

**PENAMBAHAN EKSTENDER MADU
DALAM PROSES PENYIMPANAN SPERMA BEKU
TERHADAP VIABILITAS DAN MOTILITAS SPERMATOZOA
IKAN PATIN SIAM (*Pangasius hypophthalmus*)**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :
**MOCH. AL HASAN
NIM. 0610850047**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

**PENAMBAHAN EKSTENDER MADU
DALAM PROSES PENYIMPANAN SPERMA BEKU
TERHADAP VIABILITAS DAN MOTILITAS SPERMATOZOA
IKAN PATIN SIAM (*Pangasius hypophthalmus*)**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh :
MOCH. AL HASAN
NIM. 0610850047**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

SKRIPSI
PENAMBAHAN EKSTENDER MADU
DALAM PROSES PENYIMPANAN SPERMA BEKU
TERHADAP VIABILITAS DAN MOTILITAS SPERMATOZOA
IKAN PATIN SIAM (*Pangasius hypophthalmus*)

Oleh:
MOCH. AL HASAN
NIM. 0610850047

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 24 Juni 2013
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si

NIP. 19671010 199702 1 001

Tanggal : _____

Dosen Penguji II

M. Fahri, S.Pi. MSc.

NIP. 860 717081 10 092

Tanggal : _____

Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS

NIP. 19590807 198601 1 001

Tanggal : _____

Dosen Pembimbing II

Ir. M. Rasyid Fadholi, Msi

NIP. 19520713 198003 1 001

Tanggal : _____

Mengetahui.
Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

NIP. 19600322 198601 1 001

Tanggal : _____

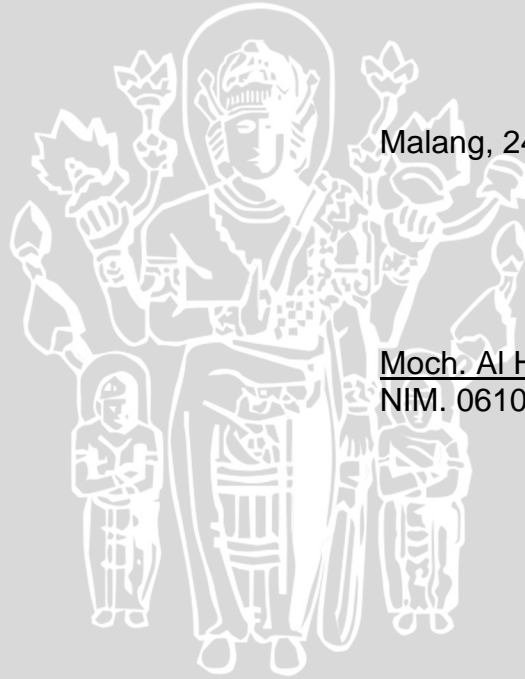
PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil menjiplak (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai yang berlaku di Indonesia.

Malang, 24 Juni 2013

Moch. Al Hasan
NIM. 0610850047



UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Allah S.W.T., atas limpahan dan karunia yang diberikan.
2. Bapak Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS selaku dosen pembimbing I dan bapak Ir. M. Rasyid Fadholi, MSi selaku dosen pembimbing II.
3. Bapak Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si selaku dosen penguji I dan bapak M. Fahri, S.Pi. MSc. selaku dosen penguji II.
4. Sujud dan terimakasih yang dalam penulis persembahkan kepada Ibunda dan Ayahanda tercinta, atas dorongan yang kuat, kebijaksanaan dan do'a.
5. Bapak/ibu dosen pengajar yang telah membimbing dan mendidik penulis.
6. Rekan-rekan yang telah banyak memberikan bantuan ikut berperan dalam memperlancar penelitian dan penulisan ini.
7. Bapak Muchlis Zainudin A. A.md dan bapak Hadi Yitmono selaku *Laborant* Laboratorium Reproduksi Dan Pemuliaan Ikan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Malang, 24 Juni 2013

Moch. Al Hasan
NIM. 0610850047

RINGKASAN

MOCH. AL HASAN. Skripsi tentang penambahan ekstender madu dalam proses penyimpanan sperma beku terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS** dan **Ir. M. Rasyid Fadholi, MSi**).

Perkembangan budidaya ikan sangat dipengaruhi oleh teknologi pembenihan, terutama dalam pengadaan benih ikan. Seringkali timbul masalah dalam pengadaan benih yang dikarenakan masa pematangan gamet induk ikan jantan dan betina terkadang tidak terjadi secara bersamaan. Salah satu cara untuk memberikan alternatif pemecahan masalah tersebut melalui penerapan bioteknologi reproduksi yaitu pengawetan sperma.

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstender madu terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin siam pada proses pembekuan. Untuk mengetahui konsentrasi ekstender madu yang tepat pada media ekstender agar dapat memberikan daya simpan terbaik. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2013 di Laboratorium Reproduksi Dan Pemuliaan Ikan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode penelitian eksperimen. Di dalamnya, peneliti memasukkan unsur baru ke dalam situasi untuk mengetahui akibatnya, jika ada.

Perlakuan viabilitas penambahan madu 0,6% (D) 38,22% tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan madu 0,3% (A) 34,01%, 0,4% (B) 27,62%, 0,5% (C) 33,94% dan 0,7% (E) 31,14% tetapi berbeda nyata dengan perlakuan tanpa penambahan madu (KN) 16,01%. Hal ini dapat dikatakan bahwa madu dapat menambah nutrisi pada sperma ikan patin dalam proses pembekuan selama 72 jam. Perlakuan motilitas penambahan madu 0,6% (D) 45,72% tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan madu 0,3% (A) 42,07%, 0,4% (B) 40,06%, 0,5% (C) 40,18% dan 0,7% (E) 40,36% tetapi berbeda nyata dengan perlakuan tanpa penambahan madu (KN) 21,34%. Hal ini berarti bahwa ekstender madu dapat berfungsi sebagai menambah ketahanan sperma pada perlindungan *cold shock*.

SUMMARY

MOCH. HASAN AL. Thesis essay about adding honey extenders in frozen sperm storage processes on the viability and motility of spermatozoa Siamese Patin (*Pangasius hypophthalmus*) (under the guidance of **Dr. Ir. Agoes suprajitno, MS** and **Ir. Much. Rashid Fadholi, MS**).

Aquaculture development is strongly influenced by hatchery technology, especially in the procurement of fish seed. Often problems arise in the future due to the procurement of seed maturation of gametes of male and female parent fish sometimes do not occur simultaneously. One way to provide alternative solutions to these problems through the application of reproductive biotechnology, namely the preservation of sperm.

The purpose of this study was to determine the effect of honey extender on the viability and motility of spermatozoa Siamese catfish in the freezing process. To know the exact concentration of honey extender on media extenders in order to provide the best savings. This study was conducted in January 2013 in the Laboratory of Fish Reproduction and Breeding Faculty of Fisheries and Marine Sciences UB.

The method used in this study is a research method eksperimen. It researchers insert a new element into the situation to determine the consequences, if any.

Treatment viability of adding honey 0.6% (D) 38,22% was not significantly different by treatment with the addition of honey 0,3% (A) 34,01%, 0,4% (B) 27,62%, 0,5% (C) 33,94% and 0,7% (E) 31,14% but significantly different from treatment without the addition of honey (KN) 16,01%. It can be said that the honey can add nutrients to sperm catfish in the freezing process for 72 hours. Treatment motility addition of honey 0.6% (D) 45.72% was not significantly different with the addition of honey treatment 0,3% (A) 42.07%, 0,4% (B) 40.06%, 0,5% (C) 40.18% dan 0,7% (E) 40.36% but significantly different from treatment without the addition of honey (KN) 21.34%. This means that honey can serve as extenders increase the resilience of sperm in the cold shock protection.

PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Mu penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul "Penambahan Ekstender Madu dalam Proses Penyimpanan Sperma Beku Terhadap Viabilitas Dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*)". Di dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi proses pembekuan sperma ikan patin siam dalam nitrogen cair (N₂) yang bertujuan untuk penyimpanan sperma. Penambahan madu pada ekstender bertujuan untuk membantu sperma agar tetap hidup dalam proses pembekuan. Untuk mengetahui pengaruh penambahan madu maka dilakukan penelitian ini. Dan didapatkan bahwa pengaruh penambahan madu pada ekstender sperma berpengaruh nyata.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan ketebatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karna itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 24 Juni 2013

Moch. Al Hasan

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah atau Kerangka Pemikiran	2
1.3 Maksud dan Tujuan	3
1.4 Hipotesa	3
1.5 Manfaat	3
1.6 Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Ikan Patin Siam (<i>Pangasius hypophthalmus</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Patin Siam.....	5
2.1.2 Biologi Ikan Patin Siam	6
2.2 Reproduksi Ikan	7
2.2.1 Fisiologi Reproduksi Jantan	7
2.2.1.1 Spermatogenesis	7
2.2.1.2 Metabolisme Sperma	9
2.2.1.3 Viabilitas Sperma Ikan Patin Siam.....	10
2.2.1.4 Motilitas Sperma Ikan Patin Siam.....	10
2.3 Madu	11
2.4 Pembekuan Sperma Ikan Patin	13
2.4.1 Bahan Ekstender Sperma	13
2.4.2 Bahan Cryoprotectant Sperma.....	13
2.4.2 Penyimpanan Sperma Di Bawah Titik Beku.....	15
3. METODE PENELITIAN.....	16
3.1 Materi Penelitian.....	16
3.1.1 Alat	16
3.1.2 Bahan	16
3.2 Metode Penelitian.....	16
3.2.1 Rancangan Penelitian.....	16
3.2.2 Prosedur Penelitian.....	17

3.3 Parameter Penelitian 19

 3.3.1 Evaluasi Sperma Segar 19

 3.3.2 Viabilitas Spermatozoa 20

 3.3.3 Motilitas Spermatozoa 21

3.4 Analisa Data 22

4. HASIL DAN PEMBAHASAN 23

 4.1 Evaluasi Sperma Segar 23

 4.2 Viabilitas Sperma Ikan Patin 24

 4.3 Motilitas Sperma 29

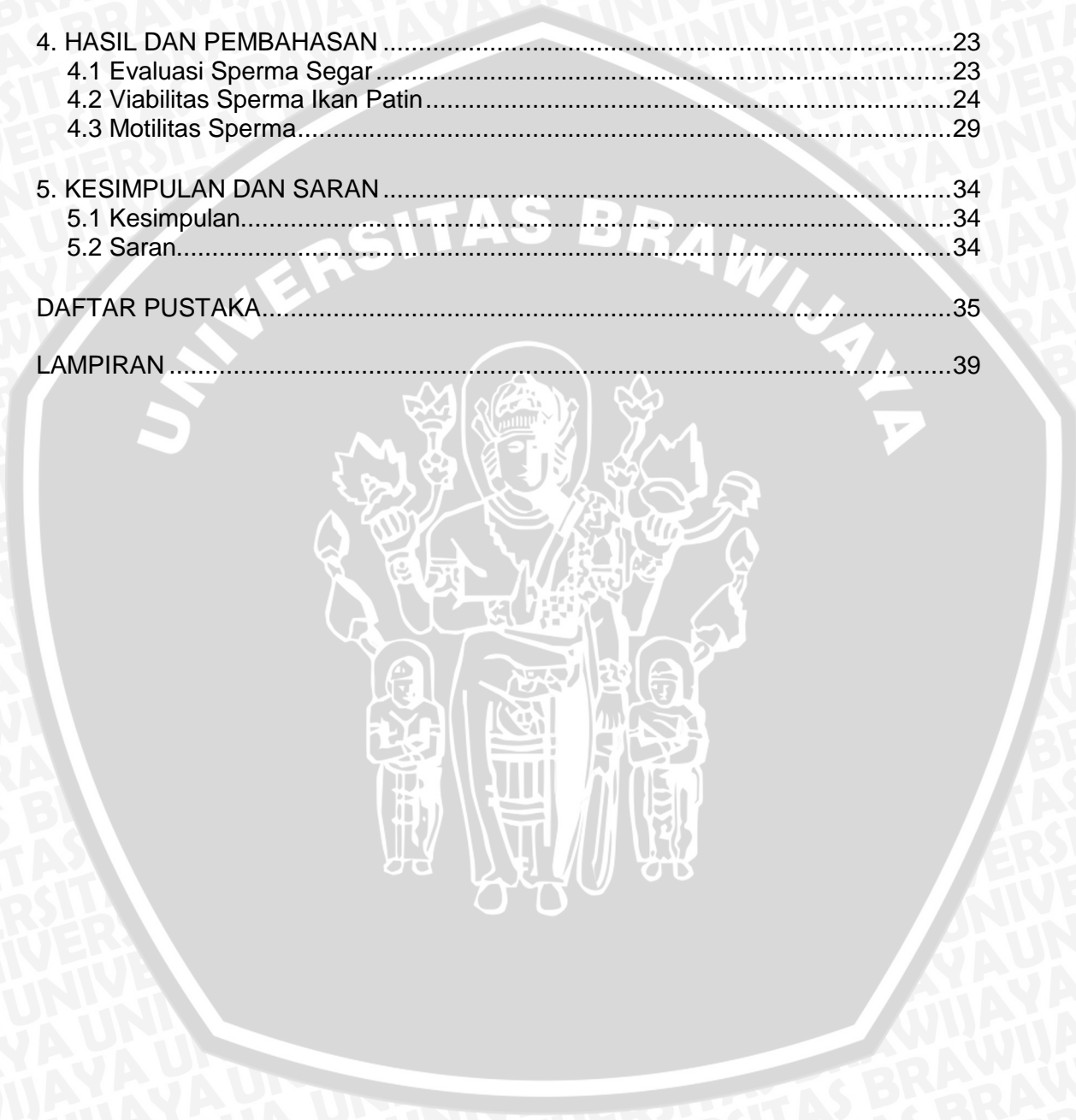
5. KESIMPULAN DAN SARAN 34

 5.1 Kesimpulan 34

 5.2 Saran 34

DAFTAR PUSTAKA 35

LAMPIRAN 39



DAFTAR TABEL

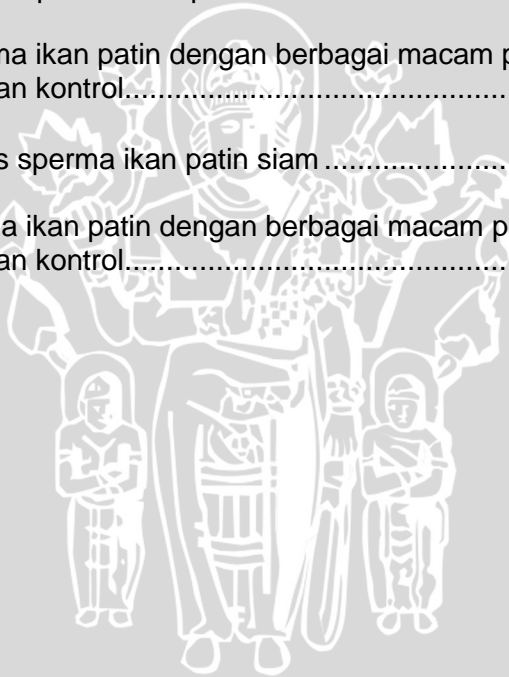
Tabel	Halaman
1. Kandungan dari beberapa jenis madu.....	12
2. Komposisi kimia madu	13
3. Pemeriksaan makrokopis dan mikrokopis sperma segar.....	23
4. Rata-Rata Viabilitas Sperma Ikan Patin Pada Pengamatan Jam Ke 72	25
5. Sidik Ragam Viabilitas Sperma Ikan Patin jam ke 72	25
6. Viabilitas Uji DUNCAN jam ke 72	26
7. Rata-rata Motilitas Sperma Ikan Patin Pengamatan Pada Jam Ke 72.....	29
8. Sidik Ragam Motilitas Sperma Ikan Patin Jam Ke 72.....	30
9. Motilitas Uji DUNCAN jam ke 72	30
10. Data Pengamatan Viabilitas Sperma (%)	40
11. Pengamatan viabilitas sperma jam ke 24.....	41
12. Tabel sidik ragam viabilitas jam ke 24.....	41
13. Notasi viabilitas jam ke 24.....	42
14. Pengamatan viabilitas sperma jam ke 48.....	43
15. Tabel sidik ragam viabilitas jam ke 48.....	43
16. Notasi viabilitas jam ke 48.....	44
17. Pengamatan viabilitas sperma jam ke 72.....	45
18. Tabel sidik ragam viabilitas jam ke 72.....	45
19. Notasi viabilitas jam ke 72.....	46
20. Data Pengamatan Motilitas Sperma (detik)	47
21. Pengamatan motilitas sperma jam ke 24	48
22. Tabel sidik ragam motilitas jam ke 24	48

23. Pengamatan motilitas sperma jam ke 48	49
24. Tabel sidik ragam motilitas jam ke 48	49
25. Notasi motilitas jam ke 48	50
26. Pengamatan motilitas sperma jam ke 72	51
27. Tabel sidik ragam motilitas jam ke 48	51
28. Notasi motilitas jam ke 72	52
29. <i>Regression Statistics</i> Viabilitas	53
30. Hasil uji F Viabilitas	53
31. Hasil uji T Viabilitas	53
32. <i>Regression Statistics</i> Motilitas	53
33. Hasil uji F Motilitas	53
34. Hasil uji T Motilitas	54



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Patin (<i>Pangasius sp.</i>)	5
2. Spermatogenesis	8
3. Bagan Glikolisis	15
4. Denah Percobaan	18
5. Bagan rancangan penelitian.....	19
6. Grafik regresi viabilitas sperma ikan patin siam	26
7. Grafik Viabilitas sperma ikan patin dengan berbagai macam perlakuan penambahan madu dan kontrol.....	27
8. Grafik regresi motilitas sperma ikan patin siam	31
9. Grafik Motilitas sperma ikan patin dengan berbagai macam perlakuan penambahan madu dan kontrol.....	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Langkah-langkah pembuatan larutan pengencer	39
2. Data pengamatan viabilitas sperma (%).....	40
3. Perhitungan Rancangan Acak Lengkap (RAL) viabilitas sperma.....	41
4. Data motilitas sperma (%).....	47
5. Perhitungan Rancangan Acak Lengkap (RAL) motilitas sperma	48
6. Regresi	53
7. Foto Dokumentasi Penelitian	55
8. Tabung Eppendorf	55
9. Mikroskop	55
10. Timbangan Analitik	55
11. Termos	56
12. DMSO.....	56
13. NACL Fisiologi.....	56
14. Madu.....	57
15. Ikan Patin Siam.....	57
16. Penyuntikan Ikan Patin	57
17. Pengambilan Sperma	58
18. Ekstender DMSO + Madu	58
19. Memasukan Ekstender Dan Sperma Dalam Afends	59
20. Pembekuan Sperma	59
21. Viabilitas Sperma Ikan Patin	60
22. Motilitas Sperma Ikan Patin	61

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan patin (*Pangasius pangasius*) merupakan ikan konsumsi yang terus berkembang. Berdasarkan data Dirjen Perikanan Budi Daya Tangkap, Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) kebutuhan benih ikan patin secara nasional mencapai 55 juta ekor per bulannya. Hal tersebut dikarenakan ikan patin termasuk jenis ikan air tawar yang memiliki nilai ekonomis penting. Harga jualnya cukup menjanjikan, umumnya di atas harga jual rata-rata ikan konsumsi jenis lain karena rasa dagingnya yang lezat. Nilai protein daging ikan patin juga tergolong tinggi, mencapai 68,6%. Kandungan gizi lainnya adalah lemak 5,8%, abu 0,5%, dan air 25,1% (Rahardhianto *et al*, 2012).

Perkembangan budidaya ikan sangat dipengaruhi oleh teknologi pembenihan, terutama dalam pengadaan benih ikan. Seringkali timbul masalah dalam pengadaan benih yang dikarenakan masa pematangan gamet induk ikan jantan dan betina terkadang tidak terjadi secara bersamaan. Salah satu cara untuk memberikan alternatif pemecahan masalah tersebut melalui penerapan bioteknologi reproduksi yaitu pengawetan sperma. Pengawetan sperma bertujuan untuk mengoptimalkan induk jantan yang unggul dalam membuahi sel telur betina yang sejenis, sehingga pengawetan sperma mempunyai peran yang sangat besar dalam penyediaan benih unggul (DPDJP, 2007).

Pengawetan sperma membutuhkan sperma yang baik kualitas dan kuantitasnya. Proses penyimpanan sperma dapat dilakukan dalam kondisi dingin atau dalam kondisi beku. Semen hasil pendinginan mempunyai jangka waktu relatif pendek, sedangkan bila disimpan dalam bentuk beku memungkinkan sperma dapat digunakan dalam jangka waktu lama (Sayuti, 2003).

Pembekuan sperma adalah teknik penyimpanan sperma pada suhu rendah melalui reduksi aktifitas metabolisme. Kelebihan pembekuan sperma adalah kemampuan untuk disimpan lama sehingga dapat digunakan kapan pun bila diperlukan. Kekurangan dari pembekuan sperma adalah hasil motilitas dan viabilitas sperma yang singkat sehingga daya fertilisasi spermatozoa untuk menembus lubang mikropil pada sel telur menjadi rendah (Meirnowati *et al*, 2011)

Menurut Ruhendi *et al* (2007) dalam Citra (2011) ekstender adalah bahan yang memiliki kemampuan untuk merekatkan dan dapat mengurangi biaya perekat. Pemakaian ekstender dimaksudkan untuk mengurangi aktivitas spermatozoa sehingga menghambat pemakaian energi dan memperpanjang hidup spermatozoa (Rustidja, 2000). Secara umum ekstender harus dapat memenuhi kebutuhan fisik dan kimiawi dari spermatozoa.

Madu mengandung zat-zat gula seperti fruktosa dan glukosa yang dapat dijadikan sumber energi bagi spermatozoa. Affandy dan Tang (2003), menyatakan bahwa spermatozoa membutuhkan sumber energi untuk bertahan hidup di luar tubuh. Sehingga diharapkan madu dapat memberikan sumber energi dan memenuhi kebutuhan fisik dan kimiawi bagi spermatozoa ikan Patin dalam proses pembekuan.

1.2 Rumusan Masalah atau Kerangka Pemikiran

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan suatu masalah:

- 1) Bagaimana pengaruh penambahan ekstender madu dalam meningkatkan viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin siam setelah proses pembekuan?
- 2) Berapakah konsentrasi ekstender madu yang tepat dalam proses pembekuan spermatozoa ikan patin siam?

1.3 Maksud dan Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstender madu terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin siam pada proses pembekuan. Serta untuk mengetahui konsentrasi ekstender madu yang tepat pada media ekstender agar dapat memberikan daya simpan terbaik.

1.4 Hipotesa

H₀ : Penambahan ekstender madu pada media ekstender tidak memberikan pengaruh terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa beku ikan patin siam.

H₁ : Penambahan ekstender madu pada media ekstender dapat memberikan pengaruh terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa beku ikan patin siam.

1.5 Manfaat

Adapun kegunaan dari penelitian ini adalah:

1. Bagi Akademisi

Sebagai suatu referensi dalam pengembangan ilmu pengetahuan mengenai pengaruh ekstender madu terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin siam pada proses pembekuan sperma.

2. Bagi Masyarakat

Sebagai suatu informasi tentang teknologi budidaya ikan patin siam sehingga dapat meningkatkan kesejahteraan masyarakat.

3. Bagi Instansi

Sebagai suatu referensi dalam pengembangan ilmu pengetahuan mengenai proses pengawetan sperma ikan.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2013 di Laboratorium Reproduksi Dan Pemuliaan Ikan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Patin Siam

Menurut Mahyuddin (2010) berdasarkan klasifikasinya, taksonomi ikan Patin siam (Gambar 1) dapat dijabarkan sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Kelas	: Pisces
Sub Kelas	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysi
Sub Ordo	: Siluroidea
Famili	: Pangasidae
Genus	: Pangasius
Spesies	: <i>Pangasius hypophthalmus</i>
Nama Lokal	: Patin Siam



Gambar 1. Ikan Patin (*Pangasius* sp.) (Wulandhari, 2007)

Patin siam mempunyai bentuk tubuh memanjang, agak pipih, dan tidak bersisik. Panjang tubuhnya dapat mencapai 150 cm. Warna tubuh Patin siam pada bagian punggung keabu-abuan atau kebiru-biruan dan pada bagian perut putih keperak-perakan. Kepala Patin siam relatif kecil dengan mulut terletak di

ujung agak ke bawah. Hal ini merupakan ciri golongan *catfish*. Pada sudut mulutnya terdapat dua pasang sungut (kumis) pendek yang berfungsi sebagai alat peraba pada saat berenang atau mencari makan (Gufran dan Kordi, 2010).

Djariah (2001) mengemukakan, ikan Patin memiliki warna tubuh putih keperak-perakan dan punggung kebiru-biruan, bentuk tubuh memanjang, kepala relatif kecil. Ujung kepala terdapat mulut yang dilengkapi dua pasang sungut pendek. Susanto dan Amri (2002) menambahkan, pada sirip punggung memiliki sebuah jari-jari keras yang berubah menjadi patil yang bergerigi dan besar di sebelah belakangnya. Sirip ekor membentuk cagak dan bentuknya simetris. Ikan Patin tidak mempunyai sisik, sirip dubur relatif panjang yang terletak di atas lubang dubur terdiri dari 30-33 jari-jari lunak sedangkan sirip perutnya memiliki enam jari-jari lunak. Sirip dada mempunyai 12-13 jari-jari lunak dan sebuah jari-jari keras yang berubah menjadi senjata yang dikenal dengan patil. Di bagian permukaan punggung ikan Patin terdapat sirip lemak yang berukuran kecil.

2.1.2 Biologi Ikan Patin Siam

Patin siam adalah ikan sungai, muara-muara sungai dan danau. Larva Patin siam dapat hidup pada perairan sampai salinitas 5 ppt. Patin siam dikenal sebagai hewan nokturnal, yakni hewan yang aktif pada malam hari dan sebagai hewan dasar. Hal ini dapat dilihat dari bentuk mulutnya yang agak ke bawah. Ikan ini juga suka bersembunyi di liang-liang tepi sungai (Gufran dan Kordi, 2010).

Menurut Djariah (2001), Ikan Patin memerlukan sumber energi yang berasal dari makanan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup. Patin merupakan ikan pemakan segala (omnivora), tetapi cenderung ke arah karnivora. Susanto dan Amri (2002) menjelaskan, di alam makanan utama ikan Patin berupa udang renik (crustacea), insekta dan moluska. Sementara makanan

pelengkap ikan Patin berupa rotifera, ikan kecil dan daun-daunan yang ada di perairan.

Di alam, Patin siam memijah di awal atau sepanjang musim hujan. Hal ini berhubungan erat dengan bertambahnya volume air yang biasanya terjadi pada musim hujan, meningkatnya kualitas dan kuantitas air, serta ketersediaan jasad renik (pakan alami). Pada musim hujan, terjadi peningkatan kedalaman air yang dapat merangsang ikan Patin siam memijah. Pada kondisi demikian, induk jantan dan betina yang telah matang gonad akan bermigrasi mengikuti aliran sungai untuk melakukan perkawinan di hulu-hulu sungai atau di sungai-sungai besar dan memijah di tempat yang terlindungi/teguh. Perkembangbiakan Patin siam terjadi secara ovipar (eksternal), yaitu terjadi di luar tubuh (Mahyuddin, 2010).

2.2 Reproduksi Ikan

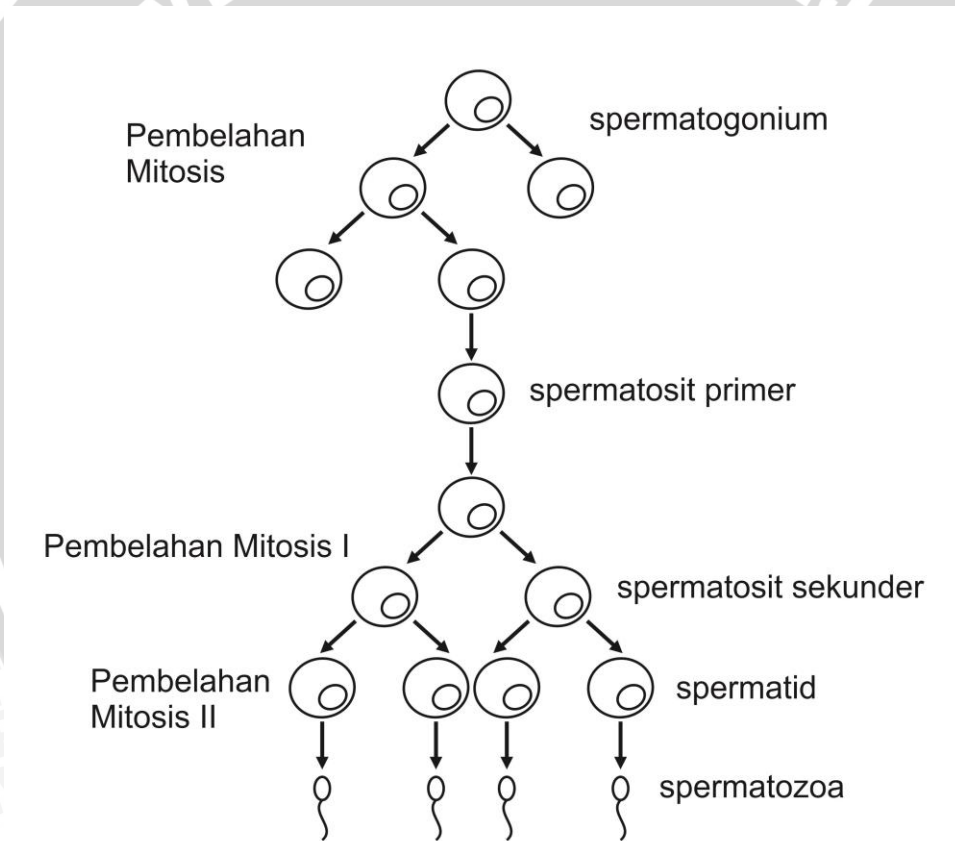
2.2.1 Fisiologi Reproduksi Jantan

2.2.1.1 Spermatogenesis

Perkembangan spermatozoa ikan diawali dengan spermatogonium yang memperbanyak diri secara mitosis pada dinding tubuli dari testis. Spermatogonium berkembang menjadi spermatisit primer dan masing-masing spermatisit primer berkembang menjadi dua spermatisit sekunder, tiap-tiap spermatisit sekunder menghasilkan dua spermatozoa. Spermatozoa berkumpul dalam rongga tubulus dari testis dan tetap dalam stadia dorman sampai kondisi lingkungan sesuai. Ikan jantan siap untuk memijah ketika hormon gonadotropin sudah bekerja (Rustidja, 2004).

Menurut Aryulina (2007), pada tahap pertama spermatogenesis, spermatogonia yang bersifat diploid ($2n$ atau mengandung 23 kromosom yang berpasangan), berkumpul di tepi membran epitelgerminal yang disebut spermatogonia tipe A. Spermatogonia tipe A membelah secara mitosis menjadi

spermatogonia tipe B. Kemudian, setelah beberapa kali membelah, sel-sel ini akhirnya menjadi spermatisit primer yang masih bersifat diploid. Setelah melewati beberapa minggu setiap spermatisit primer membelah secara meiosis membentuk dua buah spermatisit sekunder yang bersifat haploid. Spermatisit sekunder kemudian membelah lagi secara meiosis membentuk empat buah spermatid. Spermatid merupakan calon sperma yang belum memiliki ekor dan bersifat haploid (n atau mengandung 23 kromosom yang tidak berpasangan). Setiap spermatid akan berdiferensiasi menjadi sperma disebut spermiasi, seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Spermatogenesis (Fujaya, 2002)

Kepala sperma terdiri dari sel berinti tebal dengan hanya sedikit sitoplasma. Pada bagian membran permukaan di ujung kepala sperma terdapat selubung tebal yang disebut akrosom. Akrosom mengandung enzim

hialuronidase dan proteinase yang berfungsi untuk menembus lapisan pelindung ovum. Badan sperma terletak di bagian tengah yaitu antara kepala dan ekor sperma. Pada sperma banyak mengandung mitokondria yang berfungsi sebagai penghasil energi untuk pergerakan sperma (Marimbi, 2010).

2.2.1.2 Metabolisme Sperma

Sperma tetap motil untuk waktu lama didalam media yang *isotonic* dengan. Menurut Gardier *dalam* Nurman (1995) *dalam* Affandi dan Muhamad Tang (2002), melaporkan bahwa semen yang encer banyak mengandung glukosa, sehingga memberikan motilitas yang baik terhadap spermatozoa. Sperma akan aktif berenang ketika masuk dalam air. Daya tahan hidup spermatozoa dipengaruhi oleh pH, tekanan osmotik, elktrolit, non elektrolit, suhu dan cahaya. Pada umumnya sperma sangat aktif dan tahan hidup lama pada pH sekitar 7,0. Motilitas parsial dapat dipertahankan pada pH antara 5-10. Suhu mempengaruhi daya tahan hidup sperma, peningkatan suhu akan meningkatkan kadar metabolisme sehingga dapat menurangi daya tahan hidup sperma. Demikian juga cahaya matahari yang langsung mengenai spermatozoa akan memperpendek umur sperma.

Menurut Muncritik dan Moccia (1987) *dalam* Affandi dan Tang (2002), mengatakan bahwa terdapat hubungan antara volume semen dengan motilitas spermatozoa , yaitu semakin encer semen ikan maka motilitas spermatozoa semakin tinggi karena spermatozoa memperoleh makanan yang cukup dari plasma semen. Menurut Aas et. al. (1991) *dalam* Affandi dan Tang (2002), menyatakan bahwa semakin encer semen ikan maka kadar sodium yang terdapat dalam semen semakin tinggi, sehingga motilitas dan fertilitas spermatozoa semakin tinggi.

2.2.1.3 Viabilitas Sperma Ikan Patin Siam

Penilaian persentase viabilitas spermatozoa berdasarkan kemampuan zat warna dalam menembus spermatozoa. Kondisi spermatozoa yang hidup memiliki membran sel masih utuh, dinding sel dapat melindungi masuknya zat warna ke dalam sel spermatozoa sehingga zat warna sulit menembus membran, akibatnya spermatozoa tidak terwarnai oleh zat warna (warna transparan). Sebaliknya jika sel spermatozoa mati, dinding sel tidak dapat menahan masuknya zat warna sehingga zat warna dapat menembus membran sel spermatozoa, akibatnya spermatozoa terwarnai oleh zat pewarna (warna biru keunguan) (Hardijanto *et al*, 2009).

Permukaan spermatozoa dibungkus oleh suatu membran lipoprotein. Apabila spermatozoa tersebut mati, maka permeabilitas membran meninggi, terutama di daerah pangkal kepala dan hal ini merupakan dasar pewarnaan sperma yang membedakan spermatozoa yang hidup dan spermatozoa yang mati (Affandy dan Tang , 2003).

2.2.1.4 Motilitas Sperma Ikan Patin Siam

Motilitas spermatozoa merupakan parameter utama dalam penilaian pemijahan karena motilitas spermatozoa membantu perjalanan spermatozoa dari tempat penyimpanan menuju ke proses pembuahan sel telur (Puspitasari, 2006). Motilitas spermatozoa ditentukan dari pemeriksaan gerakan massa atau individu (Hardijanto *et al*, 2009).

Motilitas sperma sangat bergantung terhadap lingkungan dan proses pengawetan serta pembekuan yang cepat dapat melindungi sperma dari kerusakan akibat efek larutan dan pembentukan kristal es yang akan merusak sperma. Stoss dan Donalson (1982) *dalam* Mar'ati (2007) menyatakan bahwa terjadi penurunan motilitas setelah dilakukan pendinginan, penyimpanan karena

spermatozoa mengalami seleksi yaitu spermatozoa yang lemah akan mati pada proses tersebut. Semakin lama waktu penyimpanan motilitas terus mengalami penurunan karena persediaan energi semakin terbatas.

2.3 Madu

Madu merupakan produk utama lebah madu yang berasal dari sari bunga (nektar). Madu asli merupakan sari bunga yang dikumpulkan, diubah dan diikat dengan senyawa-senyawa tertentu. Kualitas madu ditentukan oleh kualitas tanah tempat bunga tumbuh, sumber nektar atau jenis bunga, cuaca, derajat pemasakan dan cara ekstraksi (Agustina, 2004). Gojmerac (1983) dalam Saputra (2005) menjelaskan bahwa Madu adalah cairan manis yang dihasilkan oleh lebah madu berasal dari sumber nektar (DSN No. 01-3545, 1994). Di Eropa, madu didefinisikan sebagai substansi manis yang diproduksi lebah madu dari nektar bunga atau hasil sekresi tanaman hidup yang dikumpulkan oleh lebah, diubah dan disimpan dalam sarangnya. Madu dihasilkan oleh lebah madu dengan jalan inverse enzimatik nektar bunga atau cairan manis hasil sekresi cairan phloem bagian tanaman selain bunga (Winarno, 1982). Perbedaan jenis tanaman sebagai sumber utama nektar dan polen mengakibatkan komponen madu yang dihasilkannya berbeda. Madu diberi nama menurut asal nektar. Komposisi kimia madu dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: komposisi nektar asal madu, keadaan iklim, topografi, jenis lebah, cara pengolahan dan penyimpanan (Sihombing, 1997).

Sihombing (1997) dalam Saputra (2005) menyebutkan faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas madu antara lain warna, rasa, kekentalan dan aroma. Karakteristik madu yang bisa diamati adalah aroma, rasa dan warna. Karakteristik tersebut berbeda-beda tergantung dari sumber nektarnya. Aroma madu dipengaruhi oleh asam lemak atsiri dan senyawa lain dalam nektar. Warna,

aroma dan flavor madu pada derajat tertentu masih berhubungan. Warna dapat diukur secara objektif sedangkan aroma dan flavor masih menggunakan pengujian subjektif. Madu hutan liar adalah merupakan cairan madu yang di peroleh pemburu madu di hutan belantara secara langsung pada gerombolan Lebah liar. Madu hutan liar merupakan madu bersifat alamiah, dalam arti terbebas dari pengaruh pupuk, pestisida dan polusi. Madu hutan ini sangat banyak jenis aromanya, beraneka ragam warnanya, beraneka macam rasanya. Sebagai contoh Madu Pahit Pelawan yang memiliki rasa pahit dan aroma kuat pohon Pelawan atau Madu Rempodong yang berasal dari Bunga Rempodong. Tabel 2 berikut akan menjelaskan beberapa kandungan madu dari tiga jenis madu.

Table 1. Kandungan dari beberapa jenis madu (Adalina, 2009)

Jenis Madu	Kadar air (%)	Kadar Gula			Enzim Diastase (DN)	Hidroksimetilfurfural (HMF)	Keasaman ml NaOH, 1 N/kg (meq/kg)
		Fruktosa (%)	Glukosa (%)	Sukrosa (%)			
Madu Randu	22,7	58,59	26,17	1,80	6,03	0	56,18
Madu Kaliandra	22,8	39,17	34,17	0,26	3,14	0	23,39
Madu Rambutan	26,5	33,32	31,77	0,48	3,14	5,52	44,18

Mutu madu banyak ditentukan oleh kadar airnya. Kadar air dalam madu akan mempengaruhi keawetan madu, semakin tinggi kadar air madu semakin cepat mengalami fermentasi sehingga cepat mengalami kerusakan (Winarno, 1982). Madu yang mempunyai kadar air lebih dari 20 % rentan terhadap fermentasi, karena kadar air yang tinggi dapat memacu perkembangan sel khamir. Sebaliknya, madu dengan kadar air kurang dari 17 % aman terhadap fermentasi, karena pertumbuhan sel khamir dihambat (Achmadi, 1991). Adapun zat-zat yang terkandung dalam madu dapat dilihat pada Tabel 1. Komposisi kima madu berikut ini.

Tabel 2. Komposisi kimia madu (Molan, 1999)

Komposisi	Jumlah rata-rata dalam 100 gram
Air	17,1 g
Fruktosa	38,5 g
Glukosa	31,0 g
Maltose	7,2 g
Sucrose	1,5 g
Protein	2,66 g
Thaimin	< 0,006 mg
Ribovlavin	< 0,06 mg
Niacin	< 0,36 mg
Asam Pentoneat	< 0,11 mg
Peridoksin (B6)	< 0,4 mg
Asam Askorbat (Vit C)	< 0,32 mg
Kalsium	2,2 - 2,4 mg
Besi	4,4 - 9,2 mg
Magnesium	0,06 - 1,5 mg
Mangan	1,2 - 3,5 mg
Kalium	1,9 - 6,3 mg
Fosfor	13,2 - 16,8 mg
Natrium	0,0 - 7,6 mg
Seng	0,03 - 0,4 mg

2.4 Pembekuan Sperma Ikan Patin

2.4.1 Bahan Ekstender Sperma

Peran *ekstender* sperma dalam pembekuan sperma adalah sumber energi spermatozoa, melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*), menyediakan suatu penyangga untuk mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat sebagai hasil metabolisme spermatozoa, mempertahankan tekanan osmosis dan keseimbangan elektrolit yang sesuai, serta dapat mencegah pertumbuhan dan perkembangan kuman (Havez, 2000).

2.4.2 Bahan Cryoprotectant Sperma

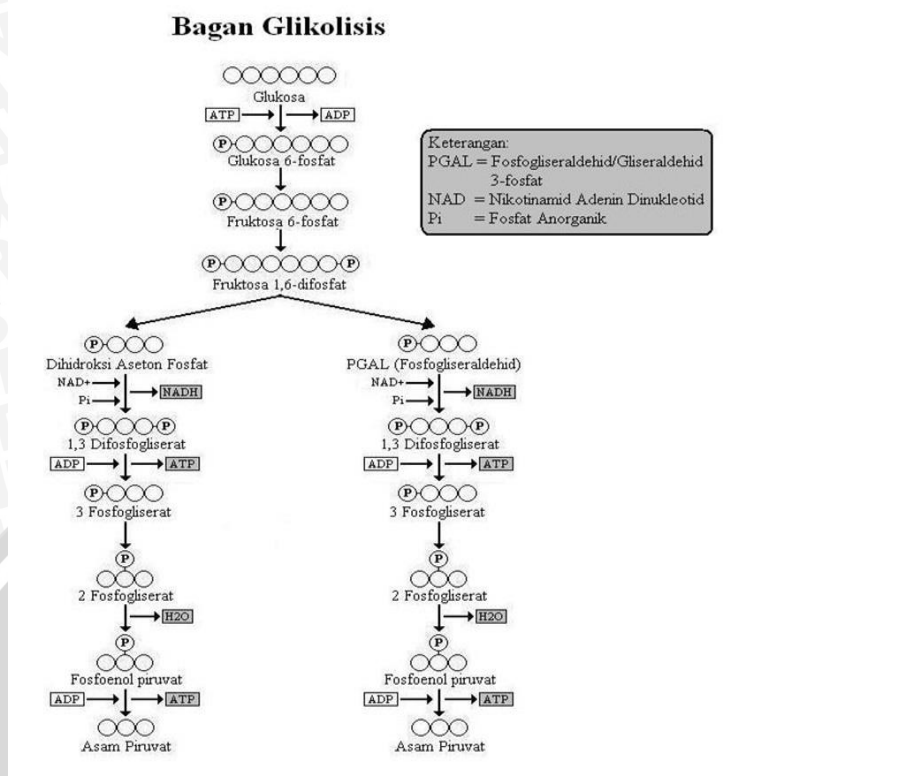
Cryoprotectant adalah zat kimia non elektrolit yang berfungsi mereduksi pengaruh letal proses kriopreservasi sel diantaranya yang berupa efek larutan maupun pembentukan kristal es ekstraseluler atau intraseluler, sehingga dapat menjaga viabilitas sel setelah kriopreservasi (Lutfi, 2009).

Cryoprotectant yang sering dipakai pada proses pembekuan sperma ikan air tawar adalah gliserol dan DMSO (*dimethylsulfoxide*). Berdasarkan sifat-sifat fisikokimia dan daya permeabilitasnya membran *cryoprotectant* dibagi dua kelompok: pertama *cryoprotectant intraseluler* yaitu *cryoprotectant* yang dapat keluar masuk membran, hal ini dikarenakan *cryoprotectant* tersebut memiliki berat molekul yang kecil sehingga bersifat permeable, misalnya gliserol dan glikol. Kedua *cryoprotectant ekstraseluler* yaitu *cryoprotectant* yang tidak dapat keluar masuk membran dikarenakan memiliki berat molekul yang besar sehingga bersifat non permeable, misalnya protein, sukrosa, rafinosa dan kuning telur (Gazali dan Surya, 2002).

Energi untuk pergerakan spermatozoa dihasilkan oleh mitokondria yang berasal dari uraian *Adenosine Trifosfat* (ATP) dan *Adenosine Difosfat* (ADP), tetapi energi banyak didapat pada ikatan fوسفat (P-P). Kimbal (1993) menyatakan bahwa glukosa dapat sebai penghasil ATP baik dalam kondisi *aerob* atau *anaerob*. pada keadaan *aerob* dan tanpa persediaan gula, gerakan spermatozoa menjadi lambat. Gerakan akan kembali normal dengan penambahan glukosa, fruktosa atau monosakarida lainnya. Penggunaan fruktosa atau glukosa dalam madu akan sangat berguna untuk mendukung viabilitas spermatozoa, karena proses pembentukan ATP dan ADP harus terus dilakukan agar motilitas dapat terus berlangsung (Salisbury dan Vandermark, 1985).

Adapun rumus dan proses terbentuknya ATP dan ADP dari glukosa menurut Nugroho (2012) dapat dilihat dari Gambar 3. Bagan Glikolisis dibawah ini:





2.4.3 Penyimpanan Sperma Di Bawah Titik Beku

Sperma beku dapat disimpan menggunakan CO₂ padat (*dry ice*) pada suhu -79°C atau -196°C dalam nitrogen cair. Selama proses penyimpanan berlangsung spermatozoa mengalami kejutan dingin (*cold shock*) yang mengakibatkan kerusakan sel yang tidak dapat diperbaiki. Efek *cold shock* dapat dihindari dengan penambahan zat anti beku (*cryoprotectant*) dan penurunan suhu secara bertahap antara 5°C sampai 0°C (Sulistyorini, 2010).

Penyimpanan sperma dapat dilakukan dengan menggunakan media simpan, temperatur rendah dan penambahan udara. Kriopreservasi semen merupakan salah satu cara penyimpanan sperma yang menggunakan larutan nitrogen cair (-196°C) sebagai cairan pembeku dengan cairan krioprotektan untuk melindungi sel spermanya. Saat ini ±200 spesies ikan di dunia yang berhasil diawetkan semennya menggunakan teknik kriopreservasi (Glogowski et al., 2002).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat

Bahan yang digunakan meliputi: mikroskop, tabung Eppendorf, tabung reaksi, gelas ukur, *obyek glass*, *cover glass*, *thermometer*, *handtally counter*, termos air, timbangan analitik, lap halus, kertas pH, pipet, *sputit*, *haemocytometer*, aluminium foil dan lemari pendingin.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan meliputi: sperma ikan Patin Siam (*Panganius hypophthalmus*), alkohol 70%, madu bunga Kaliandra, DMSO (*dimethylsulfoxide*), Nitrogen cair, NaCl fisiologis, larutan eosin nigrosin dan aquadest.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode penelitian eksperimen. Menurut Basuki (2006) metode penelitian eksperimen adalah metode penelitian yang berupaya menjawab pertanyaan "Bagaimanakah bila". Di dalamnya, peneliti memasukkan unsur baru ke dalam situasi untuk mengetahui akibatnya, jika ada.

Tujuan adalah tempat, situasi atau kondisi yang menjadi titik akhir yang ingin dicapai dari suatu kegiatan. Tujuan menjadi pemandu atau arah bagi perjalanan atau kegiatan yang dilakukan agar efektif dan efisien. Tujuan juga menjadi motivasi bagi diri seseorang atau sekelompok orang agar bisa mencapainya. Dengan kata lain, tujuan menjadi bagian yang amat penting bagi setiap aktivitas umat manusia (Prastowo, 2011).

Tujuan metode eksperimen yaitu menguji hipotesis dan menentukan hubungan-hubungan kausal yang baru, atau efek atau akibat sesuatu terhadap yang lain. Sementara, dilihat dari kegunaannya, metode eksperimen memiliki kegunaan yaitu memungkinkan eksperimen terkendali untuk mengetahui kemungkinan yang timbul sebelum melaksanakan perubahan terhadap sebuah sistem (Basuki, 2006).

3.2.2 Prosedur Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang *seragam* atau *homogen*, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan di laboratorium, rumah kaca, dan peternakan. Karena media homogen maka media atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh pada respon yang diamati dan model untuk RAL adalah sebagai berikut (Sastrosupadi, 2000) :

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

Keterangan:

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

μ : Nilai tengah umum

T_i : Pengaruh perlakuan ke- i

ϵ_{ij} : Pengaruh gallet percobaan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

Penentuan dosis glukosa dan fruktosa yang digunakan sebagai kontrol didasarkan pada penelitian terdahulu yang telah dilakukan Sulistyorini (2010) dengan judul "Penambahan ekstender madu dalam proses penyimpanan sperma beku terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan komet" yaitu dengan dosis 0,5 %. Penentuan dosis madu didasarkan pada penelitian terdahulu yang dilakukan dengan dosis 0,3 %, 0,5 % dan 0,7%. Dari penelitian terdahulu

didapatkan hasil terbaik dengan penambahan ekstender madu 0,5 %. Pada dosis 0,5 % menunjukkan viabilitas dan motilitas dengan nilai tertinggi dengan perlakuan dilakukan secara acak.

Penelitian menggunakan 6 perlakuan, 3 ulangan dan 3 kali lama pembekuan, yang terdiri dari:

- Perlakuan KN : Kontrol DMSO tanpa penambahan ekstender madu
 Perlakuan A : DMSO + madu 0,3% + NaCl Fis
 Perlakuan B : DMSO + madu 0,4% + NaCl Fis
 Perlakuan C : DMSO + madu 0,5% + NaCl Fis
 Perlakuan D : DMSO + madu 0,6% + NaCl Fis
 Perlakuan E : DMSO + madu 0,7% + NaCl Fis

Masing – masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan dan kontrol sehingga terdapat 18 unit percobaan. Perlakuan pada waktu lama pembekuan 24 jam dan 28 jam dilakukan untuk penelitian pendahuluan, dimana memiliki fungsi sebagai mencari waktu terbaik untuk lama pembekuan. Lama pembekuan yang dapat dipakai untuk penelitian ini yaitu selama 72 jam. Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah penelitian seperti pada gambar 4. berikut ini:

E1	D2	B1	A2	C3	K3
D3	C2	E2	B3	K2	A1
E3	D1	C1	A3	B2	K1

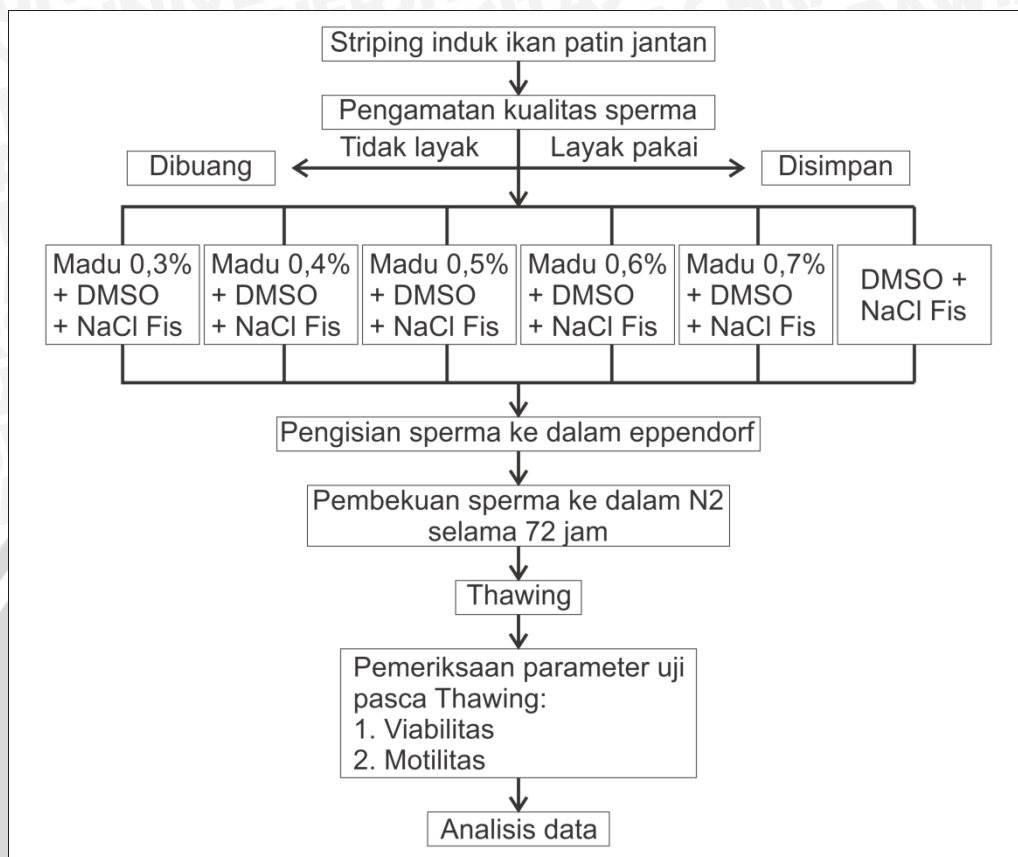
Gambar 4. Denah percobaan

Keterangan :

A, B, C, D, E dan K : Perlakuan

1, 2, 3 : Ulangan

Adapun bagan rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Bagan rancangan penelitian

3.3 Parameter Penelitian

3.3.1 Evaluasi Sperma Segar

Evaluasi sperma segar sangat penting untuk diketahui karena merupakan salah satu kriteria untuk menentukan kualitas sperma segar sebelum melakukan pembekuan sperma. Hal ini bertujuan sebagai quality control dimana sperma dapat memenuhi syarat untuk pembekuan atau tidak. Adapun evaluasi sperma segar terdiri dari: volume, warna, pH, kekentalan, konsentrasi, viabilitas, motilitas dan lama gerak. Kualitas awal sperma penting diketahui guna menentukan kelayakan sperma untuk diproses lebih lanjut (Meirnowati *et al*, 2011).

Evaluasi sperma segar diambil sebelum menjalankan perlakuan, dimana sperma diambil sengan cara distriping dan kemudian diamati baik dibawah mikroskop maupun dilihat langsung menggunakan mata telanjang. Hal ini

bertujuan untuk mengetahui layak atau tidaknya sperma untuk dilanjutkan ke proses pembekuan. sperma yang tidak layak untuk proses pembekuan dari satu ikan akan langsung di buangm sedangkan sperma yang layak untuk proses pembekuan dari satu ikan lainnya akan langsung dilanjutkan ke proses pembekuan.

3.3.2 Viabilitas Spermatozoa

Permukaan spermatozoa dibungkus oleh suatu membran lipoprotein. Apabila spermatozoa tersebut mati, maka permeabilitas membran meninggi, terutama di daerah pangkal kepala dan hal ini merupakan dasar pewarnaan sperma yang membedakan spermatozoa yang hidup dan spermatozoa yang mati (Tang dan Affandy, 2004). Dengan tidak isotonisnya bahan pengencer, banyak sperma yang mati, mengakibatkan permeabilitas membran meninggi terutama di daerah pangkal kepala, sehingga sel spermatozoa akan berwarna merah yang merupakan indikasi penyerapan warna eosin (Toelihere, 1985).

Proses pengamatan untuk mengetahui tingkat viabilitas spermatozoa dilakukan dengan cara mengambil sperma yang sudah dibekukan dengan perlakuan penambahan madu, kemudian dijadikan preparat pewarnaan dengan menggunakan eosin dan diamati menggunakan mikroskop. spermatozoa yang mati akan berwarna merah, sedangkan sperma yang hidup tidak akan berubah warna atau berwarna putih susu. Setelah itu dihitung sperma yang hidup menggunakan *handtally counter*. Untuk menentukan tingkat viabilitas spermatozoa ikan patin dapat ditentukan menggunakan rumus (Nuraini dan Sukendi, 2006):

$$\text{Viabilitas} = \frac{\sum \text{spermatozoa hidup}}{\text{total spermatozoa}} \times 100\%$$

3.3.3 Motilitas Spermatozoa

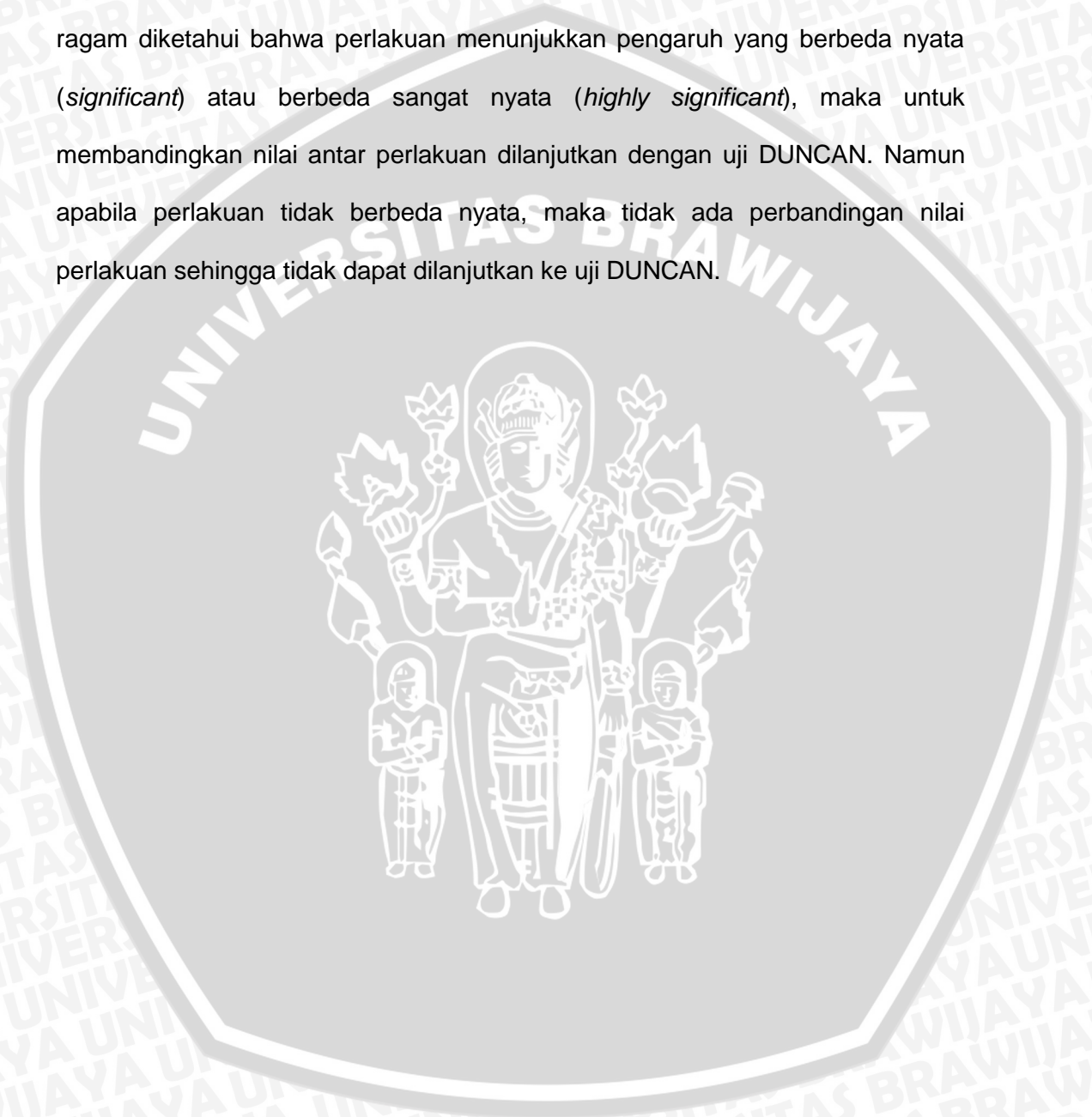
Motilitas sperma merupakan parameter yang digunakan untuk memperkirakan kelangsungan hidup sperma. Paisal (2008) menyatakan bahwa sperma yang motilitasnya normal apabila lebih dari 40% atau lebih spermanya dapat bergerak dan membuahi telur. Menurut Billard *et al* (1992), ada dua tahap yang dibutuhkan untuk mengamati motilitas agar terjadi pada saat yang bersamaan. langkah yang pertama adalah sperma diencerkan dalam medium yang tidak menyebabkan sperma motil. Selanjutnya gerakan sperma merupakan tanda sperma telah teraktivasi, karena sperma dicampur dengan bahan yang dapat mengaktifkan dan pergerakan sperma diamati langsung dibawah mikroskop.

Peroses pengamatan untuk mengetahui tingkat motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara mengambil sperma yang sudah dibekukan dengan perlakuan panambahan madu, kemudian diamati dibawah mikroskop dan langsung dihitung spermatozoa yang motil menggunakan *handtally counter*. perhitungan spermatozoa yang motil harus dengan seksama, hal ini dikarnakan sulitnya membedakan antara sperma yang motil dan sperma yang terbawa arus air karena gerakan perpindahan *obyek glass* guna mencari posisi yang tepat pada kumpulan spermatozoa dan mencari fokus yang maksimal agar spermatozoa terlihat sangat jelas. Untuk menentukan tingkat motilitas spermatozoa ikan patin dapat ditentukan menggunakan rumus (Nuraini dan Sukendi, 2006):

$$\text{Motilitas} = \frac{\sum \text{spermatozoa motil}}{\text{total spermatozoa}} \times 100\%$$

3.4 Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap. Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji DUNCAN. Namun apabila perlakuan tidak berbeda nyata, maka tidak ada perbandingan nilai perlakuan sehingga tidak dapat dilanjutkan ke uji DUNCAN.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Evaluasi Sperma Segar

Hasil pemeriksaan makrokopis dan mikrokopis sperma ikan Patin siam (*Pangasius hypophtalmus*) dapat dilihat pada Tabel 3. di bawah ini:

Tabel 3. Pemeriksaan makrokopis dan mikrokopis sperma segar.

No.	Pengamatan	Keterangan
1	Volume	1 ml
2	Warna	Putih susu
3	pH	7,3
4	Kekentalan	Kental
5	Konsentrasi	162.3×10^6 sel/ml
6	Viabilitas (%)	87 %
7	Motilitas (gerakan)	63 %
8	Lama Gerak (menit)	3 menit 62 detik

Berdasarkan Tabel 3, pemeriksaan viabilitas, motilitas dan lama gerak sperma ikan Patin (*Pangasius hypophtalmus*) tersebut layak digunakan untuk proses pembekuan.

Berdasarkan hasil pemeriksaan secara mikroskopis semen segar ikan Patin memiliki nilai viabilitas sperma yang cukup baik yaitu 87%, dengan viabilitas tersebut dapat dikatakan bahwa sperma yang tertampung cukup baik dan dapat dilakukan ke proses pembekuan selanjutnya. Hal ini sesuai dengan yang dipersyaratkan oleh Stos (1982) dalam Rustidja (2000) bahwa sperma segar yang akan digunakan untuk penyimpanan dan pembekuan harus mempunyai nilai viabilitas minimal 70%.

Konsentrasi sperma sangat penting untuk diketahui karena merupakan salah satu kriteria dalam menentukan kualitas sperma. Konsentrasi yang didapat pada saat penelitian yaitu 162.3×10^6 sel/ml, nilai tersebut cukup rendah jika yang dipersyaratkan oleh Rustidja (2000) bahwa konsentrasi sperma ikan berkisar $\pm 3,7-11,9 \times 10^9$ spermatozoa ml⁻¹ cairan, karena untuk ikan yang mampu menghasilkan telur sampai ratusan ribu butir selain konsentrasinya yang

tinggi, maka akan membutuhkan volume sperma yang lebih banyak pula. Namun, Kilawati (2004) mengatakan bahwa tinggi rendahnya konsentrasi sperma dipengaruhi oleh frekuensi pengambilan sperma, kesehatan ikan, dan kualitas nutrisi ikan.

Motilitas adalah daya gerak sperma yang dinilai segera setelah proses penampungan selesai, yang merupakan kriteria utama dalam penelitian kualitas sperma untuk proses selanjutnya. Nilai motilitas individu yang didapat adalah 63%, hal ini sudah menunjukkan sperma tersebut dalam kondisi yang cukup bagus karena menurut Toelihere (1981) dalam Faqih (2011), persentase motilitas spermatozoa yang dikatakan kurang baik dalam proses pembuahan telur apabila di bawah 40%, karena sering menyebabkan pembuahan tidak berhasil.

Hasil evaluasi pengamatan semen segar menunjukkan bahwa semen segar tersebut layak untuk proses pembekuan selanjutnya. pemeriksaan akan dilakukan setelah proses pembekuan meliputi viabilitas dan motilitas spermatozoa. Rata-rata viabilitas terendah terdapat pada perlakuan tanpa penambahan madu (KN) sebagai kontrol yang berbeda nyata dengan semua perlakuan. Hal ini disebabkan sperma dalam perlakuan KN kekurangan sumber energi yang berasal dari bahan pengencer sehingga viabilitas sperma rendah.

4.2 Viabilitas Sperma Ikan Patin

Penentuan Viabilitas sperma dilakukan dengan metode pembuatan preparat ulas dengan pewarnaan *eosin negrosin*. Spermatozoa yang mati akan menyerap zat warna sehingga akan berwarna ungu kemerahan, sedangkan yang hidup tidak akan menyerap zat warna sehingga tetap seperti warna asli yaitu putih susu seperti terdapat pada Lampiran 7. Gambar 23.

Rata-rata viabilitas sperma ikan Patin pada pengamatan jam ke 72 dapat dilihat pada Tabel. 4.

Tabel 4. Rata-Rata Viabilitas Sperma Ikan Patin Pada Pengamatan Jam Ke 72

Perlakuan	Rata-rata Viabilitas (%)
A	34,01
B	27,62
C	33,94
D	38,22
E	31,14
KN	16,01

Perlakuan A : dosis madu 0,3% pada media pengencer DMSO
 Perlakuan B : dosis madu 0,4% pada media pengencer DMSO
 Perlakuan C : dosis madu 0,5% pada media pengencer DMSO
 Perlakuan D : dosis madu 0,6% pada media pengencer DMSO
 Perlakuan E : dosis madu 0,7% pada media pengencer DMSO
 Perlakuan KN : media pengencer DMSO tanpa penambahan madu

Sidik ragam viabilitas sperma ikan Patin dapat diketahui dari nilai hasil F Hitung dan F Tabel perlakuan. Nilai F tabel yang didapat berfungsi sebagai penentu dari perbedaan dari setiap perlakuan, dimana dalam penelitian ini F tabel 5% lebih kecil dari F tabel 1%. Sehingga, nilai antar perlakuan berbeda sangat nyata. Sebaliknya apabila nilai F tabel 5% lebih besar dibandingkan nilai F tabel 1%, maka perlakuan tidak berbeda nyata. Nilai F Hitung dan F Tabel pada pengamatan ke 72 jam dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Sidik Ragam Viabilitas Sperma Ikan Patin jam ke 72

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	905,33	181,07	5,51	3,11	4,33
Galat	12	393,94	32,83			
Umum	17	1299,27				

Keterangan: Superskrip berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p > 0.01$).

Setelah didapat nilai sidik ragam, maka dilanjutkan pada uji lanjutan Duncan apabila nilai perlakuan berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, namun apabila nilai perlakuan tidak berbeda nyata atau F tabel 5% lebih tinggi dari F tabel 1% maka tidak perlu dilanjutkan ke uji lanjutan Duncan. Adapun

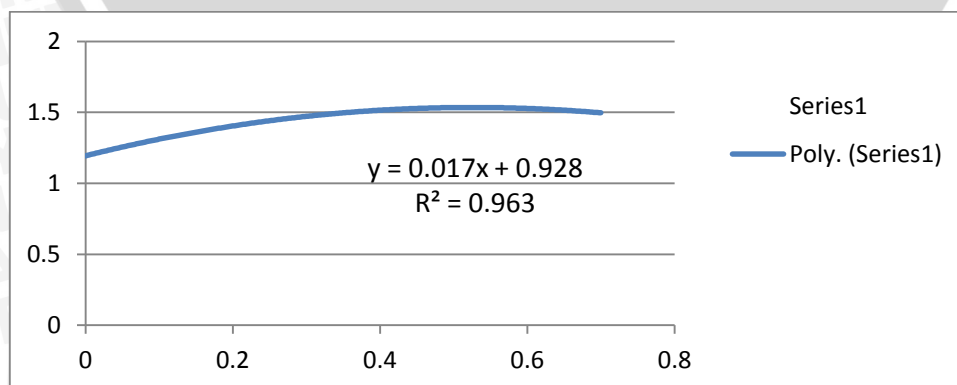
notasi viabilitas dari uji lanjutan Duncan pada pengamatan jam ke 72 dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Viabilitas Uji Duncan jam ke 72

A	34,01	b
B	27,62	ab
C	33,94	b
D	38,22	b
E	31,14	b
KN	16,01	a

Hasil Jarak Berganda Duncan menunjukkan perlakuan penambahan madu 0,6% (D) nilai rata-rata viabilitasnya tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan penambahan madu 0,6% (D) tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan madu 0,3% (A), 0,4% (B), 0,5% (C) dan 0,7% (E) tetapi berbeda nyata dengan perlakuan tanpa penambahan madu (KN). Rata-rata viabilitas terendah didapat pada perlakuan tanpa penambahan madu (KN) yang berbeda nyata dengan semua perlakuan. Nilai rata-rata terendah dari perlakuan penambahan madu 0.3% (A), 0,4% (B), 0,5% (C), 0,6% (D), 0,7% (E) adalah 0,3% (A) yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,4% (B), 0,5% (C), 0,6% (D) dan 0,7% (E) tetapi berbeda nyata dengan KN (tanpa penambahan madu).

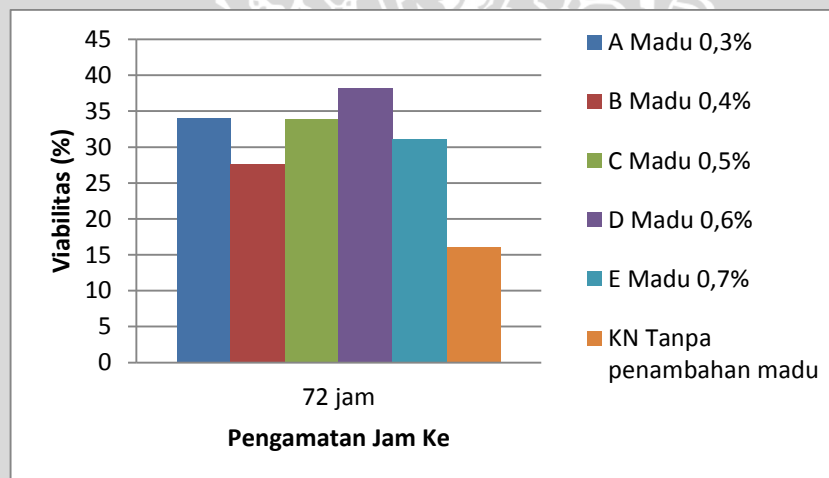
Dari data viabilitas yang diperoleh, dapat diregresikan dengan persentase penambahan madu setiap perlakuan. Hasil regresi viabilitas sperma ikan Patin siam dapat dilihat pada grafik Gambar 6.



Gambar 6. Grafik regresi viabilitas sperma ikan Patin siam

Pada Gambar 6. Grafik regresi viabilitas sperma ikan Patin siam dapat dilihat persamaan : $y = 0,017x + 0,928$ $R^2 = 0,963$ persamaan regresi tersebut dijelaskan konstanta sebesar 0,017 artinya jika penambahan madu (X) nilainya 0, maka nilai indeks viabilitasnya (Y) adalah 0,928. koefisien regresi variabel penambahan madu (X) sebesar 0,963 artinya jika variabel independen lain nilainya tetap dan penambahan madu mengalami kenaikan 1%, maka nilai viabilitas akan mengalami kenaikan sebesar 96,3%.

Sedangkan grafik viabilitas spermatozoa ikan Patin pada semua pengamatan dapat dilihat pada Gambar 7. dimana dapat dilihat penurunan nilai viabilitas dari perlakuan A penambahan madu 0,3% ke perlakuan B penambahan madu 0,4% kemudian naik sampai perlakuan D penambahan madu 0,6% dan akhirnya turun sampai perlakuan KN tanpa penambahan madu.



Gambar 7. Grafik viabilitas spermatozoa ikan Patin dengan berbagai macam perlakuan penambahan madu dan kontrol.

Gambar 7. menunjukkan terjadinya penurunan viabilitas sperma pada semua perlakuan setelah pembekuan. Pengamatan pada jam ke 72 yang menunjukkan nilai viabilitas masih terdapat pada perlakuan D penambahan madu 0,6% dengan hasil persentase 38,22%. Begitu pula hasil persentase terendah didapat pada perlakuan KN tanpa penambahan madu sebesar 31,14%.

Nilai rata-rata viabilitas tertinggi pada perlakuan penambahan madu didapat pada perlakuan penambahan madu 0,6% (D) sebesar 38,22%^B, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan madu 0,3% (A) dan 0,5% (C) tetapi berbeda nyata dengan perlakuan tanpa penambahan madu (KN) sebagai kontrol. Hal ini dapat dikatakan bahwa madu dapat menambah nutrisi pada sperma ikan Patin dalam proses pembekuan selama 72 jam. Dikarenakan madu mengandung glukosa dan fruktosa serta mineral yang dibutuhkan sperma sehingga dapat dijadikan sumber energi. Hidayatullah (2007), menyatakan bahwa bahan utama yang dipakai spermatozoa sebagai sumber energi pada saat diluar testis adalah fruktosa. Fruktosa tersebut diubah menjadi asam laktat dengan bantuan enzim fruktolisin dalam proses glikolisis untuk menghasilkan ATP dan ADP bagi spermatozoa.

Penambahan madu pada media pengencer juga mempengaruhi viskositas (kekentalan) dan permeabilitas membran. Viskositas dan permeabilitas membran spermatozoa erat kaitannya dengan viabilitas dan motilitas spermatozoa. Affandi dan Tang (2000) dalam Satyani (2007) menyebutkan bahwa tinggi rendahnya viskositas akan menyebabkan nilai viabilitas dan motilitas pada spermatozoa.

Rata-rata viabilitas terendah pada perlakuan penambahan madu didapat pada perlakuan penambahan madu 0,4% (B) sebesar 27,62%^{AB} tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan madu 0,7% (E). Pada perlakuan C dosis yang diberikan terlalu kecil sehingga kurang akan sumber energi yang menyebabkan kematian pada spermatozoa, sedangkan pada perlakuan E dosis yang madu yang diberikan terlalu tinggi sehingga menyebabkan sperma membutuhkan waktu yang lebih lama dalam beradaptasi terhadap pengencer. viskositas yang tinggi menyebabkan tekanan osmosis pengencer meningkat (hipertonik). Wulandari (2004) menyatakan bahwa tekanan osmosis yang tinggi

(hipertonik) kurang sesuai untuk kehidupan sperma ikan. Pada penelitian ini pengamatan viabilitas seluruh konsentrasi pengencer yang digunakan untuk pembekuan sperma ikan Patin berhasil mempertahankan hingga jam ke 72 dengan rata-rata persentase terbaik pada setiap perlakuan 38,22%.

4.3 Motilitas Sperma

Hasil pengamatan penelitian motilitas spermatozoa diperoleh dari pengamatan berapa banyak sperma yang bergerak (%). Toelihere (1993) dalam Zairin, dkk (2005) menjelaskan bahwa berdasarkan gerakan massa, kualitas semen dapat ditentukan sebagai berikut; a).Sangat baik (+++), terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif seperti gumpalan awan hitam yang bergerak cepat dan berpindah-pindah; b) Baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban; c) Sedang (+), jika tidak terlihat gelombang, hanya gerakan individual aktif progresif; d) Buruk (N, nekrospermia atau O), bila hanya sedikit atau tidak ada gerakan-gerakan individual. Rata-rata motilitas sperma pengamatan pada jam ke 72 disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata Motilitas Sperma Ikan Patin Pengamatan Pada Jam Ke 72

Perlakuan	Rata-rata Motilitas (%)
A	42.07
B	40.06
C	40.18
D	45.72
E	40.36
KN	21.34

Sidik ragam motilitas sperma ikan Patin dapat diketahui dari nilai hasil F Hitung dan F Tabel perlakuan. Nilai F tabel yang didapat berfungsi sebagai penentu dari perbedaan dari setiap perlakuan, dimana dalam penelitian ini F tabel 5% lebih kecil dari F tabel 1%. Sehingga nilai antar perlakuan berbeda sangat nyata. Sebaliknya apabila nilai F tabel 5% lebih besar dibandingkan nilai F

tabel 1%, maka perlakuan tidak berbeda nyata. Nilai F Hitung dan F Tabel pada pengamatan ke 72 dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Sidik Ragam Motilitas Sperma Ikan Patin Jam Ke 72

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	975.15	195.03	6.43	3.11	4.331
Galat	12	363.74	30.31			
Umum	17	1338.89				

Keterangan : superskrip berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p > 0,1$).

Setelah didapat nilai sidik ragam, maka dilanjutkan pada uji lanjutan Duncan apabila nilai perlakuan berbeda nyata atau berbeda sangat nyata., namun apabila nilai perlakuan tidak berbeda nyata atau F tabel 5% lebih tinggi dari F tabel 1% maka tidak perlu dilanjutkan ke uji lanjutan Duncan. Adapun notasi motilitas dari uji lanjutan Duncan pada pengamatan jam ke 72 dapat dilihat pada tabel 9.

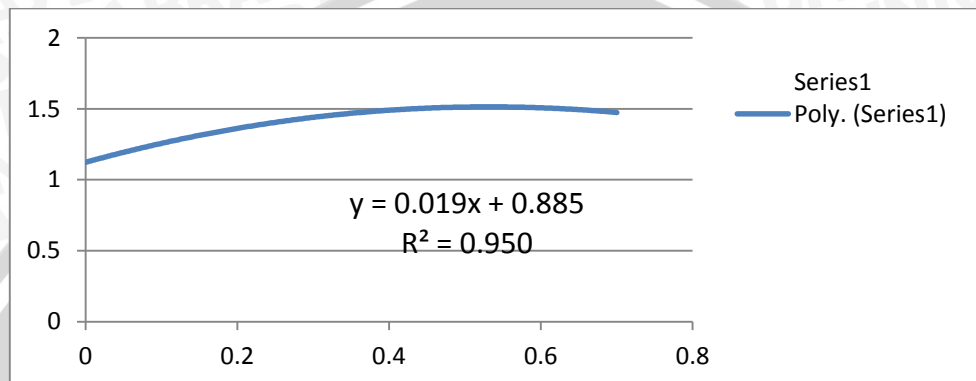
Tabel 9. Motilitas Uji Duncan jam ke 72.

0.3	A	42.07	b
0.4	B	40.06	ab
0.5	C	40.18	b
0.6	D	45.72	b
0.7	E	40.36	b
0	KN	21.34	a

Hasil Uji Jarak Berganda Duncan menunjukkan bahwa rata-rata motilitas tertinggi pada perlakuan madu terlihat pada dosis 0,6% (D). Perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan madu 0,3% (A), 0,4% (B), 0,5% (C) dan 0,7% (E) tetapi berbeda nyata dengan perlakuan tanpa penambahan madu (KN). Rata-rata motilitas terendah didapat pada perlakuan tanpa penambahan madu (KN) yang berbeda nyata dengan semua perlakuan. Nilai rata-rata terendah dari perlakuan penambahan madu 0.3% (A), 0,4% (B), 0,5% (C), 0,6% (D), 0,7% (E) adalah 0,5% (C) yang tidak berbeda nyata dengan

perlakuan 0,4% (B), 0,5% (C), 0,6% (D) dan 0,7% (E) tetapi berbeda nyata dengan KN (tanpa penambahan madu).

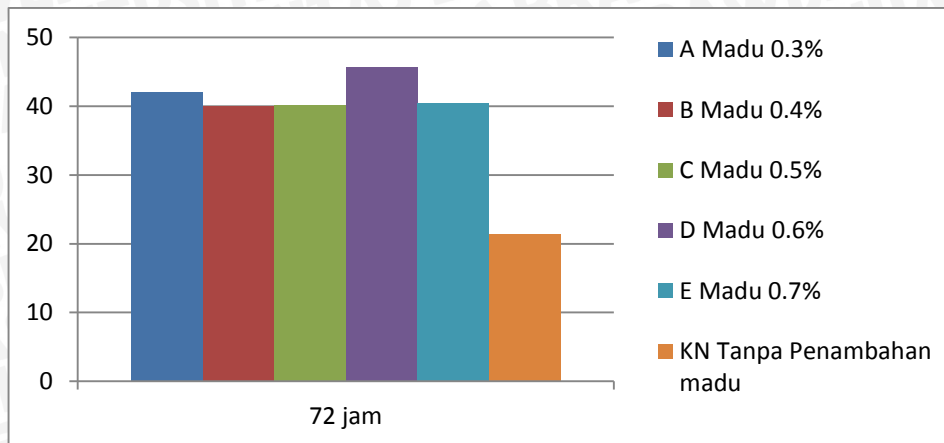
Dari data motilitas yang diperoleh, dapat diregresikan dengan persentase penambahan madu setiap perlakuan. Hasil regresi motilitas sperma ikan Patin siam dapat dilihat pada grafik Gambar 8.



Gambar 8. Grafik regresi motilitas sperma ikan Patin siam

Pada Gambar 8. Grafik regresi motilitas sperma ikan Patin siam dapat dilihat persamaan : $y = 0,019x + 0,885$ $R^2 = 0,950$ persamaan regresi tersebut dijelaskan konstanta sebesar 1,529 artinya jika penambahan madu (X) nilainya 0, maka nilai indeks motilitasnya (Y) adalah 1,529. koefisien regresi variabel penambahan madu (X) sebesar 0,547 artinya jika variabel independen lain nilainya tetap dan penambahan madu mengalami kenaikan 1%, maka nilai motilitas akan mengalami kenaikan sebesar 54,7%.

Sedangkan grafik motilitas spermatozoa ikan Patin pada semua pengamatan dapat dilihat pada Gambar 9. grafik motilitas setiap pengamatan menunjukkan penurunan dari perlakuan A penambahan madu 0,3% sampai perlakuan C penambahan madu 0,5% kemudian naik sampai perlakuan D penambahan madu 0,6% dan akhirnya turun sampai perlakuan KN tanpa penambahan madu.



Gambar 9. Grafik motilitas sperma ikan Patin dengan berbagai macam perlakuan penambahan madu dan kontrol.

Gambar 9. Pengamatan pada jam ke 72 yang menunjukkan nilai motilitas tertinggi terdapat pada perlakuan D penambahan madu 0,6% dengan hasil persentase 45.72% dan hasil persentase terendah didapat pada perlakuan KN tanpa penambahan madu sebesar 21.34%.

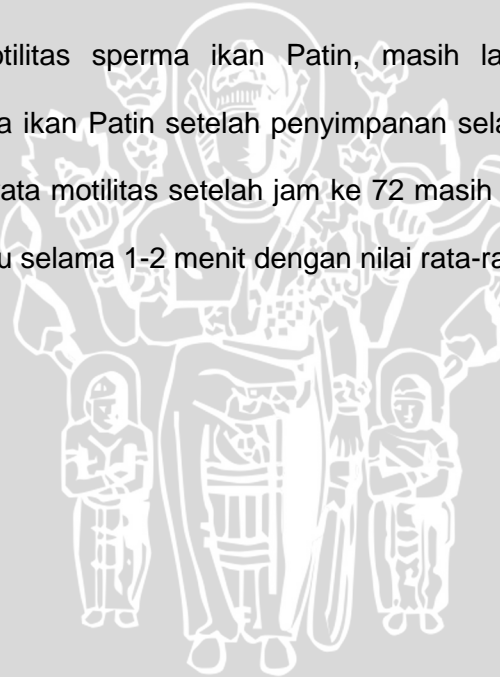
Sperma ikan motil pada saat tercampur dengan media air yang hipotonis, pengamatan lama gerak dimula dari Bergeraknya sperma pada media air kemudian dihitung total sperma dan jumlah sperma yang motil. Perlakuan penambahan madu 0,6% (D) menunjukkan hasil tertinggi diantara perlakuan madu lainnya dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan tanpa penambahan madu (KN). Hal ini berarti bahwa ekstender madu dapat berfungsi sebagai menambah ketahanan sperma pada perlindungan *cold shock*.

Hasil perlakuan penambahan madu tidak sama dengan kontrol tanpa penambahan sperma. Hal ini dikarenakan didalam madu terkandung 2 unsur yaitu glukosa dan fruktosa. Glukosa dan fruktosa digunakan sebagai sumber energi dalam proses metabolisme sehingga sperma dapat mempertahankan hidup dalam proses penyimpanan. Rahardhianto, dkk (2012) menyatakan bahwa nutrisi yang disumbangkan oleh madu terutama berupa glukosa dan fruktosa

yang dipakai sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa.

Rata-rata lama gerak sperma terendah didapat pada perlakuan kontrol tanpa penambahan madu (KN), disebabkan pada perlakuan kontrol tanpa penambahan madu (KN) tidak mengandung sumber energi sehingga sperma tidak dapat hidup lebih lama dan apabila dapat hidup sperma akan bergerak pada waktu yang lebih singkat. Menurut Suquest (1994) dalam Hidayaturrahmah (2007) menyatakan bahwa durasi motilitas terjadi dalam periode yang sangat pendek pada ikan air tawar, pergerakan aktif spermatozoa ikan sekitar 1-2 menit dan tidak ada lagi pergerakan setelah 5 menit.

Persentase motilitas sperma ikan Patin, masih layak dipakai untuk inseminasi buatan pada ikan Patin setelah penyimpanan selama 72 jam. Hal ini dikarenakan nilai rata-rata motilitas setelah jam ke 72 masih layak dipakai untuk inseminasi buatan, yaitu selama 1-2 menit dengan nilai rata-rata terbaik 45.72%.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. penambahan ekstender madu dapat meningkatkan viabilitas dan motilitas sperma ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) selama proses pembekuan sperma.
2. penambahan ekstender madu dengan dosis 0,6% merupakan dosis yang terbaik dalam meningkatkan viabilitas sebesar 38,22% dan motilitas sebesar 45.72% ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*).

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan setelah dilakukan penelitian ini adalah:

1. Perlu adanya penelitian lanjutan tentang pengaruh lama pembekuan terhadap motilitas dan viabilitas sperma ikan patin dengan ekstender yang sama (madu) dengan penambahan yang berbeda.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan ekstender yang lain.
3. Perlu dilakukan penelitian dengan lama pendinginan yang lebih panjang dan ekstender yang sama (madu).
4. Perlu adanya penelitian lanjutan ke proses pembenihan ikan Patin Siam
5. Perlu adanya penelitian lanjutan ke stabilitas N₂ cair didalam termos air

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, S. 1991. Analisa Kimia Produk Lebah Madu dan Pelatihan Laboratorium Pusat Perlebahan Nasional Parung Panjang. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB. Bogor
- Adalina, Yelin. 2009. Komposisi Kimia Madu dari Jenis Lebah *Apis cerana*. Pusat Litbang Hutan dan Konservasi Alam. Bogor
- Affandi, R., dan Tang, U. 2002. Fisiologi Hewan Air. University Riau Press. Riau
- _____. 2003. Biologi Reproduksi Ikan. University Riau Press. Riau
- Agustina, A. 2004. Kandungan Madu. www.mail-archive.com. Diakses pada tanggal 13 Juli 2011 pada pukul 20.41 WIB.
- Aryulina, D. 2007. Biologi 2. Erlangga. Jakarta.
- Basuki, Sulisty. 2006. Metode Penelitian. Wedatama Widyastra bekerjasama dengan Fakultas Ilmu Pengetahuan Budaya Universitas Indonesia. Jakarta.
- Citra, D. 2011. Pengaruh Jenis dan Kadar Ekstender Kulit Akasia (*Acacia mangium willd*) Terhadap Kualitas Papan Partikel yang Dihasilkannya. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Djariah, A.S. 2001. Budi Daya Ikan Patin. Kanisius. Yogyakarta.
- DPDJP. 2007. Petunjuk Teknis Produksi dan Distribusi Semen Beku. Departemen Pertanian Direktorat Jendral Peternakan. Jakarta.
- Faqih, A. R. 2011. Penurunan Motilitas dan Daya Fertilitas Sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias spp*) Pasca Perlakuan *Stress* Kejutan Listrik. J.Exp. Life Sci. Vol. 1 No. 2. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Fujaya, y. 2002. Fisiologi Ikan. Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta
- Gazali, M dan Surya. N.T. 2002. Kriopreservasi Sel Spermatozoa. Universitas Faperta. Makasar.
- Glogowski, J., R. Kolman, M. Szcpekowski, A. Horvarth, B. Urbanyi, P. Sieczinski, A. Rzeieniecki, J. Domagala, W. Demianowicz, R. Kowalski, A. Cierezko. 2002. Fertilization Rate of Siberiansturgeon (*Acipencer Baeri Bandt*) Milt Cryopreserved With Methanol. Aquaculture, 211.
- Gufran, M dan K. Kordi. 2010. Budidaya Ikan Patin di Kolam Terpal. Lily Publisher. Yogyakarta.

- Hardijanto, T. Sardjito, T. Hernawati, S. Susilowati dan T.W. Suprayogi. 2009. Petunjuk Praktikum Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Havez, E. S. E. 2000. Reproduksi In Farm Animals 7th. Lea and Febifger. Philadelphia, United State of America.
- Hidayaturrahmah. 2007. Waktu Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Ciprinus carpio L*) Pada Beberapa Konsentrasi Fruktosa. Jurnal Bioscientie.
- Kilawati, Y. 2004. Kualitas Sperma Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Pada Umur Ikan Ynag Berbeda. Artikel Ilmiah Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Brawijaya Malang.
- Kimbal, J. W. 1993. Biologi Jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Lutfi. 2009. Motilitas dan Viabilitas Kriopreservasi Semen Ikan Lele Dumbo. <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/4681>. Diakses pada tanggal 10 maret 2012 pada pukul 13.12 WIB.
- Mahyuddin, K. 2010. Panduan Lengkap Agribisnis Patin. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Mar'ati, K. 2007. Pengaruh Dosis Dan Lamapenyimpanan Pengencer Susu Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Ikan Mas (*Cyprinus Carpio L.*). Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang
- Marimbi, H. 2010. Biologi Reproduksi. Nuha Medika. Yogyakarta.
- Meirnowati, S. Laksmi, Sand Hari Suprpto. 2011. Daya Fertilisasi Sperma Beku Ikan Tawes (*Puntius javanicus*) Setelah Disimpan Dengan Fruktosa dan *Tris Aminomethan*. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga .Surabaya.
- Molan, P. C. 1999. The Role of Honey in Wound Care. <http://www.nhb.org>. Diakses pada hari Rabu 7 Maret 2012 pukul 18.00 WIB.
- Nugroho, G. S. 2012 Respirasi dan Glikolisis. <http://www.csbioinformatika.us/2012/10/respirasi-dan-glikolisis.html>. diakses pada tanggal 2 Juli 2013.
- Nuraini dan Sukendi. 2006. Peningkatan Volume Semen dan Kuailitas Spermatozoa Ikan Belut Melalui Kombinasi Penyuntikan hCG dan Ekstrak Hipofisa Ikan Mas. Jurnal Dinamika Pertanian Vol. 21. NO. 2. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Riau.
- Prastowo, A. 2011. Memahami Metode-Metode Penelitian. Ar-Ruzz Media. Jogjakarta.

Rahardhianto, A. Nurlita, A dan Ninis, T. 2012. Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu dalam NaCl Fisiologis terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Selama Masa Penyimpanan. Jurnal Sains dan Seni ITS Vol. 1, No. 1, (Sept. 2012) ISSN: 2301-928X. Surabaya.

Rustidja. 2000. Prospek Pembekuan Sperma. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.

_____. 2004. Pemijahan Buatan Ikan-ikan Daerah Tropis. Bahtera Press. Malang.

Salisbury, G. W. and N. L. Van Dermark. 1985. Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Fakultas Peternakan Universitas Jendral Sudirman. Gajahmada University Press.

Saputra, W. H. 2005. Sifat Fisik dan Organoleptik Minuman Instan Madu Bubuk Dengan Penambahan Efek *Effervescent* dari Tepung Kerabang Telur. Program Studi Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Bogor

Sastrosupadi, A., 2000. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian*. Kanisius, Jakarta.

Satyani, D. 2007. Reproduksi dan Pembenihan Ikan Hias Air Tawar. Loka riset Budidaya Ikan Hias Air Tawar Badan Riset Kelautan dan Perikanan Departemen Kelautan dan Perikanan. Depok.

Sayuti. 2003. Budidaya Koki: Pengalaman dari Tulungagung. Agrimedia Pustaka. Jakarta.

Sihombing, D.T.H. 1997. Ilmu Ternak Lebah Madu. Gajah Mada University Press. Yogyakarta

Sulistyorini. 2010. Penambahan Ekstender Madu Dalam Proses Penyimpanan Sperma Beku Terhadap Motilitas dan Viabilitas Sperma Ikan Komet (*Carrasius auratus*). Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya.

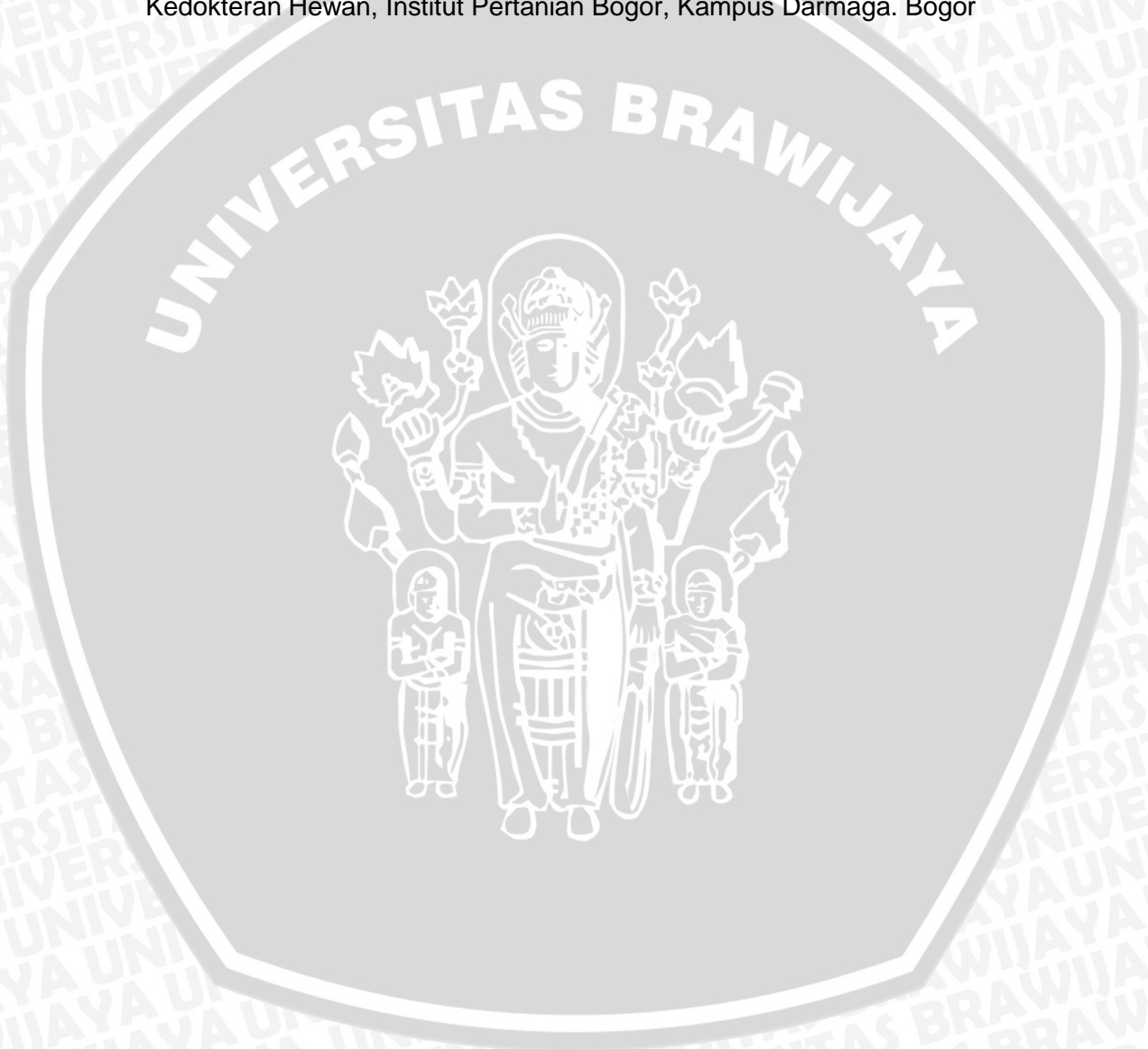
Susanto, H dan Amri, K. 2002. Budi Daya Ikan Patin. Penebar Swadaya. Jakarta.

Toelihere Mozes R. 1985. Inseminasi Buatan Pada. Penerbit Angkasa Bandung, Jawa Barat.

Winarno, F.G. 1982. Madu: Teknologi, Khasiat dan analisa. Pusat Pengembangan Teknologi Pangan. Bogor.

Wulandhari, N. W. T. 2007. Optimasi Formulasi Sosis Berbahan Aku Surimi Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Dengan Penambahan Karagenan (*Eucheuma sp.*) Dan Susu Skim Untuk Meningkatkan Mutu. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor

Zairin, M. Jr. S. Handayani dan I. Supriatna. 2005. Kualitas Sperma Ikan Batak (Tor soro) Hasil Kriopreservasi Semen Menggunakan Dimetilsulfoksida (DMSO) dan Gliserol 5, 10 dan 15%. Jurnal Akuakultur Indonesia, 4 (2): 145–151 (2005). Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Departemen Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga. Bogor



LAMPIRAN

Lampiran 1. Langkah-langkah pembuatan larutan pengencer(Sulistyorini, 2010):

Membuat larutan awal yang berisi DMSO (*dimethylsulfoxide*) lalu ditambah dengan madu sesuai kebutuhan selanjutnya pembuatan ekstender dengan cara sebagai berikut:

- a) Mengukur madu dengan satuan %setara dengan ml/100 ml. untuk dosis madu 0,5% = 0,5 ml madu / 100 ml DMSO, sehingga volume menjadi 100 ml di dalam gelas ukur.
- b) Analog dengan kadar madu 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, dan 0,7%.
- c) Jika semua perlakuan telah selesai proses selanjutnya adalah pengadukan sampai homogen dengan stirer selama 2-3 menit.
- d) Kontor DMSO tanpa penambahan madu melainkan hanya berisi larutan DMSO.
- e) Ekstender madu dan kontrol siap digunakan .



Lampiran 2. Data pengamatan viabilitas sperma (%)

Tabel 10. Data Pengamatan Viabilitas Sperma (%)

X1	PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATA2
	PENGAMATAN	I	II	III		
A	24	59,45	48,18	57,97	165,6	55,2
	48	47,29	36,98	46,94	131,21	43,74
	72	35,14	29,66	37,24	102,04	34,01
B	24	50,57	50,76	44,73	146,06	48,69
	48	43,84	42,62	39,73	126,19	42,06
	72	32,12	28,97	21,76	82,85	27,62
C	24	49,04	56,07	53,31	158,42	52,81
	48	38,18	45,71	42,67	126,56	42,19
	72	32,73	37,04	32,06	101,83	33,94
D	24	60,12	57,35	53,62	171,09	57,03
	48	52,62	47,61	41,93	142,16	47,39
	72	41,68	40,47	32,51	114,66	38,22
E	24	43,97	50,62	62,85	157,44	52,48
	48	33,34	42,31	51,43	127,08	42,36
	72	20,12	34,09	39,21	93,42	31,14
KN	24	36,37	38,67	34,61	109,65	36,55
	48	26,19	22,89	19,96	69,04	23,01
	72	20,06	17,36	10,61	48,03	16,01
TOTAL		722,83	727,36	723,14	2173,33	



Lampiran 3. Perhitungan Rancangan Acak Lengkap (RAL) viabilitas sperma

1. Viabilitas Jam Ke 24

Tabel 11. Pengamatan viabilitas sperma jam ke 24

PERLAKUAN		ULANGAN			TOTAL	RATA2
X1	PENGAMATAN	I	II	III		
A	24	59,45	48,18	57,97	165,6	55,2
B	24	50,57	50,76	44,73	146,06	48,69
C	24	49,04	56,07	53,31	158,42	52,81
D	24	60,12	57,35	53,62	171,09	57,03
E	24	43,97	50,62	62,85	157,44	52,48
KN	24	36,37	38,67	34,61	109,65	36,55
TOTAL		299,52	301,65	307,09	908,26	

$$FK = \frac{Y..^2}{tr}$$

$$= 46981,94 / 18$$

$$= \underline{45829,79}$$

$$JKT = Y_{ik}^2 - FK$$

$$= 139936,04 - 45829,79$$

$$= 1152,15$$

$$JKP = Y_i.^2 - FK$$

$$= 46645,35 - 45829,79$$

$$= 815,56$$

$$JKG = JK_{total} - JK_{perlakuan}$$

$$= 1152,15 - 815,56$$

$$= 336,59$$

keterangan:

Y = pengamatan

t = jumlah ulangan

r = jumlah perlakuan

FK = Faktor Koreksi

JKT = Jumlah Kuadrat Total

JKP = Jumlah Kuadrat Perlakuan

JKG = Jumlah Kuadrat Galat

Tabel 12. Tabel sidik ragam viabilitas jam ke 24

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	815,56	163,11	5,81	3,11	4,33
Galat	12	336,59	28,05			
Total	17	1152,15				



$$\begin{aligned}
 DB &= tr - 1 \\
 &= (6 \times 3) - 1 \\
 &= 17
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTP &= JK_{\text{perlakuan}} / DB_{\text{perlakuan}} \\
 &= 815,56 / 5 \\
 &= 163,11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTG &= JK_{\text{galat}} / DB_{\text{galat}} \\
 &= 336,59 / 12 \\
 &= 28,05
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 FHP &= KT_{\text{perlakuan}} / KT_{\text{galat}} \\
 &= 163,11 / 28,05 \\
 &= 5,81515331
 \end{aligned}$$

uji lanjutan duncan

$$\begin{aligned}
 SY &= (KT_{\text{galat}} / r) \\
 &= \sqrt{(28,05 / 3)} \\
 &= 3,057743964
 \end{aligned}$$

Keterangan:

DB = Derajat Bebas

KTP = Kuadrat Tengah Perlakuan

KTG = Kuadrat Tengah Galat

FHP = Faktor Hitung Perlakuan

SY = Galat beku rerata umum

Ujd1%	4,32	4,55	4,68	4,76	4,84
Ujt 1%	13,21	13,91	14,31	14,55	14,79

Tabel 13. Notasi viabilitas jam ke 24

A	55,2	b
B	48,69	ab
C	52,81	b
D	57,03	b
E	52,48	b
KN	36,55	a



2. Viabilitas Jam Ke 48

Tabel 14. Pengamatan viabilitas sperma jam ke 48

PERLAKUAN		ULANGAN			TOTAL	RATA2
X1	PENGAMATAN	I	II	III		
A	48	47,29	36,98	46,94	131,21	43,74
B	48	43,84	42,62	39,73	126,19	42,06
C	48	38,18	45,71	42,67	126,56	42,19
D	48	52,62	47,61	41,93	142,16	47,37
E	48	33,34	42,31	51,43	127,08	42,36
KN	48	26,19	22,89	19,96	69,04	23,01
TOTAL		241,46	238,12	242,66	722,24	

$FK = \frac{Y..^2}{tr}$

$= \frac{521630,62}{18}$

$= 28979,48$

$JKT = \sum Y_{ik}^2 - FK$

$= 30440,66 - 28979,48$

$= 1461,18$

$JKP = \sum Y_{i.}^2 - FK$

$= 30094,24 - 28979,48$

$= 1114,76$

$JKG = JK_{total} - JK_{perlakuan}$

$= 1461,18 - 1114,76$

$= 346,42$

keterangan:

Y = pengamatan

t = jumlah ulangan

r = jumlah perlakuan

FK = Faktor Koreksi

JKT = Jumlah Kuadrat Total

JKP = Jumlah Kuadrat Perlakuan

JKG = Jumlah Kuadrat Galat

Tabel 15. Tabel sidik ragam viabilitas jam ke 48

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	1114,76	222,95	7,72	3,11	4,33
Galat	12	346,42	28,87			
Umum	17	1461,18				



$$\begin{aligned}
 DB &= tr - 1 \\
 &= (6 \times 3) - 1 \\
 &= 17
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTP &= JK_{\text{perlakuan}} / DB_{\text{perlakuan}} \\
 &= 1114,76 / 5 \\
 &= 222,95
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTG &= JK_{\text{galat}} / DB_{\text{galat}} \\
 &= 336,59 / 12 \\
 &= 28,87
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 FHP &= KT_{\text{perlakuan}} / KT_{\text{galat}} \\
 &= 222,95 / 28,87 \\
 &= 7,72305156
 \end{aligned}$$

uji lanjutan duncan

$$\begin{aligned}
 SY &= (KT_{\text{galat}} / r) \\
 &= \sqrt{(28,87 / 3)} \\
 &= 3,102068008
 \end{aligned}$$

Ujd1%	4,32	4,55	4,68	4,76	4,84
Ujt 1%	13,21	13,91	14,31	14,55	14,79

Tabel 16. Notasi viabilitas jam ke 48

A	43,73	b
B	42,06	ab
C	42,19	b
D	47,39	b
E	42,36	b
KN	23,01	a

Keterangan:

DB = Derajat Bebas

KTP = Kuadrat Tengah Perlakuan

KTG = Kuadrat Tengah Galat

FHP = Faktor Hitung Perlakuan

SY = Galat beku rerata umum

3. Viabilitas Jam Ke 72

Tabel 17. Pengamatan viabilitas sperma jam ke 72

X1	PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATA2
		I	II	III		
A	72	35,14	29,66	37,24	102,04	34,01
B	72	32,12	28,97	21,76	82,85	27,62
C	72	32,73	37,04	32,06	101,83	33,94
D	72	41,68	40,47	32,51	114,66	38,22
E	72	20,12	34,09	39,21	93,42	31,14
KN	72	20,06	17,36	10,61	48,03	16,01
TOTAL		181,85	187,59	173,39	542,83	

FK = $Y_{..}^2 / tr$

= $294664,41 / 18$

= 16370,24

JKT = $Y_{ik}^2 - FK$

= $17669,52 - 16370,24$

= 1299,27

JKP = $Y_i^2 - FK$

= $17275,57 - 16370,24$

= 905,33

JKG = $JK_{total} - JK_{perlakuan}$

= $1299,27 - 905,33$

= 393,94

keterangan:

Y = pengamatan

t = jumlah ulangan

r = jumlah perlakuan

FK = Faktor Koreksi

JKT = Jumlah Kuadrat Total

JKP = Jumlah Kuadrat Perlakuan

JKG = Jumlah Kuadrat Galat

Tabel 18. Tabel sidik ragam viabilitas jam ke 72

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	905,33	181,07	5,51	3,11	4,33
Galat	12	393,94	32,83			
Umum	17	1299,27				

$$\begin{aligned}
 DB &= tr - 1 \\
 &= (6 \times 3) - 1 \\
 &= 17
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTP &= JK_{\text{perlakuan}} / DB_{\text{perlakuan}} \\
 &= 905,33 / 5 \\
 &= 181,07
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTG &= JK_{\text{galat}} / DB_{\text{galat}} \\
 &= 393,94 / 12 \\
 &= 32,83
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 FHP &= KT_{\text{perlakuan}} / KT_{\text{galat}} \\
 &= 181,07 / 32,83 \\
 &= 5,51548943
 \end{aligned}$$

uji lanjutan duncan

$$\begin{aligned}
 SY &= (KT_{\text{galat}} / r) \\
 &= \sqrt{(32,83 / 3)} \\
 &= 3,308002922
 \end{aligned}$$

Keterangan:

DB = Derajat Bebas

KTP = Kuadrat Tengah Perlakuan

KTG = Kuadrat Tengah Galat

FHP = Faktor Hitung Perlakuan

SY = Galat beku rerata umum

ujd1%	4,32	4,55	4,68	4,76	4,84
ujt 1%	14,29	15,05	15,48	15,75	16,01

Tabel 19. Notasi viabilitas jam ke 72

A	34,01	b
B	27,62	ab
C	33,94	b
D	38,22	b
E	31,14	b
KN	16,01	a

Lampiran 4. Data motilitas sperma (%)

Tabel 20. Data Pengamatan Motilitas Sperma (%)

X1	PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATA2
	PENGAMATAN	I	II	III		
A	24	57.45	45.18	55.97	158.6	52.86
	48	45.29	34.98	45.94	126.21	42.07
	72	33.14	27.66	35.24	96.04	32.01
B	24	48.57	48.76	42.73	140.06	46.68
	48	41.84	40.62	37.73	120.19	40.06
	72	30.12	26.97	20.76	77.85	25.95
C	24	47.04	54.07	52.31	153.42	51.14
	48	36.18	41.71	42.67	120.56	40.18
	72	32.73	30.04	32.06	94.83	31.61
D	24	58.12	55.35	51.62	165.09	55.03
	48	50.62	45.61	40.93	137.16	45.72
	72	41.68	39.47	30.51	111.66	37.22
E	24	42.97	58.62	60.85	162.44	54.14
	48	31.34	40.31	49.43	121.08	40.36
	72	19.12	32.09	37.21	88.42	29.47
KN	24	34.37	36.67	32.61	103.65	34.55
	48	23.19	20.89	19.96	64.04	21.34
	72	17.06	15.36	8.61	41.03	13.67
TOTAL		690.83	694.36	697.14	2082.33	



Lampiran 5. Perhitungan Rancangan Acak Lengkap (RAL) motilitas sperma

1. Motilitas Jam Ke 24

Tabel 21. Pengamatan motilitas sperma jam ke 24

PERLAKUAN		ULANGAN			TOTAL	RATA2
X1	PENGAMATAN	I	II	III		
A	24	57.45	45.18	55.97	158.6	52.87
B	24	48.57	48.76	42.73	140.06	46.69
C	24	47.04	54.07	52.31	153.42	51.14
D	24	58.12	55.35	51.62	165.09	55.03
E	24	42.97	58.62	60.85	162.44	54.15
KN	24	34.37	36.67	32.61	103.65	34.55
TOTAL		288.52	298.65	296.09	883.26	

$$FK = Y_{..}^2 / tr$$

$$= 780148.22 / 18$$

$$= 43341.57$$

$$JKT = Y_{ik}^2 - FK$$

$$= 44590.5 - 43341.57$$

$$= 1248.933$$

$$JKP = Y_{i.}^2 - FK$$

$$= 44231.1 - 1248.933$$

$$= 889.513$$

$$JKG = JK_{total} - JK_{perlakuan}$$

$$= 1248.933 - 889.513$$

$$= 359.419$$

keterangan:

Y = pengamatan

t = jumlah ulangan

r = jumlah perlakuan

FK = Faktor Koreksi

JKT = Jumlah Kuadrat Total

JKP = Jumlah Kuadrat Perlakuan

JKG = Jumlah Kuadrat Galat

Tabel 22. Tabel sidik ragam motilitas jam ke 24

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	889.513	177.903	5.93967	3.10588	4.33594
Galat	12	359.419	29.9516			
Umum	17	1248.93				

2. Motilitas Jam Ke 48

Tabel 23. Pengamatan motilitas sperma jam ke 48

PERLAKUAN		ULANGAN			TOTAL	RATA2
X1	PENGAMATAN	I	II	III		
A	48	45.29	34.98	45.94	126.21	42.07
B	48	41.84	40.62	37.73	120.19	40.0633
C	48	36.18	41.71	42.67	120.56	40.1867
D	48	50.62	45.61	40.93	137.16	45.72
E	48	31.34	40.31	49.43	121.08	40.36
KN	48	23.19	20.89	19.96	64.04	21.3467
TOTAL		228.46	224.12	236.66	689.24	

$FK = Y_{..}^2 / tr$
 $= 2975625 / 18$
 $= 26391.77$
 $JKT = Y_{ik}^2 - FK$
 $= 177311 - 165312,5$
 $= 1427.979$
 $JKP = Y_i^2 - FK$
 $= 521231 - 165312,5$
 $= 1102.79$
 $JKG = JK_{total} - JK_{perlakuan}$
 $= 1427.98 - 1102.79$
 $= 325.1884$

keterangan:
 Y = pengamatan
 t = jumlah ulangan
 r = jumlah perlakuan
 FK = Faktor Koreksi
 JKT = Jumlah Kuadrat Total
 JKP = Jumlah Kuadrat Perlakuan
 JKG = Jumlah Kuadrat Galat

Tabel 24. Tabel sidik ragam motilitas jam ke 48

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	1102.79	220.558	8.13896	3.10588	4.33594
Galat	12	325.188	27.099			
Umum	17	1427.98				



$$\begin{aligned}
 DB &= tr - 1 \\
 &= (6 \times 3) - 1 \\
 &= 17
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTP &= JK_{\text{perlakuan}} / DB_{\text{perlakuan}} \\
 &= 8431,17 / 5 \\
 &= 220.558
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTG &= JK_{\text{galat}} / DB_{\text{galat}} \\
 &= 3567,33 / 12 \\
 &= 27.099
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 FHP &= KT_{\text{perlakuan}} / KT_{\text{galat}} \\
 &= 1686,23 / 297,28 \\
 &= 8.13896
 \end{aligned}$$

uji lanjutan duncan

$$\begin{aligned}
 SY &= (KT_{\text{galat}} / r) \\
 &= \sqrt{(297,28 / 3)} \\
 &= 3.005497
 \end{aligned}$$

Keterangan:

DB = Derajat Bebas

KTP = Kuadrat Tengah Perlakuan

KTG = Kuadrat Tengah Galat

FHP = Faktor Hitung Perlakuan

SY = Galat beku rerata umum

ujd1%	4,32	4,55	4,68	4,76	4,84
ujt 1%	43,003	45,29	46,59	47,38	48,18

Tabel 25. Notasi motilitas jam ke 48

0.3	A	42.07	B
0.4	B	40.06	AB
0.5	C	40.18	B
0.6	D	45.72	B
0.7	E	40.36	B
0	KN	21.34	A

3. Motilitas Jam Ke 72

Tabel 26. Pengamatan motilitas sperma jam ke 72

X1	PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATA2
	PENGAMATAN	I	II	III		
A	24	33.14	27.66	35.24	96.04	32.0133
B	24	30.12	26.97	20.76	77.85	25.95
C	24	32.73	30.04	32.06	94.83	31.61
D	24	41.68	39.47	30.51	111.66	37.22
E	24	19.12	32.09	37.21	88.42	29.4733
KN	24	17.06	15.36	8.61	41.03	13.6767
TOTAL		173.85	171.59	164.39	509.83	

FK = $\frac{Y..^2}{tr}$

= $\frac{1371241}{18}$

= 14440.37

JKT = $\sum Y_{ik}^2 - FK$

= $91267 - 76180,05$

= 1338.891

JKP = $\sum Y_{i.}^2 - FK$

= $86403,67 - 76180,05$

= 975.147

JKG = $JK_{total} - JK_{perlakuan}$

= $1338.891 - 975.147$

= 363.7438

keterangan:

Y = pengamatan

t = jumlah ulangan

r = jumlah perlakuan

FK = Faktor Koreksi

JKT = Jumlah Kuadrat Total

JKP = Jumlah Kuadrat Perlakuan

JKG = Jumlah Kuadrat Galat

Tabel 27. Tabel sidik ragam motilitas jam ke 72

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	975.147	195.029	6.43407	3.10588	4.33594
Galat	12	363.744	30.312			
Umum	17	1338.89				



$$\begin{aligned}
 DB &= tr - 1 \\
 &= (6 \times 3) - 1 \\
 &= 17
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTP &= JK_{\text{perlakuan}} / DB_{\text{perlakuan}} \\
 &= 10223,61 / 5 \\
 &= 195.029
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTG &= JK_{\text{galat}} / DB_{\text{galat}} \\
 &= 4863,33 / 12 \\
 &= 30.312
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 FHP &= KT_{\text{perlakuan}} / KT_{\text{galat}} \\
 &= 2044,72 / 405,28 \\
 &= 6.43407
 \end{aligned}$$

uji lanjutan duncan

$$\begin{aligned}
 SY &= (KT_{\text{galat}} / r) \\
 &= \sqrt{(405,28 / 3)} \\
 &= 3.178678
 \end{aligned}$$

ujd1%	4,32	4,55	4,68	4,76	4,84
ujt 1%	50,21	52,88	54,39	55,33	56,25

Tabel 28. Notasi motilitas jam ke 72

0.3	A	42.07	B
0.4	B	40.06	AB
0.5	C	40.18	B
0.6	D	45.72	B
0.7	E	40.36	B
0	KN	21.34	A

Keterangan:

DB = Derajat Bebas

KTP = Kuadrat Tengah Perlakuan

KTG = Kuadrat Tengah Galat

FHP = Faktor Hitung Perlakuan

SY = Galat beku rerata umum



Lampiran 6. Regresi

1. Regresi Viabilitas Sperma

Tabel 29. *Regression Statistics* Viabilitas

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0.67
R Square	0.44
Adjusted R Square	0.41
Standard Error	0.12
Observations	18

Tabel 30. Hasil uji F Viabilitas

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	0.18	0.18	12.86	0.0025
Residual	16	0.23	0.014		
Total	17	0.41			

Tabel 31. Hasil uji T Viabilitas

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95.0%</i>	<i>Upper 95.0%</i>
Intercept	1.27	0.059018	21.53	3.06	1.14	1.39	1.148	1.39
X Variable 1	0.45	0.124421	3.58	0.0024	0.18	0.71	0.18	0.71

2. Regresi Motilitas Sperma

Tabel 32. *Regression Statistics* Motilitas

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0.97
R Square	0.95
Adjusted R Square	0.95
Standard Error	2.03
Observations	18

Tabel 33. Hasil uji F Motilitas

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	1273.087	1273.087	309.5485	6.84E-12
Residual	16	65.80357	4.112723		
Total	17	1338.891			



Tabel 34. Hasil uji T Motilitas

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95.0%</i>	<i>Upper 95.0%</i>
Intercept	-42.87	4.075	-10.52	1.35	51.51	34.23	-51.51	-34.23
X Variable 1	49.97	2.84	17.59	6.84	43.95	55.99	43.95	55.99



Lampiran 7. Foto Dokumentasi Penelitian

1. Alat



Gambar 10. Tabung Eppendorf



Gambar 11. Mikroskop cahaya



Gambar 12. Timbangan Analitik



Gambar 13. Termos

2. Bahan



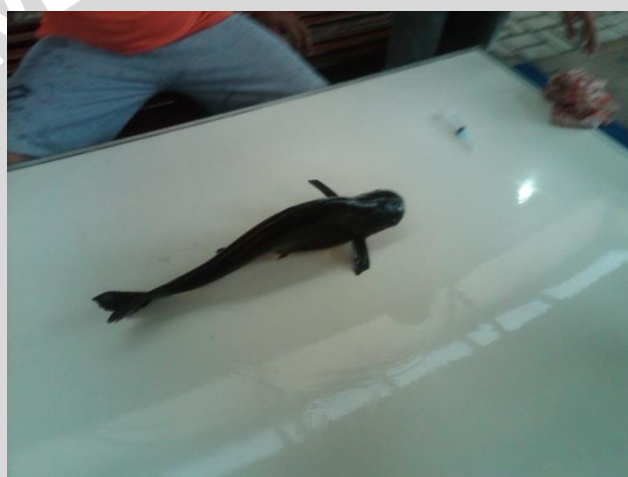
Gambar 14. DMSO



Gambar 15. NAACL Fisiologi



Gambar 16. Madu



Gambar 17. Ikan Patin Siam

3. Penyuntikan dan Striping Ikan Patin



Gambar 18. Penyuntikan Ikan Patin



Gambar 19. Pengambilan Sperma

4. Pembuatan Ekstender Madu



Gambar 20. Ekstender DMSO + Madu



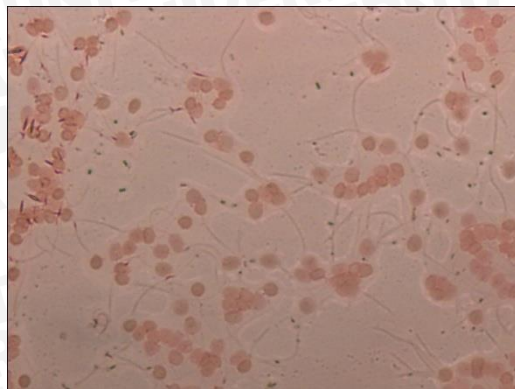
Gambar 21. Memasukan Ekstender dan Sperma Dalam Tabung Eppendorf

4. Pembekuan Sperma

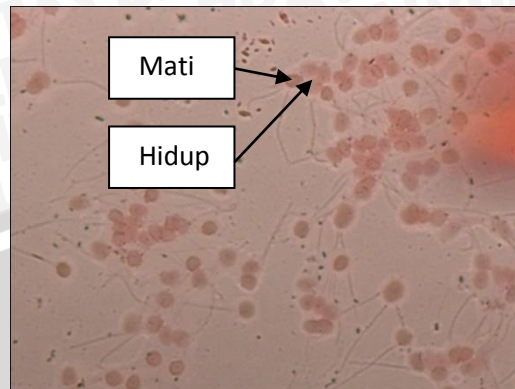


Gambar 22. Pembekuan Sperma

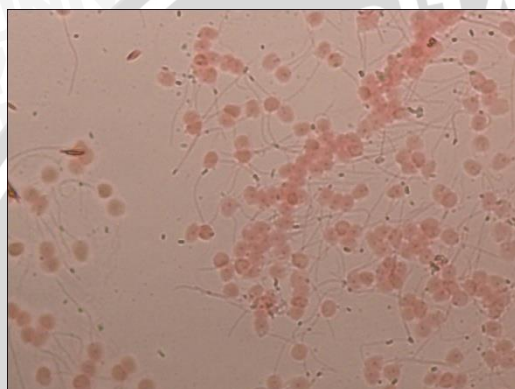
5. Sperma Ikan Patin Setiap Perlakuan



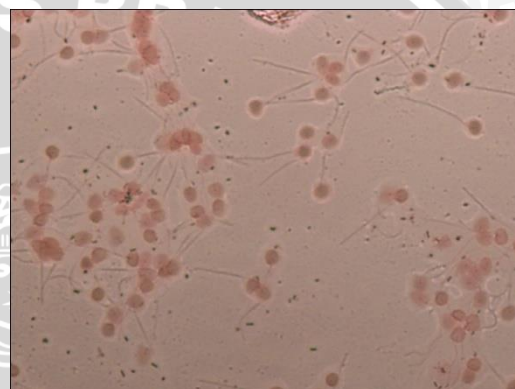
Perlakuan A penambahan madu 0,3%



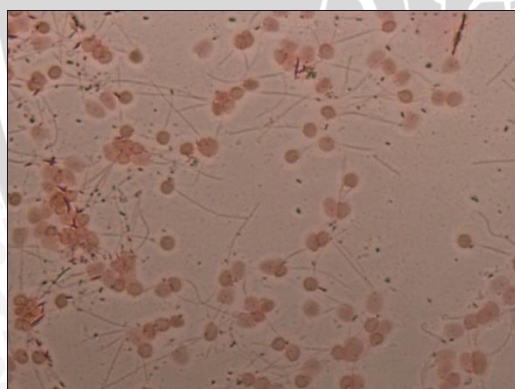
Perlakuan B penambahan madu 0,4%



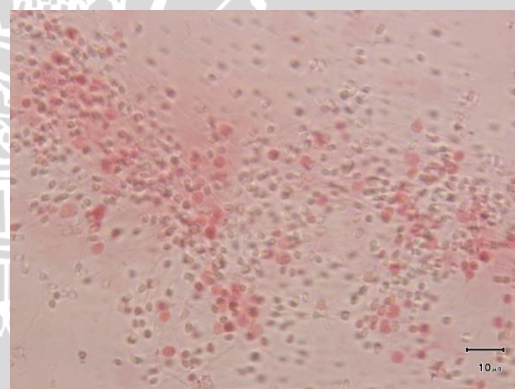
Perlakuan C penambahan madu 0,5%



Perlakuan D penambahan madu 0,6%

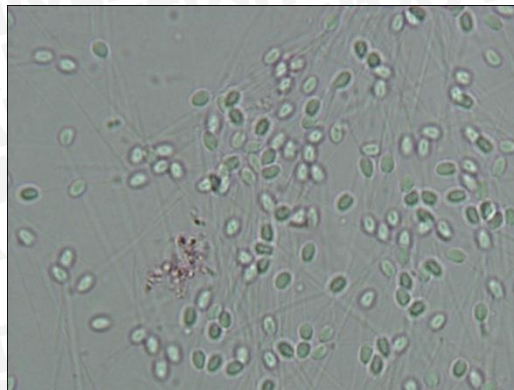


Perlakuan E penambahan madu 0,7%

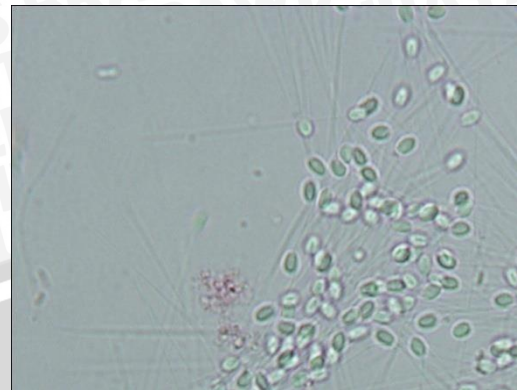


Perlakuan (KN) tanpa penambahan madu

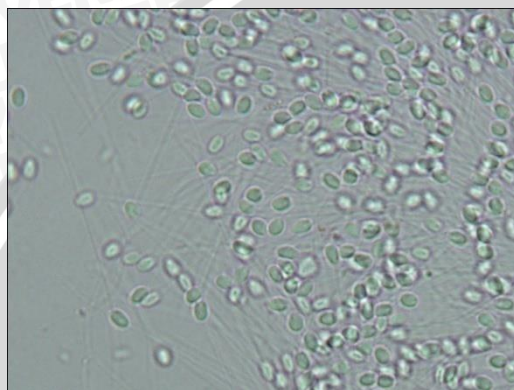
Gambar 23. Viabilitas Sperma Ikan Patin



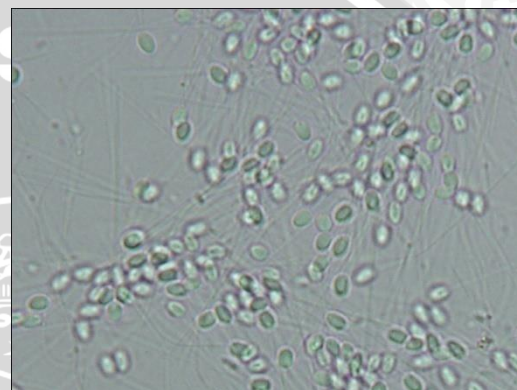
Perlakuan A penambahan madu 0,3%



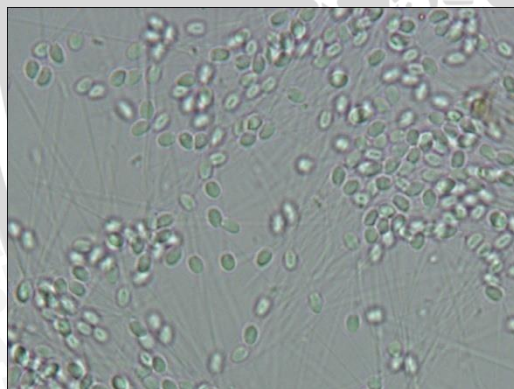
Perlakuan B penambahan madu 0,4%



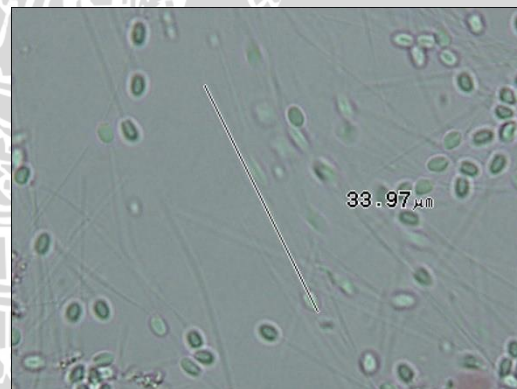
Perlakuan C penambahan madu 0,5%



Perlakuan D penambahan madu 0,6%



Perlakuan E penambahan madu 0,7%



Perlakuan (KN) tanpa penambahan madu

Gambar 24. Motilitas Sperma Ikan Patin