

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rajungan (*Portunus pelagicus*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomis tinggi di Indonesia, baik untuk pasar lokal maupun ekspor. Permintaan yang terus meningkat terhadap rajungan telah mendorong intensifikasi penangkapan, yang berdampak pada penurunan populasi di alam. Kondisi ini mengindikasikan pentingnya upaya konservasi dan pengembangan budidaya rajungan secara berkelanjutan melalui pemilihan induk yang berkualitas (Sukenda et al., 2018). Menurut Lai et al. (2010) kepiting merupakan spesies kompleks yang terdiri dari empat spesies, yaitu: *P. pelagicus*, *P. reticulatus*, *P. segnis*, dan *P. armatus*. Jenis-jenis rajungan ini terdistribusi pada geografi yang berbeda dengan penampakan morfologi yaitu pola corak karapas. Namun demikian, seringkali sulit membedakan spesies betina berdasarkan pola corak dan pola bintik putih karapas secara morfologi. Spesies kompleks rajungan dapat dilihat pada gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Tampilan morfologi rajungan jantan dari berbagai spesies. *Portunus pelagicus* (A); *P. segnis* (B); *P. reticulatus* (C); *P. armatus* (D) (Sumber: Lai et al., 2010)



Gambar 2. Tampilan morfologi rajungan betina dari berbagai spesies. *Portunus pelagicus* (A); *P. segnis* (B); *P. reticulatus* (C); *P. Armatus* (D) (Sumber: Lai et al., 2010).

Rajungan betina dikelompokkan berdasarkan perbedaan corak karapas yaitu pada corak satu (karapas berwarna kehijauan tanpa bintik), corak 2 (karapas berwarna kecoklatan dengan bintik hitam di sisi kiri dan kanan), dan corak 3 (karapas berwarna kehijauan muda dengan bintik-bintik putih yang samar) (Fujaya et al., 2016). Performa reproduksi calon induk betina memiliki peran penting dalam mendukung keberhasilan pemijahan. Parameter seperti ukuran tubuh, berat gonad, indeks gonadosomatik (GSI), dan kualitas sperma menjadi indikator utama dalam menilai potensi reproduksi rajungan (Putra et al., 2020). Di sisi lain, faktor genetik dan lingkungan tempat hidup turut memengaruhi karakteristik biologis rajungan, sehingga varietas yang berasal dari habitat berbeda bisa menunjukkan performa reproduksi yang bervariasi (Rahardjo et al., 2017). Informasi mengenai biologi reproduksi rajungan dapat digunakan sebagai dasar untuk pengelolaan serta perlindungan sumber daya hayati di perairan tersebut. Untuk mendapatkan benih rajungan yang berkualitas, perlu dilakukan seleksi induk. Dengan mengetahui biologi reproduksi rajungan dapat membantu dalam pemilihan induk rajungan yang berkualitas untuk kegiatan produksi larva pada pembenihan rajungan (Hermanto et al., 2019).

Teluk Parepare yang terletak di Sulawesi Selatan merupakan habitat bagi berbagai varietas rajungan. Lingkungan perairan yang khas memungkinkan adanya adaptasi spesifik pada tiap varietas, baik dari segi morfologi maupun fungsi fisiologis. Akan tetapi studi yang membandingkan performa reproduksi antar varietas rajungan betina di wilayah ini masih sangat terbatas. Padahal informasi tersebut sangat dibutuhkan sebagai dasar ilmiah dalam pemilihan calon induk unggul untuk mendukung program domestikasi dan budidaya rajungan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yuniarti *et al* (2019), Teluk Parepare ditemukan beberapa varietas rajungan jantan yang memiliki karakteristik morfologis dan ekologis berbeda. Keanekaragaman ini memungkinkan adanya perbedaan potensi reproduksi antar varietas yang belum banyak dikaji secara ilmiah. Padahal, pemahaman mengenai variasi performa reproduksi antar varietas sangat penting untuk memilih induk jantan unggul yang akan digunakan dalam program pembenihan.

Oleh karena itu, penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui dan membandingkan parameter reproduksi antar varietas rajungan jantan di Teluk Parepare. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam penyusunan strategi pengelolaan stok induk serta pengembangan teknologi budidaya rajungan secara berkelanjutan.

1.2 Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis performa reproduksi calon induk rajungan betina dari teluk parepare guna pencarian sumber induk yang berkualitas. Parameter yang mendukung seperti bobot tubuh, bobot *spermatheca*, diameter *spermatofor*, dan jumlah *spermatozoa*.

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu bahan informasi yang digunakan untuk pengembangan rajungan dan sebagai bahan informasi untuk penelitian selanjutnya.

1.3 Landasan Teori

1.3.1 Morfologi Rajungan

Menurut Lai *et al.*, (2010) Rajungan adalah spesies kompleks atau dikenal juga dengan *cryptic species* artinya spesies yang sulit dibedakan dari spesies lainnya berdasarkan karakteristik morfologis, tetapi terbukti berbeda secara genetik (DNA) atau melalui ciri gonopod dan sifat lainnya termasuk corak atau pola warna karapasnya.

Morfologi Rajungan mempunyai bentuk tubuh yang ramping dengan capit yang panjang dan warna karapasnya sangat unik, hidup di lingkungan air laut. Duri akhir pada karapas Rajungan cenderung runcing dan tajam serta panjang. Rajungan memiliki karapas dengan bentuk bulat pipih, di bagian kirikan mata ada duri 9 buah dan duri terakhir ukurannya lebih panjang. Rajungan memiliki 5 pasang kaki yang terdiri atas 1 pasang kaki capit, 3 pasang kaki sebagai kaki jalan, dan sepasang kaki terakhir menjadi sepasang kaki yang dimodifikasi untuk berenang yang ujungnya pipih dan membundar (Simanjuntak *et al.*, 2020).

Rajungan adalah kepiting renang, karena mempunyai sepasang kaki belakang dan kaki belakangnya seperti duyung yang berfungsi untuk berenang (Husni *et al.*, 2021). Baswantara *et al.* (2021) menambahkan ciri morfologi pada bagian karapas *P. pelagicus* melebar dan datar, serta memiliki tekstur yang kasar. Karapas jantan berwarna bintik biru dan pada betina bintik coklat, tetapi corak dari karapasnya berubah-ubah pada setiap individu, ukuran tubuh dan capit lebih besar dibandingkan rajungan betina.

1.3.2 Habitat Rajungan

Habitat Rajungan terdapat di sekitar ekosistem dengan pantai yang berpasir dan memiliki tekstur berlumpur dan juga berkarang. Rajungan biasa hidup di area estuaria dan akan bermigrasi ke daerah yang memiliki salinitas tinggi untuk menetas telurnya. Setelah Gonad menetas, Rajungan muda akan kembali bermigrasi ke daerah estuaria. Rajungan selalu mengubur dirinya di permukaan pasir dan hanya terlihat matanya saja guna untuk melihat mangsanya seperti ikan kecil dan hewan invertebrate (Budiarto *et al.*, 2015). Santoso *et al.* (2016) menambahkan bahwa musim panas adalah saat yang tepat bagi Rajungan untuk melakukan perkawinan, biasanya Rajungan jantan melekatkan dirinya pada Rajungan betina dan mereka akan berenang bersamaan dan di situlah mereka melakukan perkawinan.

1.3.3 Perilaku Perkawinan

Perkawinan rajungan dapat berlangsung pada kisaran suhu 20-25°C, pH 6-8 dan salinitas 30-32 ‰ pada cuaca cerah atau musim panas. Perkawinan

didahului dengan percumbuan (merayu, berkejaran, menyentak, menggigit gemas, menggentas, mengibas-ngibaskan kelimayang) yang berlangsung 4-10 hari. Selama bercumbu jantan selalu berada di karapas betina dengan cara memagut sambil berjalan dan berenang. Setelah menghabiskan masa bercumbu, jantan melepaskan betina untuk beberapa lama (± 1 hari) untuk melepaskan cangkang lama yang disebut molting. Pada fase molting betina menghasilkan feromon untuk merangsang jantan agar mendekat dan kawin. Mekanisme kawin diawali dengan jantan membalikkan tubuh betina, sehingga abdomen betina menghadap ke atas. Kemudian jantan menusukkan gonopod yaitu sebagai alat bantu penis ke foramen pleopod betina yang disebut gonofor. Bersamaan dengan itu, jantan menyemprotkan *spermatofor* ke *spermatheca* betina. Proses ini berlangsung 2,5 jam. Betina yang sudah kawin ditandai dengan garis hitam (blackened margin) di kedua sisi pelopod akibat tusukan dari gonopod jantan (Roza dan Yulita, 2011).

1.3.4 Performa Reproduksi

Rajungan betina (*Portunus pelagicus*) memiliki kemampuan unik untuk menyimpan sperma dalam organ khusus yang disebut *spermatheca* atau *seminal receptacle*. Organ ini terletak di bagian lateral sistem reproduksi betina dan berperan penting dalam menjaga viabilitas sperma setelah proses kopulasi (Potter et al., 1991). Saat kawin, jantan mentransfer spermatofor (kapsul pelindung sperma) ke *spermatheca* melalui gonopod. *Spermatheca* memiliki dinding berlapis yang mengandung jaringan kelenjar. Jaringan ini mengeluarkan sekresi untuk mempertahankan kelembapan, mengatur pH, dan menyediakan nutrisi bagi sperma. Struktur kapsul spermatofor membantu melindungi spermatozoa dari kerusakan fisik maupun degradasi kimia di dalam *spermatheca*. apa dapus dari kutipan ini (Johnson, 1980).

1.3.5 Morfometrik Rajungan

Kajian analisis morfometrik dilakukan untuk mengetahui perubahan bentuk morfologi suatu organisme Safira et al., (2019) Ciri morfologi digunakan untuk menentukan informasi terkait jenis kelamin, klasifikasi dan pola kekerabatan, keanekaragaman morfologi intraspesifik. Menurut Mughni et al., (2022) karakter morfometrik juga dapat memberikan informasi mengenai perbedaan kelompok populasi dalam suatu perairan. Secara keseluruhan, perbedaan populasi intraspesies digambarkan dengan jelas pada bentuk morfologi. Pengukuran morfometrik yang umum dilakukan adalah lebar karapas, panjang karapas, dan bobot rajungan.

1.3.6 *Spermatheca*

Spermatheca berasal dari bahasa Yunani yaitu sperma artinya benih dan theke artinya wadah. *Spermatheca* juga biasa disebut seminal receptacles. *Spermatheca* merupakan tempat penyimpanan *spermatozoa* yang berhubungan dengan saluran otot yang mengontrol pelepasan *spermatozoa* (Monterio et al., 2019). *Spermatheca* berbentuk seperti sebuah kantung berbentuk bola atau bulat

telur di bawah usus tengah, berwarna keputihan dan mudah dirobek dengan pinset. Di bagian ventral *spermatheca* berpasangan dengan sepasang saluran telur pendek, tipis dan tembus cahaya yang bermuara ke tulang dada segmen toraks keenam melalui pori beroperkulasi yang disebut gonopore (Souza & Silva, 2009).

1.3.7 Spermatofor

Spermatofor adalah kapsul atau struktur kantung yang mengandung *spermatozoa* (sel sperma), yang diproduksi oleh jantan dan ditransfer ke tubuh betina selama proses kopulasi. *Spermatofor* berfungsi untuk melindungi dan memfasilitasi transportasi sperma hingga mencapai sistem reproduksi betina (Thongkukiatkul *et al.*, 2010). Pembentukan *spermatofor* dimulai di bagian anterior AVD; massa sperma dipisahkan dan dipadatkan menjadi paket-paket kecil oleh sekresi basofilik dan alsianofilik. Sejumlah kecil sekresi eosinofilik, positif terhadap protein dan polisakarida netral, ditambahkan di sekitar sperma yang memulai pembentukan dinding *spermatofor*. *Spermatofor* bulat matang ditemukan di bagian posterior AVD dan memiliki dinding glikoprotein tebal yang dikelilingi oleh polisakarida asam. *Spermatofor* pertama kali terbentuk di daerah proksimal vasdeferens yang berbelit-belit dan dienkapsulasi oleh sekresi protein terutama di daerah distal. *Spermatofor* memiliki peran penting dalam reproduksi, karena kualitas dan strukturnya menentukan keberhasilan pembuahan. Setelah proses kopulasi, *spermatofor* akan ditempatkan ke dalam *spermatheca* betina, tempat *spermatozoa* disimpan hingga proses pembuahan terjadi (El-Sherief, 1991).

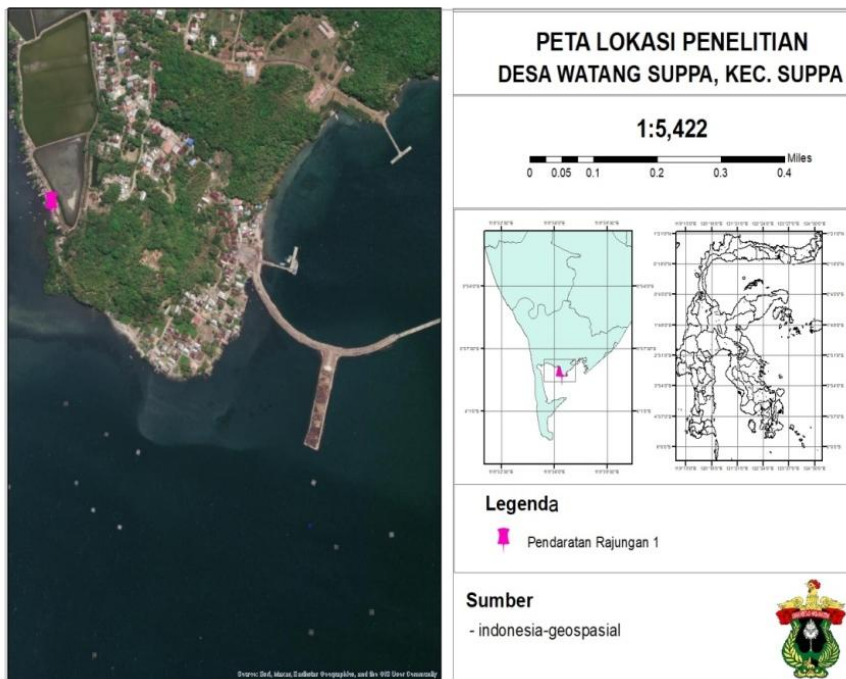
1.3.8 Spermatozoa

Spermatozoa adalah gamet jantan, yaitu sel yang sangat terspesialisasi dan dirancang untuk mengantarkan DNA dari jantan ke gamet betina selama proses pembuahan (Holt & Lloyd, 2010). Dalam krustasea dekapoda seperti *Portunus pelagicus*, *spermatozoa* adalah sel yang tidak dapat bergerak (non-motil) dan tidak memiliki flagela (aflagelata), yang terbungkus didalam *spermatofor* dan dilepaskan selama proses kawin (Jamieson, 1991). *spermatozoa* pada *portunus pelagicus* disimpan dalam *spermatofor* dan dilepaskan selama kopulasi untuk membuahi ovum didalam tubuh betina (Thongkukiatkul *et al.*, 2010).

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2024 – Mei 2025. Pengambilan sampel dilakukan di pendaratan rajungan di Desa Watang Suppa, Kecamatan Suppa, Kabupaten Pinrang. Untuk pengukuran lebar karapas, panjang karapas, bobot tubuh, dan bobot *spermatheca* dilakukan di lokasi pengambilan sampel. Pengukuran diameter *spermatofora* dan perhitungan *spermatozoa* dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Universitas Hasanuddin. Titik pengambilan sampel rajungan betina dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Peta lokasi titik pengambilan rajungan betina di Teluk Parepare Sulawesi Selatan

2.2 Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 1. Bahan yang digunakan selama penelitian.

Nama Bahan	Fungsi
Rajungan Betina	Sampel Penelitian
Larutan Alkohol	Untuk mengawetkan spermatheca
Kertas Label	Untuk memberikan kode pada botol sampel
ATK	Untuk bahan penunjang penelitian
Tissue	Untuk Membersihkan alat
Sarung Tangan Lateks	Untuk menjaga kesterilan dan melindungi tangan
Aluminium Foil	Untuk alas untuk menimbang sampel
Air Laut	Sebagai media sampel
Baju Lab	Untuk melindungi tubuh dari bahan kimia
Es batu	Untuk menjaga kesegaran sampel

Tabel 2. Alat yang digunakan selama penelitian

Nama Alat	Fungsi
Gunting Bedah	Untuk membuka karapas rajungan dan membersihkan organ-organ rajungan
Pinset	Untuk mengambil dan membersihkan organ rajungan
Timbangan	Untuk menimbang sampel
Timbangan Digital	Untuk menimbang bobot rajungan dan sampel organ
Kaliper	Untuk mengukur lebar karapas
Botol Sampel	Untuk Menyimpan Sampel
Botol Ukur	Untuk Mengukur Larutan
Cawan Petri	Untuk Wadah Sampel
Wadah Plastik/Talenan	Untuk Wadah Sampel
Labu Semprot	Untuk Memindahkan larutan ke wadah yang lebih kecil
Sterefom	Untuk menyimpan sampel
Papan Pengalas	Untuk latar foto sampel
Terpal	Sebagai pengalas
Mikroskop	Untuk mengamati spermatheca rajungan
Slide Glass	Untuk meletakkan objek yang diamati dibawah mikroskop

Pipet Tetes	Untuk Mengambil Sampel Dalam Jumlah Sedikit
Kamera HP	Untuk Dokumentasi Kegiatan
Haemocytometer	Untuk menghitung spermatozoa
Batang Penggerus	Untuk menggerus spermatofor
Spoit 1 ml	Untuk mengambil sampel

2.3 Metode Pengumpulan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak di lokasi pendaratan hasil perikanan di Desa Watang Suppa. Sebanyak 30 ekor rajungan betina dipilih sebagai sampel untuk dilakukan pengukuran morfometrik, meliputi lebar dan panjang karapas, serta bobot tubuh. Selain itu digunakan untuk analisis reproduksi, termasuk penimbangan bobot *spermatheca*, pengukuran diameter *spermatofor*, dan penghitungan jumlah *spermatozoa*.

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali, sampel yang digunakan adalah rajungan yang dibeli dari pengepul kemudian dikumpulkan dalam satu wadah agar rajungan tetap hidup sampai dilakukan pengamatan. Sampel yang diamati sebanyak 30 ekor rajungan betina untuk mengukur lebar karapas, panjang karapas, bobot tubuh, bobot *spermatheca*, diameter *spermatofor* serta menghitung jumlah *spermatozoa*.

2.4.2 Prosedur Penelitian




Sampel yang berasal dari pengepul kemudian dikelompokkan berdasarkan ragam corak dapat dilihat pada (tabel 3) selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran. Lebar karapas diukur menggunakan jangka sorong, lebar karapas yang diukur adalah lebar karapas luar atau lebar karapas terpanjang rajungan dan lebar karapas dalam. Bobot tubuh diukur menggunakan timbangan digital. Untuk mengetahui bobot *spermatheca* dilakukan dengan cara membedah rajungan kemudian mengambil *spermatheca* yang menempel dengan ovary secara perlahan menggunakan pinset, setelah diambil *spermatheca* ditimbang menggunakan timbangan digital. Setelah itu, *spermatheca* yang diambil dimasukkan kedalam botol yang telah diisi alkohol 70%, sampel disimpan sampai dilakukan pengukuran.

Pengukuran *spermatofor* dilakukan dengan cara membuka *spermatheca* menggunakan pinset kemudian dimasukkan kedalam botol yang berisi alkohol 70% sebanyak 15mL. Setelah itu, spermatofor diambil kembali menggunakan spoit sebanyak 1 mL dan di teteskan secara perlahan di atas cawan petri kemudian lakukan pengukuran dibawah mikroskop Stereo dengan pembesaran 25.

Untuk menghitung jumlah *spermatozoa* dilakukan dengan cara mengambil *spermatofor* sebanyak 1mL kemudian dituang kedalam batang penggerus lalu

gerus selama 1 jam. *Spermatozoa* yang telah digerus dimasukkan kedalam botol dan ditambahkan alkohol 70% sampai dengan 15mL. Setelah itu, ambil *spermatozoa* menggunakan spoit dan teteskan di atas Haemocytometer kemudian dihitung menggunakan mikroskop Olympus CX23 dengan pembesaran 400x dan diulang sebanyak 3 kali untuk mendapatkan nilai rata-rata.

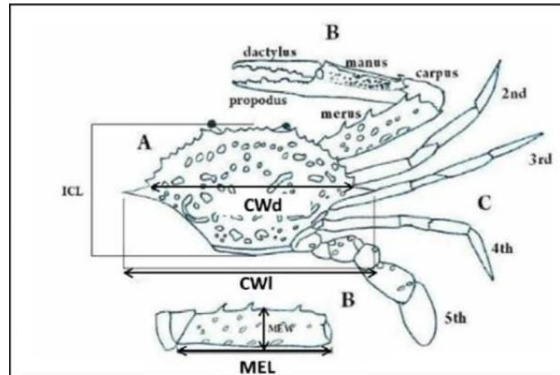
Tabel 3. Pengelompokan rajungan (*Portunus pelagicus*) berdasarkan corak menurut (Fujaya *et al.*, 2016)

Gambar Rajungan Betina	Keterangan
 <p data-bbox="354 814 475 843">CORAK 1</p>	<p data-bbox="709 687 1170 753">Karapas ditandai dengan warna tubuh kehijauan tanpa bintik</p>
 <p data-bbox="354 1163 475 1191">CORAK 2</p>	<p data-bbox="709 953 1170 1090">Karapas ditandai dengan warna tubuh kecoklatan, bintik-bintik gelap masing-masing di kiri dan kanan karapas</p>
 <p data-bbox="354 1538 475 1566">CORAK 3</p>	<p data-bbox="720 1321 1163 1458">Karapas ditandai dengan warna tubuh kehijauan muda, samar-samar terlihat bintik-bintik putih pada karapas</p>

2.5 Pengamatan dan Pengukuran

2.5.1 Pengukuran Lebar Karapas, Panjang Karapas, dan Bobot Tubuh

Pengukuran lebar karapas dan bobot tubuh dilakukan untuk mengetahui pola pertumbuhan rajungan di alam. Untuk pengukuran lebar dan panjang karapas menggunakan jangka sorong. Sedangkan untuk bobot tubuh ditimbang menggunakan timbangan digital. Adapun cara untuk mengukur lebar karapas dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Bagian tubuh pada rajungan untuk pengukuran mortometrik. A. Karapas dan pelengkap; B. Cheliped; C. Pereiopoda; CWl = lebar karapas luar; CWd = lebar karapas dalam; CL = panjang karapas; MEW = lebar merus cheliped utama; MEL = panjang merus cheliped utama (Hidayani et al., 2018)

2.5.2 *Spermatheca*

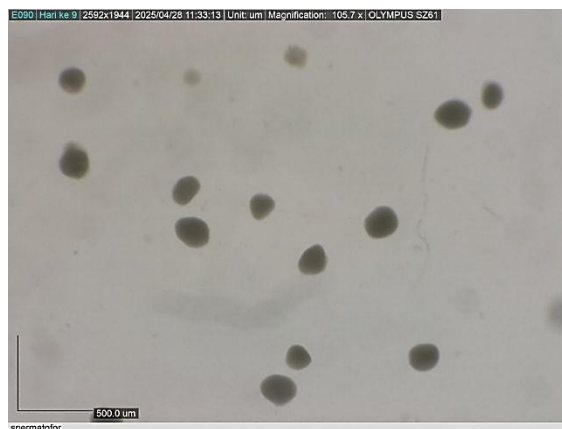
Pemeriksaan saluran reproduksi dari vulva melalui saluran vagina, *spermatheca*, dan sebagian besar ovarium dilakukan dengan membedah rajungan betina dengan sayatan melintang yang dibuat tepat diatas vulva pada segmen toraks keenam (Oh & Hankin, 2004). *Spermatheca* adalah bagian dalam tubuh rajungan betina yang menyimpan sperma, biasanya cukup untuk membuahi lebih dari satu kumpulan telur. *Spermatheca* diambil dari rajungan betina menggunakan pinset dan gunting bedah, lalu diangkat dan ditimbang menggunakan timbangan digital. *Spermatheca* dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. *Spermatheca*

2.5.3 Spermatofor

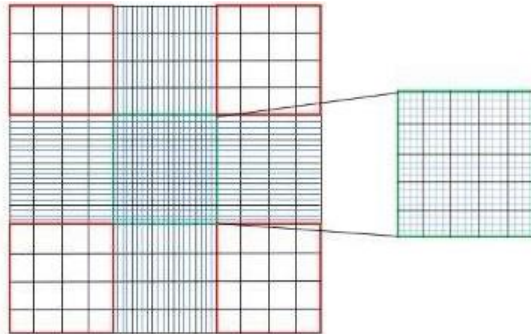
Spermatofor Portunus pelagicus merupakan ciri khas kepiting brachyuran karena bentuknya bulat atau elipsoid, tidak bertangkai dan vesikular. Dalam penelitian ini bentuk *spermatofor* yang serupa diamati tetapi berubah selama perkembangan melalui vas deferens. Ukuran *spermatofor* juga bervariasi dalam diameter. Bentuk *spermatofor* bervariasi tergantung pada bentuk dan kontraksi lumen vas deferens dan akumulasi bahan aselular di lapisan *spermatofor* (Soundaparandian *et al.*, 2013). Ukuran atau diameter *spermatofor* pada *Portunus pelagicus* umumnya bervariasi tergantung pada kondisi fisiologis dan ukuran tubuh individu. Rata-rata diameter spermatofor pada rajungan dewasa adalah sekitar 300–450 μm (mikrometer) (El-Sherief, 1991). *Spermatofor* dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Spermatofor

2.5.4 Spermatozoa

Untuk menghitung jumlah *spermatozoa*, kedua *spermatheca* dari satu individu ditempatkan dalam botol berisi 15 mL alkohol 70%. Untuk memisahkan sperma dari *spermatheca*, seluruh isi botol (termasuk alkohol dan *spermatheca* yang disimpan di dalamnya) dituangkan ke cawan petri. Proses ini bertujuan untuk memastikan bahwa *spermatofora* yang tersuspensi dalam alkohol selama penyimpanan tidak terabaikan. Membran *spermatheca* dipisahkan dari sumbatan sperma (cairan mani mengeras bersama *spermatofora*) dan dibilas dengan alkohol 70% secara menyeluruh untuk menghindari *spermatofora* yang menempel lalu terbuang. Isi *spermatheca* dan cairan dituangkan ke dalam homogenizer kaca pyrex dounce berkapasitas 16 mL. Sampel kemudian dihomogenisasi untuk memecah *spermatofora* menjadi sel-sel sperma individu. Proses ini membutuhkan waktu sekitar 15 menit-1 jam. Setelah homogenisasi, 18 volume total cairan isi *spermatheca* ditambahkan hingga mencapai 15 mL per botol. Satu tetes sampel ditempatkan di haemocytometer (dengan grid 5x5) (Gambar 7) dan diperiksa menggunakan mikroskop cahaya CX23 (Olympus) dengan pembesaran 400x. Seluruh kotak yang berjumlah 25 kotak dihitung, dan jumlah sperma dicatat.



Gambar 7. Bilik hitung *haemocytometer* (Kurniawan, 2016)

Jumlah total sperma untuk setiap rajungan dihitung menggunakan persamaan (Ogburn et al., 2014).

$$\text{Jumlah sperma} = \frac{\text{Jumlah sperma yang dihitung}}{\text{Volume ruang hitung}} \times \text{Pengenceran}$$

Perhitungan sperma menggunakan haemocytometer dengan volume ruang hitung adalah $1 \times 1 \times 0,004 \mu\text{l}$ atau $0,000004 \text{ mL}$, dan pengenceran adalah volume total (mL) cairan homogen dan isi sperma. Setiap 2 *spermatheca* pada betina disatukan untuk memudahkan perhitungan. Proses ini diulang 3 kali per sampel dan 3 perhitungan dirata-ratakan untuk menghasilkan jumlah akhir sperma untuk setiap rajungan.

2.6 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan secara deskriptif dan inferensial. Hubungan antara lebar karapas, bobot tubuh, dan diameter *spermatofor* dianalisis menggunakan regresi linear sederhana dengan bantuan Microsoft Office Excel 2010. Untuk data berat *spermatheca* dan jumlah *spermatozoa*, dilakukan analisis ANOVA (Analysis of Variance) menggunakan perangkat lunak SPSS versi 30 dengan tingkat signifikansi 0,2, sedangkan untuk data diameter *spermatofor* digunakan tingkat signifikansi 0,05. Uji lanjut (post hoc) Tukey dilakukan untuk mengetahui perbedaan nyata antar kelompok.