

**PENGARUH PEMBERIAN GLYSEROL DAN EKSTENDER SARI BUAH YANG
BERBEDA TERHADAP KUALITAS SPERMA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)
STRAIN PUNTEN PADA PROSES PRESERVASI**

SKRIPSI

Oleh :

**RESHA SULTHANI KHOLVI
NIM. 155080507111031**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN GLYSEROL DAN EKSTENDER SARI BUAH YANG
BERBEDA TERHADAP KUALITAS SPERMA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)
STRAIN PUNTEN PADA PROSES PRESERVASI**

SKRIPSI

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

Oleh :

**RESHA SULTHANI KHOLVI
NIM. 155080507111031**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN GLYSEROL DAN EKSTENDER SARI BUAH YANG BERBEDA TERHADAP KUALITAS SPERMA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) STRAIN PUNTEN PADA PROSES PRESERVASI

Oleh :

RESHA SULTHANI KHOLVI
NIM. 155080507111031

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

Menyetujui,
Dosen Pembimbing



(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)

NIP. 19680919 200501 1 001

TANGGAL : 29 OCT 2019

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

NIP. 19671010 199702 1 001

TANGGAL : 29 OCT 2019

LEMBAR IDENTITAS PENGUJI

Judul : **PENGARUH PEMBERIAN GLYSEROL DAN EKSTENDER SARI BUAH YANG BERBEDA TERHADAP KUALITAS SPERMA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) STRAIN PUNTEN PADA PROSES PRESERVASI**

Nama Mahasiswa : RESHA SULTHANI KHOLVI

NIM : 155080507111031

Program Studi : BUDIDAYA PERAIRAN

PENGUJI PEMBIMBING :

Pembimbing 1 : Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING :

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS

Dosen Penguji 2 : Yuni Widyawati, S.Pi., MP

Tanggal Ujian : 22 Oktober 2019

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat diberikan kemudahan dan kelancaran dalam penulisan laporan SKRIPSI. Pada kesempatan yang baik, perkenankanlah penulis mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Ayah dan Ibu tercinta yang selalu memberi motivasi, dukungan, nasehat dan juga doa kepada penulis.
2. Bapak Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan serta ilmu hingga kepada penulis.
3. Pihak-pihak di IBAT Punten yang telah memberikan masukan, bimbingan, nasehat dan ilmu kepada penulis.
4. Teman Satu Tim Penelitian Dhehan, Aرسال, Chotib, dan Arif yang telah bekerja sama serta selalu memberikan dorongan untuk menyelesaikan laporan skripsi.
5. Pihak-pihak lain yang telah membantu dalam kelancaran penelitian.

Semoga kebaikan atas dukungan dan bantuan yang diberikan dibalas oleh Allah SWT.

Malang, 22 Oktober 2019

Resha Sulthani Kholvi

RINGKASAN

RESHA SULTHANI KHOLVI. Pengaruh pemberian *glyserol* dan ekstender sari buah yang berbeda terhadap kualitas sperma ikan mas (*Cyprinus carpio*) strain Punten pada proses preservasi.

(dibawah bimbingan **Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M. Si**).

Ikan mas merupakan komoditas perikanan yang bisa dibudidayakan secara terus-menerus. Permasalahan yang ada adalah kurangnya sperma yang disebabkan oleh kematangan induk Jantan dan betina tidak dapat mencapai kematangan gonad secara bersamaan. Untuk mengatasi maka dilakukan dengan solusi teknologi penyimpanan sperma. Teknologi penyimpan sperma harus dapat mempertahankan hidup sperma. Salah satu alternatif pemecahan dalam masalah tersebut adalah melakukan penyimpanan spermatozoa ikan, sehingga dapat digunakan dalam jangka waktu yang lebih lama dan dapat dilakukan dengan menggunakan ekstender sari buah dan kemudian menyimpan sperma pada suhu rendah dalam beberapa hari dengan teknologi preservasi.

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstender sari buah yang berbeda terhadap kualitas sperma ikan mas strain Punten pada proses preservasi dengan penambahan *glyserol*. Penelitian dilaksanakan di Instalasi Budidaya Air Tawar (IBAT) Punten, Batu, Jawa Timur pada bulan 5 September 2019 sampai dengan 16 September 2019.

Metode dalam penelitian adalah menggunakan metode eksperimen menggunakan RAL dengan 5 perlakuan dan 2 kontrol yaitu kontrol yang diberi perlakuan penambahan giserol dan kontrol yang tanpa menggunakan gliserol serta masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Perlakuan konsentrasi penambahan sari buah yang berbeda dalam penelitian ini adalah perlakuan kontrol tanpa penambahan sari buah, perlakuan A yaitu sari buah tin 1 ml dengan 49,5 ml ringer laktat dan 49,5 ml gliserol, perlakuan B yaitu 1 ml sari buah zaitun dengan 49,5 ml ringer laktat dan 49,5 ml gliserol, perlakuan C yaitu 1 ml sari buah apel hijau dengan 49,5 ml ringer laktat dan 49,5 ml gliserol, perlakuan D yaitu 1 ml sari air kelapa dengan 49,5 ml ringer laktat dan 49,5 ml gliserol serta perlakuan E yaitu 1 ml sari buah kurma dengan 49,5 ml ringer laktat dan 49,5 ml gliserol. Parameter utama yang diukur adalah motilitas, viabilitas dan ferilitas. Selain itu terdapat parameter penunjang berupa kualitas air yang meliputi suhu dan kandungan oksigen terlarut (DO).

Hasil yang diperoleh dari penelitian yaitu penyimpanan preservasi sperma ikan mas strain punten menunjukkan hasil tertinggi yaitu menggunakan sari buah kurma. Analisis motilitas sebesar 86.30%, viabilitas sebesar 91.18%, fertilisasi sebesar 75.48%, daya tetas sebesar 69.54%.

Kesimpulan yang didapat dari penelitian adalah terdapat perbedaan efektifitas sari buah yang diberikan untuk membantu sperma dalam mempertahankan hidupnya. Semakin tinggi kandungan nutrisi yang dibutuhkan sperma untuk bertahan hidup terdapat pada sari buah maka dapat membantu mencukupi kebutuhan nutrisi sperma pada saat penyimpanan.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat taufik serta hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan SKRIPSI dengan judul “Pengaruh pemberian *glyserol* dan ekstender sari buah yang berbeda terhadap kualitas sperma ikan mas (*Cyprinus carpio*) strain Punten pada proses preservasi”. Laporan disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari dalam penulisan laporan belum sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan laporan.

Malang, 22 Oktober 2019

Penulis

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Kegunaan	4
1.5 Hipotesis	5
1.6 Tempat Dan Waktu Pelaksanaan Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Biologi Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	7
2.1.3 Reproduksi dan Siklus Hidup Ikan Mas	8
2.1.4 Kematangan Gonad Ikan Mas.....	9
2.1.5 Pemijahan Buatan Ikan Mas	11
2.2 Spermatozoa.....	12
2.3 Spermatogenesis	13
2.4 preservasi	15
2.5 Kelebihan dan Kekurangan Teknik preservasi	16
2.6 Parameter Kualitas Sperma	16
2.6.1 Motilitas spermatozoa	16
2.6.2 Viabilitas Spermatozoa	18
2.7 Fertilisasi.....	18
2.8 Struktur Kimia Glukosa	20
2.9 Struktur Kimia Fruktosa.....	21
2.10 Mekanisme Pemanfaatan Sari Buah oleh Spermatozoa	22
2.11 Ekstender Sari Buah	23
2.12 Kandungan Sari Buah	25
2.13 Bahan Pengencer Sperma.....	32
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	35
3.1 Materi Penelitian	35
3.1.1 Alat Penelitian	35
3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian	36
3.2 Metode Penelitian	36
3.3 Pengambilan Data.....	37
3.4 Rancangan Penelitian	38

3.5	Prosedur Penelitian.....	41
3.5.1	Persiapan Induk.....	41
3.5.2	Sterilisasi Wadah Percobaan (<i>Eppendorf</i>).....	41
3.5.3	Stripping Indukan Ikan Mas Jantan.....	41
3.5.4	Pengamatan Parameter Spermatozoa.....	42
3.5.5	Perlakuan Kontrol.....	43
3.5.6	Perlakuan Penambahan Konsentrasi Sari Buah.....	43
3.5.7	Penyimpanan Sampel pada Lemari Pendingin (Suhu 5°C).....	44
3.5.8	Fertilisasi.....	44
3.6	Parameter Uji.....	45
3.6.1	Parameter Utama.....	45
3.6.2	Parameter Penunjang.....	46
3.7	Analisis Data.....	46
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	48
4.1.	Analisis Kualitas Sperma Ikan Mas.....	48
4.2.	Motilitas Sperma.....	49
4.3.	Viabilitas Sperma.....	53
4.5.	Daya Tetas (<i>Hatching rate</i>).....	63
4.6.	Kualitas Air.....	67
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	69
5.1.	Kesimpulan.....	69
5.2.	Saran.....	69
	DAFTAR PUSTAKA.....	70
	GLOSARIUM.....	77
	LAMPIRAN.....	80

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Ciri-ciri Induk Matang Gonad	10
2. Alat-alat penelitian	35
3. Bahan-bahan penelitian	36
4. Pemeriksaan Sperma Ikan Mas	48
5. Rata-Rata Motilitas Sperma Ikan Mas Selama Penelitian (%).....	49
6. Analisis Sidik Ragam Motilitas Sperma Ikan Mas.....	51
7. Uji BNT Motilitas Sperma Ikan Mas.....	52
8. Rata-Rata Viabilitas Sperma Ikan Mas Selama Penelitian (%).....	54
9. Analisis Sidik Ragam Viabilitas Sperma Ikan Mas	55
10. Uji BNT Viabilitas Sperma Ikan Mas	56
11. Daya Fertilisasi Sperma Ikan Mas (%)	59
12. Analisis Sidik Ragam Fertilitas Sperma Ikan Mas	60
13. Uji BNT Fertilitas Sperma Ikan Mas	61
14. Daya Tetas Telur Ikan Mas (%)	64
15. Analisis Sidik Ragam Daya Tetas Telur Ikan Mas.....	65
16. Uji BNT Daya Tetas Telur Ikan Mas.....	65
17. Parameter Kualitas Air pada Media Pemeliharaan.....	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Mas Punten (<i>Cyprinus carpio</i>)	6
2. Telur ikan mas yang terbuahi.....	9
3. Morfometri Spermatozoa	12
4. Pewarnaan spermatozoa ikan mas menggunakan eosin	13
5. Spermatozoa Ikan.....	14
6. Spermatogenesis.....	15
7. Gambar Telur yang Terbuahi mengalami Embriogenesis	19
8. Struktur glukosa.....	21
9. Struktur fruktosa	22
10. Proses Pembentukan Energi dari Zat Makanan	23
11. Kurma (<i>Phoenix dactylifera</i> L.).....	26
12. Buah Zaitun (<i>Olea europaea</i>).....	27
13. Buah Tin (<i>Ficus carica</i> L)	29
14. Buah Apel Hijau (<i>Mallus sylvestris</i> mill).....	30
15. Buah kelapa (<i>Cocos nucifera</i> L.).....	32
16. Denah Penelitian Hasil Pengacakan	40
17. Perbedaan Sperma Hidup dan Sperma Mati.....	53
18. Perbedaan (a) Telur Fertil dan (b) Unfertil.	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian.....	80
2. Perhitungan Rancangan motilitas sperma ikan Mas	83
3. Data Kualitas Air	97



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengelolaan budidaya ikan (khususnya ikan mas) perlu memperhatikan efisiensi dan produktivitas usaha serta kualitas ikan. Hal ini harus diimbangi dengan upaya perbaikan dan peningkatan kualitas induk maupun benih ikan mas. Saat ini telah terjadi penurunan kualitas induk maupun benih ikan mas yang dipelihara oleh petani ikan. Beberapa usaha maupun penelitian telah dilakukan dalam upaya peningkatan produktivitas (produksi) dan perbaikan serta peningkatan kualitas genetik ikan mas (Mukti, *et al.*, 2001). Permasalahan yang ada adalah kurangnya sperma yang disebabkan oleh kematangan induk Jantan dan betina tidak dapat mencapai kematangan gonad secara bersamaan. Untuk mengatasi hal ini dilakukan dengan teknologi penyimpanan sperma. Teknologi penyimpan sperma harus dapat mempertahankan hidup sperma. Keberhasilan sektor budidaya perikanan sangat dipengaruhi oleh dengan cara pembuahan buatan termasuk pada ikan mas. Untuk meningkatkan produksi dibutuhkan induk yang unggul sehingga menghasilkan benih yang berkualitas. Kendala yang sering dihadapi adalah jumlah induk unggulan yang terbatas sehingga keberadaan induk unggulan harus dapat dimanfaatkan sebaik mungkin (Linayati, *et al.*, 2015).

Kegiatan pemijahan ikan, baik alami maupun buatan, perlu pengetahuan tentang karakteristik sperma yang meliputi anatomi, komposisi kimiawi, ukuran, mortalitas dan kemungkinan penyimpanannya dalam upaya efisiensi dan efektifitas pemijahan. Karena kesulitan yang sering dihadapi dalam pemijahan terutama pemijahan buatan adalah ketersediaan sperma yang cukup pada waktu kegiatan pembuahan dilakukan. Hal ini disebabkan volume sperma yang dihasilkan sedikit sehingga kurang efektif untuk membuahi telur (Setyono, 2009).

Salah satu alternatif pemecahan dalam masalah tersebut adalah melakukan penyimpanan preservasi spermatozoa ikan, sehingga dapat digunakan dalam jangka waktu yang lebih lama dan dapat diatur penggunaannya sesuai dengan kebutuhan (Condro, *et al.*, 2012).

Penyimpanan sperma berguna dalam mengoptimalkan jangka waktu penggunaan spermatozoa induk jantan yang unggul untuk membuahi sel telur betina yang sejenis secara buatan. Selain itu untuk memudahkan persilangan antara jenis-jenis ikan yang waktu matang gonad yang berbeda serta untuk memudahkan transportasi penyebaran sperma ke daerah yang membutuhkan. Proses penyimpanan memerlukan bahan pengencer yang dapat mengurangi aktifitas spermatozoa sehingga menghambat pemakaian energi dan dapat mempertahankan kehidupan spermatozoa (Rahardhianto, *et al.*, 2012). Umur sperma ikan mas hanya mampu hidup 30–60 detik. Secara normal masa hidup sperma setelah keluar dari tubuhnya dan masuk ke dalam air hanya sekitar 1-2 menit (Kurniawan, *et al.*, 2013).

Budidaya ikan mas membutuhkan adanya teknologi preservasi untuk dikembangkan secara ekstensif bertujuan untuk memperpanjang kemampuan hidup gamet dengan teknik penyimpanan pada temperatur rendah sehingga dapat mengurangi aktifitas metabolik gamet tersebut. Keberhasilan preservasi ditentukan oleh bahan pengencer (ekstender), bahan pengawet, rasio pengenceran, serta larutan pengencer pada pembuahan (Surnama, *et al.*, 2010).

Sari buah merupakan ekstruder yang memiliki kandungan yang tepat dalam mempertahankan kondisi sperma selama masa penyimpanan. Air kelapa mengandung glukosa dan fruktosa yang juga terkandung dalam sperma, sehingga dapat dimanfaatkan spermatozoa sebagai sumber energi, dan diharapkan sperma akan bertahan hidup selama penyimpanan. Air kelapa ketersediaannya melimpah di daerah tropis, mudah didapat, murah dan praktis

(Kurniawan, *et al.*, 2013). Selain itu terdapat buah kurma mengandung komponen penyusun buah yang sebagian besar merupakan gula pereduksi, yaitu glukosa dan fruktosa sekitar 20-70% (bobot kering) (Retnowati dan Kusnadi, 2014). Buah tin memiliki kandungan antioksidan terutama α -toko ferol cukup tinggi. Demikian juga kandungan vitamin A, B1, B2, dan C serta berbagai mineral sehingga memberikan dampak signifikan untuk melindungi spermatozoa. Selain itu, bahan-bahan aktif tersebut akan mempertahankan tekanan osmotik pengencer serta melindungi keutuhan membran sel (Zaenuri, *et al.*, 2017). Pada buah apel memiliki kandungan fruktosa 45 mg/g, glukosa 37,2 mg/g dan sukrosa 45,4 mg/g (Caturryanti, *et al.*, 2008). Zaitun mengandung omega-9 dan 3 (Soebahar, *et al.*, 2016), Suplementasi omega-3 atau *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang mengandung *eicosa pentaenoic acid* (EPA) dan *docosahexaenoic acid* (DHA) dalam pengencer semen terhadap kualitas spermatozoa *post thawing*, pemberian PUFA dan α -tokoferol secara in vitro dapat melindungi spermatozoa domba saat proses preservasi (Nurcholis, *et al.*, 2016).

Glycerol (1,2,3-propanatriol) atau disebut juga gliserin merupakan senyawa alkohol trihidrat dengan rumus bangun $\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$. Gliserol juga merupakan senyawa gliserida yang paling sederhana, dengan hidroksil yang bersifat hidrofilik dan higroskopik. Gliserol berwujud cairan jernih, higroskopis, kental, terasa manis namun bersifat racun dan tidak berwarna dengan titik didih 290°C . Titik didih tinggi yang dimiliki oleh senyawa dengan bobot molekul 92,09 g/mol ini disebabkan adanya ikatan hidrogen yang sangat kuat antar molekul gliserol (Yurida, *et al.*, 2013).

Glycerol berfungsi sebagai penghasil fruktosa dan sedikit asam laktat. Spermatozoa pada proses metabolisme fruktosa akan menghasilkan energi dan asam laktat. Cara kerja *glycerol* pada sperma yaitu masuk ke dalam sel melalui cara difusi, menembus membran plasma karena larut dalam lemak (Sari, *et al.*,

2014). *Glycerol* memiliki manfaat untuk melindungi sperma dari kematian selama proses pembekuan atau penyimpanan. *Glycerol* dapat berdifusi ke dalam sel dan membentuk fruktosa sebagai sumber energi dan dapat digunakan untuk melindungi sel dari proses difusi media sekitarnya. Penambahan *glycerol* dalam pengencer diduga mampu melindungi sperma dari suhu dingin yang dapat mematikan sel sperma (Linayati, et al., 2015). Penambahan *glycerol* juga diperlukan sebagai pelindung (*Protective Agent*) spermatozoa selama proses penyimpanan. Penambahan *glycerol* dalam pengencer diduga dapat melindungi sperma dari suhu rendah cold shock yang dapat mematikan sel sperma. Upaya yang harus dilakukan dalam meningkatkan produksi benih ikan mas adalah dengan teknik preservasi (penyimpanan) yang dapat diterapkan para pembudidaya (Kurniawan, et al., 2013).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, didapatkan suatu rumusan masalah penelitian yaitu bagaimana pengaruh pemberian *glycerol* dan ekstender sari buah yang berbeda terhadap kualitas sperma ikan mas strain Punten pada proses preservasi?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *glycerol* dan ekstender sari buah yang berbeda terhadap kualitas sperma ikan mas strain Punten pada proses preservasi.

1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian adalah diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penggunaan sari buah yang terbaik sebagai ekstender dalam larutan Na-fis pada proses presevasi dengan penambahan *glycerol* terhadap persentase

fertilitas sperma ikan mas setelah masa penyimpanan, sehingga dapat bermanfaat bagi bidang perikanan khususnya dalam pembenihan ikan mas.

1.5 Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian mengenai pemberian ekstender sari buah yang berbeda terhadap kualitas sperma ikan mas strain Punten pada proses preservasi dengan penambahan gliserol sebagai berikut:

- H_0 : Pemberian gliserol dan ekstender sari buah tidak berpengaruh terhadap kualitas sperma ikan mas strain Punten pada proses preservasi.
- H_1 : Pemberian gliserol ekstender sari buah berpengaruh terhadap kualitas sperma ikan mas strain Punten pada proses preservasi.

1.6 Tempat Dan Waktu Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Instalasi Budidaya Air Tawar (IBAT) Punten, Batu, Jawa Timur pada bulan 5 September 2019 - 16 September 2019.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Ikan mas (Gambar 1) merupakan salah satu jenis ikan dari golongan Cyprinidae, dengan klasifikasi sebagai berikut (Sharma, 2013):

Grade : Pisces

Class : Osteichthyes

Sub-class : Actinopterygii

Sub-division : Teleostei

Order : Cypriniformes

Family : Cyprinidae

Genus : *Cyprinus*

Species : *Cyprinus carpio*

Local name : Ikan mas atau tombro



Gambar 1. Ikan Mas Punten (*Cyprinus carpio*) (Khairuman, et al., 2008)

Ciri-ciri morfologi ikan mas *strain* Punten adalah sebagai berikut: (1) warna sisik hijau kehitaman dengan bagian perut berwarna putih, (2) mata agak menonjol, (3) gerakan lamban dan jinak, (4) badan relatif paling pendek dari ras *strain* yang lain dengan punggung tinggi. Berdasarkan laporan kerja Balai Benih Ikan (BBI) Punten Batu Malang tahun 1994 sifat-sifat yang dimiliki oleh ikan mas Punten antara lain: (1) pertumbuhan cepat, sehingga masa pemeliharaan ikan mas Punten ini dapat dipercepat, (2) daging tebal dan disukai oleh konsumen, (3) adaptasi terhadap lingkungan tinggi, sehingga dapat dipelihara baik di dataran rendah maupun dataran tinggi, (4) tahan terhadap hama penyakit. Ikan mas atau disebut juga dengan ikan tombro merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang produksinya tinggi dan dapat dibudidayakan diseluruh wilayah Indonesia. Terdapat beberapa *strain* ikan mas yang ada di Indonesia antara lain Si nyonya, Punten, Kumpay, Majalaya, Kancra Domas, Taiwan dan Merah. Ikan mas *strain* Punten berasal dari daerah Punten Batu Malang. Morfologi ikan mas punten antara lain sisik berwarna hijau kehitaman dan putih pada bagian perut, mata agak menonjol, gerakan lambat dan jinak, dan badan relatif pendek. Keunggulan dari ikan mas punten yaitu pertumbuhan cepat, pemeliharaan cepat, daging tebal, dapat hidup di daerah dataran tinggi maupun rendah dan lebih tahan terhadap penyakit (Pudjirahayu, *et al.*, 2008).

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Ikan mas menyukai tempat hidup (*habitat*) berupa perairan tawar yang airnya tidak terlalu dalam dan alirannya tidak terlalu deras, seperti di pinggiran sungai atau danau. Ikan ini hidup dengan baik didaerah dengan ketinggian 150-600 meter diatas permukaan air laut dengan suhu air 25-30⁰ C (Rochdianto, 2005). Aslinya ikan mas hidup di perairan sungai, danau maupun genangan air lainnya yang berada pada ketinggian 150-600m dpl, dengan suhu air berkisar 20⁰-25⁰ C. Ikan mas sering juga ditemukan di bagian muara sungai yang airnya

agak asin (salinitas payau). Ikan Mas termasuk hewan Omnivora atau pemakan segala sehingga di alam makanan Ikan mas berupa daun-daunan, lumut, serangga, cacing dan lain sebagainya. Pada model budidaya ikan mas lingkungan pemeliharaan dibuat menyerupai alam aslinya (Efendi, 2004).

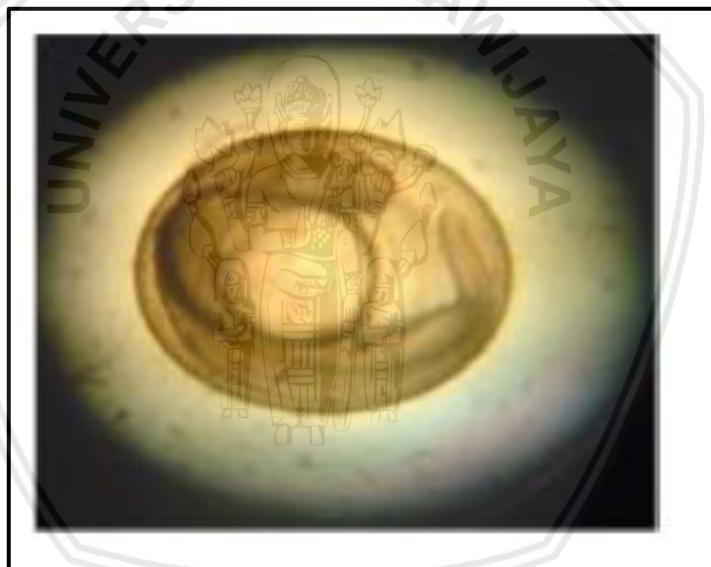
Indonesia terdapat beberapa macam strain ikan mas, yaitu Sinyonya, Punten, Kumpay, Majalaya, Kancra Domas, Taiwan dan Merah. Salah satu dari ketujuh strain yang ada di Indonesia tersebut adalah ikan mas strain Punten yang berasal dari daerah Punten Batu Malang. Distribusi alami dari ikan mas menurut Jeney dan Jian (2009), yaitu melalui sungai, danau, waduk dan rawa. Ikan tersebut juga dibudidayakan di kolam dan sungai, danau dan waduk menggunakan karamba. Sampai saat ini masih menjadi sebuah hipotesis mengenai asal dari spesies ikan mas. Di China sudah menjadi sejarah mengenai budidaya ikan mas sejak 2500 tahun yang lalu. Pada saat ini banyak varietas ikan mas yang dibudidayakan di berbagai negara yaitu Indonesia, India, Bangladesh, Thailand dan Vietnam. Ikan memiliki beberapa nama antara lain kancra, tikeu, tombro, raja, rayo dan ameh. Habitat ikan mas yaitu di perairan air tawar yang tidak terlalu dalam. Ikan mas biasa ditemukan di sungai, danau maupun waduk. Ikan ini dapat hidup di daerah dengan ketinggian 150–600 mdpl dengan suhu 25–30°C (Hasrati dan Rusnawati, 2011).

2.1.3 Reproduksi dan Siklus Hidup Ikan Mas

Pemijahan ikan mas dapat terjadi sepanjang tahun dan tidak tergantung pada musim. Namun, di alam ikan mas biasa memijah pada awal musim penghujan, saat muncul rangsangan dari aroma tanah kering yang kemudian tergenang air. Secara alami, proses pemijahan terjadi pada tengah malam sampai menjelang pagi hari. Menjelang memijah induk-induk ikan mas menjadi aktif mencari tempat yang rimbun dengan tanaman air atau rerumputan yang menutupi permukaan air. Subtrat berupa tanaman air atau rerumputan inilah

yang nantinya akan dijadikan sebagai lokasi memijah dan menempelkan telur yang dihasilkan (Susanto, 1999).

Telur ikan mas berbentuk bulat dan berwarna bening. Ukurannya bervariasi, tergantung umur serta ukuran dan bobot induk. Namun, secara umum diameter telur mencapai 1,5-1,8 mm dengan berat 0,17-0,20 mg. Dalam 2-3 hari, telur-telur ikan mas akan menetas dan tumbuh menjadi larva berukuran 0,5-0,6 mm dengan berat 18-20 mg. Larva-larva ini memiliki kantong kuning telur sebagai cadangan makanan, yang akan habis dalam 2-4 hari, larva ikan mas bersifat menempel di substrat dan bergerak vertikal (Cahyono, 2001). Gambar telur ikan mas disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Telur ikan mas yang terbuahi (Setyono, 2009)

2.1.4 Kematangan Gonad Ikan Mas

Kematangan gonad pada ikan terjadi pada umur 1-5 tahun baik jantan maupun betina. Suhu perairan dan kematangan gonad erat kaitannya serta ruang gerak memainkan peranan penting dalam laju pertumbuhan ikan mas. Pada perairan tropis ikan mas dapat matang gonad pada umur 3 bulan (90-140 mm), sedangkan pada Eropa Utara atau Amerika Utara untuk mencapai kematangan gonad membutuhkan waktu 5 tahun (355-430 mm). Ikan jantan

akan matang terlebih dahulu daripada betina dan pada kondisi normal, ikan mas dapat hidup hingga lebih dari 15 tahun (Tempero, *et al.*, 2006).

Induk ikan mas induk yang siap dipijahkan mempunyai ciri-ciri sebagai berikut (Khairuman, *et. al.*, 2008):

Tabel 1. Ciri-ciri Induk Matang Gonad

No.	Induk Ikan Mas Jantan	Induk Ikan Mas Betina
1.	Umur 6 bulan-1 tahun	Umur 1,5-2,5 tahun
2.	Berat sekitar 0,5 kg	Berat sekitar 1,5-2,5 kg
3.	Gerakan lincah	Gerakan lamban
4.	Perut ramping	Perut membesar ke belakang
5.	Lubang anus tidak menonjol	Lubang anus menonjol dan lunak
6.	Jika di striping keluar cairan sperma berwarna putih	Jika di striping keluar cairan kuning kemerahan

Tingkat kematangan gonad betina secara histologis diklasifikasi dengan dua cara yaitu pertama sesuai dengan ukuran dan tahapan kematangan oosit. Cara kedua yaitu dengan pengamatan secara subyektif jumlah oosit pada setiap perkembangannya (pengamatan secara keseluruhan). Tingkat kematangan gonad betina dibedakan menjadi 6 tahapan. Tahapan pertama *immature* (belum matang) yaitu ovarium tipis, transparan, berbentuk bundar dan oosit masih terlihat samar. Tahapan kedua perkembangan awal yaitu ovarium terlihat buram, granular dan mengisi kurang dari sepertiga rongga tubuh. Oosit berwarna kuning dan kecil. Tahap ketiga perkembangan akhir yaitu ovarium mengisi kurang dari dua pertiga rongga tubuh dengan oosit yang besar. Tahap keempat yaitu matang di mana ovarium terlihat jelas dan mengisi rongga perut. Tahap kelima yaitu mijah (*spent*) di mana ovarium berukuran kecil, granular dengan oosit yang tersebar. Tahap terakhir yaitu pemulihan (*regressing*) di mana ovarium sulit untuk diamati. Telur yang baik sangat dipengaruhi oleh kualitas indukan yang akan digunakan dalam proses pemijahan (Smith dan Walker, 2004).

Telur yang dikeluarkan dari hasil pembuahan akan berbentuk bulat dan tidak lengket jika antara satu dengan yang lain. Warna dari telur tersebut kuning kehijauan atau kuning muda. Pembelahan sel pada gonad ikan ini ada beberapa tahap dan pada setiap tahap pembelahan sel akan membelah menjadi 2x lipat. Pada pembelahan pertama sel menjadi 2 sel, lalu menjadi 4 sel, kemudian menjadi 8 sel (Eni, *et al.*, 2010).

2.1.5 Pemijahan Buatan Ikan Mas

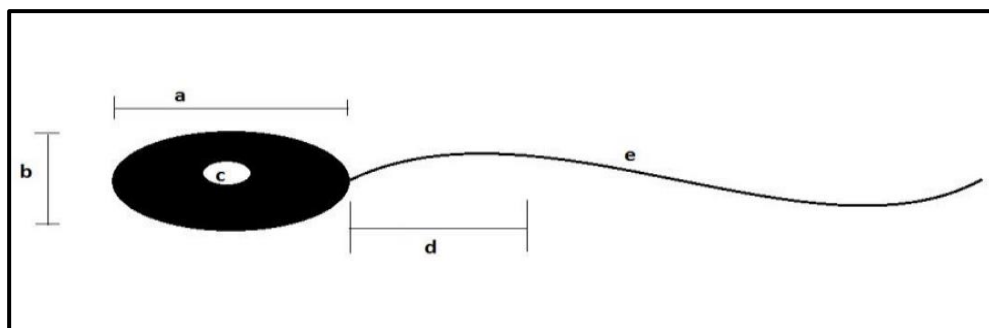
Pemijahan buatan pada ikan mas menggunakan metode stripping atau pemijatan yang merupakan salah satu cara yang cukup baik untuk memproduksi benih. Induk yang digunakan dalam pemijahan ini harus betul-betul baik dan siap pakai. Induk diinduksi dengan penyuntikan hormon perangsang pemijahan (ovaprim) untuk mendapatkan keseragaman kematangan sperma, telur dan waktu ovulasi (Mayunar, 1996). Pemijahan dan pembenihan ikan secara buatan dapat dilakukan dengan penyuntikan hormon sintesis seperti ovaprim, provestin, HCG (*Human Chorionic Gonadotropin*). Penyuntikan hormon sintesis memang mampu mempercepat pemijahan pada ikan namun terkendala pada harganya yang mahal sehingga kurang ekonomis di kalangan pembudidaya ikan (Mardhatillah, *et al.*, 2018).

Proses pemijahan buatan adalah sebagai berikut: induk matang gonad jantan dan betina dipilih dengan perbandingan 1:3, kemudian dipisahkan dan di berok selama 1 hari. Ikan mas disuntik pada induk betina nya dengan ovaprim 0,4 cc/kg dan diambil induk induk jantan untuk mengeluarkan sperma lalu diencerkan sperma 1 cc + 500 cc NaCl 0,9 %, kemudian induk betina di striping hingga keluar telur dan ditampung dalam wadah kering. Setelah itu di telur dan sperma dicampurkan secara merata, lalu telur ditebarkan ke atas permukaan kakaban. Tahapan terakhir kakaban diletakan dalam hapa yang telah dipersiapkan (Papilon dan Effendi, 2017).

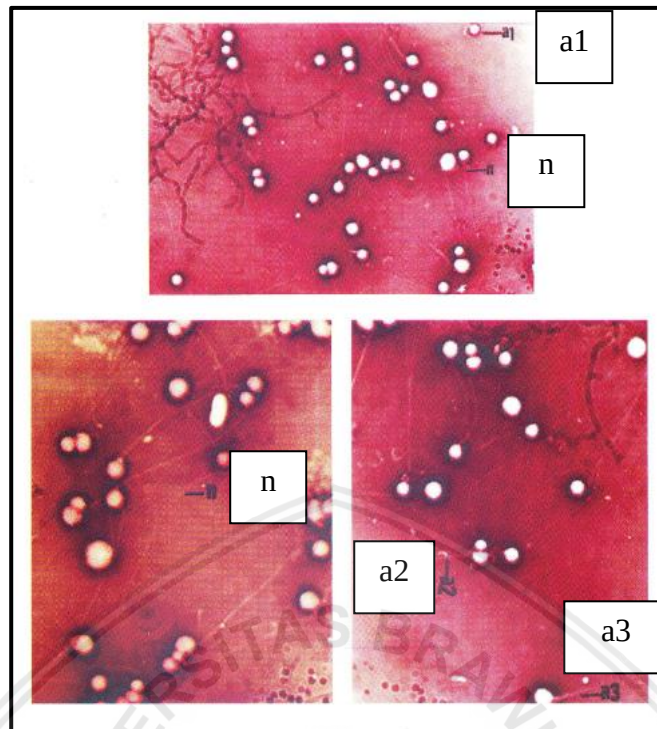
2.2 Spermatozoa

Spermatozoa dibentuk dalam tubuliseminiferi yang berada di dalam testis. Bentuk morfologi spermatozoa yang sempurna adalah merupakan sel yang memanjang, yang terdiri dari kepala yang tumpul dan didalamnya terdapat nukleus, leher yang menghubungkan kepala dan ekornya yang dibagi lagi menjadi bagian tengah, pokok dan akhir yang bagian-bagian tersebut mempunyai stuktur yang berbeda, serta ekor yang mengandung apparatus untuk pergerakan sel (Susilawati, 2011).

Ekor spermatozoa merupakan sumber energi untuk motilitasnya, dimana bagian ekor spermatozoa terdiri dari dua bagian ujung (*end piece*). Pada bagian pangkal (*middle piece*) terdapat mitokondria yang berfungsi dalam proses metabolisme dari spermatozoa dalam menghasilkan energi. Energi yang digunakan untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan ATP (*adenosine trifosfat*) di dalam selubung mitokondria melalui reaksi-reaksi penguraiannya menjadi ADP (*adenosine difosfat*) dan AMP (*adenosine monofosfat*), dimana energi yang dihasilkan bagian ujung (*end piece*) akan digunakan sebagai pergerakan spermatozoa (energi mekanik) (Yumte, *et al.*, 2013). Gambar morfometri spermatozoa disajikan pada Gambar 3 dan pewarnaan spermatozoa disajikan pada Gambar 4.



Gambar 3. Morfometri Spermatozoa: a. Panjang Kepala; b. Lebar Kepala; c. Areal Kepala; d. Ekor Bagian Tengah; e. Ekor Bagian Utama (Salisbury dan Van Demark, 1961)

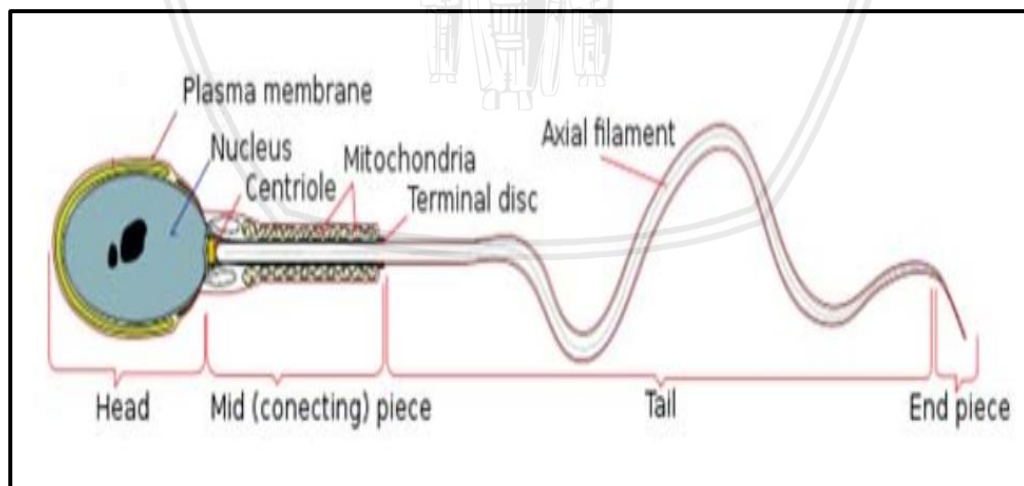


Gambar 4. Pewarnaan spermatozoa ikan mas menggunakan eosin, pengamatan dengan mikroskop compound dengan perbesaran 1000 X. Tanda panah (a1) abnormal kepala tanpa ekor (a2) abnormal ekor tergulung (a3) abnormal ekor putus (n) normal (Hedianto, *et al.*, 2003)

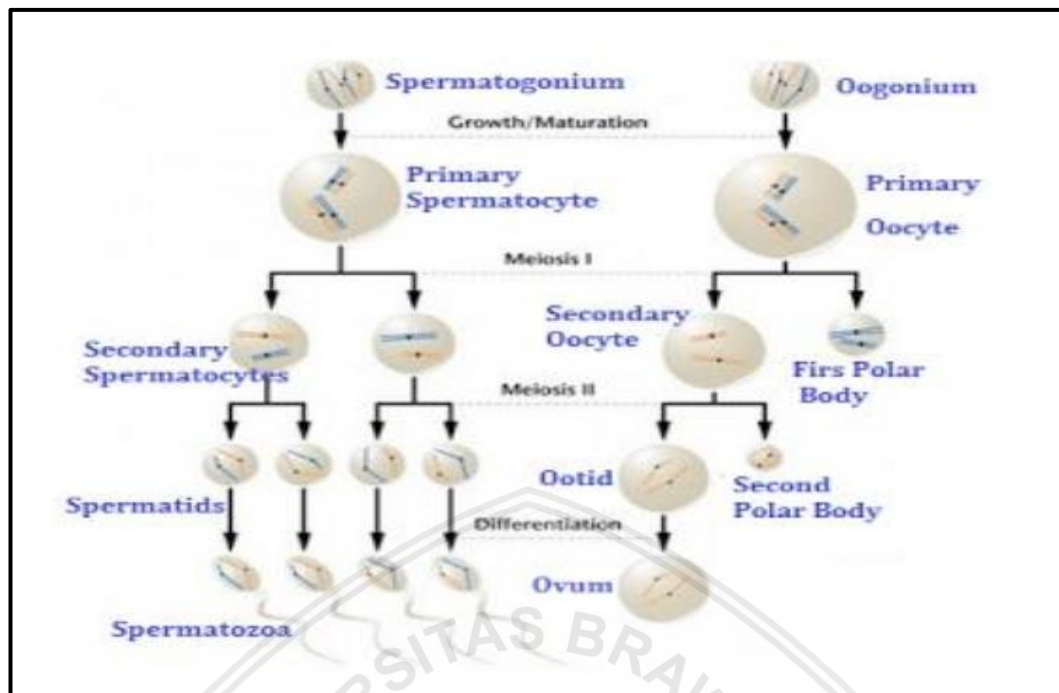
2.3 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses pembentukan sel spermatozoa (tunggal: spermatozoon) yang terjadi di organ kelamin (gonad) jantan yaitu testis tepatnya di tubulus seminiferus. Sel spermatozoa, disingkat sperma yang bersifat haploid (n) dibentuk di dalam testis melewati sebuah proses kompleks. Spermatogenesis mencakup pematangan sel epitel germinal dengan melalui proses pembelahan dan diferensiasi sel. Pematangan sel terjadi di tubulus seminiferus yang kemudian disimpan dalam epididimis. Tubulus seminiferus terdiri dari sejumlah besar sel germinal yang disebut spermatogonia (jamak). Spermatogonia terletak di dua sampai tiga lapis luar sel-sel epitel tubulus seminiferus. Spermatogonia berdiferensiasi melalui tahap-tahap perkembangan tertentu untuk membentuk sperma (Murtidjo, 2001).

Spermatozoa dihasilkan melalui proses spermatogenesis yang diawali dengan membelahnya spermatogonis secara mitosis berkali-kali sampai menjadi spermatosit I, spermatosit II, dan berlanjut menjadi spermatid. Spermatid akan mengalami perubahan bentuk menjadi gamet yang sanggup bergerak aktif yang disebut spermatozoa. Spermatozoa ikan jantan tergolong ke dalam *tipe flagellate* karena memiliki ekor flagellata yang panjang. Spermatozoa ikan jantan dewasa yang sudah matang terdiri atas kepala, leher, ekor, dan inti sperma terdapat pada bagian kepala sperma (Murtidjo, 2001). Sel sperma pada ikan biasanya aktif karena dipicu oleh kondisi osmolalitas lingkungan perairan dan pada saat sel sperma berada dalam kantung sperma, osmolalitas dari *seminal plasma* pada tingkat tertentu dapat menjaga sperma untuk tidak aktif. Kondisi dari *seminal plasma* yang menjaga sel sperma tidak aktif di pengaruhi oleh kandungan bahan kimia yang terkandung dalam cairan seminal plasma tersebut (Irawan, 2014). Gambar spermatozoa ikan disajikan pada Gambar 5 dan gambar spermatogenesis disajikan pada Gambar 6.



Gambar 5. Spermatozoa Ikan (Kime *et al.*, 2001)



Gambar 6. Spermatogenesis (Yumte, *et al.*, 2013)

2.4 Preservasi

Teknik lain dalam pengawetan sperma adalah preservasi, Preservasi merupakan teknik pengawetan dengan menggunakan suhu rendah tetapi tidak sampai titik beku sehingga membutuhkan bantuan ekstender dalam penerapannya (Kurniawan *et. al.*, 2013). Preservasi sperma ikan mas dilakukan dengan penambahan gliserol dan air kelapa dilakukan dengan cara disimpan di dalam refrigerator atau lemari es dengan suhu rendah 3–5°C selama 4 hari penyimpanan dan setiap harinya dilakukan pengamatan motilitas atau pergerakan massa spermatozoa (Setyono, 2009). Preservasi adalah teknik penyimpanan sperma disimpan dalam lemari es (5 °C) selama 7 hari selanjutnya difertilisasikan. Saat proses pendinginan dan pencairan kembali harus diwaspadai, karena dapat menyebabkan terjadinya perubahan intrastruktural pada membrane plasma, hilangnya beberapa matrik mitokondria dan penurunan densitas *electron* dari matrik mitokondria sehingga menyebabkan hilangnya kelangsungan hidup (viability) sperma. *Cold shock* dapat menyebabkan

hilangnya enzim intraseluler, potassium, ATP, lipoprotein dan bahan-bahan lain dari sel sperma (Maulana, *et. al.*, 2014).

2.5 Kelebihan dan Kekurangan Teknik Preservasi

Setiap teknik penyimpanan mempunyai kelebihan dan kekurangan. Pada penyimpanan *in vitro* jangka pendek dan jangka menengah diperlukan tindakan subkultur yang berulang-ulang sehingga kurang efisien dalam hal waktu, tenaga, ruangan, dan biaya. Dengan teknik Preservasi, kekurangan dari metode penyimpanan *in vitro* tersebut dapat ditekan seminimal mungkin karena bahan disimpan dalam ruangan bersuhu sangat rendah. Pada suhu yang sangat rendah, sel-sel tidak mempunyai aktivitas metabolik dengan viabilitas yang tetap terpelihara sehingga bahan dapat disimpan dalam jangka waktu yang sangat lama tanpa memerlukan tindakan subkultur yang berulang-ulang. Keuntungan lain dari preservasi sel spermatozoa ialah sel spermatozoa dapat disimpan dalam waktu yang tidak terbatas dan dapat digunakan kapan saja bila diperlukan (Ika dan Ika, 2003).

Kekurangan preservasi pada suhu 4°C, spermatozoa masih melakukan metabolisme, sehingga motilitas spermatozoa menurun sejalan dengan waktu penyimpanan. Perubahan suhu dapat menginduksi stres pada membran, karena adanya perubahan fase pada lipid dan mengubah struktur membran. Oleh karena itu, hal yang sangat penting pada proses preservasi sperma adalah komposisi dari pengencer sperma (Magfira, *et al.*, 2017).

2.6 Parameter Kualitas Sperma

2.6.1 Motilitas spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah salah satu kriteria penentu kualitas spermatozoa yang dilihat dari banyaknya spermatozoa yang bergerak progresif. Penilaian motilitas spermatozoa sangat penting karena motilitas umumnya

digunakan sebagai parameter kesanggupan untuk membuahi sel telur (Yumte, *et al.*, 2013). Pengamatan motilitas dilakukan dengan meletakkan sampel sperma pada gelas objek yang nantinya akan diamati dibawah mikroskop. Persentase motilitas ditentukan berdasarkan pergerakan sperma setelah diaktifasi (Sunarma, *et al.*, 2010). Sperma segar yang dikumpulkan dari dua induk jantan yang menunjukkan motilitas > 80% digunakan pada perlakuan. Sebanyak 2 mL sperma gabungan. Pengenceran sperma dilakukan dengan menggunakan perbandingan sperma:ekstender yaitu 1:9 sebanyak 2 mL sperma ditambahkan ke dalam 18 mL larutan ekstender (Kurniawan, *et al.*, 2013).

Motilitas spermatozoa dibedakan menjadi 2 golongan, yaitu motilitas massa dan motilitas individu. Motilitas individu dapat dinilai dari gerak sperma yaitu bila gerakan progresif atau gerak aktif kedepan merupakan gerak terbaik dan 34 dinilai lebih besar 70%, gerak lambat atau gerak memudar di tempat menunjukkan sperma dari penjantan yang tua, sedangkan gerak mundur atau melingkar merupakan tanda spermatozoa mengalami kejutan dingin dan bila tidak ada gerakan sperma dianggap mati. Persentase motilitas spermatozoa dibawah 40% menunjukkan nilai sperma yang kurang baik dan berhubungan dengan infertilitas (Firdausi, 2017). Motilitas yang diperoleh dianalisis dengan cara deskriptif, yaitu memberikan gambaran yang jelas tentang hal-hal yang terjadi secara kualitatif dilakukan selama percobaan berlangsung. Motilitas spermatozoa ikan dibatasi pada periode detik dan menit pada pembuahan ikan air tawar karena adanya *osmotic injury*. *Osmotic injury* dapat diamati dalam spermatozoa setelah pelepasan kedalam medium pembuahan alami. Kerusakan ini tidak dapat diperbaiki dan bisa menyebabkan kematian dalam hitungan detik untuk beberapa jenis ikan air tawar (Hidayaturrahmah, 2007).

2.6.2 Viabilitas Spermatozoa

Pemeriksaan viabilitas berguna untuk mengetahui sampai berapa lama spermatozoa tersebut hidup (*viable*) atau tidak hidup (*unviable*) yang pada penampakan spermatozoa tidak bergerak atau imotil dalam proses penyimpanan dengan penambahan larutan pengencer. Spermatozoa yang imotil belum tentu spermatozoa tersebut sudah mati. Lingkungan yang tidak sesuai akan menyebabkan spermatozoa tidak mampu bergerak tetapi jika spermatozoa tersebut berada lingkungan yang mendukung maka spermatozoa tersebut akan bergerak kembali (Rahardhianto, *et al.*, 2012). Perhitungan viabilitas sperma menggunakan haemocitometer yang sebelumnya sperma diberi satu tetes larutan eosin untuk mewarnai sperma yang mati dan yang hidup karena sperma mati akan menyerap warna merah dari eosin tersebut (Linayati, *et al.*, 2015), kemudian dihitung presentase sperma hidup sebagai berikut:

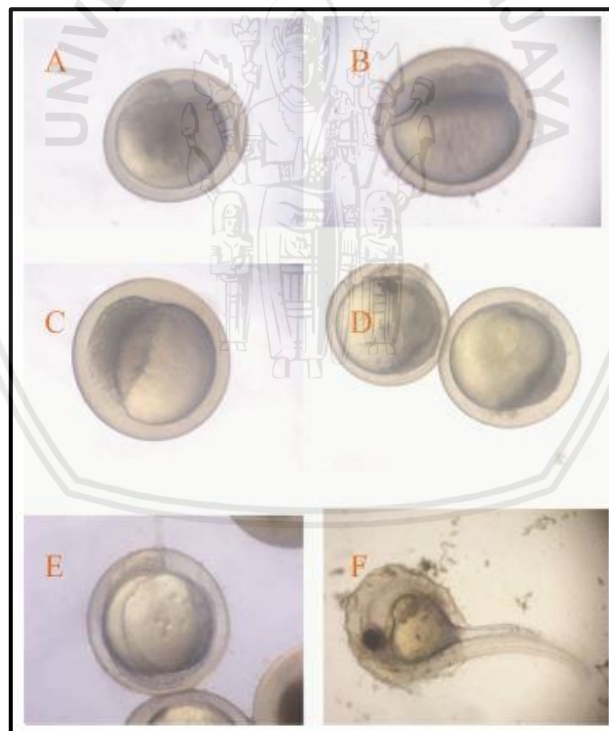
$$\text{Presentase sperma hidup} = \frac{\text{jumlah sperma hidup}}{\text{total sperma}} \times 100\%$$

2.7 Fertilisasi

Fertilisasi merupakan peleburan antara sel sperma dan sel ovum sehingga dihasilkan zigot (Melamed dan Sherwood, 2005). Proses fertilisasi dilakukan setelah induk betina ikan mas distriping dan telurnya langsung dibuahkan dengan sperma yang sudah disimpan. Sebelumnya induk betina disuntik dengan ovaprim, supaya merangsang keluarnya sel telur. Sampel sperma dicampur dengan 1 gr sel telur dilakukan dalam mangkok, sebelumnya diencerkan dengan NaCl fisiologis untuk menambah volume sperma, kemudian diaduk dengan bulu ayam supaya tercampur merata dan sel telur tidak pecah. Selanjutnya dituangkan ke saringan dalam akuarium untuk dilakukan fertilisasi

dan diberi aerasi (Kurniawan, *et al.*, 2013). Fertilisasi yang terjadi pada ikan teleostean umumnya merupakan fertilisasi eksternal (Pandey dan Shukla, 2010).

Pembuahan atau fertilisasi adalah proses bergabungnya inti sperma dengan inti sel telur dalam sitoplasma sehingga membentuk zigot. Pada dasarnya fertilisasi adalah penyatuan sel gamet jantan dan betina untuk membentuk satu sel (zigot). Proses pembuahan, spermatozoa masuk ke dalam telur melalui lubang *micropyle* yang terdapat pada chorion. Tiap spermatozoa mempunyai kesempatan yang sama untuk membuahi satu telur. Akan tetapi karena ruang tempat terjadinya pembuahan yaitu pertemuan telur dengan spermatozoa pada ikan (Setyono, 2009). Gambar telur yang terbuahi mengalami embriogenesis disajikan pada Gambar 7.

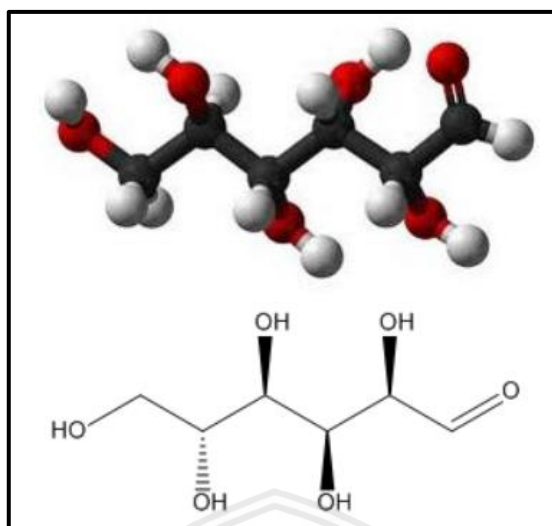


Gambar 7. Gambar Telur yang Terbuahi mengalami Embriogenesis (Yumte, *et al.*, 2013)

2.8 Struktur Kimia Glukosa

Glukosa merupakan aldehida (mengandung gugus -CHO). Lima karbon dan satu oksigennya membentuk cincin yang disebut "cincin piranosa", bentuk paling stabil untuk aldosa berkarbon enam. Dalam cincin, tiap karbon terikat pada gugus samping hidroksil dan hidrogen kecuali atom kelimanya, yang terikat pada atom karbon keenam di luar cincin, membentuk suatu gugus CH₂OH. Struktur cincin berada dalam kesetimbangan dengan bentuk yang lebih reaktif. Faktor penentu dari bentuk glukosa adalah posisi gugus hidrogen (-H) dan alkohol (-OH) dalam struktur molekulnya. Glukosa yang berada dalam bentuk molekul D & L-Glukosa dapat dimanfaatkan sistem tumbuhan, sedangkan sistem tubuh manusia hanya dapat memanfaatkan D-Glukosa (Irawan, 2007).

Glukosa menyediakan energi untuk seluruh sel pada tubuh agar tetap hidup dan berfungsi dengan baik. Penggunaan 2% glukosa dalam pengencer skim kuning telur nyata mempertahankan motilitas spermatozoa pada ikan. Glukosa dibentuk dari senyawa-senyawa glukogenik yang mengalami glukoneogenesis. Fruktosa pengencer skim kuning telur juga dapat mempertahankan motilitas sperma paling tinggi dibanding glukosa dan campurannya. Penggunaan jenis karbohidrat yang tepat sebagai sumber energi dan krioprotektan bagi sperma dalam pengencer skim kuning telur akan berdampak pada kualitas semen beku yang dihasilkan terutama terhadap motilitas sperma dan persentase sperma hidup (Mukminat, *et al.*, 2014). Gambar struktur glukosa disajikan pada Gambar 8.

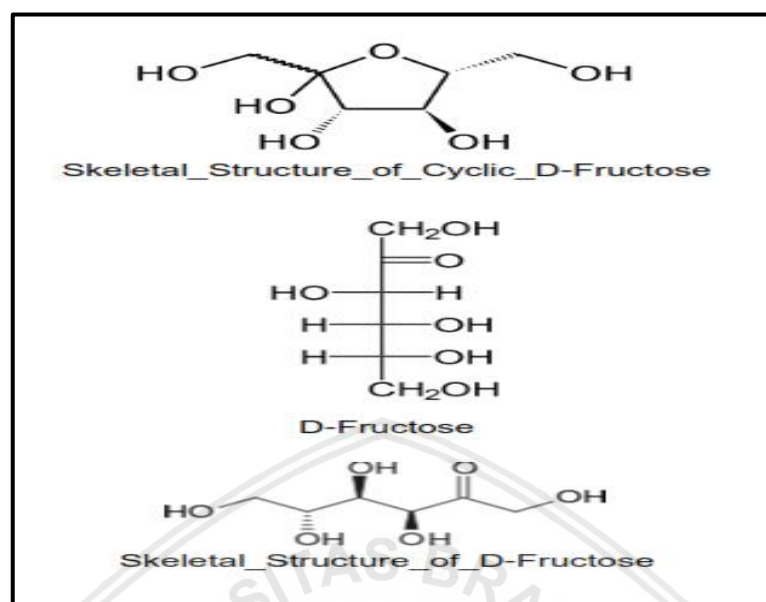


Gambar 8. Struktur glukosa (Irawan, 2007)

2.9 Struktur Kimia Fruktosa

Fruktosa adalah polihidroksiton dengan 6 atom karbon. Fruktosa merupakan isomer dari glukosa keduanya memiliki rumus molekul yang sama ($C_6H_{12}O_6$) namun memiliki struktur yang berbeda. Fruktosa adalah monosakarida yang ditemukan di banyak jenis tumbuhan terutama pada madu, pohon buah, bunga, beri dan sayuran. Pada tanaman, fruktosa dapat berbentuk monosakarida atau sebagai komponen dari sukrosa. Sukrosa merupakan molekul disakarida yang merupakan gabungan dari satu molekul glukosa dan satu molekul fruktosa. Fruktosa secara fisiologis sangat cepat bereaksi, sehingga dapat menjadi suatu aktifator gula dalam metabolisme (Priyadi, 2012).

Karbon yang terdapat dalam karbohidrat terutama fruktosa dapat digunakan sebagai penyusun molekul organik meliputi karbohidrat, protein, asam amin, lipid dan nukleotida. Fungsi molekul organik tersebut adalah menyediakan cukup energi untuk mempertahankan fungsi tubuh atau sel. Didalam sel mikroorganisme, fruktosa mengalami metabolisme sehingga menyebabkan sel dapat bergerak dan memperbanyak diri atau berkembangbiak (Wulandari, 2012). Gambar struktur fruktosa disajikan pada Gambar 9.



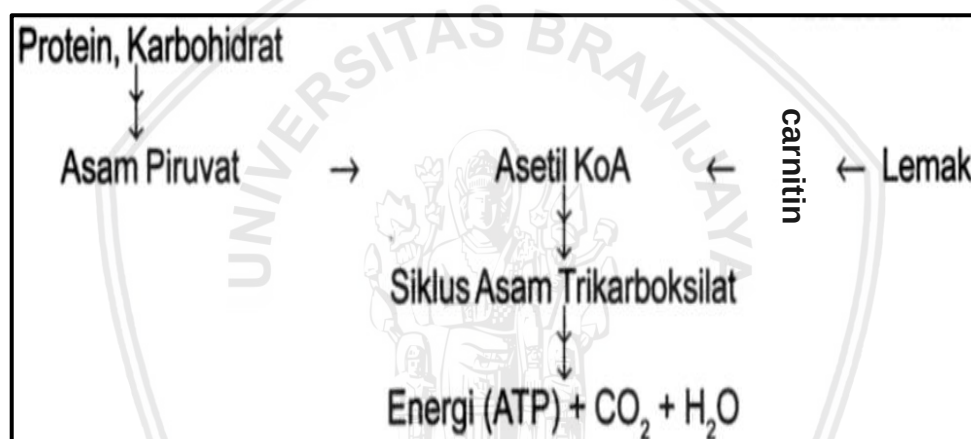
Gambar 9. Struktur fruktosa (Mark, *et al.*, 2000)

2.10 Mekanisme Pemanfaatan Sari Buah oleh Spermatozoa

Testis spermatozoa mampu memakai sumber energi dari luar untuk melanjutkan hidupnya. Bahan utama yang dipakai sebagai sumber energi dari luar adalah fruktosa yang akan diubah menjadi asam laktat dan energi bentuk ATP dengan bantuan enzim fruktosilin. Pemberian larutan fruktosa sebagai pengencer untuk spermatozoa ikan di maksudkan untuk memberikan energi dan nutrisi untuk spermatozoa ikan agar dengan energi yang berupa ATP tersebut dapat meningkatkan atau memperpanjang waktu motilitas dari viabilitas spermatozoa (Adipu, *et al.*, 2011).

Nutrisi yang disumbangkan berupa glukosa dan fruktosa dipakai sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa. Dalam keadaan normal energi yang dilepaskan dapat dipakai sebagai sumber energi mekanik (pergerakan) atau sebagai energi kimiawi (biosintesa), jika tidak dipergunakan akan menghilang sebagai panas. Apabila persediaan energi habis, maka kontraksi fibril-fibril spermatozoa akan terhenti dan spermatozoa tidak

bergerak (Rahardhianto, *et al.*, 2012). Untuk melangsungkan pergerakan kembali ATP dan ADP harus dibangun kembali dengan penambahan gugusan phosphoril yang membutuhkan sumber energi dari luar. Metabolisme gula sederhana ini melalui respirasi sel spermatozoa menghasilkan ATP. Proses penyerapan karbohidrat akan diubah menjadi asam piruvat pada proses selanjutnya dirubah menjadi Asetil KoA. Asetil KoA merupakan komponen kimia yang penting dalam pembentukan energi tubuh dan sebagian besar masuk ke dalam siklus asam trikarboksilat untuk diubah menjadi energi kimia ATP (Buwono, 2000). Gambar proses pemebentukan energi dari zat makanan disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Proses Pembentukan Energi dari Zat Makanan (Buwono, 2000)

2.11 Ekstender Sari Buah

Ekstender adalah bahan pengencer pada proses preservasi, ekstender diperlukan untuk mengencerkan cairan sperma pada ikan dalam proses preservasi. Cairan tersebut umumnya dirancang agar sesuai dengan komposisi fisikokimia plasma seminal dari spesies uji, yang dirancang untuk mempertahankan spermatozoa dari kematian sampai spermatozoa tersebut diperlukan (Rana, 1995). Pengencer yang baik selain dapat menyediakan nutrisi juga harus memungkinkan spermatozoa dapat bergerak secara progresif, tidak bersifat racun, mampu sebagai penyanggah (*buffer*) serta dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) selama pendinginan atau

pembekuan. Secara umum pengencer yang banyak digunakan adalah Tris-kuning telur, sitrat-kuning telur, susu segar-kuning telur, susu skim-kuning telur, AndroMed, dan laktosa-kuning telur, akan tetapi pada kondisi tertentu, bahan kimia ini sulit untuk ditemukan, sehingga diperlukan alternatif bahan lain yang dapat digunakan sebagai pengencer. Beberapa penelitian terhadap pengencer alternatif menggunakan sari buah telah dilakukan, diantaranya dari air kelapa muda, sari wortel, sari buah melon, sari buah tomat, serta nira aren (Riyadhi, *et al.*, 2017).

Buah kurma dapat digolongkan sebagai sumber karbohidrat karena memiliki kandungan gula seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa yang cukup tinggi. Buah kurma mengandung 73,51 % karbohidrat yang terdiri dari glukosa, fruktosa dan sukrosa masing-masing yaitu 13,7 gram, 12,6 gram, dan 52,7 gram (Elleuch, *et al.*, 2008). Air kelapa memiliki kandungan nutrisi yang lengkap dan bersifat buffer. Air kelapa juga mengandung unsur karbon berupa karbohidrat sederhana, seperti: glukosa, sukrosa, dan fruktosa (Dwitarizki, *et al.*, 2015). Bahan nabati yang memiliki prospek cukup baik sebagai salah satu unsur di dalam pengencer semen adalah sari buah tin (*Ficus glumerata* Linn). Kandungan β -tokoferol, α -tokoferol, vitamin D2, D3, dan K1 buah tin sangat tinggi (Zaenuri, *et al.*, 2013). Ekstrak α -tocopherol adalah 57 mg/100 mg daun tin kering serta kaya vitamin A, B1, B2, dan C serta berbagai mineral (Daymaz, 2005). Apel merupakan buah dengan kandungan gula total yang cukup tinggi, yaitu sekitar 14.19 ± 1.18 g/100 ml. Sari apel mengandung kadar glukosa yang cukup tinggi, sehingga dapat menjadi sumber karbon substrat bagi pertumbuhan. Glukosa yang terdapat pada sari apel dikonversi menjadi selulosa (Gazali dan Munawaroh, 2016). Daya preservasi bahan aktif mungkin berasal dari kandungan antioksidan terutama α -tokoferol yang cukup tinggi seperti dijelaskan oleh Sirisha, *et al.* (2010), sehingga dapat memberikan dampak signifikan untuk

melindungi spermatozoa dari dampak stres oksidatif. Selain itu, bahan-bahan aktif tersebut akan mempertahankan tekanan osmotik pengencer serta melindungi keutuhan membran sel (Azawi, *et al.*, 1993). Zaitun merupakan salah satu antioksidan eksogen yang memiliki banyak manfaat. Zaitun mengandung gugus phenol yang terdiri atas struktur cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Semakin banyak gugus hidroksil yang terkandung dalam gugus phenol menunjukkan kemampuan antioksidan yang lebih baik (Visser, *et al.*, 2004).

2.12 Kandungan Sari Buah

a. Kurma (*Phoenix dactylifera* L.)

Menurut Vyawahare, *et al.* (2009), Kurma (*Phoenix dactylifera*) adalah tumbuhan jenis palem yang buahnya dapat dimakan, rasanya manis. Pohon kurma tingginya sekitar 15-25 meter, sedang daunnya menyirip sepanjang 2-5 meter. Klasifikasi tumbuhan kurma (Gambar 11) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Superdivisi	: Spermatophyta
Subkelas	: Arecidae
Ordo	: Arecales
Family	: Arecaceae
Genus	: Phoenix
Spesies	: <i>Phoenix dactylifera</i> L.



Gambar 11. Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) (Vyawahare, *et al.*, 2009)

Kurma adalah buah yang manis, banyak mengandung sukrosa, fruktosa, dan glukosa alami. Tanin dalam kurma bersifat anti infeksi dan anti inflamasi, kalsium dalam kurma sangat penting untuk pertumbuhan, sedang kandungan zat besi dan kalium diperlukan untuk menjaga disaat kondisi asam (Praptiwi, *et al.*, 2017). Buah kurma memiliki karakteristik bervariasi. Beratnya 2-60 gram, panjang 3-7 cm, konsistensi lunak sampai kering, berbiji dan berwarna kuning kecoklatan, coklat gelap, dan kuning kemerahan. Kurma kebanyakan tumbuh di negara-negara Arab yang dekat dengan gunung berapi, sehingga tanahnya begitu subur, didalam buah kurma mengandung fruktosa dan glukosa sehingga dapat digunakan untuk preservasi sperma. Kandungan vitamin dalam setiap 100 g kurma kering adalah vitamin A sebesar 50 IU, thiamin 0,09 mg, riboflavin 0,10 mg, serta niasin sekitar 2,20 mg (Soebahar, *et al.*, 2016).

b. Buah Zaitun (*Olea europaea*)

Zaitun (Gambar 12) merupakan tanaman perdu tahunan yang mampu bertahan hidup dalam jangka waktu lama. Tanaman ini tersebar luas di negara-negara Mediterania, Afrika, semenanjung Arab, India, dan Asia (Orey, 2008). Salah satu wisata yang berbasis agro yang ada di Kabupaten Pasuruan yang dibuka sejak tahun 2016, telah mengembangkan berbagai macam pohon di wisata Kebun Kurma yaitu, pohon tin, siwak, zaitun, sultana, anggur, delima

merah dan delima hitam (Agatha dan Pangestuti, 2019). Klasifikasi tanaman zaitun adalah sebagai berikut

Kingdom : Plantae
 Sub Kingdom : Tracheobionata
 Super Divisi : Spermatophyta
 Divisi : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Sub Class : Asteridae
 Family : Oleaceae
 Genus : Olea
 Spesies : *Olea europaea*



Gambar 12. Buah Zaitun (*Olea europaea*) (Sari, 2016)

Tinggi tanaman *Olea europaea* mencapai 3-15 meter. Batangnya mempunyai jenis kambium dan xylem dengan dan atau tanpa trakea. Bentuk batang kayu parenkim terkadang adalah paratrakeal atau protrakeal. Daunnya daun tunggal yang berbentuk elips. Panjangnya sekitar 20-90 mm x 7-15 mm, ujung runcing, tepi rata, permukaan atas licin warna hijau keabu-abuan dan permukaan bawah warna kuning keemasan. Bunga zaitun berukuran kecil berwarna putih atau krem dengan panjang sekitar 6-10 mm. Bunga berkembang

pada bulan Oktober sampai Maret. Buah zaitun ovoid, kecil berwarna hijau muda dengan bercak (Soebahar, *et al.*, 2016).

Minyak zaitun adalah minyak lemak yang diperoleh dengan pemerasan dingin biji masak *Olea europaea* L (Depkes). Kualitas minyak yang terbaik diperoleh dari buahnya yang tua tapi belum masak (Sutedjo, 2004). Setiap buah zaitun yang matang mengandung 80% air, 15% minyak, 1% protein 1% karbohidrat dan 1% serat. Sedangkan vitamin lainnya yang dikandungnya adalah B1, B2, C, E, K dan zat besi. Minyak zaitun mengandung asam lemak berupa asam oleat atau omega 9 (79%), asam palmitrat atau asam lemak jenuh (11%), asam linoleat atau omega 6 (7%), asam stearat (2%) (Khadijah, 2012).

c. Buah Tin (*Ficus carica* L)

Tin (Gambar 13) merupakan tanaman buah anggota famili Moraceace tergolong semak tinggi atau pohon kecil yang tingginya bisa mencapai 10 m. Tin memiliki perakaran dangkal yang relatif sensitif terhadap kekeringan, batang tin yang halus dan berwarna abu-abu keperakan kurang kokoh, sehingga perlu disangga pada setiap percabangannya (Rahimah dan Pujiastuti, 2016), diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rosales
Famili	: Moraceae
Genus	: Ficus
Spesies	: <i>Ficus carica</i> (Refli, 2012).



Gambar 13. Buah Tin (*Ficus carica* L) (Menurut Rahimah dan Pujiastuti, 2016)

Kebanyakan orang sering menyebutnya sebagai tanaman ara. Tanaman ini mempunyai nama Latin *Ficus carica* L. Tanaman yang telah ada sekitar ribuan tahun lalu ini dapat tumbuh subur dan berbuah lebat di tengah terik matahari, bahkan di padang pasir sekalipun. Oleh karena itu, tanaman ini terkadang disebut pohon kehidupan. Tanaman ini juga dapat ditemukan di daerah beriklim kontinental dengan musim panas. Tanaman tin berasal dari Asia Barat, tumbuh di daerah pantai Balkan hingga Afganistan. Tanaman tin juga dapat tumbuh di Asia Tenggara, toleran terhadap kekeringan dan suhu dingin (-9°C), tetapi tetap membutuhkan unsur-unsur hara yang optimum untuk menjaga mutu buahnya. Pertumbuhannya membutuhkan pencahayaan sebagian atau penuh, dan kelembapan rata-rata hingga kering. Kandungan fitokimia tanaman ini terutama buahnya sudah banyak diteliti oleh para peneliti di beberapa negara Timur Tengah, Eropa, dan Amerika Serikat. Buah tin merupakan sumber penting komponen bioaktif seperti fenol, benzaldehida, terpenoid, flavonoid, dan alkaloid yang memiliki sifat antioksidan. Sementara daun tin mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol. Kandungan kalori 100 g buah tin segar adalah 80 IU dan 283 IU pada tin kering, kandungan protein 1,2-1,3 g tin segar dan 4,3 g tin kering atau 3,4 g. Vitamin A pada buah tin segar 20-270 IU dan kering 142 IU, Vitamin C terdapat sebanyak 0,68 mg pada tin kering, Pemanfaatan bahan nabati sebagai bahan pengencer semen untuk mempertahankan kualitas

spermatozoa selama penyimpanan dalam bentuk cair maupun beku. Bahan nabati yang memiliki prospek cukup baik sebagai salah satu unsur pengencer semen adalah sari buah tin (*Ficus glumerata* Linn) (Refli, 2012).

d. Buah Apel Hijau (*Mallus sylvestris* Mill)

Menurut Khotimah, *et al.* 2016, buah apel hijau (*Mallus sylvestris* Mill)

(Gambar 14) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Sub Kingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
- Ordo : Rosales
- Famili : Rosaceae
- Genus : Mallus
- Spesies : *Mallus sylvestris* Mill. (Apel Hijau)
Mallus domestica Borkh. (Apel Merah)



Gambar 14. Buah Apel Hijau (*Mallus sylvestris* mill) (Khotimah, *et al.*, 2016)

Apel (*Malus sylvestris* Mill) merupakan salah satu hasil pertanian yang tersedia sepanjang tahun dan dapat dijadikan bahan baku dalam pembuatan asam asetat dengan fermentasi. Buah dari tanaman apel (*Malus sylvestris* Mill)

banyak dikonsumsi sebagai buah segar selain rasanya yang menyegarkan juga banyak mengandung zat yang dapat mencegah dan menyembuhkan penyakit. Di Indonesia terdapat enam macam varietas apel, dua varietas yang paling banyak dibudidayakan dan memiliki nilai ekonomis bila dipasarkan adalah Rome Beauty dan Manalagi. Apel Rome Beauty memiliki ciri-ciri bentuk buah bulat lonjong, warna buah hijau kemerahan dan rasa manis agak asam, sedangkan apel Manalagi bentuk buah bulat, kecil dengan warna buah kuning kehijauan dan rasa manis, dengan adanya fruktosa 45 mg/g, glukosa 37,2 mg/g dan sukrosa 45,4 mg/g. Kadar asam apel Rome beauty cenderung lebih tinggi dibanding apel Manalagi. Kadar gula sederhana ada apel Manalagi lebih besar dibanding apel jenis Rome beauty. Komponen gula dan asam merupakan media yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri asam asetat (Khotimah, *et al.*, 2016).

e. Buah kelapa (*Cocos nucifera* L.)

Menurut Warisno (2003), buah kelapa (*Cocos nucifera* L.) (Gambar 15) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Sub divisi	: Angiospermae (Berbiji tertutup)
Kelas	: Monocotyledonae (berkeping satu / monokotil)
Ordo	: Palmales
Famili	: Palmae
Genus	: <i>Cocos</i>
Spesies	: <i>Cocos nucifera</i> L.



Gambar 15. Buah kelapa (*Cocos nucifera* L.) (Warisno, 2003)

Pertumbuhan dan produksi tanaman ditentukan oleh proses fisiologi yang berlangsung didalamnya. Proses fisiologi tersebut dipengaruhi oleh faktor-faktor iklim seperti suhu, air (hujan), radiasi surya, serta kelembaban. Rerata temperatur tahunan berkisar antara 20 sampai 35°C. Curah hujan minimum sekitar 1000 mm/tahun dan yang optimal sekitar 1000 sampai 5000 mm/tahun, serta toleran terhadap curahhujan > 3.800 mm/tahun. Bulan kering harus kurang dari 3 bulan dengan kelembaban sedikitnya sekitar 60%, tetapi untuk jenis kelapa tertentu bisa toleran didaerah yang bulan keringnya > 8 bulan, asalkan batas umur kritisnya sudah terlewati, seperti tanaman yang banyak ditemukan di daerah terutama NTT yang beriklim kering. tanaman kelapa dapat tumbuh pada ketinggian tempat < 1000 mdpl dengantipe iklim A1 sampai E1 dengan temperatur rata-rata tahunan 20 – 35 °C (Suratinojo, 2013).

2.13 Bahan Pengencer Sperma

a. Pengenceran Sperma

Terkait dengan pengencer dalam sperma, ada beberapa hal yang perlu dipertimbangkan diataranya fisiologis, kimia, biokima sperma, spermatozoa maupun plasma sperma, selain itu perlu diketahui syarat-syarat pengencer yang akan digunakan dalam perlakuan. Pengenceran sperma adalah upaya untuk

memperbanyak volume semen, mengurangi kepadatan spermatozoa serta menjaga kelangsungan hidup spermatozoa sampai waktu tertentu pada kondisi penyimpanan dibawah atau di atas titik beku. Pengenceran dan penyimpanan sperma merupakan usaha untuk mempertahankan fertilitas spermatozoa dalam periode yang lebih lama yakni untuk memperpanjang daya hidup spermatozoa, motilitas, dan daya fertilitasnya (Hafiz, 2017).

Spermatozoa tidak dapat tahan hidup untuk waktu yang lama kecuali bila ditambahkan berbagai unsur kedalam sperma. Unsur-unsur yang membentuk suatu pengencer yang baik, syarat penting yang harus dimiliki pengencer adalah (a) murah, sederhana, praktis dibuat tetapi daya preservasi tinggi, (b) mengandung unsur yang sifat fisik dan kimiawinya hampir sama dengan sperma dan tidak mengandung zat yang beracun bagi spermatozoa, (c) tetap dapat mempertahankan daya fertilitas spermatozoa dan tidak terlalu kental sehingga tidak menghambat fertilitas, (d) pengencer harus memberi kemungkinan penilaian sperma sesudah pengenceran, agar dapat ditentukan nilai sperma tersebut (Firdausi, 2017).

Pengenceran dilakukan untuk menjamin kebutuhan fisik dan kimiawi spermatozoa. Pengenceran harus bersifat isotonis dengan spermatozoa, setiap jenis pengencer umumnya memiliki komponen yang berbeda, sehingga dari setiap pengencer memiliki kemampuan dan cara yang berbeda dalam mendukung kelangsungan hidup spermatozoa. Fungsi pengencer adalah (a) memperbanyak volume sperma sehingga dapat dipakai untuk inseminasi (pembuahan buatan) lebih banyak, (b) Melindungi spermatozoa terhadap kejutan suhu dingin (*cold shock*) selama pembekuan, (c) menyediakan zat makan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, (d) menyediakan buffer untuk mencegah perubahan pH dan dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit (Hafiz, 2017).

b. Macam-macam pengencer

Jenis pengencer yang umum digunakan dapat berupa larutan anorganik, organik dan gabungan antara keduanya. Jenis pengencer anorganik yang biasa digunakan untuk sperma adalah terdiri dari bahan-bahan kimia seperti larutan NaCl, Na Sitrat, ringer, dan lain-lain. Sedangkan pengencer organik misalnya susu, santan kelapa, dan air kelapa, walaupun untuk pengenceran sperma ikan jarang digunakan (Perdana, 2009).

Sperma yang didapat saat penampungan setelah memenuhi kualitasnya dilakukan agar didapat volume sperma yang banyak. Selain itu, sperma yang keluar dari tubuh ikan tidak akan bertahan lama, karena kondisinya berubah. Pengenceran sperma ini dibutuhkan pengencer yang dapat menjamin terjadinya proses metabolisme dan respirasi spermatozoa (Firdausi, 2017).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian pengaruh pemberian gliserol dan ekstender sari buah yang berbeda terhadap kualitas sperma ikan mas strain Puntan pada proses preservasi disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Alat-alat penelitian

No.	Alat	Fungsi
1	Mikroskop Binokuler	Untuk mengamati fase kehidupan sperma
2	<i>Cover glass</i>	Untuk menutup preparat pada <i>object glass</i>
3	<i>Object glass</i>	Untuk meletakkan sperma ikan saat pengamatan
4	Tabung <i>Eppendorf</i> 2 ml	Untuk menyimpan sperma saat perlakuan
5	Thermometer Hg	Untuk mengukur suhu air
6	<i>Beaker glass</i> 250 ml	Untuk mengukur larutan
7	Spuir 1 ml	Untuk mengambil sperma
8	Spuir 1 ml tanpa jarum	Untuk mengambil sari buah
9	<i>Handtally counter</i>	Untuk menghitung telur yang terbuahi
10	Gelas Ukur	Untuk mengukur jumlah larutan yang digunakan
11	Pipet <i>Erythrocyt</i>	Untuk mengambil larutan eosin
12	Lap Basah	Untuk mengondisikan ikan
13	<i>Micropipet</i>	Untuk mengambil larutan dalam skala kecil
14	<i>Haemocytometer</i>	Untuk menghitung jumlah viabilitas
15	Ember plastik	Untuk wadah air
16	<i>Aerator Set</i>	Untuk suplai oksigen di air
17	<i>pH paper</i>	Untuk mengukur pH air
18	Nampan	Untuk wadah alat dan bahan
19	Heater	Untuk menjaga kestabilan suhu air
20	Lemari pendingin	Untuk menyimpan sperma perlakuan
21	Kolam	Untuk pemeliharaan telur
22	Bulu ayam	Untuk menghomogenkan telur dengan sperma
23	Seser	Untuk menangkap ikan
24	Rak <i>Appendorf</i>	Untuk menyimpan <i>appendorf</i> agar rapi
25	<i>Mixer</i>	Untuk menjadikan buah menjadi sari buah

3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian mengenai pengaruh pemberian gliserol dan ekstender sari buah yang berbeda terhadap kualitas sperma ikan mas strain Puntun pada proses preservasi disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Bahan-bahan penelitian

No	Bahan	Fungsi
1	Induk Jantan dan Betina Ikan Mas	Sebagai penghasil sperma dan telur untuk objek penelitian yang berasal dari IBAT puntun
2	Ringer Laktat	Sebagai alkalisator
3	NaCl Fisiologis	Sebagai pengencer sperma
4	Eosin	Sebagai pewarnaan pengamatan viabilitas
5	Tisu	Sebagai pembersih alat
6	Air	Sebagai media hidup ikan
7	Glyserol	Sebagai larutan yang dapat melindungi sperma
8	Sari Buah Kurma	Sebagai bahan perlakuan
9	Sari Buah Kelapa	Sebagai bahan perlakuan
10	Sari Buah Apel	Sebagai bahan perlakuan
11	Sari Buah Tin	Sebagai bahan perlakuan
12	Sari Buah Zaitun	Sebagai bahan perlakuan
13	Aquades	Sebagai kalibrasi
14	Alkohol	Sebagai bahan aseptis

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian yaitu menggunakan metode eksperimen. Metode eksperimen merupakan suatu prosedur penelitian yang digunakan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat antara dua variabel atau lebih dengan mengendalikan pengaruh variable-variable yang lain. Metode dilakukan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja terhadap objek penelitian untuk mengetahui bagaimana akibatnya terhadap variabel terikat. Penelitian yang menggunakan metode eksperimental merupakan penelitian yang

memanipulasi situasi alamiah dengan cara membuat kondisi buatan. Penelitian eksperimen merupakan metode yang dapat dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian, serta adanya kontrol yang disengaja terhadap objek penelitian tersebut (Rosyida, *et al.*, 2015).

Metode eksperimen yaitu metode penelitian yang digunakan untuk mengetahui pengaruh dari beberapa perlakuan yang dilakukan dalam kondisi terkontrol atau terkendali. Dari definisi diatas dapat disimpulkan bahwa penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian beberapa perlakuan terhadap subjek penelitian, sehingga dapat mengetahui perbedaan hasil pada setiap perlakuan. Tujuan dari metode eksperimen adalah untuk menilai bagaimana pengaruh suatu perlakuan terhadap pengujian untuk menjawab hipotesis tentang ada atau tidaknya pengaruh perlakuan tersebut apabila dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Metode eksperimen biasanya dilakukan didalam laboratorium dalam kondisi yang terkontrol dan steril (Kiwak, *et al.*, 2018).

3.3 Pengambilan Data

Metode pengumpulan data adalah teknik yang digunakan oleh peneliti untuk mendapatkan data-data yang diperlukan untuk mendukung penelitiannya. Metode pengambilan data dapat dilakukan oleh peneliti dengan berbagai cara, diantaranya yaitu: Pertama, melakukan observasi secara langsung kelapang yang dilakukan oleh peneliti atau melakukan pengamatan secara langsung terhadap obyek yang diteliti. Kedua, melalui pengisian kuisisioner, yang mana kuisisioner akan diisi oleh beberapa partisipan untuk mendapatkan data yang diinginkan. Ketiga melakukan studi pustaka dengan mencari literatur dan membaca beberapa buku tentang metode ataupun hasil-hasil dari penelitian

terdahulu. Pengumpulan data perlu dipersiapkan dengan matang, agar data-data yang diperoleh benar-benar valid (Anas, *et al.*, 2017).

Metode pengambilan data adalah teknik atau cara yang dilakukan oleh peneliti guna mendapatkan data yang diinginkan. Pengumpulan data bertujuan untuk memperoleh informasi yang dibutuhkan untuk mendukung tujuan dari penelitian yang dilakukan. Beberapa metode pengumpulan data yang dapat dilakukan adalah: Pertama, metode wawancara, merupakan teknik pengumpulan data yang dilakukan oleh peneliti dengan mengadakan tanya jawab secara langsung dengan responden dengan menyiapkan beberapa pertanyaan penting yang digunakan untuk memperoleh informasi mengenai penilaian responden terhadap objek penelitian yang sedang diamati. Kedua, metode angket, merupakan teknik pengumpulan data yang dilakukan oleh peneliti dengan menggunakan kuesioner secara tertulis mengenai obyek penelitian yang dilakukan secara terstruktur (Sanjaya, *et al.*, 2016).

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan digunakan dalam penelitian adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap). RAL adalah jenis rancangan percobaan yang mana setiap perlakuan diberikan secara acak kepada seluruh unit percobaan. Hal ini dapat dilakukan karena media tempat percobaan dibuat secara seragam, sehingga tidak akan mempengaruhi perlakuan yang diberikan. RAL memiliki beberapa karakteristik diantaranya yaitu keragaman atau variasi hanya dipengaruhi oleh perlakuan yang diuji cobakan pada penelitian dan perlakuan tersebut merupakan level-level dari suatu faktor tertentu. Selain itu faktor-faktor di luar perlakuan seperti faktor lingkungan selama penelitian harus dibuat sama, sementara itu untuk penempatan/pembagian perlakuan pada unit percobaan harus dilakukan secara acak (Lake, *et al.*, 2017). RAL juga memiliki kekurangan

apabila digunakan dalam kasus yang kurang tepat. Beberapa kerugian yang muncul dari penggunaan RAL adalah semakin banyak perlakuan yang diuji coba, maka semakin susah untuk menyediakan unit percobaan yang seragam. Maka dari itu RAL cocok digunakan untuk penelitian dengan jumlah perlakuan dan ulangan sedikit (Andriani, *et al.*, 2017).

Desain acak sempurna atau yang biasa disebut RAL adalah salah satu jenis rancangan percobaan yang paling sering digunakan, karena rancangan percobaan ini merupakan rancangan yang paling sederhana. Umumnya rancangan ini digunakan untuk melakukan penelitian yang memiliki media atau lingkungan percobaan yang seragam atau homogen. Berikut ini merupakan beberapa keuntungan dari RAL yaitu:

1. Denah untuk rancangan percobaan mudah dibuat.
2. Analisis statistik terhadap unit percobaan mudah dibuat/ sederhana.
3. Sangat fleksibel dalam hal jumlah penggunaan, perlakuan, serta pengulangan.

Penelitian mengacu pada penelitian Firdausi, (2017) sebelumnya yaitu tentang Pengaruh Ekstender Kombinasi Larutan Sari Kurma (*Phoenix dactylifera*) dan Ringer Laktat terhadap Persentase Fertilisasi Spermatozoa Ikan Mas. Penelitian berdasarkan penelitian pendahuluan yang dilakukan untuk penentuan penambahan sari kurma yang tepat sebagai bahan yang bersifat nutritif sebagai sumber energi spermatozoa untuk bertahan hidup dalam jangka waktu yang lebih lama. Penelitian menggunakan dosis sari buah terbaik pada penelitian dahulu sebagai acuan atau dasar dalam penggunaan sari buah lainnya dengan penambahan gliserol yang memiliki kandungan fruktosa dan glukosa. Fungsi dari penambahan gliserol diharapkan dapat melindungi kualitas sperma pada proses preservasi. Lima perlakuan dengan satu perbandingan kontrol, kemudian Dua perbandingan kontrol yaitu kontrol yang diberi perlakuan gliserol dan kontrol tanpa pemberian gliserol dalam penelitian sebagai berikut :

K¹ : Tanpa penambahan sari buah (49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)

K² : Tanpa penambahan sari buah (49,5 ml ringer laktat)

A : 1% sari tin (sperma + 1ml sari tin, 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)

B : 1% zaitun (sperma + 1ml zaitun, 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)

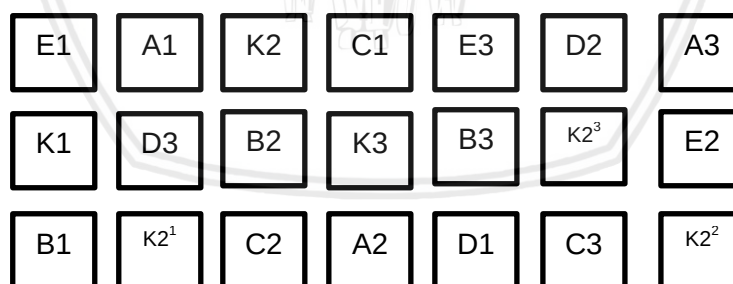
C : 1% sari apel (sperma + 1ml sari apel, 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)

D : 1% air kelapa (sperma + 1ml kelapa, 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)

E : 1% sari kurma (sperma + 1ml kurma, 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)

Penetapan dosis tersebut penggunaan sumber energi (gula dan fruktosa) yang kurang dari 1% didapatkan dosis optimal untuk motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan, sehingga penetapan perlakuan dosis larutan sari buah pada penelitian ditetapkan 1% yang bedanya terletak pada penggunaan sari buahnya yang berbeda. Pada penelitian sebelumnya hasil terbaik didapatkan pada dosis 1%.

Dalam penelitian menggunakan 5 perlakuan buah dan 2 perlakuan kontrol dengan 3 kali pengulangan, sehingga total percobaan yang dilakukan ada 21 unit. Berikut merupakan denah percobaan yang dilakukan:



Gambar 16. Denah Penelitian Hasil Pengacakan

Keterangan :

A, B, C, D, E : perlakuan

1, 2, 3 : ulangan

Wadah yang digunakan untuk pengawetan sperma dalam penelitian adalah tabung eppendorf dengan kapasitas 2 ml yang telah disterilkan dengan alkohol 70%. Kemudian tabung eppendorf diisi dengan sperma dan sari buah

dalam larutan ringer dan ditambahkan gliserol dengan perbandingan 1:9 dan selanjutnya dilakukan penyimpanan di lemari pendingin dengan suhu 5°C selama 4 hari. Pengamatan motilitas dan viabilitas dilakukan satu kali selama penyimpanan.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Induk

- Kolam yang digunakan sebagai wadah untuk pemeliharaan indukan disiapkan dan dibersihkan kemudian dikeringkan
- Kolam yang telah siap pakai untuk pemeliharaan diisi air bersih dengan ketinggian $\frac{3}{4}$ dari tinggi kolam
- Dilakukan penyeleksian induk ikan mas jantan dilakukan dengan cara mengurut bagian perut menuju ke bagian lubang urogenital

3.5.2 Sterilisasi Wadah Percobaan (*Eppendorf*)

- Tabung Eppendorf dengan kapasitas 2 ml disiapkan sebagai wadah media percobaan
- Tabung Eppendorf disterilisasi dengan menggunakan alcohol 70% kemudian dikeringkan
- Tabung disusun dirak tabung didasarkan denah percobaan yang telah dilakukan pengacakan

3.5.3 Stripping Indukan Ikan Mas Jantan

- Dilakukan pemilihan induk ikan jantan matang gonad, kemudian ikan distripping
- Ikan dipegang bagian punggung menghadap bawah dan perut menghadap atas dengan dilapisi lap basah
- Lubang urogenital dibersihkan dengan tissue

- Perut ikan kemudian diurut dari bagian perut menuju bagian lubang urogenital hingga cairan sperma keluar
- Sperma ditampung dengan menggunakan spuit ukuran 1 ml tanpa jarum

3.5.4 Pengamatan Parameter Spermatozoa

a) Warna Sperma

- Sperma pada gelas ukur diamati secara langsung
- Sperma yang normal memiliki warna putih kekuningan atau putih susu
- Warna yang diamati dicatat hasilnya sebagai warna sperma

b) pH Sperma

- Sperma segar diambil sedikit menggunakan spuit 1 ml
- Sperma diletakkan pada pH paper
- Perubahan warna yang muncul pada pH paper dicocokkan dengan table pH paper dicatat sebagai nilai pH sperma

c) Perhitungan Konsentrasi sperma

- Pipet erythrocyte diisi semen murni sampai tanda 0,5
- Pipet erythrocyte ditambah larutan na fisiologis sampai tanda 1,01
- Larutan pada pipet dihomgenkan selama 2-3 menit
- Sebagian larutan tersebut dibuang kemudian dikocok lagi
- Ditetaskan satu tetes diamati pada *haemocytometer*
- Diamati spermatozoa pada 5 kotak *haemocytometer* untuk mendapatkan nilai N
- Dihitung konsentrasi spermatozoa dengan rumus $N \times 10^8$

d) Motilitas sperma

- Diambil 0,01 ml atau satu tetes sari buah menggunakan *micropipette*, kemudian diletakkan pada objek glass
- Sperma pada *object glas* ditetesi air atau aquades dan ditutup *cover glass*

- Diletakkan pada meja preparat mikroskop binokuler
- Diamati motilitas spermatozoa dengan perbesaran 400x
- Dihitung nilai persentase motilitas spermatozoa

e) Viabilitas Sperma

- Diambil 0,01ml sperma menggunakan *micropipette* kemudian diletakkan pada *object glass*
- Sperma pada *object glass* ditetesi larutan eosin
- Dihomogenkan dengan cara mengaduk campuran keduanya
- Dibuat sampel tipis dengan cara menekan dan mendorong menggunakan *cover glass* membentuk sudut 45 derajat.
- Diletakkan sampel pada meja preparat mikroskop binokuler
- Diamati dengan perbesaran 400x dan dihitung nilai persentase viabilitas spermatozoa (spermatozoa hidup berwarna transparan, spermatozoa mati berwarna merah dan mengambang)

3.5.5 Perlakuan Kontrol

- Tabung appendorf 2 ml dengan 0,1 ml sperma ikan mas koi dan 0,9 Ringer Laktat (ringer laktat tanpa penambahan sari buah) dengan perbandingan sperma dan ekstender adalah 1:9
- Perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan disusun pada rak sesuai denah rancangan percobaan
- Disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 5⁰ C.

3.5.6 Perlakuan Penambahan Konsentrasi Sari Buah

- Pembuatan ekstender kombinasi sari buah dan ringer laktat disesuaikan berdasarkan dosis yang telah ditetapkan
- Dosis sari buah yang digunakan dalam larutan ringer 1%.
- Sperma dimasukkan dalam tabung appendorf berisi ekstender dengan perbandingan sperma dan ekstender 1:9

- Perlakuan diulang sebanyak 3 kali disusun pada rak sesuai denah dan rancangan percobaan
- Disimpan pada lemari pendingin dengan suhu 5⁰ C.

3.5.7 Penyimpanan Sampel pada Lemari Pendingin (Suhu 5°C)

Metode penyimpanan sampel pada lemari pendingin (suhu 5°C) mengacu pada prosedur (Saili, *et al.*, 2013) yaitu sebagai berikut:

- Lemari pendingin yang akan digunakan untuk penyimpanan sampel sebelumnya dibersihkan dan dikondisikan terlebih dahulu pada suhu 5⁰ C
- Sampel yang telah dibuat dan ditata pada rak di simpan pada lemari pendingin
- Pengamatan sampel secara mikroskopis dilakukan satu kali selama 4 hari penyimpanan. Pengamatan mikroskopis yang dilakukan yaitu viabilitas dan motilitas spermatozoa

3.5.8 Fertilisasi

- Indukan betina ikan mas yang diambil dari kolam
- Ditimbang berat tubuhnya
- Disuntik menggunakan ovaprim dengan dosis 0,5 ml/kg pada bagian *intramuscular*. Perbandingan pengenceran hormon ovaprim dengan NaCl fisiologis adalah 1:1
- Ditunggu waktu *latency time* untuk distripping kurang lebih 7-12 jam
- Setelah masa *latency time* (kurang lebih 7-12 jam)
- Ikan dipegang bagian punggung menghadap bawah dan perut dilapisi lap basah
- Lubang urogenital ikan mas dibersihkan dengan tisu
- Diurut perut ikan sampai dengan lubang urogenital hingga keluar telur
- Telur perlahan didapatkan pada mangkok plastik
- Sperma dicampurkan

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Parameter Utama

a. Motilitas

Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan dengan dua cara yaitu secara massa atau kelompok individu. Perhitungan motilitas spermatozoa mengacu penelitian yang dilakukan Sartoyo (2005), yaitu menghitung secara visual dan hasilnya dinyatakan dalam perbandingan antara spermatozoa yang hidup dan mati. Satu tetes sperma diletakkan diatas objek glass kemudian ditambahkan satu tetes aquades steril atau air kemudian diaduk rata dan ditutup dengan *cover glass* dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x.

Menurut Sukendi (2012), motilitas spermatozoa diukur bersamaan dengan penentuan konsentrasi spermatozoa. Setelah diketahui jumlah total spermatozoa dala kotak (80 ruang kecil) pada *haemocytometer* kemudian dihitung jumlah spermatozoa yang immotile (pergerakan tidak progresif seperti melingkar, mundur atau diam), sehingga didapatkan jumlah spermatozoa yang motil (pergerakan progresif atau aktif maju kedepan). Pengamatan Spermatozoa yang motil membutuhkan waktu 5-10 menit. Sehingga diperoleh nilai motilitas spermatozoa sebagai berikut:

$$\text{Motilitas spermatozoa} = \frac{\text{Spermatozoa motil}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100\%$$

b. Viabilitas

Perhitungan persentase viabilitas spermatozoa dilakukan dengan cara menghitung dan membandingkan jumlah spermatozoa hidup (berwarna transparan atau hijau) dengan spermatozoa yang mati (berwarna merah). Hasil perbandingan jumlah spermatozoa hidup dengan mati diubah nilainya dalam bentuk persentase dikali 100%. Menurut Sukendi (2012), viabilitas spermatozoa dihitung dengan cara pewarnaan menggunakan eosin 1%. Pengamatan dengan

cara menghitung perbandingan spermatozoa yang tidak terwarnai (hidup) dengan yang terwarnai (mati) oleh eosin dan dinyatakan dalam persen. Dalam menghitung nilai viabilitas spermatozoa dapat digunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Viabilitas spermatozoa} = \frac{\text{Spermatozoa hidup}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100\%$$

c. Fertilitasasi (*Fertilization rate*)

Fertilisasi (pembuahan) adalah bertemunya sel spermatozoa dengan sel telur. Spermatozoa yang sudah diberi perlakuan dicampurkan dengan telur pada cawa arloji. Menurut Faqih (2011), pada proses fertilisasi terjadi penggabungan inti spermatozoa dengan inti telur dalam sitoplasma sehingga membentuk zigot. Untuk menentukan nilai persentase fertilitas dengan rumus:

$$\text{FR} = \frac{\text{Telur yang terbuahi}}{\text{Total telur}} \times 100\%$$

3.6.2 Parameter Penunjang

- **Kualitas Air**

Kualitas air merupakan kondisi kualitatif air yang diukur dan diuji berdasarkan parameter-parameter tertentu. Adapun parameter kualitas air yang diamati dalam penelitian ini adalah suhu, oksigen terlarut (DO), dan pH. Pengukuran kualitas air dilakukan pada pukul 05.00 WIB dan 16.00 WIB.

3.7 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 5 perlakuan yang berbeda dan 1 perlakuan kontrol yang dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pada setiap perlakuan maupun perlakuan kontrol. Untuk dapat mengetahui pengaruh perlakuan yang timbul maka perlu dilakukannya analisis dengan melakukan keragaman atau uji F. Apabila uji F (beda nyata terkecil) agar dapat menentukan perlakuan yang dapat

memberikan respon terbaik pada kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan 99% ($\alpha=0,01$). Untuk dapat mengetahui hubungan antar perlakuan dengan respon parameter yang diukur maka hanya dilakukan analisa regresi untuk memberikan keterangan jelas antara pengaruh perlakuan yang paling baik pada respon.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Analisis Kualitas Sperma Ikan Mas

Kondisi sperma ikan mas yang digunakan pada saat penelitian mempunyai kualitas yang cukup baik, sperma yang diambil dari indukan yang telah matang gonad. Induk yang matang gonad jika diurut bagian perutnya ke arah lubang urogenital akan keluar sperma berwarna putih. Menurut Kurniawan, *et al.* (2013), induk jantan dengan volume rata-rata 7 ml per ekor dan berat rata-rata 1,71 kg per ekor, dan umur 1-2 tahun memiliki kualitas sperma yang baik. Perbedaan volume sperma di duga ada faktor pengaruh dari kondisi ikan, manajemen pakan yang diberikan dan lingkungan sekitar. Hasil pemeriksaan sperma dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil dari penilaian sperma ikan mas selama penelitian disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Pemeriksaan Sperma Ikan Mas

Parameter	Hasil Pengamatan	Parameter pada Literatur
Warna	Putih seperti air susu	Keputih-putihan kental (Fujaya, 2004)
Konsentrasi	$9,58 \times 10^9$	$3,00 \times 10^9$ (Rustidja, 2000)
Volume	4 ml	7 ml (Kurniawan, <i>et al.</i> , 2013)
Konsistensi	Kental	Kental (Kurniawan, <i>et al.</i> , 2013)
pH	8	7,98 (Kurniawan, <i>et al.</i> , 2013)
Pergerakan Sperma	+++	+++ (Kurniawan, <i>et al.</i> , 2013)

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan jumlah konsentrasi secara makroskopis dan mikroskopis sperma ikan mas tersebut masih memiliki kualitas yang baik untuk diproses lebih lanjut. Jumlah volume sperma ikan mas yaitu 4 ml, warna putih seperti air susu, nilai pH yaitu 8, konsentrasi pada sperma ikan mas $9,58 \times 10^9$ dan ketebalan cairan sperma yaitu kental. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sperma ikan mas memiliki kualitas yang baik, sesuai dengan pernyataan Fujaya (2004), bahwa warna cairan sperma ikan keputih-putihan kental, berbau khas sperma dengan kekentalan yang tinggi dan ditambahkan

oleh pendapat Rustidja (2000), konsentrasi sperma ikan mas mencapai $3,00 \times 10^9$ sel/ml. Konsentrasi sperma sangat penting untuk diketahui Karena merupakan salah satu kriteria dalam penentuan kualitas sperma.

4.2. Motilitas Sperma

Motilitas merupakan parameter yang sering digunakan dalam mengukur kualitas sperma (Kime, *et al.*, 2001). Penilaian motilitas spermatozoa sangat penting karena motilitas digunakan sebagai parameter kesanggupan sperma membuahi sel telur (Firdausi, 2017). Motilitas merupakan persentase kemampuan sperma dalam membuahi sel telur. Berdasarkan hasil pengamatan sperma yang diberi perlakuan sari buah yang berbeda dalam larutan pengencer ringer laktat dengan penambahan gliserol terhadap nilai motilitas, diperoleh rata-rata seperti pada Tabel 5.

Tabel 5. Rata-Rata Motilitas Sperma Ikan Mas Selama Penelitian (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STDEV
	1	2	3		
K1	62,35	62,68	59,63	184,67	61,56 $\pm$ 1,67
A	67,43	64,32	65,59	197,34	65,78 $\pm$ 1,56
B	61,25	66,03	64,55	191,83	63,94 $\pm$ 2,44
C	68,78	74,59	71,12	214,50	71,50 $\pm$ 2,92
D	76,52	80,49	82,77	239,77	79,92 $\pm$ 3,16
E	87,04	88,39	83,49	258,91	86,30 $\pm$ 2,53
Total	423,38	436,49	427,15	1287,02	
Rerata	70,56	72,75	71,19	214,50	

Keterangan:

- K1 : Konsentrasi Tanpa penambahan sari buah (49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol).
- A : Konsentrasi 1% sari tin (sperma + 1ml sari tin dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
- B : Konsentrasi 1% minyak zaitun (sperma + 1ml minyak zaitun dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
- C : Konsentrasi 1% sari apel (sperma + 1ml sari apel dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
- D : Konsentrasi 1% air kelapa (sperma + 1ml air kelapa dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
- E : Konsentrasi 1% sari kurma (sperma + 1ml sari kurma dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 5, dapat diketahui bahwa rata-rata nilai motilitas sperma ikan mas bahwa yang memberikan tingkat motilitas tertinggi yaitu perlakuan E (Kurma) sebesar 86.30 ± 2.53 , selanjutnya perlakuan D (Air Kelapa) sebesar 79.92 ± 3.16 , C (Apel) sebesar 71.50 ± 2.92 , A (Tin) sebesar 65.78 ± 1.56 , B (Zaitun) sebesar 63.94 ± 2.44 . Jumlah rata-rata motilitas pada perlakuan K1 (penambahan gliserol) sebesar 61.56 ± 1.67 dan pada perlakuan K2 (tanpa pemberian gliserol) sebesar 58.20 ± 1.85 . Rata-rata $\pm$ STDEV merupakan penyimpangan dari nilai rata-rata mengenai hubungan nilai motilitas sperma ikan mas dengan penambahan sari buah yang berbeda ke dalam larutan pengencer yaitu larutan ringer laktat yang didalamnya terkandung zat-zat yang dapat memperbesar peluang pembuahan dan memperpanjang masa aktif sperma (Carman, *et al.*, 2006). Nutrisi yang disumbangkan berupa glukosa dan fruktosa yang dipakai sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa di dalam buah kurma mengandung fruktosa dan glukosa sehingga dapat digunakan untuk preservasi sperma (Rahardhianto, *et al.*, 2012). Kandungan vitamin dalam setiap 100 g kurma adalah vitamin A sebesar 50 IU, thiamin 0,09 mg, riboflavin 0,10 mg, serta niasin sekitar 2,20 mg (Soebahar, *et al.*, 2016). Air kelapa mengandung glukosa dan fruktosa yang juga terkandung dalam sperma, sehingga dapat dimanfaatkan spermatozoa sebagai sumber energi, dan sperma akan bertahan hidup selama penyimpanan, kandungan fruktosa (15%), glukosa (50%), dan sukrosa (35%) (Kurniawan, *et al.*, 2013). Sedangkan apel hijau dengan adanya fruktosa 45 mg/g, glukosa 37,2 mg/g dan sukrosa 45,4 mg/g (Khotimah, *et al.*, 2016).

Hasil rerata motilitas sperma ikan mas pada perlakuan pemberian sari buah tin dan zaitun dengan penambahan gliserol mengalami penurunan karena kandungan yang terdapat pada buah tidak dapat memenuhi kebutuhan nutrisi berupa makan sperma agar tetap hidup selama penyimpanan. Bahan nabati

yang memiliki prospek cukup baik sebagai salah satu unsur di dalam pengencer semen adalah sari buah tin (*Ficus glumerata* Linn). Kandungan β -tokoferol, α -tokoferol, vitamin D2, D3, dan K1 buah tin sangat tinggi (Zaenuri, *et al.*, 2013). Setiap buah zaitun yang matang mengandung 80% air, 15% minyak, 1% protein 1% karbohidrat dan 1% serat. Sedangkan vitamin-vitamin lainnya yang dikandungnya adalah B1, B2, C, E, K dan zat besi. Zaitun mengandung asam lemak berupa asam oleat atau omega 9 (79%), asam palmitrat atau asam lemak jenuh (11%), asam linoleat atau omega 6 (7%), asam stearat (2%) (Khadijah, 2012).

Penambahan krioprotektan seperti gliserol merupakan salah satu alternatif untuk mengatasi rendahnya kualitas semen. Hal ini didasarkan pada peranan gliserol dalam melindungi membran plasma, mencegah kerusakan fisik dan fungsional sel spermatozoa selama proses (Tambing, *et al.*, 2000). Sehingga perbandingan hasil antara kontrol dengan pemberian gliserol dan tanpa pemberian gliserol didapatkan hasil terbaiknya yaitu diberi penambahan gliserol.

Berdasarkan hasil motilitas sperma ikan mas yang didapat selama penelitian, maka selanjutnya dilakukan perhitungan analisis sidik ragam yang hasilnya disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Analisis Sidik Ragam Motilitas Sperma Ikan Mas

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	5	1436.63	421.52	47.62**	3.11	5.06
Acak	12	72.41	21.69			
Total	17	1509.04				

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

Hasil perhitungan sidik ragam di atas dapat dijelaskan bahwa F hitung lebih besar dari F 1%, sehingga dapat dijelaskan bahwa perlakuan yang

diberikan memberikan pengaruh yang sangat nyata, sehingga dilanjutkan dengan perhitungan uji beda nyata terkecil (BNT) dan hasilnya disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Uji BNT Motilitas Sperma Ikan Mas

Perlakuan	Rerata	K1	B	A	C	D	E	Notasi
		61,56	63,94	65,78	71,50	79,92	86,3	
K1	61,56	-						a
B	63,94	2,38 ^{ns}	-					a
A	65,78	4,22 ^{**}	1,83 ^{ns}	-				ab
C	71,50	9,94 ^{**}	7,55 ^{**}	5,71 ^{**}	-			c
D	79,92	18,36 ^{**}	15,98 ^{**}	14,14 ^{**}	8,42 ^{**}	-		d
E	86,30	24,74 ^{**}	22,36 ^{**}	20,52 ^{**}	14,80 ^{**}	6,38 ^{**}	-	d

Keterangan: (^{ns}) *non significant* = tidak berbeda nyata (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata.

Dari perhitungan uji beda nyata terkecil (BNT) dapat disajikan dalam hasil jika nilai yg didapat <BNT 1% dan 5% maka diberi keterangan (^{ns}), apabila nilai yang didapat >BNT 1% dan <BNT 5% maka diberi keterangan (*), apabila nilai yang didapat > BNT 1% dan 5% maka diberi keterangan (**). Jika dilihat dari tabel di atas maka perlakuan K1 dengan B tidak berbeda nyata. Perlakuan A dengan B tidak berbeda nyata. Perlakuan C, D, E berbeda sangat nyata pada setiap perlakuan dan memiliki notasi a, a, ab, c, d, e. Dari perhitungan uji BNT nilai tertinggi terdapat pada perlakuan E yaitu sari kurma.

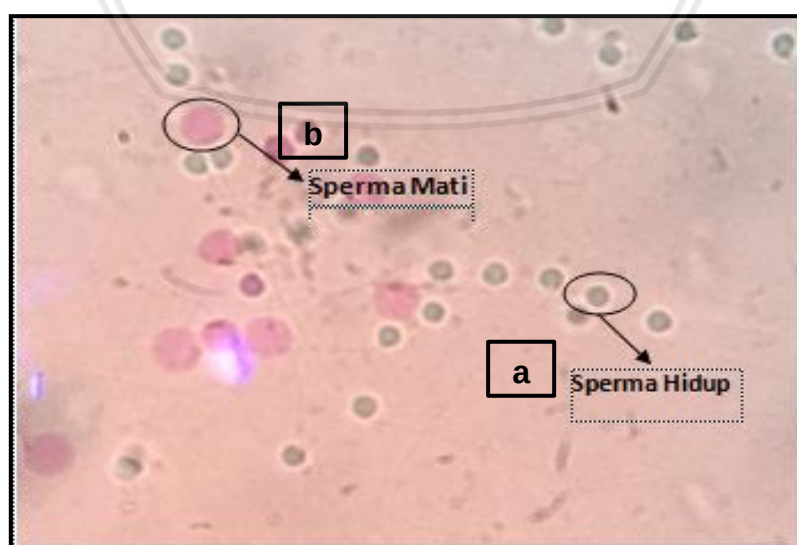
Perlakuan E memberikan hasil tertinggi karena mengandung ekstender sari kurma, ringer laktat dan gliserol yang sesuai dan di dalamnya terkandung zat-zat yang dapat memperpanjang lama pergerakan spermatozoa setelah keluar dari tubuh ikan. Hal ini diperkuat dengan pendapat Rustidja (2000), perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan kandungan sari buah dengan seminal plasma dan tingkat kesesuaian dengan kebutuhan nutrisi metabolisme spermatozoa untuk kehidupannya.

Fruktosa dapat digunakan sebagai penghasil ATP baik dalam kondisi aerob maupun anaerob. Fruktosa di metabolisir dalam kondisi anaerob akan

menghasilkan 2 ATP atau 1400 kalori, sedangkan dalam kondisi aerob, metabolisme fruktosa 9 kali lebih efisien dalam menghasilkan energi. Total energi dari 38 ATP adalah 266.000 kalori. Ketika terdapat oksigen yang cukup, molekul fruktosa di metabolisir secara sempurna menjadi karbondioksida dan air (Hidayaturrahmah, 2007).

4.3. Viabilitas Sperma

Persentase spermatozoa yang hidup ditentukan berdasarkan penyerapan zat warna eosin yang dicampurkan pada sperma. Apabila spermatozoa mati, akan menyerap zat warna yang ada disekitarnya sedangkan yang hidup tidak menyerap zat warna (Rahardhianto, *et al.*, 2012). Sperma yang hidup berwarna bening sedangkan sperma yang mati berwarna merah. Prinsip dasar dari pewarnaan karena adanya perbedaan aktifitas zat warna antara spermatozoa yang mati dan hidup. Permukaan sperma dibungkus oleh membran lipoprotein. Sperma yang telah mati permeabilitas membran menjadi tinggi, terutama didaerah pangkal kepala akibatnya akan mudah terjadi penyerapan warna, akibat membran plasma yang sudah kehilangan fungsinya (Arifiantini, *et al.*, 2005). Perbedaan antara sperma hidup dan mati dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Perbedaan Sperma Hidup dan Sperma Mati. (a) Sperma Hidup: tidak berwarna merah, (b) Sperma Mati: berwarna merah.

Data hasil penelitian perbedaan konsentrasi sari buah yang berbeda dalam larutan pengencer ringer laktat dan penambahan gliserol terhadap viabilitas sperma ikan mas didapatkan hasil dan disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Rata-Rata Viabilitas Sperma Ikan Mas Selama Penelitian (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STDEV
	1	2	3		
K1	63,31	61,63	60,50	185,45	61,82 $\pm$ 1,41
A	76,87	75,39	77,37	229,63	76,54 $\pm$ 1,03
B	75,72	74,79	73,75	224,26	74,75 $\pm$ 0,98
C	79,76	78,33	77,42	235,51	78,50 $\pm$ 1,18
D	79,91	82,08	84,13	246,12	82,04 $\pm$ 2,11
E	93,86	88,68	91,01	273,55	91,18 $\pm$ 2,59
Total	469,42	460,90	464,20	1394,51	
Rerata	78,24	76,82	77,37	232,42	

Keterangan:

- K1 : Konsentrasi Tanpa penambahan sari buah (49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol).
A : Konsentrasi 1% sari tin (sperma + 1ml sari tin dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
B : Konsentrasi 1% minyak zaitun (sperma + 1ml minyak zaitun dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
C : Konsentrasi 1% sari apel (sperma + 1ml sari apel dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
D : Konsentrasi 1% air kelapa (sperma + 1ml air kelapa dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
E : Konsentrasi 1% sari kurma (sperma + 1ml sari kurma dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 8, dapat diketahui bahwa rata-rata nilai motilitas sperma ikan mas bahwa yang memberikan tingkat motilitas tertinggi yaitu perlakuan E (Kurma) sebesar 91.18 $\pm$ 2.59, selanjutnya perlakuan D (Kelapa) sebesar 82.04 $\pm$ 2.11, C (Apel Hijau) sebesar 78.50 $\pm$ 1.18, A (Tin) sebesar 76.54 $\pm$ 1.03, B (Zaitun) sebesar 74.75 $\pm$ 0.98. Jumlah rata-rata viabilitas pada perlakuan K1 (penambahan gliserol) sebesar 61.82 $\pm$ 1.41 dan pada perlakuan K2 (tanpa pemberian gliserol) sebesar 58.79 $\pm$ 2.04. Dari tabel tersebut terlihat bahwa perlakuan sari kurma memberikan tingkat viabilitas lebih tinggi dibandingkan perlakuan sari buah yang lainnya. Kemudian air buah kelapa dan apel lebih tinggi dibandingkan perlakuan buah tin dan zaitun. Hal tersebut diduga karena perlakuan buah tin dan zaitun belum dapat memenuhi nutrisi yang

dibutuhkan pada sel sperma. Sesuai pendapat Sedaghat dan Rahemi (2017) ditemukan buah tin dengan total gula terendah sebesar 65,98 mg/gr (6,6%) dan tertinggi sebesar 80,95 mg/gr (8,1%), sedangkan kandungan gula dalam buah zaitun berkisar 3,5-6% dan kandungan gula akan menurun seiring dengan kematangan buahnya (Bianchi, 2003). Viabilitas spermatozoa dihitung dengan cara pewarnaan menggunakan eosin 1%. Pengamatan dengan cara menghitung perbandingan spermatozoa yang tidak terwarnai (hidup) dengan yang terwarnai (mati) oleh eosin dan dinyatakan dalam persen (Sukendi, 2012).

Berdasarkan hasil viabilitas sperma ikan mas yang didapat selama penelitian, maka selanjutnya dilakukan perhitungan analisis sidik ragam yang hasilnya disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Analisis Sidik Ragam Viabilitas Sperma Ikan Mas

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	5	1389.86	277.97	100.43**	3.11	5.06
Acak	12	72.41	2.77			
Total	17	1423.07				

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

Hasil perhitungan sidik ragam di atas dapat dijelaskan bahwa F hitung lebih besar dari F 1%, sehingga dapat dijelaskan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh yang sangat nyata, sehingga dilanjutkan dengan perhitungan uji beda nyata terkecil (BNT) dan hasilnya disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Uji BNT Viabilitas Sperma Ikan Mas

Perlakuan	Rerata	K1	B	A	C	D	E	Notasi
		61,82	74,75	76,54	78,50	82,04	91,18	
K1	61,82	-						a
B	74,75	12,94**	-					b
A	76,54	14,73**	1,79*	-				c
C	78,50	16,69**	3,75**	1,96*	-			d
D	82,04	20,22**	7,29**	5,50**	3,54**	-		e
E	91,18	29,37**	16,43**	14,64**	12,68**	9,14**	-	f

Keterangan: (^{ns}) *non significant* = tidak berbeda nyata (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata.

Penentuan notasi pada pengujian nilai Beda Nyata Terkecil (BNT) yakni jika dalam hasil nilai yang didapat <BNT 1% dan 5% maka diberi keterangan (^{ns}), apabila nilai yang didapat >BNT 1% dan <BNT 5% maka diberi keterangan (*), apabila nilai yang didapat > BNT 1% dan 5% maka diberi keterangan (**). Dari tabel di atas terlihat bahwa perlakuan D, E, K1 berbeda sangat nyata dan diberi keterangan (**). Dari tabel di atas perlakuan A dan B berbeda nyata (*), sementara A dan C juga berbeda nyata (*). Dari perhitungan uji BNT nilai tertinggi terdapat pada perlakuan E yaitu sari kurma.

Nilai viabilitas tertinggi hingga terendah berturut-turut yaitu perlakuan E kemudian D, C, A, B dan K1. Hal ini dikarenakan dalam sari kurma dengan kombinasi gliserol memiliki substrat nutrisi terbaik bagi spermatozoa yaitu glukosa. Sari kurma mengandung komponen penyusun buah yang sebagian besar merupakan gula pereduksi, yaitu glukosa dan fruktosa sekitar 20-70% (bobot kering). Sehingga buah kurma mudah dicerna dan cepat mengganti energi tubuh yang hilang (Retnowati dan Kusnadi, 2014). Glukosa merupakan salah satu senyawa yang terdapat dalam plasma semen yang berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa untuk mempertahankan hidupnya (Ridwan, 2009). Gliserol yang fungsinya sebagai pelindung sperma dan sari kurma yang berfungsi

sebagai sumber energi merupakan kombinasi yang cukup ideal untuk mempertahankan kehidupan sperma selama proses preservasi.

Perlakuan tertinggi kedua didapatkan pada sari buah kelapa dengan kombinasi gliserol karena diduga kandungan glukosanya lebih rendah dari pada sari buah kurma. Air kelapa mengandung glukosa dan fruktosa yang juga terkandung dalam sperma, sehingga dapat dimanfaatkan spermatozoa sebagai sumber energi (Suratinojo, 2013). Air kelapa memiliki sifat dan karakteristik yang hampir sama pada sperma, diantaranya glukosa dan fruktosa yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi untuk mempertahankan hidupnya (Kurniawan *et al.*, 2013). Menurut Nugroho dan Rayahu (2008), syarat penting bahan pengencer sperma adalah mampu menyediakan bahan makanan spermatozoa untuk proses metabolisme aerob dan anaerob, memberikanimbangan unsur mineral, memiliki lipoprotein atau lesitin untuk melindungi terhadap kejutan dingin, menjaga pH dan tekanan osmotik yang sama dengan sperma.

Perlakuan sari buah tin dan zaitun memberikan persentase motilitas yang lebih rendah dibandingkan tiga perlakuan sebelumnya karena kebutuhan nutrisi dalam sperma tidak dapat terpenuhi secara maksimal. Kandungan gula yang rendah pada sari buah tin dan zaitun yang menyebabkan kemampuan bertahan hidup sperma rendah selama masa preservasi.

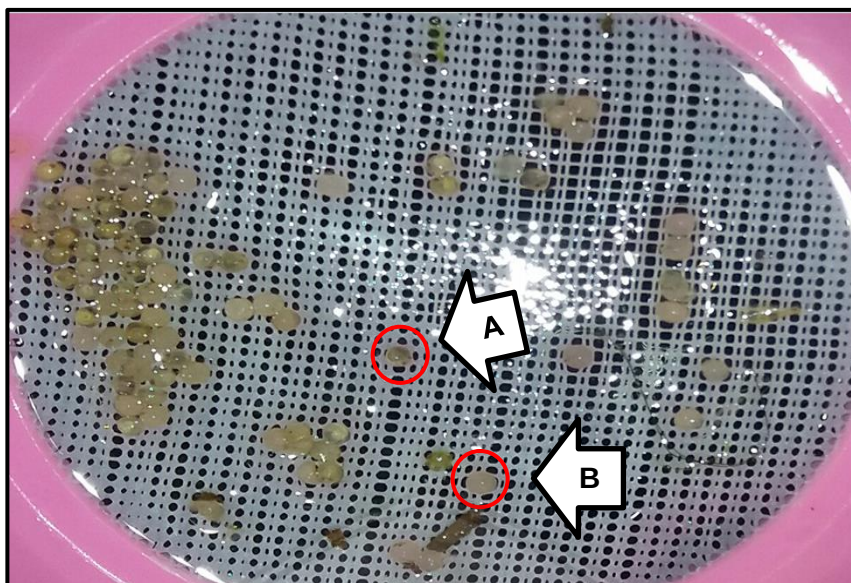
Perlakuan kontrol (K1) yang merupakan bahan pengencer dari ringer laktat tanpa menggunakan perlakuan sari buah memiliki viabilitas spermatozoa yang terendah hal itu terjadi karena diduga perlakuan ini tidak ada bahan sumber energi bagi spermatozoa untuk melakukan metabolisme untuk mempertahankan hidupnya jika dibandingkan dengan perlakuan lain yang menggunakan sari buah. Lama hidup spermatozoa yang telah dikeluarkan dari testis sangat tergantung dari persediaan energi yang terkandung dalam tubuh sperma tersebut (Fujaya, 2004).

Bahan utama yang dipakai spermatozoa sebagai sumber energi dari luar testis adalah fruktosa yang diubah menjadi asam laktat dan energi dengan bantuan enzim fruktolisin dalam proses glikolisis. Penurunan persentase viabilitas dalam proses penyimpanan dapat juga disebabkan oleh metabolisme spermatozoa yang menghasilkan produk samping berupa asam laktat dan atau CO_2 . (Hidayaturrahmah, 2007). Asam laktat dapat menghambat aktifitas metabolisme spermatozoa. Sperma yang basa atau asam akan menurunkan metabolismenya (Hardjopranjoto, 1995).

Gliserol dapat berdifusi ke dalam sel spermatozoa dan dapat dimetabolisier dalam proses-proses yang menghasilkan energi dan membentuk fruktosa. Gliserol akan memasuki siklus perombakan fruktosa pada triosa fosfat dan selanjutnya akan dirombak menjadi asam laktat untuk dioksidasi lebih lanjut. Fruktosa yang tersedia ini akan menyebabkan spermatozoa tetap bergerak, karena fruktosa berperan menghasilkan energi berupa ATP yang mengandung fosfat anorganik (Pi) kaya energi dan akan digunakan untuk kontraksi fibril-fibril serta menghasilkan gerak spermatozoa (Tambing, *et al.*, 2000).

4.4. Fertilitas Telur

Fertilitas merupakan kemampuan sperma ikan dalam membuahi telur. Pada proses fertilisasi terjadi penggabungan inti spermatozoa dengan inti telur dalam sitoplasma sehingga membentuk zigot (Faqih, 2011). Fertilisasi adalah penyatuan atau fusi sel gamet jantan dan sel gamet betina untuk membentuk satu sel (zigot), spermatozoa masuk ke dalam telur melalui lubang micropil yang terdapat pada chorion (Setyono, 2009). Perbedaan telur fertil dan unfertil disajikan pada Gambar 18.



Gambar 18. Perbedaan (a) Telur Fertil dan (b) Unfertil. Keterangan: (a) Telur Fertil Memiliki Warna yang Bening, sedangkan (b) Telur Unfertil Berwarna Putih Susu.

Data hasil penelitian perbedaan konsentrasi sari buah yang berbeda dalam larutan pengencer ringer laktat dan penambahan gliserol terhadap fertilitas sperma ikan mas didapatkan hasil dan disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Daya Fertilisasi Sperma Ikan Mas (%)

Perlakuan	Ulangan			Rerata $\pm$ STDEV
	1	2	3	
K1	40	40	39	40,29 $\pm$ 0,81
A	57	56	55	56,45 $\pm$ 1,11
B	41	43	43	43,05 $\pm$ 1,28
C	62	63	63	63,45 $\pm$ 0,68
D	64	66	65	65,52 $\pm$ 1,21
E	74	76	76	75,48 $\pm$ 1,17

Keterangan:

- K1 : Konsentrasi Tanpa penambahan sari buah (49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol).
A : Konsentrasi 1% sari tin (sperma + 1ml sari tin dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
B : Konsentrasi 1% minyak zaitun (sperma + 1ml minyak zaitun dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
C : Konsentrasi 1% sari apel (sperma + 1ml sari apel dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
D : Konsentrasi 1% sari kelapa (sperma + 1ml sari air kelapa dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
E : Konsentrasi 1% sari kurma (sperma + 1ml sari kurma dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)

Dari Tabel 11 terlihat bahwa tingkat persentase fertilitas tertinggi diperoleh pada perlakuan E (75.48 ± 1.17), selanjutnya berturut-turut diikuti oleh perlakuan D (65.52 ± 1.21), C (63.45 ± 0.68), A (56.45 ± 1.11), B (43.05 ± 1.28) dan K1 (40.29 ± 0.81). Jumlah rata-rata daya fertilisasi pada perlakuan K1 (penambahan gliserol) sebesar 40.29 ± 0.81 dan pada perlakuan K2 (tanpa pemberian gliserol) sebesar 33.57 ± 1.65 . Fertilitas spermatozoa merupakan indikator yang paling penting untuk menduga keberhasilan *hatching rate*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin banyak sperma yang hidup dan bergerak aktif, maka akan berpengaruh juga terhadap banyaknya jumlah telur yang terbuahi. Hal tersebut dikarenakan jika sperma mati atau tidak bergerak, maka sperma tidak dapat menembus sel telur sehingga sperma tidak akan mampu membuahi telur. Spermatozoa bergerak dengan menggunakan ekornya, karena adanya perbedaan tekanan osmotik yang terjadi antara air dengan cairan fisiologis. Berjuta-juta spermatozoa akan menempel pada sel telur, tetapi hanya satu spermatozoa yang dapat masuk ke dalam lubang mikrofili dan membuahi sel telur sehingga fertilisasi pada ikan bersifat monospermik. Dua macam inti yaitu spermatozoa dan sel telur masing-masing mengandung gen (pembawa sifat keturunan) bersifat haploid (Rahardjo, *et al.*, 2011).

Untuk mengetahui pengaruh pemberian sari buah yang berbeda ke dalam larutan pengencer ringer laktat dan gliserol terhadap daya fertilitas sperma ikan mas maka dilakukan analisa sidik ragam seperti disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Analisis Sidik Ragam Fertilitas Sperma Ikan Mas

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	5	2786.79	557.36	486.43**	3.11	5.06
Acak	12	13.75	1.15			
Total	17	2800.54				

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

Hasil perhitungan sidik ragam di atas dapat dijelaskan bahwa F hitung lebih besar dari F 1%, sehingga dapat dijelaskan bahwa perlakuan yang

diberikan memberikan pengaruh yang sangat nyata, sehingga dilanjutkan dengan perhitungan uji beda nyata terkecil (BNT) dan hasilnya disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Uji BNT Fertilitas Sperma Ikan Mas

Perlakuan	Rerata	K1	B	A	C	D	E	Notasi
		40,29	43,05	56,45	63,45	65,52	75,48	
K1	40,29	-						a
B	43,05	2,76**	-					b
A	56,45	16,15**	13,39**	-				c
C	63,45	23,15**	20,39**	7,00**	-			d
D	65,52	25,23**	22,46**	9,07**	2,07**	-		e
E	75,48	35,19**	32,42**	19,03**	12,03**	9,96**	-	f

Keterangan: (^{ns}) *non significant* = tidak berbeda nyata (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata.

Dari perhitungan di atas, jika nilai yg didapat <BNT 1% dan 5% maka diberi keterangan ns atau tidak berbeda nyata, apabila nilai yang didapat >BNT 1% dan <BNT 5% maka diberi keterangan (*) atau berbeda nyata dan apabila nilai yang didapat >BNT 1% dan 5% maka diberi keterangan (**) atau berbeda sangat nyata. Jika dilihat dari tabel di atas maka perlakuan K1, A, B, C, D, E berbeda sangat nyata dan memiliki notasi yang berbeda pada setiap perlakuan.

Hasil fertilisasi berbanding lurus dengan persentase motilitas sperma, karena semakin tinggi motilitas maka daya fertilisasi untuk membuahi telur akan semakin tinggi pula. Sejalan dengan pendapat Kurniawan, *et al.* (2013), motilitas erat kaitannya dengan daya fertilitas dalam membuahi sel telur, dimana motilitas yang bergerak aktif dan cepat maka daya membuahi sel telur akan tinggi.

Kandungan glukosa dalam jumlah yang besar terdapat dalam sari buah kurma yang berfungsi sebagai sumber energi sperma selama proses preservasi. Saat telur dicampurkan dengan sperma hasil preservasi yang memiliki nutrisi

cukup untuk pergerakannya, maka semakin besar kemungkinan sperma membuahi sel telur tersebut. Menurut Solichah (2007), tingginya motilitas dikarenakan masih tersedianya nutrisi (energi) yang dibutuhkan, selain itu spermatozoa dapat memanfaatkan energi berupa ATP untuk bergerak. Pelepasan energi dari penguraian ATP digunakan untuk pergerakan sperma yang selanjutnya digunakan untuk membuahi sel telur. Dalam penelitian ini larutan pengencer sari buah kurma dengan gliserol merupakan bahan pengencer sperma dengan kombinasi bahan dasar gula. Larutan gliserol berfungsi sebagai agen pelindung karena dapat melindungi sperma dari kerusakan akibat pengaruh lingkungan (Mumu, 2009). Sari kurma pada penelitian ini mengandung gula mencapai 70% yang terdiri dari fruktosa, sukrosa dan glukosa. Kandungan gula ini digunakan oleh spermatozoa sebagai sumber energi. Bahan utama yang dipakai spermatozoa sebagai sumber energi dari luar testis adalah fruktosa yang diubah menjadi asam laktat dan energi dengan bantuan enzim fruktolisin dalam proses glikolisis (Setiowati dan Nuriah, 2018).

Pada perlakuan D, A, C, B dan K1 persentase daya tetasnya lebih rendah dari pada perlakuan E karena diduga adanya perbedaan kandungan gula di dalam masing-masing sari buah tersebut. Selama masa penyimpanan sperma, diperlukan bahan pengencer yang mengandung nutrisi yang sesuai dengan kondisi sperma dan bersifat isotonik untuk mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai, sehingga sperma dapat bertahan hidup. Sperma yang memiliki motilitas yang rendah akan mempengaruhi daya pembuahannya terhadap sel telur. Sesuai pendapat Adipu, *et al.* (2011), motilitas yang semakin menurun mengakibatkan daya membuahi sel telur menjadi lemah, kemudian Mar'ati (2007) menambahkan bahwa kekurangan zat-zat makanan pada bahan pengencer dapat mengurangi pergerakan spermatozoa, daya membuahi sel telur dan jumlah spermatozoa hidup.

Tingkat fertilisasi nampaknya mengikuti apa yang terjadi pada tingkat kualitas sperma, dimana motilitas yang tinggi memberikan fertilisasi yang tinggi pula. Menurut Meinawarti, *et al.* (2011), motilitas yang tinggi akan dapat menghasilkan daya fertilisasi telur yang tinggi. Motilitas yang rendah menyebabkan spermatozoa kehilangan daya gerak untuk menembus *microphyll* dan kehilangan kemampuan membuahi telur. Pendapat lain mengemukakan bahwa keadaan viabilitas yang panjang belum tentu dapat menghasilkan fertilisasi (pembuahan) yang tinggi, karena jika sperma hidup namun tidak mampu bergerak maka tidak akan dapat menembus lubang mikrofil sehingga telur tidak akan dapat terbuahi dan pada keadaan ini spermatozoa sangat membutuhkan banyak energi untuk membuahi sel telur (Hidayaturrahmah, 2007).

4.5. Daya Tetas (*Hatching rate*)

Hubungan Fekunditas dengan daya tetas telur memiliki keterkaitan yaitu dari asal induk yang menyebabkan keberhasilan memiliki jumlah telur yang banyak serta telur mampu menetas dalam jumlah yang tinggi. Daya tetas telur adalah jumlah telur yang menetas setelah waktu tertentu. Pengamatan tingkat penetasan telur dilakukan setelah 60 jam dari proses pembuahan atau tercampurnya sperma dan telur. Perhitungan persentase daya tetas telur dilakukan dengan cara menghitung banyaknya telur yang menetas menjadi larva (Prabowo *et al.*, 2016). Data hasil penelitian perbedaan konsentrasi sari buah yang berbeda dalam larutan pengencer ringer laktat dan penambahan gliserol terhadap daya tetas sperma ikan mas didapatkan hasil dan disajikan pada Tabel 14.

Tabel 14. Daya Tetas Telur Ikan Mas (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ±STDEV
	1	2	3		
K1	38,26	35,81	37,97	112,04	37,35±1,33
A	47,34	48,72	48,19	144,25	48,08±0,69
B	41,57	43,73	43,86	129,16	43,05±1,28
C	58,44	60,46	60,59	179,49	59,83±1,20
D	61,93	62,25	62,98	187,16	62,39±0,53
E	65,52	67,63	75,49	208,63	69,54±5,25
Total	313,07	318,59	329,07	960,73	
Rerata	52,18	53,10	54,85	160,12	

Keterangan:

- K1 : Konsentrasi tanpa penambahan sari buah (49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol).
A : Konsentrasi 1% sari tin (sperma + 1ml sari tin dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
B : Konsentrasi 1% minyak zaitun (sperma + 1ml minyak zaitun dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
C : Konsentrasi 1% sari apel (sperma + 1ml sari apel dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
D : Konsentrasi 1% air kelapa (sperma + 1ml air kelapa dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)
E : Konsentrasi 1% sari kurma (sperma + 1ml sari kurma dengan 49,5 ml ringer laktat + 49,5 ml gliserol)

Dari tabel terlihat bahwa daya tetas tertinggi didapatkan pada perlakuan E (69.54±5.25) yang selanjutnya diikuti oleh perlakuan D (62.39±0.53), C (59.83±1,20), A (48.08±0.69), B (43.05±1.28), dan K1 (37.35±1.33). Jumlah rata-rata daya fertilisasi pada perlakuan K1 (penambahan gliserol) sebesar 37.35±1.33 dan pada perlakuan K2 (tanpa pemberian gliserol) sebesar 31.48±0.76. Hal ini terjadi diduga karena kandungan glukosa yang tinggi pada buah kurma yang digunakan sperma sebagai sumber energi selama hidupnya. Daya tetas dipengaruhi oleh kemampuan sperma dalam membuahi sel telur. Hal itu didukung oleh Tumanung, *et al.* (2015), bahwa daya tetas telur ikan selalu ditentukan oleh pembuahan sperma, kecuali bila ada faktor lingkungan yang mempengaruhi. Selanjutnya dikemukakan bahwa, faktor internal yang akan mempengaruhi tingkat penetasan telur ikan adalah perkembangan embrio yang terlambat akibat sperma yang kurang motil.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian sari buah yang berbeda ke dalam larutan pengencer ringer laktat dan gliserol terhadap daya tetas telur ikan mas maka dilakukan analisa sidik ragam seperti disajikan pada Tabel 15.

Tabel 15. Analisis Sidik Ragam Daya Tetas Telur Ikan Mas

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	5	2327.26	465.45	84.02**	3.11	5.06
Acak	12	66.48	5.54			
Total	17	2393.74				

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

Dari hasil perhitungan sidik ragam di atas dapat dijelaskan bahwa F hitung lebih besar dari F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh yang sangat nyata, sehingga dilanjutkan dengan perhitungan uji beda nyata terkecil (BNT) dan hasilnya disajikan pada Tabel 16.

Tabel 16. Uji BNT Daya Tetas Telur Ikan Mas

Perlakuan	Rerata	K1	B	A	C	D	E	Notasi
		37,35	43,05	48,08	59,83	62,39	69,54	
K1	37,35	-						a
B	43,05	5,70**	-					b
A	48,08	10,73**	5,03**	-				c
C	59,83	22,48**	16,77**	11,74**	-			d
D	62,39	25,04**	19,33**	14,30**	2,55*	-		e
E	69,54	32,19**	26,49**	21,46**	9,71**	7,15**	-	f

Keterangan: (^{ns}) *non significant* = tidak berbeda nyata (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata.

Dari perhitungan di atas, jika nilai yg didapat <BNT 1% dan 5% maka diberi keterangan ns atau tidak berbeda nyata, apabila nilai yang didapat >BNT 1% dan <BNT 5% maka diberi keterangan (*) atau berbeda nyata dan apabila nilai yang didapat >BNT 1% dan 5% maka diberi keterangan (**) atau berbeda

sangat nyata. Jika dilihat dari tabel di atas maka perlakuan C dengan D berbeda nyata (*) sedangkan perlakuan E, A, B dan K1 (pemberian gliserol) berbeda sangat nyata (**) dan diberi notasi berbeda.

Berdasarkan persentase daya tetas tertinggi hingga terendah berturut-turut yaitu perlakuan E kemudian D, C, A, B dan K1. Hasil yang didapatkan pada perlakuan E dapat dilihat dari baiknya tingkat motilitas sperma ikan mas. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan E dengan pemberian sari kurma dalam larutan ringer laktat dan penambahan gliserol dapat mengoptimalkan motilitas dan viabilitas selama penyimpanan 4 hari. Hasil daya tetas dalam penelitian ini masih lebih tinggi (E,D,C) dari penelitian Widodo, *et al.* (2019), yang menghasilkan persentase daya tetas sebesar 69,54%. Menurut Syandri (1993), faktor internal yang berpengaruh terhadap daya tetas telur adalah perkembangan embrio yang terhambat karena kualitas spermatozoa dan telur kurang baik. Sedangkan faktor eksternal yang berpengaruh terhadap penetasan telur adalah lingkungan yang didalamnya terdapat temperatur air, oksigen terlarut, pH, dan amoniak. Hal ini didukung oleh pernyataan Tumanung, *et al.* (2015), bahwa daya tetas telur ikan selalu di tentukan oleh pembuahan sperma, kecuali bila ada faktor lingkungan yang mempengaruhi. Selanjutnya dikemukakan bahwa, faktor internal yang akan mempengaruhi tingkat penetasan telur ikan adalah perkembangan embrio yang terlambat akibat sperma yang kurang motil.

Rendahnya daya tetas didapatkan pada perlakuan kontrol (K1) berbanding lurus dengan parameter. Hal ini dikarenakan kualitas sperma telah mengalami penurunan akibat kurangnya suplai nutrisi dari larutan pengencer ringer laktat. Menurut Danang, *et al.* (2012), pada dasarnya dalam larutan ringer juga terdapat kandungan glukosa yang merupakan energi pengganti fruktosa dalam plasma semen untuk aktivitas metabolisme selama penyimpanan, tetapi

hanya dapat dipertahankan selama 18 jam. Maka dari itu, pergerakan sperma pada perlakuan K1 lebih rendah dibandingkan lainnya yang dapat mempengaruhi fertilitas dan daya tetas telur ikan mas. Terlepas dari rendahnya motilitas sperma, rendahnya penetasan telur juga dapat dipengaruhi oleh kualitas telur dan kualitas air media pemeliharaan. Saat melakukan persiapan striping, induk betina sesekali membuat gerakan agresif yang dapat menyebabkan air masuk ke dalam wadah telur. Kontaminasi air dalam telur dapat menyebabkan lubang mikrovili menutup sebelum pembuahan. Menurut Rahardianto, *et al.* (2011), telur ikan akan mengembang setelah kontak dengan air ketika air menembus ke dalam perivitelin (ruang antara cangkang dan inti). Kondisi ini akan menutup lubang mikrovili lebih cepat dan mengurangi persentase pembuahan karena keterlambatan sperma mencapai lubang mikrovili.

4.6. Kualitas Air

Kualitas air merupakan parameter penunjang dalam penelitian dan merupakan salah satu faktor penting dalam kegiatan penelitian untuk mengukur media hidup ikan yang diteliti. Kualitas air yang diukur meliputi suhu, pH dan DO. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap pagi dan siang hari. Data rerata hasil pengukuran kualitas air disajikan pada Tabel 17. Faktor internal yang berpengaruh terhadap daya tetas telur adalah perkembangan embrio yang terhambat karena kualitas spermatozoa dan telur. Sedangkan faktor eksternal yang berpengaruh terhadap penetasan telur adalah lingkungan di antaranya temperatur air, DO, dan pH (Prama, *et al.*, 2014).

Tabel 17. Parameter Kualitas Air pada Media Pemeliharaan

No.	Parameter Kualitas Air	Parameter Kualitas Air pada Perlakuan	Partosuwiryo dan Warseno (2011)
1.	Suhu	26° – 28 °C	25° – 30 °C
2.	pH	6,7 - 8,3	6,5 – 8,5
3.	Oksigen Terlarut	4,35 - 7,30 ppm	3 – 7 ppm

Berdasarkan Tabel menunjukkan bahwa air sebagai media pemeliharaan dan media hidup ikan mas masih memenuhi syarat sehingga tidak berpengaruh terhadap penurunan kondisi fisiologisnya. Partosuwiryo dan Warseno (2011) berpendapat bahwa suhu yang optimal untuk pemeliharaan ikan mas berkisar antara 25°– 30° C, pH berkisar 6,5 – 8,5, dan DO berkisar antara 3 – 7 ppm. Sedangkan pada pengukuran kualitas air selama penelitian didapatkan suhu berkisar 26° - 28° C, pH sebesar 6,75 – 8,38, dan oksigen terlarut berkisar antara 4,38 – 7,41 ppm. Alasan dilakukannya penyimpanan atau pengawetan sperma selama 4 hari pada penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa lama waktu sperma dapat tetap hidup dan bergerak sehingga mampu untuk membuahi telur dan didapatkan hasil paling lama adalah pada penyimpanan selama 4 hari.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka kesimpulan yang dapat diambil adalah sebagai berikut:

- 1) Karakter sperma pada ikan mas yaitu berwarna putih susu, kental, memiliki pH 8, konsentrasi sebesar $9,58 \times 10^9$ dan pergerakan sperma (+++) aktif bergerak cepat. Tingkat pergerakan spermatozoa yaitu motilitas rata-rata tertinggi pada perlakuan sari buah kurma dengan rata-rata sebesar 86.30% dan motilitas terendah pada perlakuan zaitun dengan rata-rata sebesar 63.94%.
- 2) Perlakuan pemberian sari buah yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap viabilitas sperma. Tingkat viabilitas tertinggi pada perlakuan sari buah kurma dengan rata-rata sebesar 91.18% dan motilitas terendah pada perlakuan zaitun dengan rata-rata sebesar 62.10%.
- 3) Tingkat fertilitas tertinggi pada perlakuan sari buah kurma dengan rata-rata sebesar 75% dan motilitas terendah pada perlakuan zaitun dengan rata-rata sebesar 43%. Sedangkan Tingkat *hatching rate* tertinggi pada perlakuan sari buah kurma dengan rata-rata sebesar 69.54% dan *hatching rate* terendah pada perlakuan kontrol dengan rata-rata sebesar 43.05%.

5.2. Saran

Saran yang didapat berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan adalah disarankan agar menggunakan sari kurma sebagai sari buah untuk melakukan preservasi pada sperma ikan. Selain itu, disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan dosis maupun bahan pensuplai nutrisi lainnya agar didapatkan hasil yang lebih maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adipu, Y., H. Sinjal, dan J. Watung. 2011. Ratio pengenceran sperma terhadap motilitas spermatozoa, fertilisasi dan daya tetas ikan lele (*Clarias* sp.). *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. **7** (1): 48-55.
- Agatha, A. F. A. dan E. Pangestuti. 2019. Analisis Strategi Pengembangan Daya Tarik Wisata Kebun Kurma Di Kabupaten Pasuruan. *Jurnal Administrasi Bisnis*. **71** (1): 18-28.
- Anas, E. R., P. Henriquez dan B. J. Matuszewski. 2017. Online Eye Status Detection in the Wild with Convolutional Neural Networks. *VISAPP*. **40** (2): 88-95.
- Azawi, O.L., S.Y. A. Al-Dahash dan F.T. Juma. 1993. Effect of different diluents on shami goat semen. *Small Rum. Res*. **9**: 347- 352.
- Bianchi, G. 2003. Lipids and phenols in table olives. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. **105**: 229-242.
- Buwono, I. D. 2000. Kebutuhan Asam Amino Esensial Dalam Ramsum Ikan. Kanisius. Yogyakarta. 56 hlm.
- Cahyono, B. 2001. Budi Daya Ikan di Perairan Umum. Kanisius. Yogyakarta.
- Caturryanti, D., S. Luwihana, dan S.Tamaroh. 2008. Pengaruh Varietas Apel dan Campuran Bakteri Asam Asetat terhadap Proses Fermentasi Cider. *AGRITECH*. **28** (2): 70-76.
- Condro, Hendrian S. 2012. Pengaruh Penambahan Madu Pada Media Pengencer NaCl Fisiologis Dalam Proses Penyimpanan Sperma Terhadap Kualitas Sperma Ikan Komet (*Carassius Auratus Auratus*). *Journal of Marine and Coastal Science*. **1**(1): 1-12.
- Danang, D. R., N. Isnaini dan P. Trisunuwati. 2012. Pengaruh Lama Simpan Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung dalam Pengencer Ringer's pada Suhu 4°C. *Jurnal Ternak Tropika*. **13** (1): 47-57.
- Daymaz, I. 2005. Sun drying of figs: an experimental study. *J. Food Eng*. **71**: 403-407.
- Dwitarizki, N. D., Ismaya dan W. Asmarawati. 2015. Pengaruh Pengenceran Sperma dengan Air Kelapa dan Aras Kuning telur Itik Serta Lama Penyimpanan Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Domba Garut pada Penyimpanan 5°C. *Buletin Peternakan*. **39** (3): 149-156.
- Effendi, H. 2004. Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Eni, Kusriani dan Siti Subadiyah. 2010. Perkembangan Embrio Ikan Hias Striped Raphael Catfish (*Platydoras Costatus*) Bleekers. Hal : 488-489.

- Faqih, A. R. 2011. Penurunan motilitas dan daya fertilitas sperma ikan lele dumbo (*Clarias spp.*) pasca perlakuan stres kejutan listrik. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Firdausi E. J. 2017. Pengaruh ekstender kombinasi larutan sari kurma (*Phoenix dactylifera*) dan ringer laktat terhadap persentase dan fertilitas spermatozoa ikan mas koki (*Carrasius auratus*). *Skripsi*. Universitas Brawijaya.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan: Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan, Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi. Rineka Cipta. Jakarta. 179 Hlm.
- Gazali, A dan A. Munawaroh. 2016. Nata De Apel, Solusi Alternatif Pemanfaatan Buah Apel Lewat Matang. *Proceeding Biology Education Conference* .**13** (1): 777-780.
- Hafiz, I. 2017. Pengaruh ekstender kombinasi larutan sari kurma (*Phoenix dactylifera*) dan ringer laktat terhadap persentase dan fertilitas spermatozoa ikan mas koi (*Cyprinus rubrofusculus*). *Skripsi*. Universitas Brawijaya.
- Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya. 344 hlm.
- Hasrati, E dan R. Rusnawati. 2011. Kajian Penggunaan Daging Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* Linn) Terhadap Tekstur Dan Cita Rasa Bakso Daging Sapi. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. **7** (1): 24-40.
- Hedianto, Y. E., E. Lisyastuti., E. Najmiyati dan Y. Y. Gani. 2003. Pengaruh Pemaparan Cd Dan Cu Terhadap Abnormalitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinas carpio*, Linn). *Jurnal Iktiologi Indonesia*. **3** (1): 5-9.
- Hidayat, R. 2008. Gambaran Histologi Muda dan Dewasa pada Ikan Mas *Cyprinus carpio*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Hidayaturrahmah. 2007. Waktu motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio* L) pada beberapa konsentrasi larutan fruktosa. *BIOSCIENTIAE*. **4** (1): 9-18.
- Ika, R. T., dan I. Mariska. 2003. Pemanfaatan Teknik Kriopreservasi dalam Penyimpanan Plasma Nutfah Tanaman. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.
- Irawan, H. 2014. Pengaruh ph pada ekstender terhadap daya simpan dan motilitas sel sperma ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Dinamika Maritim*. **3** (2): 30-39.
- Irawan, M.A., 2007. Glukosa dan Metabolisme Energi. *Sport Science Brief*. **1** (6): 12-52.
- Khairuman, S. P., Dodi, S., Bambang, G. N. 2008. Budidaya Ikan Mas Secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta.

- Khotimah, L. K., D. Oktianti dan J. Susilo. 2017. Perbandingan efek pemberian jus buah apel hijau (*Mallus sylvestris* Mill.) dan jus buah apel merah (*Mallus domestica* Borkh.) terhadap gangguan toleransi glukosa darah pada tikus putih jantan akibat efek samping deksametason. *Jurnal Farmasi dan Obat Alam*. **5** (2): 11-21.
- Kime, D.E., Van Look, K.J.M, McAllister, B.G, Huykens, G., Rurangwa, E., and Ollevier, F. 2001. Computer-assisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* : 425-433.
- Kurniawan, I. Y., F. Basuki dan T. Susilowati. 2013. Penambahan air kelapa dan gliserol pada penyimpanan sperma terhadap motilitas dan fertilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio* L). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2** (1): 51-65.
- Linayati, F. Basuki dan Pinandoyo. 2015. Efektivitas Penambahan Glycerol Dalam Susu Pengencer Terhadap Prosentase Sperma Hidup Dan Penetasan Telur Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* Linn). *PENA Akuatika*. **12** (1): 43-57.
- Ma, B., J. Chen, H. Zheng, T. Fang, C. Ogutu, S. Li, Y. Han and B. Wu. 2015. Comparative assessment of sugar and malic acid composition in cultivates and wild apples. *Food Chemistry*. **172**: 86-91.
- Magfira, R. I. Arifiantini, N. W. K. Karja dan S. Darwati. 2017. Efektivitas Low Density Lipoprotein dan Kuning Telur Ayam dan Puyuh pada Pengawetan Semen Ayam Merawang. *Jurnal Veteriner*. **18** (3): 345-352.
- Mar'ati, K. 2007. Pengaruh dosis dan lama penyimpanan pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas semen ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang. Malang. 41 hlm.
- Mardhatillah, H., Efrizal dan R. Rahayu. 2018. Pengaruh ekstrak kelenjar hipofisa ayam broiler dalam mempercepat respon ovulasi ikan koi *Cyprinus carpio* L. *Jurnal Metamorfosa*. **5** (1): 28-35.
- Maulana, F., Alimuddin dan M. Z. Junior. 2014. Morfologi, fisiologi, preservasi sel sperma ikan betok, *Anabas testudineus* Bloch 1792 dan ketahanannya terhadap kejutan listrik. *Jurnal Iktiologi Indonesia*. **14** (3): 211-223.
- Mayunar. 1996. Teknologi dan prospek usaha pembenihan ikan kerapu. *Oseana*. **21** (4): 13-24.
- Meirnowati, S., L. Sulmartiwi dan H. Suprpto. 2012. Daya fertilisasi sperma beku ikan tawes (*Puntius javanicus*) setelah disimpan dengan fruktosa dan tris aminomethan. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. **1** (1): 1-10.
- Mukminata, A., S. Suharyati dan Siswanto. 2014. Pengaruh penambahan berbagai sumber karbohidrat pengencer skim kuning telur terhadap kualitas semen beku sapi. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. **2** (2): 1-6.

- Mukti, A. T., Rustidja, S. B. Sumitro dan M. S. Djati. 2001. Poliploidisasi Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Biosain*. 1 (1): 112-123.
- Mumu, M. I. 2009. Viabilitas semen sapi simental yang dibekukan menggunakan krioprotektan gliserol. *J. Agroland*. **16** (2): 172-179.
- Murtidjo, B. A. 2001. Beberapa Metode Pembenihan Air Tawar. Kanisius. Yogyakarta. 108 hlm.
- Nugroho, E. D dan D. A. Rahayu. 2018. Pengantar Bioteknologi (Teori & Aplikasi). Deepublish. Sleman. 401 hlm.
- Nurcholis, R. I. Arifiantini dan M. Yamin. 2016. Kriopreservasi Semen Domba Garut Menggunakan Tris Kuning Telur yang Disuplementasi Omega-3 Minyak Ikan Salmon. *Jurnal Veteriner*. **17** (2): 309-315.
- Nursalam, M., Anisa dan N. Sirajang. 2017. Analisis polinomial ortogonal berderajat tiga pada rancangan acak lengkap. Skripsi. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Orey, C. 2008. Khasiat Minyak Zaitun Resep Umur Panjang ala Mediterania. Hikmah: Jakarta.
- Papilon, U. dan M. Efendi. 2017. Ikan Koi. Penebar Swadaya. Jakarta. 140 hlm.
- Prabowo, B. T., T. Susilowati dan R. A. Nugroho. 2016. Analisis Karakter Reproduksi Ikan Nila Pandu (F6) (*Oreochromis niloticus*) Persilangan Strain Nila Merah Singapura Menggunakan Sistem Resiprokal pada Pendederan I. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **5** (1): 54 – 63.
- Prama, H., M. Nur dan E. Ayuzar. 2014. Pengaruh penambahan bahan pengencer sperma terhadap fertilitas spermatozoa ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Acta Aquatica*. **1** (1) : 46-52.
- Rahardhianto, A., N. Abdulgani dan N. Trisyani. 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*. **1** (1): 58-63.
- Rahimah dan Pujiastuti. 2016. Prospek Bisnis Buah Tin. PT Trubus Swadaya. Hlm 122.
- Rana, K. J. 1995. Cryopreservation of Fish Spermatozoa. Dalam: Day, J.G dan M. W. Pennington. Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. Methods in Molecular Biology vol 38. Humana Press. Totowa, NJ.
- Retnowati, P. A. dan J. Kusnadi. 2014. Pembuatan minuman probiotik sari buah kurma (*Phoenix dactylifera*) dengan isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **2**(2): 70-81.

- Riyadhi, M., A. Haris., I. Sumantri dan M. Rizal. 2017. Kemampuan Sari Melon dalam Mempertahankan Kualitas Semen Kambing Peranakan Ettawa. *Seminar Nasional Peternakan*. **18** (3): 64-69.
- Rochdianto, A. 2005. Budidaya Ikan di Jaring Terapung. Penebar Swadaya. Jakarta. 98 hal.
- Roostika I, Purnamaningsih R, & Novianti AV. 2013. Pengaruh Sumber Karbon Dan Kondisi Inkubasi Terhadap Pertumbuhan Kultur In Vitro Purwoceng (*Pimpinella Pruatjan Molk.*). *Jurnal AgroBiogen*. **4** (2): 65-69.
- _____, I. 2003. Prospek Penerapan Teknologi Kultur In Vitro Untuk Produksi Metabolit Sekunder Tanaman Purwoceng. *Warta Biogen*. **2** (1): 11-13.
- Rosyida, L., Priyandani, Y., Sulistyarini, A., dan Yunita. 2015. Kepatuhan Pasien pada Penggunaan Obat Anti Diabetes dengan Metode Pill-Count dan MMAS-8 di Puskesmas Kedurus Surabaya. *Jurnal Farmasi Komunitas*. **2** (2): 36-41.
- Rustidja. 2004. Pemijahan Buatan. Bahtera Press: Malang.
- Saili, T., M. Pangestu, M. A. Setiadi, S. Agungpriyono, M. R. Toelihere dan A. Boediono. 2005. Pengawetan Spermatozoa Menggunakan Metode Pengering bekuan. *Hayati*. **12** (1): 41-44.
- Sari, A. P. 2016. Karakter vegetatif tanaman zaitun (*Oleo europaea* L.) pada kondisi tanam berbeda serta konsentrasi oleuropein dan asam askorbat pada daunnya. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 50 hlm.
- Sedaghat, S and M. Rahemi. 2017. Enzyme activity regarding sugar and organic acid changes during developmental stages in rainfed fig (*Ficus carica* L.cv Sabz). *International Journal Of Fruit Science*. **18** (1): 1-15.
- Setiowati, W dan S. Nuriah. 2018. Pengaruh sari kurma (*Phoenix dactylifera*) terhadap peningkatan kadar hemoglobin ibu hamil trimester iii (the influence of palm extract (*Phoenix dactylifera*) to increase of hemoglobin level to trimester iii pragnant woman). *Jurnal Darul Azhar*. **6** (1): 85-91.
- Setyono, B. 2009. Pengaruh perbedaan konsentrasi bahan pada pengencer sperma ikan "skim kuning telur" terhadap laju fertilisasi, laju penetasan dan sintasan ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). *GAMMA*. **5**(1): 1-12.
- Soebahar, M. E., R. A. Firmansyah dan E. D. Anwar. 2015. Mengungkap rahasia buah kurma dan zaitun dari petunjuk hadits dan penjelasan sains. *Ulul Albab*. **16** (2): 191-214.
- Solichah, A. 2007. Pengaruh Konsentrasi Tris Amino Methan Yang Berbeda Dalam Pengencer Tris Kuning Telur dan Lama Penyimpanan Terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang.

- Sukendi R. M. Putra dan Yurisman. 2012. Keberhasilan Pemijahan Semi Alami Ikan Sepat Mutiara (*Trichogaster leeri* Blkr) dalam Memproduksi Benih. *Jurnal Berkala Perikanan Terubuk*. **40** (2): 54-61.
- Sunarma, A., D. W. Budhiastuti dan Y. Sistina. 2010. Penggunaan ekstender madu yang dikombinasikan dengan krioprotektan berbeda pada pengawetan sperma ikan nilam (Indonesian Sharkminnow, *Osteochilus hasseltii* Valenciennes, 1842). *Omni-Akuatika*. **9** (11): 51-55.
- Supriatna I, Pasaribu F. H. 1992. In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio, dan Pembekuan Embrio. Bogor. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor.
- Suratinojo, S. P., J. Supit, dan M. Sinolungan. 2013. Potensi lahan untuk tanaman kelapa (*Cocos nucifera* L) di kecamatan wori kabupaten minahasa utara. *Cocos*. **2** (4): 1-10.
- Susanto, W. H dan B. R. Setyohadi. 2011. Pengaruh varietas apel (*Malus sylvestris*) dan lama fermentasi oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae* sebagai perlakuan pra-pengolahan terhadap karakteristik sirup. *Jurnal Teknologi Pertanian*. **12** (3): 135-142.
- Susilawati, T. 2011. Spermatology. UB Press. Malang. 176 hlm.
- Sutedjo, M. M. 2004. Pupuk dan Cara Pemupukan. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 177 hal.
- Tambing, S. N., M. R. Toelihere, T. L. Yusuf dan I Ketut Utama. 2000. Pengaruh Gliserol Dalam Pengencer Tris Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. **5** (2): 1-8.
- Tumanung, S., H. J. Sinjal dan J. Ch. Watung. 2015. Penambahan Madu dalam Pengenceran Sperma untuk Meningkatkan Motilitas, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Budidaya Perairan*. **3** (1) : 51-58.
- Vissers, M. N., P. L. Zock dan M. B. Katan. 2004. Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenols in humans: a review. *Eu J Clin Nut*. **58**: 955-965.
- Vyawahare, et al., 2009. Peptic Ulcer Disease. Rijeka, Croatia. In Tech. Hlm 484.
- Warisno. 2003. Budidaya Kelapa Genjah. Yogyakarta. Kanisius. Hlm 125.
- Yumte, K., Wantouw, B. dan Queljoe, E.D. 2013. Perbedaan motilitas spermatozoa sapi jantan (*Frisian holstein*) setelah pemberian cairan kristaloid-ringer laktat. *Jurnal e-Biomedik*. **1** (1): 184-189.
- Yurida, M., E. Afriani dan S. Arita. 2013. Pengaruh Kandungan Cao Dari Jenis Adsorben Semen Terhadap Kemurnian Gliserol. *Jurnal Teknik Kimia*. **2** (19): 33-42.

Zaenuri, L. A., T. Susilawati, S. B. Sumitro dan S. Wahyuningsih. 2013. Prospek sari buah tin lokal (*Ficus glumerata* Rob) sebagai agen preservasi motilitas spermatozoa kambing. *Jurnal Kedokteran Hewan*. **7** (1): 26-28.



GLOSARIUM

Do (<i>Dissolved Oxygen</i>)	: kebutuhan oksigen merupakan salah satu parameter penting dalam analisis kualitas air
Ekstender	: bahan pengencer pada proses preservasi
Fertilisasi	: proses bergabungnya inti sperma dengan inti sel telur dalam sitoplasma sehingga membentuk zigot
Fruktosa	: gula monosakarida yang mempunyai rumus molekul yang sama dengan glukosa namun memiliki struktur yang berbeda
Gamet	: sel yang diproduksi oleh organisme untuk tujuan reproduksi generatif
Gliserol	: senyawa gliserida yang paling sederhana dengan hidroksil yang bersifat hidrofilik dan higroskopik
Glukosa	: gula monosakarida yang termasuk salah satu karbohidrat penting yang digunakan sebagai sumber tenaga bagi hewan dan tumbuhan
Gonad	: kelenjar endokrin yang menghasilkan gamet dari suatu organisme
<i>Hatching Rate</i>	: daya tetas atau jumlah telur yang dapat menetas
Hormon	: zat kimia yang terbentuk dalam satu organ atau bagian tubuh dan dibawa dalam darah ke organ atau bagian dimana mereka menghasilkan efek fungsional
Isomer	: molekul-molekul dengan rumus kimia yang sama, namun memiliki susunan atom yang berbeda

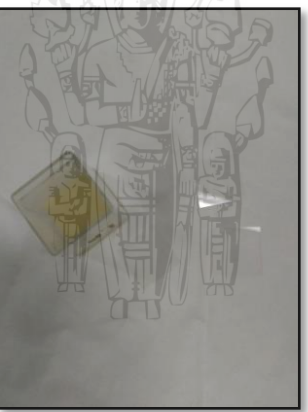
Larva	: organisme yang belum mempunyai bentuk organ tubuh yang lengkap seperti induknya
<i>Latency time</i>	: selang waktu antara waktu penyuntikan dengan stripping
Motilitas	: kemampuan gerak spermatozoa di dalam lingkungan zat cair
Morfometri	: suatu metode pengukuran terhadap variasi dan perubahan bentuk serta ukuran tubuh dari suatu organisme
Ovaprim	: hormon perangsang gonad ikan yang terbuat dari bahan hipofisa ikan salmon
Ovulasi	: proses ketika sel telur yang sudah matang dikeluarkan dari ovarium ke tuba falopi untuk dibuahi
Pemijahan	: proses pengeluaran telur oleh induk betina dan sperma oleh induk jantan yang kemudian diikuti dengan perkawinan
pH	: derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu perairan.
Preservasi	: kegiatan untuk pengawetan atau pemeliharaan sesuatu untuk tujuan tertentu
Ringer laktat	: larutan steril yang digunakan sebagai penambah cairan dan elektrolit untuk mengembalikan keseimbangan
Spermatogenesis	: proses pembentukan sel kelamin jantan dari spermatogonia menjadi spermatozoa yang terjadi di

	dalam kantong atau sistem yang terbuat oleh sel-sel sertoli
Spermatozoa	: sel dari sistem reproduksi jantan yang bertugas membuahi ovum untuk membentuk zigot
Strain	: tingkatan taksonomi paling rendah yang digunakan pada tingkat intraspesifik (dalam suatu spesies)
Stripping	: metode pemijahan buatan untuk mengambil sel sperma dan sel telur dengan cara pengurutan
Suhu	: suatu besaran yang menunjukkan derajat panas suatu perairan. Suhu juga disebut temperature yang diukur dengan alat termometer.
Sukrosa	: molekul disakarida yang merupakan gabungan dari 1 molekul glukosa dan 1 molekul fruktosa
Zigot	: sel yang terbentuk sebagai hasil bersatunya dua sel kelamin (sel ovum dan sel sperma)

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat-alat penelitian

 Bulu Ayam	 Mikroskop	 Sprit
 Object Glass	 Cover Glass	 Sprayer
 Beaker Glass 100 ml	 Haemocytometer	 Lemari Pendingin



Appendorf 2 ml



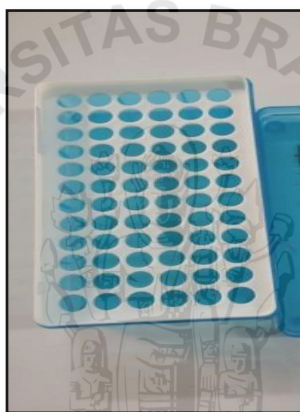
pH Meter



Lap Basah



DO Meter



Rak Appendorf



Bak Plastik

b. Bahan-Bahan Penelitian



Eosin 1%



Ringer Laktat



NaFisiologis



Aquades



Gliserol



Alkohol



Sabun Cuci



Tisu



Induk Ikan Mas

Lampiran 2. Perhitungan Rancangan motilitas sperma ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

a. Motilitas Sperma Ikan Mas

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±STDEV
	1	2	3		
K1	62,35	62,68	59,63	184,67	61,56±1,67
A	67,43	64,32	65,59	197,34	65,78±1,56
B	61,25	66,03	64,55	191,83	63,94±2,44
C	68,78	74,59	71,12	214,50	71,50±2,92
D	76,52	80,49	82,77	239,77	79,92±3,16
E	87,04	88,39	83,49	258,91	86,30±2,53
Total	423,38	436,49	427,15	1287,02	
Rerata	70,56	72,75	71,19	214,50	

Perhitungan :

- Faktor Koreksi
$$= \frac{(\sum Y)^2}{n \times r}$$

$$= \frac{(1287,02)^2}{6 \times 3}$$

$$= 92022,90$$

- Derajat Bebas (db)

db Perlakuan = $n - 1$

= $6 - 1$

= 5

db Acak = $n \times (r - 1)$

= $6 \times (3 - 1)$

= 12

db Total = $(n \times r) - 1$

= $(6 \times 3) - 1$

= 17

- Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{(\sum Y_i)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2 + (\sum E)^2 + (\sum K)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(197,34)^2 + (191,83)^2 + (214,50)^2 + (239,77)^2 + (258,91)^2 + (184,67)^2}{3} \\
 &= 1287,02
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total} &= \sum Y_{ij}^2 - FK \\
 &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (E3)^2 - FK \\
 &= (67,43)^2 + (64,32)^2 + (65,59)^2 + (61,25)^2 + (66,03)^2 + (64,55)^2 + \\
 &\quad (68,78)^2 + (74,59)^2 + (71,12)^2 + (74,59)^2 + (71,12)^2 + (76,52)^2 + \\
 &\quad (80,49)^2 + (82,77)^2 + (87,04)^2 + (88,39)^2 + (83,49)^2 + (62,35)^2 + \\
 &\quad (62,68)^2 + (59,63)^2 \\
 &= 1509,04
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 1509,04 - 1436,63 \\
 &= 72,41
 \end{aligned}$$

- Kuadrat Tengah (KT)

$$\begin{aligned}
 \text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{1436,63}{5} \\
 &= 287,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\
 &= \frac{72,41}{12} \\
 &= 6,03
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F. \text{ Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{287,33}{6,03} \\
 &= 47,62
 \end{aligned}$$

Tabel Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	5	1436.63	421.52	47.62**	3.11	5.06
Acak	12	72.41	21.69			
Total	17	1509.04				

Keterangan : (**) = berbeda sangat nyata; (*) = berbeda nyata; (ns) = tidak berbeda

Hasil perhitungan sidik ragam diatas menunjukkan bahwa pemberian perlakuan penyimpanan pada sperma ikan mas dengan perlakuan pemberian sari buah yang berbeda dengan penambahan gliserol memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap motilitas sperma ikan mas, hal tersebut dapat diketahui dari nilai F hitung lebih besar dari pada nilai F tabel 5% dan 1%. Selanjutnya dilanjutkan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui tingkat perbedaan antar perlakuan.

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned}
 SED &= \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 6,03}{3}} \\
 &= 1,158
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BNT \ 5\% &= t \text{ tabel } 5\% \text{ (db acak)} \times SED \\
 &= 3,055 \times 1,158 \\
 &= 2,523
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 1\% &= t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\
 &= 3,055 \times 1,158 \\
 &= 3,537
 \end{aligned}$$

Hasil Uji BNT

Perlakuan	Rerata	K1	B	A	C	D	E	Notasi
		61,56	63,94	65,78	71,50	79,92	86,3	
K1	61,56	-						a
B	63,94	2,38**	-					b
A	65,78	4,22**	1,83**	-				c
C	71,50	9,94**	7,55**	5,71**	-			d
D	79,92	18,36**	15,98**	14,14**	8,42**	-		e
E	86,30	24,74**	22,36**	20,52**	14,80**	6,38**	-	f

Lampiran 2. (Lanjutan) Perhitungan Rancangan Viabilitas Sperma Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

b. Viabilitas Ikan Mas

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STDEV
	1	2	3		
K1	63,31	61,63	60,50	185,45	61,82 $\pm$ 1,41
A	76,87	75,39	77,37	229,63	76,54 $\pm$ 1,03
B	75,72	74,79	73,75	224,26	74,75 $\pm$ 0,98
C	79,76	78,33	77,42	235,51	78,50 $\pm$ 1,18
D	79,91	82,08	84,13	246,12	82,04 $\pm$ 2,11
E	93,86	88,68	91,01	273,55	91,18 $\pm$ 2,59
Total	469,42	460,90	464,20	1394,51	
Rerata	78,24	76,82	77,37	232,42	

Perhitungan :

- $$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi} &= \frac{(\sum Y)^2}{n \times r} \\
 &= \frac{(464,84)^2}{6 \times 3} \\
 &= 108037,18
 \end{aligned}$$

- Derajat Bebas (db)

$$\begin{aligned}
 \text{db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 6 - 1 \\
 &= 5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{db Acak} &= n \times (r - 1) \\ &= 6 \times (3 - 1) \\ &= 12\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{db Total} &= (n \times r) - 1 \\ &= (6 \times 3) - 1 \\ &= 17\end{aligned}$$

- Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned}\text{JK Perlakuan} &= \frac{(\sum Y_i)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(\sum K)^2 + (\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2 + (\sum E)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(185,45)^2 + (229,63)^2 + (224,26)^2 + (235,51)^2 + (246,12)^2 + (273,55)^2}{3} \\ &= 1389,86\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Total} &= \sum Y_{ij}^2 - FK \\ &= (K1)^2 + (K2)^2 + (K3)^2 + (A1)^2 + \dots + (E3)^2 - FK \\ &= (63,31)^2 + (61,63)^2 + (60,50)^2 + (76,87)^2 + (75,39)^2 + (77,37)^2 + \\ &\quad (75,72)^2 + (74,79)^2 + (73,75)^2 + (79,76)^2 + (78,33)^2 + (77,42)^2 + \\ &\quad (79,91)^2 + (82,08)^2 + (84,13)^2 + (93,86)^2 + (88,68)^2 + (91,01)^2 \\ &= 1423,07\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 1423,07 - 1389,86 \\ &= 33,21\end{aligned}$$

- Kuadrat Tengah (KT)

$$\begin{aligned}\text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{1389,86}{5} \\ &= 277,97\end{aligned}$$

$$KT \text{ Acak} = \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}}$$

$$= \frac{33,21}{12}$$

$$= 2,77$$

$$F. \text{ Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{277,97}{2,77}$$

$$= 100,43$$

Tabel Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	5	1389.86	277.97	100.43**	3.11	5.06
Acak	12	72.41	2.77			
Total	17	1423.07				

Keterangan : (**) = berbeda sangat nyata; (*) = berbeda nyata; (ns) = tidak berbeda

Hasil perhitungan sidik ragam diatas menunjukkan bahwa pemberian perlakuan penyimpanan pada sperma ikan mas dengan pemberian sari buah yang berbeda dengan penambahan gliserol memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap viabilitas sperma ikan mas, hal tersebut dapat diketahui dari nilai F hitung lebih besar dari pada nilai F tabel 5% dan 1%. Selanjutnya dilanjutkan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui tingkat perbedaan antar perlakuan.

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 2,77}{3}}$$

$$= 0,78$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED}$$

$$= 2,18 \times 0,78$$

$$= 1,71$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED}$$

$$= 3,05 \times 0,78$$

$$= 2,40$$

Hasil Uji BNT

Perlakuan	Rerata	K1	B	A	C	D	E	Notasi
		61,82	74,75	76,54	78,50	82,04	91,18	
K1	61,82	-						a
B	74,75	12,94**	-					b
A	76,54	14,73**	1,79*	-				c
C	78,50	16,69**	3,75**	1,96*	-			d
D	82,04	20,22**	7,29**	5,50**	3,54**	-		e
E	91,18	29,37**	16,43**	14,64**	12,68**	9,14**	-	f

Lampiran 2. (Lanjutan) Perhitungan Rancangan Fertilisasi Sperma Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

c. Fertilisasi Sperma Ikan Mas

Perlakuan	Ulangan			Rerata ±STDEV
	1	2	3	
K1	40	40	39	40,29±0,81
A	57	56	55	56,45±1,11
B	41	43	43	43,05±1,28
C	62	63	63	63,45±0,68
D	64	66	65	65,52±1,21
E	74	76	76	75,48±1,17

Perhitungan :

- Faktor Koreksi $= \frac{(\sum Y)^2}{n \times r}$
 $= \frac{(1032)^2}{6 \times 3}$
 $= 59251$

- Derajat Bebas (db)

$$\text{db Perlakuan} = n - 1$$

$$= 6 - 1$$

$$= 5$$

$$\text{db Acak} = n \times (r - 1)$$

$$= 6 \times (3 - 1)$$

$$= 12$$

$$\text{db Total} = (n \times r) - 1$$

$$= (6 \times 3) - 1$$

$$= 17$$

- Jumlah Kuadrat (JK)

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{(\sum Y_i)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2 + (\sum E)^2 + (\sum K)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(169)^2 + (129)^2 + (190)^2 + (196)^2 + (226)^2 + (120)^2}{3}$$

$$= 2786$$

$$\text{JK Total} = \sum Y_{ij}^2 - FK$$

$$= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (E3)^2 - FK$$

$$= (40)^2 + (40)^2 + (39)^2 + (57)^2 + (56)^2 + (55)^2 + (41)^2 + (43)^2 + (43)^2$$

$$+ (62)^2 + (63)^2 + (63)^2 + (64)^2 + (66)^2 + (65)^2 + (74)^2 + (76)^2 + (76)^2$$

$$= 2800$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 2800 - 2786$$

$$= 13$$

- Kuadrat Tengah (KT)

$$KT \text{ Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}}$$

$$= \frac{2786}{5}$$

$$= 557$$

$$KT \text{ Acak} = \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}}$$

$$= \frac{13}{12}$$

$$= 1$$

$$F. \text{ Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{557}{1}$$

$$= 486$$

Tabel Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	5	2786.79	557.36	486.43**	3.11	5.06
Acak	12	13.75	1.15			
Total	17	2800.54				

Keterangan : (**) = berbeda sangat nyata; (*) = berbeda nyata; (ns) = tidak berbeda

Hasil perhitungan sidik ragam diatas menunjukkan bahwa pemberian perlakuan penyimpanan pada sperma ikan mas dengan pemberian sari buah yang berbeda dengan penambahan gliserol memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap fertilisasi sperma ikan mas, hal tersebut dapat diketahui dari nilai F hitung lebih besar dari pada nilai F tabel 5% dan 1%. Selanjutnya

dilanjutkan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui tingkat perbedaan antar perlakuan.

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 1,15}{3}}$$

$$= 0,505$$

$$BNT \ 5\% = t \text{ tabel } 5\% \text{ (db acak)} \times SED$$

$$= 2,179 \times 0,505$$

$$= 1,099$$

$$BNT \ 1\% = t \text{ tabel } 1\% \text{ (db acak)} \times SED$$

$$= 3,055 \times 0,505$$

$$= 1,541$$

Hasil Uji BNT

Perlakuan	Rerata	K1	B	A	C	D	E	Notasi
		40,29	43,05	56,45	63,45	65,52	75,48	
K1	40,29	-						a
B	43,05	2,76**	-					b
A	56,45	16,15**	13,39**	-				c
C	63,45	23,15**	20,39**	7,00**	-			d
D	65,52	25,23**	22,46**	9,07**	2,07**	-		e
E	75,48	35,19**	32,42**	19,03**	12,03**	9,96**	-	F

Lampiran 2. (Lanjutan) Perhitungan Rancangan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

d. Daya tetas Telur Ikan Mas

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ±STDEV
	1	2	3		
K1	38,26	35,81	37,97	112,04	37,35±1,33
A	47,34	48,72	48,19	144,25	48,08±0,69
B	41,57	43,73	43,86	129,16	43,05±1,28
C	58,44	60,46	60,59	179,49	59,83±1,20
D	61,93	62,25	62,98	187,16	62,39±0,53
E	65,52	67,63	75,49	208,63	69,54±5,25
Total	313,07	318,59	329,07	960,73	
Rerata	52,18	53,10	54,85	160,12	

Perhitungan :

- Faktor Koreksi
$$= \frac{(\sum Y)^2}{n \times r}$$

$$= \frac{(960,73)^2}{6 \times 3}$$

$$= 51277,98$$

- Derajat Bebas (db)

db Perlakuan = $n - 1$
 $= 6 - 1$
 $= 5$

db Acak = $n \times (r - 1)$
 $= 6 \times (3 - 1)$
 $= 12$

db Total = $(n \times r) - 1$
 $= (6 \times 3) - 1$
 $= 17$

- Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{(\sum Y_i)^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2 + (\sum E)^2 + (\sum K)^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{(144,25)^2 + (129,16)^2 + (179,49)^2 + (187,16)^2 + (208,63)^2 + (112,04)^2}{3} \\
 &= 2327,26
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total} &= \sum Y_{ij}^2 - \text{FK} \\
 &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (E3)^2 - \text{FK} \\
 &= (47,34)^2 + (48,72)^2 + (48,19)^2 + (41,57)^2 + (43,73)^2 + (43,86)^2 + \\
 &\quad (58,44)^2 + (60,46)^2 + (60,59)^2 + (61,93)^2 + (62,25)^2 + (62,98)^2 + \\
 &\quad (65,52)^2 + (67,63)^2 + (75,49)^2 + (38,26)^2 + (35,81)^2 + (37,97)^2 \\
 &= 2393,74
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 2393,98 - 2327,26 \\
 &= 66,48
 \end{aligned}$$

- Kuadrat Tengah (KT)

$$\begin{aligned}
 \text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{2327,26}{5} \\
 &= 465,45
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\
 &= \frac{66,48}{12} \\
 &= 5,54
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F. \text{ Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{465,45}{5,54} \\
 &= 84,02
 \end{aligned}$$

Tabel Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	5	2327.26	465.45	84.02**	3.11	5.06
Acak	12	66.48	5.54			
Total	17	2393.74				

Keterangan : (**) = berbeda sangat nyata; (*) = berbeda nyata; (ns) = tidak berbeda

Hasil perhitungan sidik ragam diatas menunjukkan bahwa pemberian perlakuan penyimpanan pada sperma ikan mas dengan pemberian sari buah yang berbeda dengan penambahan gliserol memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap daya tetas telur ikan mas, hal tersebut dapat diketahui dari nilai F hitung lebih besar dari pada nilai F tabel 5% dan 1%. Selanjutnya dilanjutkan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui tingkat perbedaan antar perlakuan.

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 5,54}{3}}$$

$$= 1,110$$

$$BNT \ 5\% = t \text{ tabel } 5\% \text{ (db acak)} \times SED$$

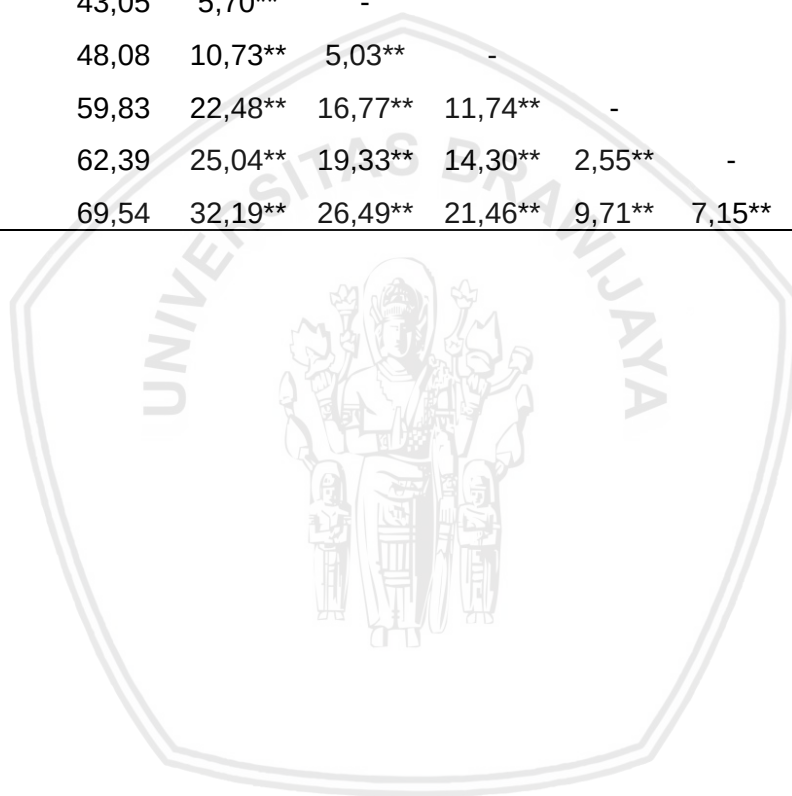
$$= 2,179 \times 1,110$$

$$= 2,418$$

$$\begin{aligned}\text{BNT } 1\% &= t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\ &= 3,055 \times 1,110 \\ &= 3,389\end{aligned}$$

Hasil Uji BNT

Perlakuan	Rerata	K1	B	A	C	D	E	Notasi
		37,35	43,05	48,08	59,83	62,39	69,54	
K1	37,35	-						a
B	43,05	5,70**	-					b
A	48,08	10,73**	5,03**	-				c
C	59,83	22,48**	16,77**	11,74**	-			d
D	62,39	25,04**	19,33**	14,30**	2,55**	-		e
E	69,54	32,19**	26,49**	21,46**	9,71**	7,15**	-	f



Lampiran 3. Data Kualitas Air

Hari/Tanggal	Perlakuan	Kualitas Air					
		Pagi			Sore		
		Suhu	pH	DO	Suhu	pH	DO
10 September 2019	A1	22	6,88	5,74	25	7,76	5,36
	A2	21	6,78	5,70	26	7,74	5,37
	A3	21	6,76	5,23	26	7,75	5,34
	B1	20	6,83	5,54	25	7,66	5,59
	B2	21	6,89	5,52	26	7,68	6,08
	B3	22	6,84	5,54	27	7,65	6,02
	C1	22	6,94	6,30	26	7,61	6,09
	C2	22	6,97	6,30	27	7,63	6,77
	C3	21	6,96	6,21	27	7,60	6,55
	D1	21	6,75	6,23	25	7,58	6,06
	D2	20	6,78	6,24	25	7,56	6,08
	D3	19	6,96	6,23	25	7,57	6,07
	E1	20	6,87	6,25	26	7,60	6,14
	E2	20	6,90	6,21	26	7,68	6,21
	E3	20	6,82	6,26	25	7,64	6,09
	K1	20	6,77	6,20	26	7,68	6,15
	K2	20	6,89	6,28	26	7,62	6,13
	K3	21	6,91	6,26	26	7,65	6,17
	K2 ¹	19	6,67	6,32	25	7,60	6,15
	K2 ²	20	6,90	6,27	26	7,61	6,18
	K2 ³	20	6,86	6,28	26	7,63	6,14
	A1	22	6,79	5,13	27	6,05	5,15

11	A2	21	6,77	5,58	25	6,03	5,13
September	A3	21	6,76	5,43	25	6,04	4,38
2019	B1	20	6,73	5,55	27	6,11	6,11
	B2	21	6,74	5,52	27	6,13	6,13
	B3	22	6,84	5,51	25	6,12	6,12
	C1	22	6,82	5,30	26	6,21	6,21
	C2	22	6,77	6,33	27	6,23	6,24
	C3	21	6,75	6,16	27	6,24	6,23
	D1	21	6,88	6,27	26	6,36	6,54
	D2	20	6,87	6,29	27	6,35	6,37
	D3	19	6,89	6,31	26	6,34	6,35
	E1	20	6,81	6,39	27	6,30	6,33
	E2	20	6,84	6,26	27	6,32	6,31
	E3	20	6,87	6,21	25	6,37	6,40
	K1	20	6,77	6,15	27	6,31	6,37
	K2	20	6,73	6,29	26	6,39	6,33
	K3	21	6,79	6,25	25	6,29	6,39
	K2 ¹	20	6,83	6,10	26	6,21	6,20
	K2 ²	21	6,88	6,13	27	6,22	6,25
	K2 ³	20	6,76	6,16	25	6,35	6,31
	A1	22	6,79	6,24	27	6,69	6,23
12	A2	21	6,78	6,26	25	6,79	6,22
September	A3	21	6,75	6,27	25	6,75	6,21
2019	B1	20	6,79	6,65	27	6,82	6,79
	B2	21	6,74	6,63	27	6,84	6,75
	B3	22	6,89	6,65	27	6,85	6,73

	C1	22	6,82	6,70	26	6,73	6,36
	C2	22	6,90	6,34	27	6,70	6,35
	C3	21	7,14	6,74	27	6,74	6,36
	D1	21	6,89	5,37	25	6,68	6,15
	D2	20	6,88	5,39	27	6,65	6,16
	D3	19	6,89	7,41	25	6,68	6,20
	E1	20	6,81	6,50	27	6,57	6,26
	E2	20	6,78	6,62	25	6,64	6,22
	E3	20	6,74	6,43	26	6,72	6,18
	K1	20	6,83	6,49	27	6,54	6,31
	K2	20	6,80	6,55	26	6,69	6,46
	K3	20	6,85	6,53	27	6,61	6,39
	K2 ¹	19	6,87	6,58	25	6,75	6,27
	K2 ²	20	6,79	6,60	28	6,77	6,25
	K2 ³	20	6,82	6,47	27	6,63	6,20
	A1	22	6,12	5,63	27	6,23	5,28
	A2	21	6,14	5,66	25	6,22	5,29
	A3	21	6,11	5,63	25	6,21	5,25
	B1	20	6,32	5,24	27	6,28	5,81
13	B2	21	6,35	5,35	27	6,25	4,82
September	B3	22	6,33	5,70	27	6,25	4,85
2019	C1	22	6,25	5,22	27	6,11	5,45
	C2	22	6,27	5,66	27	6,54	5,14
	C3	21	6,13	5,65	25	6,73	5,13
	D1	21	6,90	5,21	25	6,45	5,11
	D2	20	6,19	5,24	27	6,86	5,10

14 September 2019	D3	19	6,21	5,20	25	6,48	5,19
	E1	20	6,75	5,34	25	6,64	6,24
	E2	20	6,54	5,21	26	6,72	6,38
	E3	20	6,63	5,35	27	6,54	6,33
	K1	20	6,77	5,43	25	6,13	6,36
	K2	20	6,46	5,56	27	6,11	6,64
	K3	19	6,71	5,31	27	6,20	6,47
	K2 ¹	19	6,18	5,21	26	6,21	6,51
	K2 ²	20	6,26	5,22	25	6,13	6,41
	K2 ³	21	6,28	5,31	27	6,15	6,37
	A1	22	6,59	5,59	27	6,05	6,23
	A2	21	6,66	5,62	27	6,06	6,22
	A3	21	6,80	6,57	25	6,10	6,11
	B1	20	6,63	6,50	27	6,11	6,29
	B2	21	6,66	6,52	27	6,15	6,56
	B3	22	6,68	6,32	26	6,13	6,24
	C1	22	6,69	6,33	27	6,11	6,38
	C2	22	6,15	6,59	26	6,20	6,33
	C3	21	6,33	6,45	25	6,21	6,35
	D1	21	6,88	6,76	26	6,32	6,65
	D2	20	6,83	6,75	27	6,35	6,44
	D3	19	6,85	6,77	25	6,31	6,42
	E1	20	6,90	5,35	26	6,54	6,06
	E2	20	6,19	5,70	26	6,73	6,08
	E3	20	6,21	5,22	25	6,45	5,76
	K1	20	6,75	5,66	25	6,86	5,74

15 September 2019	K2	20	6,54	5,65	25	6,48	6,74
	K3	21	6,33	5,21	26	6,64	5,14
	K2 ¹	20	6,22	5,26	25	6,71	5,10
	K2 ²	20	6,34	5,47	25	6,60	5,43
	K2 ³	20	6,64	5,55	26	6,52	5,21
	A1	20	6,09	6,17	27	6,05	7,41
	A2	20	6,10	6,19	27	6,23	6,12
	A3	20	6,76	6,20	26	6,12	6,11
	B1	20	6,23	6,34	26	6,45	5,25
	B2	19	6,33	6,36	25	6,89	5,88
	B3	21	6,12	6,10	25	6,45	5,90
	C1	20	6,28	6,27	27	6,16	5,02
	C2	20	6,31	6,29	27	6,20	6,06
	C3	19	6,19	6,15	26	6,15	6,08
	D1	20	6,33	6,96	26	6,20	5,76
	D2	21	6,36	6,44	27	6,21	5,74
	D3	20	6,31	6,96	27	6,10	6,74
	E1	20	6,19	6,44	27	6,12	5,14
	E2	21	6,22	6,13	26	6,45	5,13
	E3	19	6,34	6,69	26	6,89	5,11
	K1	20	6,22	6,78	25	6,45	5,10
	K2	20	6,67	6,62	25	6,33	5,19
	K3	19	6,27	6,89	26	6,59	6,24
	K2 ¹	19	6,12	6,23	25	6,47	6,34
	K2 ²	20	6,23	6,25	25	6,55	6,23
	K2 ³	20	6,21	6,23	27	6,38	6,21

16 September 2019	A1	22	6,09	6,55	26	6,98	6,12
	A2	21	6,10	6,05	27	6,94	7,15
	A3	21	6,56	6,33	26	6,44	6,15
	B1	20	6,13	6,40	26	6,23	6,44
	B2	21	6,23	6,43	26	6,85	6,23
	B3	22	6,19	6,44	26	6,77	6,25
	C1	22	6,43	6,21	27	6,84	6,23
	C2	22	6,55	6,25	27	6,86	6,33
	C3	21	6,29	6,57	26	6,88	6,77
	D1	21	6,66	6,61	27	6,11	6,21
	D2	20	6,35	6,60	27	6,15	6,26
	D3	19	6,32	6,65	27	6,13	6,22
	E1	20	6,98	6,33	26	6,33	6,38
	E2	20	6,94	6,59	27	6,36	6,33
	E3	20	6,44	6,45	26	6,31	6,36
	K1	19	6,23	6,76	26	6,19	6,22
	K2	20	6,85	6,55	26	6,33	6,39
	K3	21	6,77	6,71	27	6,41	6,47
	K2 ¹	19	6,65	6,21	24	6,45	6,41
	K2 ²	19	6,43	6,34	25	6,37	6,38
	K2 ³	19	6,11	6,26	24	6,38	6,34