menjadi lebih besar.

Perkembangan oosit ikan Lempuk bersifat asinkron, seperti yang ditunjukkan oleh hasil histologis. Pada Gambar 2, terlihat perkembangan ovarium dalam empat fase perkembangan folikel, baik saat ovarium matang maupun tidak matang, walaupun komposisi folikel bervariasi. Ovarium yang matang akan memiliki persentase fase vitelogenik dan oosit matang yang lebih tinggi dibandingkan dengan fase pertumbuhan folikel lainnya. Informasi ini mengindikasikan

bahwa ikan Lempuk memiliki potensi untuk memijah di pertengahan tahun, dengan puncak aktivitas ini terjadi selama musim hujan di Ranu Grati (Agustus).

Perkembangan gonad secara asinkron dari telur dan sperma pada ikan Lempuk adalah strategi reproduksi alami (Olito *et al.*, 2013). Fenomena ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk kondisi lingkungan, status gizi, dan regulasi hormonal. Pengembangan yang asinkron memastikan bahwa ada telur dan sperma yang matang tersedia untuk pembuahan pada waktu yang berbeda, meningkatkan peluang reproduksi yang berhasil. Ini juga memungkinkan ikan untuk beradaptasi dengan perubahan kondisi lingkungan dan mengoptimalkan output reproduksi mereka (Pankhurst *et al.*, 2016). Strategi reproduksi ini membantu menjaga keseimbangan populasi dengan menghindari persaingan berlebihan untuk sumber daya reproduksi dalam populasi. Secara keseluruhan, pengembangan yang asinkron dari telur dan sperma pada ikan Lempuk adalah proses yang kompleks dan adaptif yang meningkatkan keberhasilan reproduksi dan viabilitas populasi mereka.

IV. KESIMPULAN

Analisis rasio jenis kelamin ikan Lempuk menunjukkan bahwa populasi jantan lebih tinggi daripada betina, dengan rasio jenis kelamin masing-masing 1,05, 1,17, dan 1,39 untuk bulan Juni, Juli, dan Agustus. Sementara Juni dan Juli menunjukkan rasio jenis kelamin yang seimbang (berdekatan dengan 1:1), Agustus menunjukkan ketidakseimbangan yang signifikan. Frekuensi tingkat kematangan gonad (TKG) menunjukkan fluktuasi di lima titik pengamatan. Gonad ikan Lempuk ditemukan dalam berbagai tahap kematangan dengan persentase kematangan tertinggi terjadi pada bulan Juni. Sehingga dapat dikatakan

perkembangan gonad ikan Lempuk secara asinkron.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Brawijaya atas dukungan dalam penelitian ini melalui skema Hibah Penelitian Pemula 2023 dengan nomor kontrak 611.14/UN10.C200/2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Anitasari, S., Arfiati, D., Susilo, S., & Marhendra, A.P.W. (2024). Morphological characteristics of sex dimorphism in *Gobiopterus* sp. (Gobiiformes: Oxudercidae) from Ranu Grati Lake, Pasuruan District, East Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 25(3). doi: 10.13057/biodiv/d250337
- Anitasari, S., Faqih, A. R., Kusuma, W. E., & Yuniarti, A. (2021). Kajian Morfometrik Dan Nisbah Jenis Kelamin Ikan Lempuk (*Gobiopterus Sp.*) Ranu Grati, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. *Jurnal Harpodon Borneo*, 14(1), 21–28. doi: 10.35334/harpodon.v14i1.1898.
- Astuti, S.S., Wiadnyaa, D., & Sukandar. (2019). Analisis Histologi Tingkat Kematangan Gonad Ikan Kembung Perempuan (*Rastrelliger Brachysoma*, Bleeker 1851) Di Perairan Lekok, Pasuruan. *Journal of Fisheries and Marine Research*, 3(1). doi: 10.21776/ub.jfmr.2019.003.01.2
- Brunel, T., Van Damme, C. J., Samson, M., & Dickey-Collas, M. (2018). Quantifying the influence of geography and environment on the northeast Atlantic mackerel spawning distribution. *Fisheries Oceanography*, 27(2), 159-173. doi: 10.1111/fog.12242
- Darmawan, A., Mahmudi, M., Nisa, T. W., Putri, C. D. S., Gurinda, G. A., & Putri, A. W. (2019). Kajian Morfometri Ranu Grati Menggunakan GPSMAP 585 dan SIG. *OLDI (Oseanologi dan Limnologi di Indonesia)*, 4(3), 205-211. doi: 10.14203/oldi.2019.v4i3.261
- Habibi, Sukendi, & Aryani, N. (2013). Kematangan Gonad Ikan Sepat Mutiara (*Trichogaster Leeri Blkr*) Dengan Pemberian Pakan Yang Berbeda. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 1(2), 127–134. doi: 10.36706/jari.v1i2.1732
- Jatmiko, I., Hartaty, H., & Bahtiar, A. (2015). Biologi Reproduksi Ikan Cakalang (*Katsuwonus Pelamis*) Di Samudera Hindia Bagian Timur. *Bawal*, 7(2), 87–94. doi: 10.15578/bawal.7.2.2015.87-94
- Liu, S., Tao, M., Zhou, Y., Zhou, R., Cui, J., Huang, L., ... & Luo, K. (2022). The Basic Biological Characteristics of Sterile Allotriploid Fish. In *Fish Distant Hybridization* (pp. 71-102). Singapore: Springer Nature Singapore. doi: 10.1007/978-981-16-5067-3_4
- Olito, C., Bode, M., & Marshall, D. (2015). Evolutionary consequences of fertilization mode for reproductive phenology and asynchrony. *Marine Ecology Progress Series*, 537, 23-38. doi: 10.3354/MEPS11453
- Pankhurst, N. W. (2016). Reproduction and development. In *Fish physiology* (Vol. 35, pp. 295-331). Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-8027288.00008-4

- Passos, C., Tassino, B., Reyes, F., & Rosenthal, G.G. (2014). Seasonal variation in female mate choice and operational sex ratio in wild populations of an annual fish, *Austrolebias reicherti*. *PloS one*, 9(7), e101649. doi:10.1371/journal.pone.0101649
- Suwarso, S., & Sadhotomo, B. (2017). Perkembangan Kematangan Gonad Ikan Bentong, Selar *Crumenophtalmus* (Carangidae) Di Laut Jawa. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 1(2), 77-88. doi: 10.15578/jppi.1.2.1995.77-88
- Tamizhazhagan, V., & Pugazhendy, K. (2017). Histological methods in life science. *International Journal of Biomedical Materials Research*, 5(6), doi: 10.11648/j.ijbmr.20170506.11
- Yanti, A., Yasir, I., Rahmani, P. Y., Aprianto, R., Tuwo, A., & Tresnati, J. (2019, November). Macroscopic characteristics of the gonad maturity stages of dusky parrotfish *Scarus niger*. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 370, No. 1, p. 012051). IOP Publishing. doi: 10.1088/1755-315/370/1/012051
- Yoshida, S. (2016). From cyst to tubule: innovations in vertebrate spermatogenesis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 5(1), 119-131. doi: 10.1002/wdev.204
- Zar, J. H. (1999). *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Chapter 22: "Comparing Frequencies"