

**PENGARUH PENAMBAHAN GLUKOSA PADA MEDIA DALAM PROSES  
PENYIMPANAN SPERMA BEKU TERHADAP FERTILISASI  
IKAN TAWES (*Puntius javanicus*)**

**LAPORAN SKRIPSI  
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH :**

**R. RIZQI WIBOWO**

**0210853001**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**FAKULTAS PERIKANAN**

**MALANG**

**2007**

**PENGARUH PENAMBAHAN GLUKOSA PADA MEDIA DALAM PROSES  
PENYIMPANAN SPERMA BEKU TERHADAP FERTILISASI  
IKAN TAWES (*Puntius javanicus*)**

**LAPORAN SKRIPSI  
BUDIDAYA PERAIRAN**

Oleh :  
**R. RIZQI WIBOWO**  
0210853001

**Dosen Penguji I**

**(Ir. AGOES SOEPRIJANTO, MS)**  
TANGGAL :

**Dosen Penguji II**

**(Ir. ABDUL RAHEM FAQIH, MS)**  
TANGGAL :

**Menyetujui,**

**Dosen Pembimbing I**

**(Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS)**  
TANGGAL :

**Dosen Pembimbing II**

**(Ir. M. RASYID FADHOLI, M. Si)**  
TANGGAL :

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan  
Manajemen Sumberdaya Perairan**

**(Ir. ABDUL QOID, MS)**  
TANGGAL :

## KATA PENGANTAR

Puji syukur yang tak terhingga kepada Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan segalanya yang menjadikan penulis dapat melakukan penelitian sampai selesai serta dapat merampungkan penulisan skripsi ini. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya

Penulis menyadari bahwa laporan ini ada dengan dukungan banyak pihak oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih banyak kepada:

- ☞ Bapak Ir. Maheno Sri Widodo, MS selaku dosen pembimbing I dan atas bantuannya dalam penulisan skripsi
  - ☞ Bapak Ir. M. Rasyid Fadholi, M.Si selaku dosen pembimbing II dan atas bantuannya dalam penulisan skripsi juga selaku Kepala Laboratorium Stasiun Percobaan Budidaya Ikan Air Tawar Universitas Brawijaya
  - ☞ Ibu Drh. Sarastina selaku kepala Lab Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari beserta seluruh stafnya yang membantu penelitian ini
  - ☞ Om Udin, Tante Iwin dan Tante Diah atas bantuannya selama ini
- Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini berguna dan bermanfaat untuk bidang pendidikan dan untuk usaha pengembangan dunia perikanan.

Malang , 08 Maret 2007

**\*Penulis\***

## RINGKASAN

**R. RIZQI WIBOWO** Pengaruh Penambahan Glukosa Pada Media Dalam Proses Penyimpanan Sperma Beku Terhadap Fertilisasi Ikan Tawes (*Puntius javanicus*) (di bawah bimbingan **Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS** dan **Ir. M. RASYID FADHOLI, M.Si.**).

---

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan glukosa pada proses penyimpanan sperma beku terhadap fertilisasi spermatozoa ikan tawes (*Puntius javanicus*). Penelitian ini dilaksanakan di di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB), Singosari, Malang dan di Stasiun Percobaan Budidaya Ikan Air Tawar Sumberpasir, Malang pada bulan Agustus-Desember 2006.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Sebagai perlakuan adalah perbedaan penambahan dosis glukosa pada media pengencer yaitu perlakuan A = 0,7%, B = 0,8%, C = 0,9%, D = 1,0% dan E = 1,1%. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur, digunakan analisis keragaman atau uji F. Apabila nilai F berbeda nyata atau sangat berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Parameter utama yang diukur dalam penelitian ini adalah persentase fertilisasi pasca pencairan. Parameter penunjang yang diukur adalah kualitas sperma meliputi; volume, warna, pH, Konsentrasi, *motilitas*, Lama gerak dan *viabilitas* dan parameter kualitas air yang meliputi: oksigen terlarut, suhu, pH dan amonia.

Berdasarkan dari hasil penelitian didapatkan bahwa penambahan dosis glukosa pada perlakuan C = 0,9 % memberikan nilai yang terbaik untuk persentase *motilitas*,

fertilisasinya dan memberikan pengaruh yang signifikan dibandingkan dengan antar tiap perlakuan. Berdasarkan hasil analisa keragaman diperoleh hasil bahwa perbedaan dosis penambahan glukosa mempengaruhi daya fertilisasinya.

Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian secara keseluruhan menunjukkan bahwa nilai kualitas air masih berada pada kisaran yang mendukung bagi kehidupan ikan tawes kecuali kadar amonia. Kadar amonia selama penelitian berkisar antara 0,16 sampai 0,21 ppm. Dalam kondisi seperti ini sangat berbahaya dan dapat menyebabkan kematian pada ikan. Kisaran kualitas air pada saat penelitian yaitu: DO 6,87-7,20 ppm ; suhu 28-30°C ; pH 6,06-7,37 dan amonia sebesar 0,16-0,21 ppm.

Dari hasil penelitian dapat disarankan untuk pengawetan sperma beku ikan tawes (*Puntius javanicus*) dengan menggunakan media pengencer *Tris aminomethane* akan lebih baik bila ditambah glukosa dengan dosis sebesar 0,95 %, karena dosis tersebut dapat menghasilkan daya fertilisasi yang terbaik. Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya mengoptimalkan faktor kualitas telur dan kualitas air agar menghasilkan daya tetas telur yang tinggi. Dan agar usaha pembenihan ikan tawes (*Puntius javanicus*) ini dapat dilakukan setiap saat, juga disarankan untuk dilakukannya penelitian tentang pengawetan telur ikan tawes (*Puntius javanicus*) agar dapat mendukung tersedianya benih yang berkesinambungan.

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.5 Hipotesa .....	4
1.6 Tempat dan Waktu .....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Biologi Ikan Tawes ( <i>Puntius javanicus</i> ) .....	6
2.1.1 Klasifikasi .....	6
2.1.2 Morfologi .....	6
2.2 Biologi Reproduksi Ikan Tawes ( <i>Puntius javanicus</i> ) .....	7
2.3 Fisiologi Reproduksi Jantan .....	8
2.3.1 Spermatogenesis .....	8
2.3.2 Spermatozoa dan Seminal Plasma .....	10
2.3.3 Metabolisme Spermatozoa .....	12
2.4 Glukosa Dalam Media Ekstender Sperma .....	13
2.4.1 Glukosa .....	13
2.4.2 Metabolisme Glukosa .....	14
2.5 Pembekuan Sperma .....	16
2.5.1 Bahan Pengencer Sperma .....	16
2.5.2 Waktu Equilibrase .....	18
2.5.3 Pembekuan Sperma .....	18

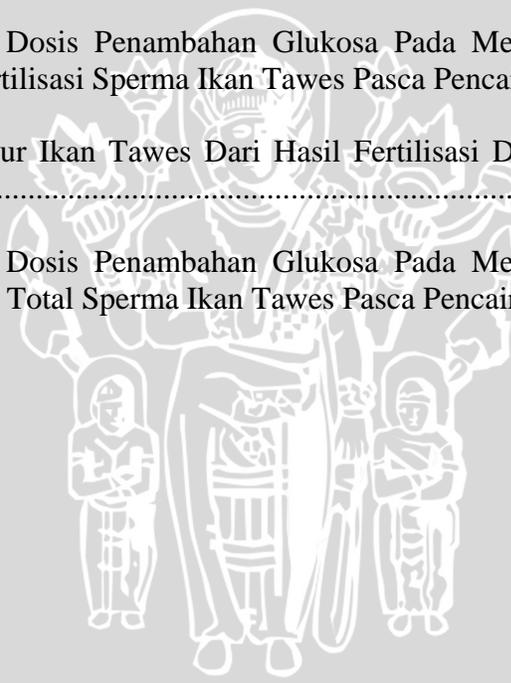
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN</b> .....	20
3.1 Materi Penelitian .....	20
3.1.1 Alat Penelitian .....	20
3.1.2 Bahan Penelitian .....	20
3.2 Metode Penelitian .....	20
3.3 Prosedur Penelitian .....	22
3.3.1 Persiapan Penelitian .....	22
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian .....	23
3.4 Parameter Uji .....	27
3.4.1 Parameter Utama .....	27
3.4.2 Parameter Penunjang.....	27
3.5 Analisa Data.....	28
<b>4 PEMBAHASAN</b> .....	29
4.1 Persentase Fertilisasi Telur Ikan Tawes ( <i>Puntius Javanicus</i> ) Hasil Pembuahan Dengan Sperma Beku Pasca Pencairan .....	29
4.1.1 Perkembangan Telur Ikan Tawes Yang Terfertilisasi Oleh Perlakuan Penambahan Dosis Glukosa Pasca Fertilisasi ...	33
4.2 Variabel Penunjang .....	36
4.2.1 Pengamatan Makroskopis Dan Mikroskopis Sperma Ikan Tawes ( <i>Puntius javanicus</i> ) .....	36
4.2.1.1 Pengamatan Makroskopis .....	36
4.2.1.2 Pengamatan Mikroskopis .....	37
4.2.2 Kualitas Air .....	42
<b>5 KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	43
5.1 Kesimpulan .....	43
5.2 Saran .....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	45
<b>LAMPIRAN</b> .....	48

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Persentase Telur Ikan Tawes ( <i>Puntius javanicus</i> ) Yang Terbuahi .....	29
2. Analisa Sidik Ragam Daya Fertilisasi Dari Penambahan Dosis Glukosa Yang Berbeda Pasca Pencairan .....	30
3. Daftar Uji BNT Daya Fertilisasi Dari Penambahan Dosis Glukosa Yang Berbeda Pasca Pencairan .....	30
4. Hasil Sidik Ragam Regresi Untuk Mengetahui Hubungan Antara Penambahan Dosis Glukosa Terhadap Daya Fertilisasi Sperma Ikan Tawes ( <i>Puntius javanicus</i> ) Beku Pasca Pencairan .....	31
5. Hasil Pemeriksaan Kualitas Sperma Segar Ikan Tawes ( <i>Puntius javanicus</i> ).....	36
6. Rata-rata Persentase Motilitas Total Dari Hasil Perlakuan Penambahan Dosis Glukosa Pasca Pencairan.....	38
7. Analisa Sidik Ragam Motilitas Total Dari Penambahan Dosis Glukosa Yang Berbeda Pasca Pencairan .....	39
8. Daftar Uji BNT Motilitas Total Dari Penambahan Dosis Glukosa Yang Berbeda Pasca Pencairan .....	39
9. Hasil Sidik Ragam Regresi Untuk Mengetahui Hubungan Antara Penambahan Dosis Glukosa Terhadap Motilitas Total Sperma Ikan Tawes ( <i>Puntius javanicus</i> ) Beku Pasca Pencairan .....	40
10. Nilai DO, Suhu, pH, dan Amonia selama penelitian .....	42

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Ikan Tawes ( <i>Puntius javanicus</i> ) .....	6
2. Proses Spermatogenesis .....	9
3. Spermatozoa .....	11
4. Rumus Bangun Glukosa.....	14
5. Siklus TCA atau <i>Krebs cycle</i> yang Disederhanakan .....	15
6. Hubungan Antara Dosis Penambahan Glukosa Pada Media Pengencer Terhadap Daya Fertilisasi Sperma Ikan Tawes Pasca Pencairan .....	31
7. Perkembangan Telur Ikan Tawes Dari Hasil Fertilisasi Dengan Sperma Perlakuan.....	34
8. Hubungan Antara Dosis Penambahan Glukosa Pada Media Pengencer Terhadap Motilitas Total Sperma Ikan Tawes Pasca Pencairan .....	40



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Telur Terfertilisasi Pasca Pencairan .....	47
2. Data Motilitas Yang Diamati Pasca Pencairan .....	53
3. Mekanisme Piruvat Dengan dan Tanpa Oksigen .....	84
4. Komposisi <i>Tris aminomethane</i> .....	85
5. Hasil Fertilisasi Menggunakan Sperma Ikan Tawes ( <i>Puntius javanicus</i> ) Alami Yang Digunakan Sebagai Pembanding Dari Hasil Perlakuan Pembekuan.....	86



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Usaha budidaya ikan air tawar di Indonesia saat ini sudah banyak dikembangkan, dari berbagai macam jenis ikan air tawar ini salah satunya adalah ikan tawes (*Puntius javanicus*). Ikan tawes tergolong jenis ikan konsumsi sangat sesuai untuk bahan pangan karena memiliki produktivitas daging yang tinggi. Jenis ikan konsumsi ini jika dibudidayakan dengan baik dapat memberikan hasil yang tinggi sehingga memberikan keuntungan yang tinggi pula (Cahyono, 2000). Anonymous (2006 a) menambahkan, hal ini dikarenakan waktu yang digunakan untuk usaha pembenihan ikan tawes relatif singkat kurang lebih 3 minggu - 1 bulan, serta pemasarannya pun mudah. Pembenihan ikan tawes dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu dengan cara pembenihan ikan di kolam, pembenihan di sawah dan pembenihan di hapa.

Untuk mendapatkan benih yang berkualitas dan jumlah yang banyak dalam pembenihan ikan tawes, perlu dipilih induk yang baik dengan ciri-ciri ; letak lubang dubur terletak relatif lebih dekat ke pangkal ekor, kepala relatif lebih kecil dan meruncing, sisik-sisiknya besar dan teratur, pangkal ekor lebar dan kokoh. Pada umumnya ikan tawes jantan mulai dipijahkan pada umur kurang lebih 1 tahun, dan induk tawes betina pada umur kurang lebih 1,5 tahun (Anonymous, 2006 a).

Penyediaan induk matang gonad yang sehat dan berkualitas merupakan faktor yang sangat menentukan dalam pengembangan usaha pembenihan ikan. Induk yang unggul akan menghasilkan benih-benih ikan yang tahan dan kebal terhadap penyakit selain itu juga mempunyai kecepatan tumbuh yang sangat baik. Akan tetapi masa pematangan gamet jantan dan gamet betina yang tidak terjadi secara bersamaan akan

mengakibatkan kesulitan di dalam pemijahan serta mengganggu langkah penyediaan benih yang sehat dan berkualitas. Salah satu cara yang dapat memberikan alternatif pemecahan masalah adalah dengan melakukan penyimpanan spermatozoa induk jantan ikan tawes (*Puntius javanicus*), sehingga dapat digunakan dalam jangka waktu lebih lama dan dapat diatur penggunaannya sesuai dengan kebutuhan.

Menurut Rustidja (2000), Keberhasilan teknik penyediaan gamet yang dilakukan dalam pembekuan spermatozoa dirasa akan sangat menguntungkan dalam usaha pengembangan, pengembangbiakan ikan. Jika teknik penyediaan gamet dalam proses pembekuan spermatozoa berhasil dan gamet dapat disimpan di luar tubuh ikan maka kesempatan memijahkan ikan akan semakin banyak. Kelebihan lain dari proses pembekuan sperma menggunakan nitrogen cair ini sangat efisien, apabila dilihat dari segi efisiensi maka proses pembekuan menggunakan *mini straw* yang disimpan pada nitrogen cair ini jelas lebih efisien jika dibandingkan dengan membawa induk ikan tawes dalam jumlah yang banyak ke suatu tempat untuk dilakukannya fertilisasi buatan.

Menurut Sutoyo (2000) dalam Shiantiningsih (2005), untuk mendapatkan spermatozoa yang dapat bertahan di luar tubuh dalam jangka waktu yang lama perlu ditambahkan bahan-bahan pengencer yang dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa tersebut. Toelihere (1981), menambahkan berbagai macam bahan pengencer telah lama digunakan untuk mengencerkan dan menyimpan sperma baik jangka pendek maupun jangka panjang. Penggunaan *Tris aminomethane* sebagai media pengencer berhasil menunjukkan manfaat sebagai penyangga untuk meningkatkan daya tahan hidup dan fertilisasinya. Selain itu zat-zat tertentu perlu ditambahkan pula ke dalam bahan pengencer sebagai sumber energi spermatozoa untuk menjaga kelangsungan hidup.

Glukosa merupakan gula sederhana yang dapat menyediakan energi yang dapat dibutuhkan spermatozoa karena spermatozoa membutuhkan energi untuk bertahan hidup di luar tubuh (Tang, 2004). Pembentukan *ATP* (*Adenosin trifosfat*) dan *ADP* (*Adenosin difosfat*) juga harus terus dilakukan supaya motilitas dapat terus berlangsung dan penambahan glukosa dalam proses pengenceran berperan sangat penting untuk mendukung daya hidup spermatozoa (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Mengingat ikan tawes ini merupakan salah satu jenis ikan yang berpotensi untuk dibudidayakan maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh penambahan glukosa pada media dalam proses penyimpanan sperma beku terhadap fertilisasi sperma ikan tawes. Karena dengan demikian dapat diperoleh hasil atau cara yang lebih praktis untuk memenuhi kebutuhan penyediaan benih unggul ikan tawes tersebut.

## 1.2 Perumusan Masalah

Sperma ikan setelah dikeluarkan dari tubuh akan mengalami penurunan kualitas bahkan kematian. Penurunan kualitas sperma dapat ditekan dengan jalan pengawetan yang dapat dilakukan melalui pengenceran, pendinginan ataupun proses pembekuan. Penambahan pengencer pada proses pengawetan sperma hanya mampu menciptakan kondisi yang sesuai bagi spermatozoa dan mengandung sumber energi yang sedikit untuk motilitas spermatozoa.

Glukosa merupakan salah satu sumber energi bagi spermatozoa untuk dapat mempertahankan kehidupannya (Tang, 2004). Energi yang terkandung dalam glukosa hanya dapat digunakan dalam bentuk *ATP*. Pemecahan glukosa untuk mendapatkan energi dapat dilakukan melalui proses *glikolisis* dalam kondisi *anaerob* selanjutnya apabila terdapat oksigen, maka proses untuk mendapatkan energi diteruskan melalui

*siklus krebs* dan proses terakhir untuk mendapatkan energi yaitu melalui transport elektron dalam kondisi *aerob*, proses ini dinamakan *fosforilasi oksidatif*, hasil akhir dari metabolisme glukosa adalah karbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ) dan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) (Almaister, 2004).

Seperti yang dikatakan oleh Harjopranjoto (1995), bahwa lama hidup spermatozoa sangat tergantung pada persediaan energi yang terkandung di dalam tubuhnya. Masalah utama dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh penambahan glukosa sebagai sumber energi yang dicampur dengan media pengencer terhadap daya fertilisasi sperma ikan tawes yang dibekukan.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penambahan glukosa pada proses penyimpanan sperma beku terhadap daya fertilisasi spermatozoa ikan tawes (*Puntius javanicus*).

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan bahan pertimbangan penambahan glukosa secara langsung dalam proses penyimpanan sperma beku yang dapat mempengaruhi produksi benih unggul berkualitas sehingga budidaya intensif ikan tawes dapat dilaksanakan secara berkesinambungan tanpa harus mendapatkan halangan dari ketersediaan benih yang terbatas. Selain itu dapat dijadikan sebagai bahan dasar bagi penelitian yang akan datang.

### 1.5 Hipotesa

Hipotesa dalam penelitian ini adalah :

Ho : Pengaruh penambahan glukosa pada media dalam proses penyimpanan sperma beku tidak berpengaruh terhadap fertilisasi ikan tawes.

H<sub>1</sub>: Pengaruh penambahan glukosa pada media dalam proses penyimpanan sperma beku akan berpengaruh terhadap fertilisasi ikan tawes.

### 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB), Singosari, Malang dan di Stasiun Percobaan Budidaya Ikan Air Tawar Sumberpasir, Malang. Waktu pelaksanaan penelitian dilakukan mulai bulan Agustus 2006 – Desember 2006.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Ikan Tawes (*Puntius javanicus*)

#### 2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi ikan Tawes menurut Saanin (1984), adalah sebagai berikut :

Phylum : Chordata

Sub Phylum: Vertebrata

Class : Pisces

Sub Class : Teleostei

Ordo : Ostariophysi

Family : Cyprinidae

Genus : *Puntius*

Species : *Puntius javanicus*



**Gambar 1.** Ikan tawes (*Puntius javanicus*). (Anonymous, 2006 b).

#### 2.1.2 Morfologi

Menurut Suhaili (1986), Ikan tawes mempunyai bentuk tubuh sedikit gepeng dan badannya relatif tinggi dengan kepala agak pendek, memiliki sepasang sungut pada sudut rahang dan ekor simetris, kepala relatif lebih kecil dan meruncing, sisik-sisiknya besar dan teratur, tubuhnya ditutupi oleh sisik berwarna putih keperak-perakan dan pada bagian punggung berwarna berwarna gelap kehijau-hijauan.

Ikan tawes juga memiliki sebuah sirip punggung (dorsal), sepasang sirip dada (pektoral), sepasang sirip perut (ventral), sebuah sirip anal dan sebuah sirip ekor (caudal). Sirip dada dan sirip ekor hanya memiliki jari-jari lunak. Sirip punggung memiliki 4 jari-jari keras dan 8 jari-jari lunak. Sirip anal memiliki 3 jari-jari keras dan 6 jari-jari lunak, kepalanya kecil, punggung sedikit melengkung keatas. (Anonymous, 2006 a). Kemudian Sumantadinata (1981), mengatakan bahwa usaha pembenihan ikan tawes cukup menguntungkan dan pembenihan ikan Tawes pun mudah dibudidayakan dimana saja dan sifat ikan tawes relatif tahan terhadap berbagai kondisi lingkungan.

## 2.2 Biologi Reproduksi Ikan Tawes (*Puntius javanicus*)

Ikan tawes memiliki keistimewaan antara lain ; pertumbuhannya cepat, tahan terhadap serangan penyakit dan sangat mudah untuk dibudidayakan. Pemilihan induk ikan tawes yang mempunyai karakteristik bibit unggul harus di lakukan dengan baik dan benar agar tujuan reproduksi dapat tercapai dengan baik. Menurut Sumantadinata (1981), pada umumnya ikan tawes betina dapat mulai dipijahkan sekitar umur setengah tahun, sedangkan ikan tawes jantan berumur satu tahun dan berat badan ikan tawes minimal harus 250-350 gram per ekor. Selama dipelihara dengan baik sebagai induk, berat individu ikan tawes dapat mencapai 600-900 gram atau sudah mencapai umur sekitar satu sampai dua tahun.

Dalam melakukan seleksi pada induk ikan tawes sebaiknya dilakukan pula seleksi bertahap berdasarkan kecepatan tumbuhnya. Setelah calon induk berumur sekitar enam bulan barulah dilanjutkan dengan seleksi morfologis, yaitu memilih berdasarkan ciri-ciri tubuh yang baik berdasarkan pengalaman. Ciri morfologis itu pada umumnya

adalah sebagai berikut ; kepala relatif kecil dan meruncing, sisik teratur dan besar-besar, letak lubang anus relatif dekat kepada pangkal ekor, jinak (Sumantadinata, 1981).

Untuk membedakan ikan jantan dan betina, bila ikan tawes sudah dewasa, yang paling mudah dan meyakinkan adalah dengan cara memijat bagian perut perlahan dari depan kearah anus. Ikan jantan akan mengeluarkan cairan berwarna putih susu, yaitu spermanya sedangkan pada ikan tawes betina akan mengeluarkan telur. Sebenarnya ada juga tanda-tanda lain seperti perut ikan betina lebih besar dan lunak, pipinya (*operculum*) lebih halus dibandingkan ikan jantan.(Anonymous, 2006 a).

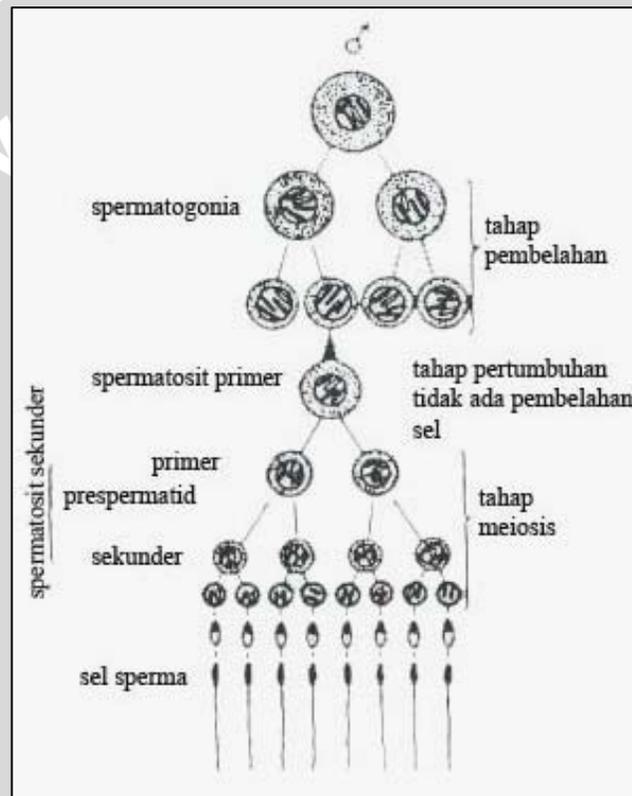
Pada umumnya organ reproduksi teleostei jantan merupakan sepasang testis yang memanjang sepanjang rongga badan di bawah gelembung renang dan di atas usus serta dilengkapi dengan saluran testikuler. Testis tersebut ditopang secara memanjang oleh jaringan pengikat yang disebut *mesenteries* (*mesorchia*). Jaringan testis terdiri dari banyak sekali rongga yang tidak teratur, terdiri atas *tubula longitudinalis*. Testis mempunyai sel penghasil spermatozoa yang berupa *cyste seminiferus* yang berdiferensiasi secara berhubungan. Sel-sel sertoli yang mengelilingi sel-sel penghasil sperma mempunyai fungsi nutritif. (Richter dan Rustidja, 1988).

## 2.3 Fisiologi Reproduksi Jantan

### 2.3.1 Spermatogenesis

Menurut Fujaya (2004), perkembangan gamet jantan dari spermatogonium menjadi spermatozoa melalui dua tahap, yakni *spermatogenesis* dan *spermiogenesis*. *Spermatogenesis* adalah tahap perkembangan spermatogonium menjadi spermatid, sedangkan *spermiogenesis* adalah metamorfosa spermatid menjadi spermatozoa. Awal *spermatogenesis* ditandai dengan berkembangbiaknya spermatogonia beberapa kali

melalui pembelahan mitosis, untuk memasuki tahap spermatosit primer. Selanjutnya terjadi pembelahan meiosis, dimulai dengan kromosom berpasangan, yang diikuti dengan duplikasi membentuk tetraploid ( $4n$ ). Satu spermatosit primer tetraploid membentuk dua spermatosit sekunder yang diploid ( $2n$ ). Satu spermatosit sekunder diploid membelah diri menjadi dua spermatid haploid ( $n$ ). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Proses Spermatogenesis (Fujaya, 2004).

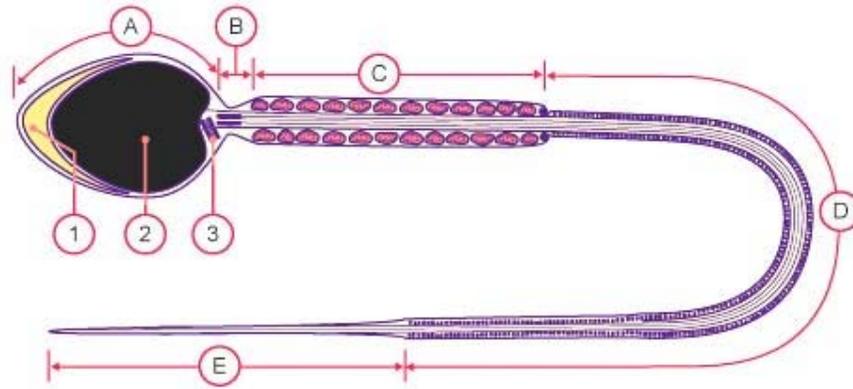
Spermatid ini akan bermetamorfose menjadi gamet yang bergerak aktif, atau disebut dengan spermatozoa atau sel sperma. Spermatozoa atau sel sperma ini akan disimpan dalam testes. Spermatozoa yang disimpan di testes berada dalam keadaan istirahat (dorman) sampai induk jantan siap memijah. Proses metamorfose dari spermatid inilah yang disebut dengan *spermiogenesis* (Sumantadinata, 1981) dalam Rustidja, (2000).

Testis berfungsi sebagai alat kelamin utama pada hewan jantan yang mempunyai dua fungsi, yaitu untuk menghasilkan spermatozoa dan yang kedua sebagai *endokrinologis* atau menghasilkan hormon jantan atau testosteron (Hafez, 2000).

### 2.3.2 Spermatozoa dan seminal plasma

Menurut Hoar (1969) dalam Tang (2004), spermatozoa atau sperma adalah gamet jantan yang dihasilkan oleh testis. Sperma dari beberapa spesies ikan famili Cyprinidae bewarna putih kekuning-kuningan menyerupai susu. Cairan sperma adalah larutan spermatozoa yang berada dalam cairan *seminal* yang dihasilkan oleh hidrasi testis. Campuran cairan *seminal* (*seminal plasma*) dengan spermatozoa disebut *semen*, dimana didalam setiap semen terdapat jutaan spermatozoa.

Bentuk struktur spermatozoa ikan yang sudah matang secara garis besar terdiri dari kepala, leher dan ekor (flagela). Inti spermatozoa terdapat pada bagian kepala. Lagler (1972) dalam Tang (2004). Menurut Tang (2004), Kepala spermatozoa secara umum berbentuk bulat atau oval. Pada ikan mas, nila dan tawes, kepala sperma berbentuk oval dan sedikit memanjang dimana perbandingan panjang kepala sedikit lebih besar dibanding leher kepala. Spermatozoa pada ikan teleostei umumnya ukuran panjang kepala sperma antara 2-3  $\mu\text{m}$  dan panjang total dari spermatozoanya antara 40-60  $\mu\text{m}$ . Menurut Stoss dan Donaldson (1982) dalam Rustidja (2000), Bagian kepalanya dan bagian leher mengalami reduksi, ekornya memanjang 10-20 kali dari panjang ekornya. Risnawati (1995) dalam Tang (2004) menyebutkan bahwa ukuran lebar kepala dan panjang ekor sperma ikan tawes yakni : Lebar kepala  $1,496 \mu\text{m} \pm 0,189 \mu\text{m}$  dan panjang ekor  $31,147 \mu\text{m} \pm 2,057 \mu\text{m}$ . Untuk gambar spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 3. berikut ini.



**Gambar 3.** Spermatozoa (Anonymous, 2006 b).

Keterangan : 1). Akrosom 2). Inti 3). Sentriol

A). Kepala B). Leher C). Bagian tengah D). Bagian utama E). Ekor

Menurut Salisbury dan Van Denmark (1985), Penilaian konsentrasi spermatozoa sangat penting karena dipakai sebagai kriteria penentuan kualitas *semén* dan menentukan tingkat pengenceran. Bearden dan Fuquay (1984), dalam Silfianansyah (2004), menyatakan Sperma ikan sangat kecil ukurannya sehingga tiap mililiter semen diperkirakan mengandung  $10\text{-}20 \times 10^9$  sel spermatozoa, tergantung pada kepadatan semennya.

Menurut Stoss dan Donaldson (1982) dalam Rustidja (2000), di dalam testis dan dalam *seminal plasma*, spermatozoa bersifat *immoile* sehingga tak mampu untuk melakukan fertilisasi. Induksi pergerakan spermatozoa dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan (perairan) selama musim pemijahan. Untuk ikan air tawar aktivasi spermatozoa terjadi jika perairan disekitarnya bersifat hipotonik.

Piironen dan Hyvarinen (1983) dalam Fujaya (2004) menyebutkan komposisi cairan spermatozoa jenis ikan Teleostei yakni mengandung : 1). Glukosa 2). Fruktosa 3). Asam sitrat 4). Gliserol 5). Lipid.

Fruktosa dan glukosa merupakan sumber energi utama bagi spermatozoa, sehingga motilitas spermatozoa dapat meningkat (Kruger *et al.*, (1984) dalam Tang (2000). Diperkuat oleh Nurman (1995) dalam Tang (2004), yang melaporkan bahwa semen yang encer banyak mengandung glukosa, sehingga memberikan motilitas yang lebih baik terhadap spermatozoa. Akan tetapi dalam penelitian Scott dan Baynes (1980) dalam Tang (2004) menyatakan bahwa semen yang kental dengan konsentrasi tinggi mengandung kadar potassium lebih tinggi akan menghambat pergerakan spermatozoa, sehingga motilitasnya rendah.

Komposisi *seminal plasma* sangat penting untuk memahami fisiologi gamet ikan terutama kegunaan praktis, seperti menentukan komposisi bahan pengencer dalam inseminasi buatan atau untuk proses pembekuan sperma (Billard, 1982).

### 2.3.3 Metabolisme Spermatozoa

Metabolisme adalah suatu reaksi kimia yang terjadi di dalam tubuh makhluk hidup, terdiri atas anabolisme dan katabolisme. Anabolisme adalah proses sintesis senyawa kimia kecil menjadi molekul besar sehingga membutuhkan energi, sedangkan katabolisme adalah proses penguraian molekul besar menjadi molekul kecil sehingga melepaskan energi (Fujaya, 2004).

Energi yang dihasilkan oleh serabut ekor yang berasal dari uraian Adenosine Trifosfat (*ATP*) dan Adenosine Difosfat (*ADP*) langsung dipakai untuk pergerakan spermatozoa, dimana energi yang dipakai pada proses tersebut banyak didapatkan pada ikatan fosfat (P-P). Jika persediaan P-P dalam *ATP* dan *ADP* telah habis, maka pergerakan spermatozoa berhenti dan gerakan juga berhenti, sehingga untuk menjaga motilitas, *ATP* dan *ADP* harus dibangun kembali dan untuk membangun kembali *ATP* dan *ADP* diperlukan sumber energi dari luar. Kebanyakan aktifitas faal disertai dengan

pelepasan energi uraian dari bahan organik seperti karbohidrat dan lemak. Pembentukan kembali *ATP* dapat terjadi tanpa oksigen, bila disertai glikolisis dan respirasi.

Pada proses glikolisis didalam spermatozoa terjadi suatu reaksi penguraian 6 - karbon monosakarida sederhana menjadi asam laktat. Spermatozoa menggunakan bahan yang terbentuk dari susunan 6 - karbon gula sederhana atau heksosa secara langsung hanya dalam bentuk glukosa, fruktosa ataupun manosa. Gula sederhana ini akan terurai menjadi 3 - karbon dengan kandungan asam piruvat, kemudian di hidrolisa atau di reduksi menjadi asam laktat (Salisbury dan Van Demark,1985).

Menurut Hafez (2000), proses glikolisis ini mendukung daya hidup spermatozoa dalam keadaan *anaerob* pada penyimpanan semen untuk IB (Inseminasi Buatan). Metabolisme spermatozoa dalam keadaan *anaerob* menghasilkan laktat yang semakin lama akan semakin tertimbun dan mempertinggi derajat keasaman atau menurunkan pH larutan, sehingga diperlukan bahan penyangga (*buffer*) untuk mempertahankan pH sperma.

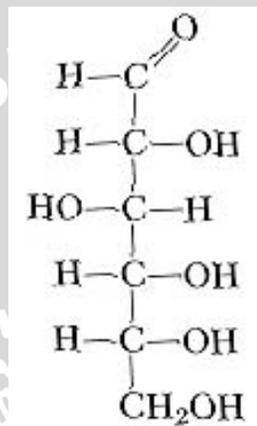
## **2.4 Glukosa Dalam Media Pengencer Sperma**

### **2.4.1 Glukosa**

Almaister (2004) dalam silfianansyah (2004), Glukosa adalah suatu gula monosakarida yang merupakan salah satu karbohidrat terpenting yang digunakan sebagai sumber energi utama mahluk hidup dan harganya relatif murah. Semua karbohidrat berasal dari tumbuhan.

Monosakarida adalah kabohidrat yang tidak dapat dipecah menjadi bentuk yang sederhana lagi, sehingga sering disebut juga dengan gula sederhana. Gula merupakan bahan bakar yang penting untuk organisme hidup, gula tidak terkonsentrasi

seperti lemak, karena gula tidak sepenuhnya tereduksi, tetapi sifat mudah larut dalam air memudahkan pengangkutan dalam cairan sel. Glukosa dibutuhkan oleh tubuh secara fisiologis. Glukosa mempunyai rumus molekul yang sama dengan fruktosa yakni  $C_6H_{12}O_6$ , tetapi berbeda rumus bangunnya. Karena jumlah atom karbon Glukosa ada 6 maka disebut heksosa (Kimbal,1993). Rumus bangun glukosa dapat dilihat pada Gambar 4. berikut ini.



**Gambar 4.** Rumus Bangun Glukosa (anonymous, 2006).

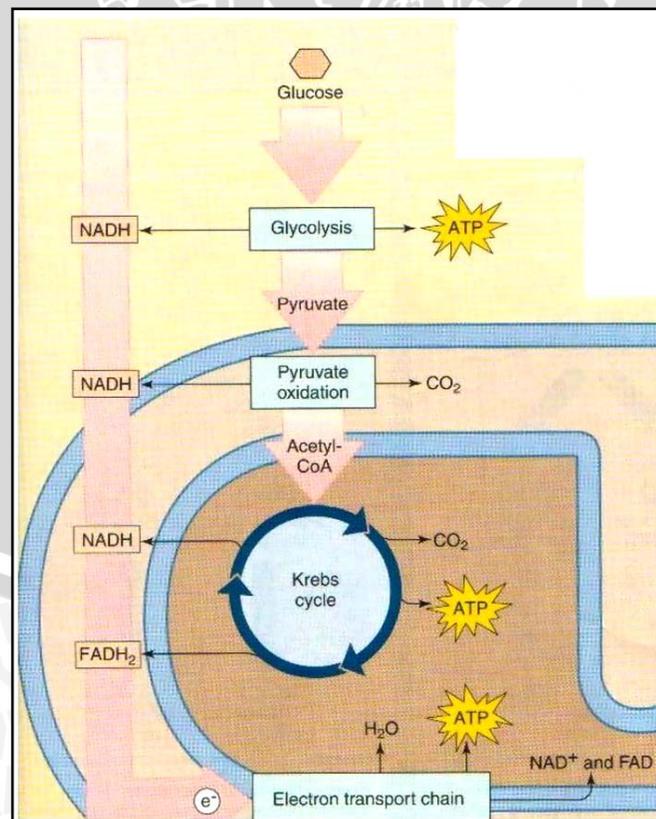
Beberapa substrat energetik seperti glukosa dan fruktosa ditemukan dalam seminal plasma dan sperma tetapi dengan jumlah yang sedikit dan pada umumnya 10 kali lebih kecil jika dibandingkan dengan mamalia (Billard, 1982). Larutan non elektrolit dalam bentuk gula, seperti fruktosa atau glukosa dapat digunakan sebagai pengencer sperma. (Tang, 2004). Glukosa dapat sebagai penghasil ATP baik dalam kondisi aerob maupun anaerob (Kimbal,1993).

#### 2.4.2 Metabolisme Glukosa

Jalur pertama yang digunakan glukosa untuk menghasilkan energi dinamakan glikolisis. Glikolisis terjadi dalam sitoplasma sel secara *anaerobik* (tanpa oksigen). Hasil akhir glikolisis adalah pemecahan glukosa yang mempunyai enam atom karbon (C) menjadi dua ikatan yang mengandung tiga atom karbon yaitu asam piruvat. Jumlah

bersih ATP yang dihasilkan melalui glikolisis adalah sebanyak 6-8 molekul. Pada tahap berikutnya diperlukan oksigen untuk melanjutkan metabolisme energi. Apabila oksigen tidak segera tersedia, piruvat akan dirubah menjadi asam laktat yang menumpuk sampai oksigen tersedia kembali. Bila sel membutuhkan energi dan tersedia oksigen (*aerob*), piruvat akan diubah menjadi asetil KoA. Reaksi selanjutnya untuk menghasilkan energi terjadi di dalam mitokondria (Almaister (2004) dalam silfianansyah (2004). Untuk lebih jelasnya reaksinya dapat dilihat pada Lampiran 3.

Menurut Almaister (2004) dalam silfianansyah (2004), Asetil KoA setelah dibentuk dari piruvat tidak dapat diubah kembali menjadi piruvat. Bila sel membutuhkan energi, asetil KoA akan melanjutkan perjalanan melalui serentetan reaksi yang dinamakan *Tricarboxylic Acid Cycle (TCA)* atau *Krebs Cycle*. Untuk reaksinya seperti pada Gambar 5 berikut ini :



Gambar 5. Siklus TCA atau *Krebs Cycle* (Raven et. al, 2005).

Rantai Transport Elektron (RTE) adalah suatu reaksi yang menggunakan oksigen untuk mengubah molekul-molekul NADH dan FADH<sub>2</sub> menjadi NAD dan FAD, air dan ATP. Proses ini dinamakan *fosforilasi oksidatif*. Hasil akhir dari RTE adalah tiga mol ATP dan satu mol air (H<sub>2</sub>O). RTE hanya dapat berlangsung dalam suasana aerobik karena NADH (*Nicotinamide adenine dinucleotida, reduksi*) dan FADH<sub>2</sub> (*Flavin adenine dinucleotida, reduksi*) hanya dapat diubah menjadi NAD (*Nicotinamide adenine dinucleotida, oksidasi*) dan FAD (*Flavin adenine dinucleotida, oksidasi*) melalui pemindahan elektronnya ke oksigen. (Almaister (2004) dalam silfianansyah (2004).

Dengan demikian produk samping metabolisme sel adalah karbondioksida (CO<sub>2</sub>) dan air (H<sub>2</sub>O). Karbondioksida dihasilkan dari siklus TCA dan air dari RTE. Glikolisis, siklus TCA, dan RTE memungkinkan sel menangkap dan menyimpan sebanyak mungkin energi kimia yang ada dalam makanan sebagai energi ATP untuk kemudian digunakan sel sesuai keperluan. Energi total yang dihasilkan dari pemecahan satu mol glukosa adalah 36-38 ATP, yaitu 6-8 ATP pada glikolisis, 6 ATP pada tahap piruvat menjadi asetil KoA dan 24 ATP. (Almaister (2004) dalam silfianansyah (2004).

## **2.5 Pembekuan Sperma**

### **2.5.1 Bahan Pengenceran Sperma**

Pemakaian bahan pengencer dalam proses pembekuan dimaksudkan untuk mengurangi aktifitas spermatozoa sehingga menghambat pemakaian energi tersebut. Berkurangnya aktifitas spermatozoa menyebabkan produksi asam laktat berkurang sehingga penurunan pH menjadi terhambat, akibatnya mengurangi pengaruh negatif terhadap kehidupan spermatozoa. (Hardjopranjoto, 1995) dalam Rustidja (2000).

Salisbury dan Vandemark (1985), mengatakan bahwa bahan pengencer yang baik harus memenuhi kriteria sebagai berikut, 1) Memberikan unsur mineral yang dibutuhkan untuk kehidupan spermatozoa; 2) Menyediakan bahan makanan sel spermatozoa untuk proses metabolisme *aerob* dan *anaerob*; 3) Memiliki lipoprotein atau lecithin untuk melindungi spermatozoa dari kejutan suhu dingin (*cold shock*); 4) Menyediakan penyangga terhadap produk akhir metabolisme yang bersifat racun terhadap spermatozoa; 5) Bebas dari substansi produk kuman-kuman atau organisme penyakit menular yang berbahaya terhadap spermatozoa.

Selanjutnya menyatakan pula bahwa bahan pengencer yang sering digunakan adalah Na sitrat. Na sitrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) berfungsi sebagai penyangga, mengikat logam berat terutama kalsium, menyebarkan lemak dari kuning telur menjadi butiran-butiran lemak yang lebih halus dan bersama kuning telur membentuk pengencer yang isotonis terhadap sel spermatozoa. Sedangkan menurut Toelihere (1981), Pengencer *Tris aminomethane* merupakan modifikasi dari Na sitrat.

*Tris aminomethane* ( $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ ) berfungsi sebagai penyangga (*buffer*) untuk mencegah perubahan pH akibat metabolisme spermatozoa berupa asam laktat, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Menurut Tolihere (1981), *Tris Aminomethane* harus ditambahkan dengan bahan-bahan sebagai berikut :

1. Kuning telur yang berfungsi sebagai pelindung spermatozoa terhadap kejutan suhu dingin dan sebagai sumber energi bagi spermatozoa karena memiliki lipoprotein / lecithin.
2. Asam sitrat sebagai penyangga dan mengikat butiran-butiran lemak di dalam kuning telur dan mempertahankan tekanan osmotik serta keseimbangan elektrolit.

3. Laktosa berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa.
4. Raffinose juga merupakan sebagai sumber energi.
5. Penicillin dan streptomisin berfungsi untuk mencegah dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme mematikan, kuman dan meningkatkan daya tahan spermatozoa.
6. Aquadest steril ini berfungsi sebagai pelarut bahan-bahan yang dijadikan pengencer sperma.
7. Gliserol berfungsi sebagai zat anti beku (*Cryoprotectant*), sehingga melindungi spermatozoa terhadap efek kematian akibat kejutan suhu dari proses pembekuan.

### 2.5.2 Waktu Equilibrasi

Waktu equilibrasi adalah waktu yang dibutuhkan sel spermatozoa untuk mengadakan keseimbangan dengan bahan pengencer yang mengandung gliserol pada rentang waktu tertentu pada suhu diatas titik beku sebelum dilakukan pembekuan (Toelihere, 1981).

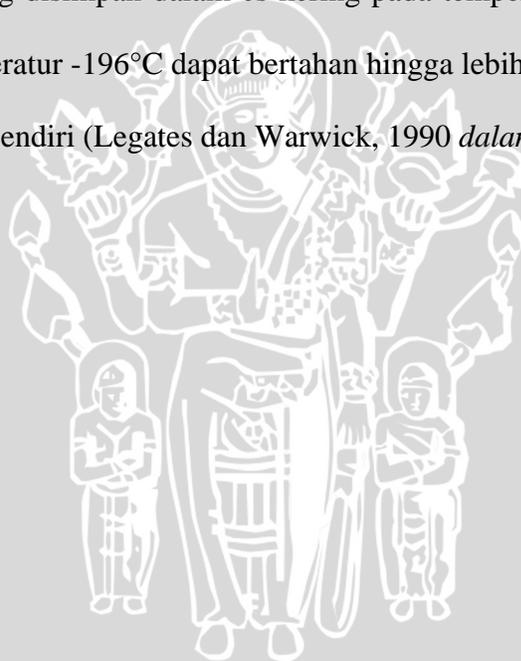
Kejutan suhu dingin (*Cold shock*) dapat mengakibatkan kerusakan sel yang tidak dapat diperbaiki. Efek *Cold shock* dapat dihindarkan dengan pendinginan secara perlahan-lahan pada suhu antara 3°C sampai 5°C. Kesempatan hidup mikroorganisme dapat dikurangi dalam semen beku yang mengandung gliserol dan mengalami equilibrasi sebelum pembekuan (Toelihere, 1981).

Equilibrasi berlangsung selama dua sampai enam jam (biasanya tiga jam) ini dihubungkan dengan daya efektivitas antibiotika setelah tiga jam terlampaui (Toelihere, 1981). Sedangkan menggunakan sitrat kuning telur dengan waktu equilibrasi yang lebih lama menghasilkan daya hidup yang lebih baik (Salisbury dan Vandemark, 1985).

### 2.5.3 Pembekuan Sperma

Pembekuan sperma dilakukan dengan menyimpan sperma pada suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  dalam nitrogen cair. Selama proses pembekuan berlangsung, spermatozoa mengalami kejutan dingin (*cold shock*). Untuk menghindari terjadinya *cold shock* selama proses pembekuan, bahan pengencer harus ditambah zat anti beku (*cryoprotectant*). Zat anti beku yang digunakan ialah gliserol, namun zat anti beku lainnya seperti DMSO (*dimethylsulfoxide*) juga dapat dipakai. Penurunan suhu tetap harus dilakukan secara perlahan – lahan dan bertahap (Rustidja, 2000).

Semen beku yang disimpan dalam es kering pada temperatur  $-79^{\circ}\text{C}$  atau dalam nitrogen cair pada temperatur  $-196^{\circ}\text{C}$  dapat bertahan hingga lebih dari 30 tahun melebihi umur biologi ternak itu sendiri (Legates dan Warwick, 1990 dalam Wulandari, 2004).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi :

Lap halus, gelas ukur, spuit plastik, pipet, tabung reaksi, erlemeyer, timbangan digital, kertas pH, kaca obyek, kaca penutup obyek, *haemocytometer*, *spectrophotometer*, kapas, tissue, mikroskop, *mini straw* (sedotan), cool top (kamar pendingin), sterilisator, burnsen, tangki (*kontainer*) nitrogen cair, jarum ose, erlemeyer, aluminium foil, lemari es, heater, thermometer, gunting, perangkat foto spermatozoa, sendok kecil, mangkok kecil, bulu ayam, aquarium, aerator, dan selang plastik, saringan, batu aerasi.

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi :

Sperma dari ikan tawes yang akan diawetkan dan telur ikan tawes, bahan pengencer yang terdiri dari *Tris aminomethane*, asam sistrat, laktosa, raffinosa, streptomisin, penisilin, aquadest, glicerol, kuning telur ayam 20% dari pengencer, alkohol 70%, glukosa 10 gram, NaCl 3%, eosin 2% 5 ml, 3 gram urea dan 4 gram NaCl.

#### 3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah observasi dibawah kondisi buatan (*artificial condition*). Kondisi tersebut dibuat dan diatur oleh peneliti dengan tujuan untuk melihat

suatu hasil yang menggambarkan hubungan sebab akibat dari variabel-variabel yang diteliti (Yitnosumarto,1993).

Dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimen, dengan mengadakan penelitian terhadap pengaruh penambahan glukosa pada proses penyimpanan sperma beku terhadap fertilisasi spermatozoa ikan tawes (*Puntius javanicus*).

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena media yang digunakan bersifat mempunyai media atau tempat percobaan yang *homogen*, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, karena media homogen maka media atau tempat percobaan tidak mempengaruhi pada respon yang diamati. Rancangan tersebut seperti model penelitian di bawah ini :

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

(Yitnosumarto,1993).

Dimana :

$Y_{ij}$  : Hasil pengamatan fertilisasi atau motilitas spermatozoa pada perlakuan penambahan glukosa ke – i ulangan ke – j.

$\mu$  : Nilai tengah umum

$\Gamma_i$  : Pengaruh penambahan glukosa ke – i

$\epsilon_{ij}$  : Pengaruh acak (kesalahan percobaan) pada perlakuan penambahan glukosa ke – i ulangan ke – j

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima macam perlakuan dosis glukosa dan satu perlakuan lagi sebagai kontrol (tanpa penambahan glukosa). semuanya dilakukan dengan tiga kali

ulangan. Dasar dari perlakuan ini didapat dari penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis yang tepat dan efektif untuk penambahan glukosa pada pengencer *Tris aminomethane*. Sebagai perlakuan adalah perbedaan jumlah dosis glukosa yang ditambahkan pada pengencer *Tris aminomethane*.

Penempatan perlakuan dilakukan secara acak, dapat dilihat sebagai berikut :

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

⇒ K = Kontrol dosis glukosa 0 % (tanpa penambahan glukosa)

⇒ A = Dosis glukosa 0,7 %

⇒ B = Dosis glukosa 0,8 %

⇒ C = Dosis glukosa 0,9 %

⇒ D = Dosis glukosa 1,0 %

⇒ E = Dosis glukosa 1,1 %

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Persiapan Penelitian

Dalam persiapan penelitian ini meliputi :

⇒ Pemilihan dan seleksi ikan uji dua minggu sebelum perlakuan stripping untuk mengambil sperma kemudian ikan uji dikumpulkan dalam kolam khusus dan diberi pakan secara rutin.

- ⇒ Sterilisasi alat-alat yang hendak digunakan selama penelitian, menyiapkan *mini straw* (sedotan) kemudian diberi label.
- ⇒ Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan pengencer adalah larutan *Tris aminomethane* dan glukosa yang ditimbang sesuai dengan kebutuhan.
- ⇒ Pembuatan pengencer dengan cara sebagai berikut :
1. Ditimbang glukosa sesuai dosis, untuk kadar glukosa 0,7% dalam pengencer *Tris aminomethane* adalah 0,07 gr glukosa dilarutkan dengan 10 ml larutan *Tris aminomethane* di dalam gelas ukur.
  2. Analog dengan kadar glukosa 0,7 %; 0,8 %; 0,9%; 1 % dan 1,1 %.
  3. Untuk perlakuan kontrol tanpa dilakukan penambahan glukosa.
  4. Diaduk dengan stirer selama 15 menit hingga homogen, lalu dimasukkan kedalam panci berisi air dan dipanaskan diatas kompor.
  5. Bila terdapat tetesan embun di dinding erlenmeyer maka diangkat dan didinginkan sampai suhu  $< 40^{\circ}\text{C}$ .
  6. Ditambahkan kuning telur sebanyak 20% dari volume total pengencer dan dihomogenkan selama 15 menit.
  7. Dimasukkan Penisilin dan Streptomisin lalu dihomogenkan selama 15 menit dan dibiarkan sampai mendingin.
  8. Disimpan didalam lemari es selama 3 hari dan diambil supernatannya dan di label pengencer A1 (Pengencer murni).
  9. Disiapkan pengencer B (A1 + Gliserol) sehari sebelum dilakukan pencampuran dengan pengencer A2 (A1 + Spermatozoa).
- ⇒ Dilakukan proses equilibrasi, pre freezing, freezing.

⇒ Persiapan fertilisasi dilakukan dengan cara menyiapkan aquarium yang telah dibersihkan dan diisi dengan air bersih serta menyiapkan saringan pemisah yang akan digunakan untuk pengelompokan antar perlakuan dalam pengamatan fertilisasi dan penetasan telur.

### 3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

#### A. Persiapan penelitian

Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian.

#### B. Pelaksanaan Penelitian.

##### ❖ Pengambilan sperma (stripping)

Induk ikan Tawes yang telah matang gonad diambil dari bak pemeliharaan induk secara hati-hati kemudian dibungkus dengan lap halus pada bagian kepala hingga ke punggung, dipegang secara terlentang dengan lubang genital menghadap ke atas. Sperma dikeluarkan dengan cara di stripping pada bagian perut ikan, dimulai dari bawah *linea lateralis* (diatas sirip perut) ke arah lubang genital. Sperma yang keluar dihisap menggunakan *sputit* plastik 5 ml, kemudian dibungkus dengan aluminium foil guna melindungi dari sinar matahari langsung dan siap untuk diencerkan.

##### ❖ Penghitungan konsentrasi sperma

Menurut Rustidja (2000), Penghitungan dilakukan dengan haemocytometer. Yakni dengan cara sperma dihisap dengan pipet sampai tanda 0,5. lalu pipet diangkat dari cairan sperma, dihisap sedikit udara ke dalam pipet, dan ujung pipet dibersihkan dengan tissue. Selanjutnya dihisap larutan NaCl 3 % sampai angka 101 yang menunjukkan standart pengencer 1 : 200, kemudian dikocok pelan-pelan dengan metode angka 8 selama 2 menit. 5 tetes atau lebih cairan dibuang dari pipet tersebut, lalu ujung pipet dibersihkan dulu dengan tissue. larutan sperma dari pipet tersebut diteteskan tepat pada

pinggir gelas penutup yang menutup gelas obyek Neubauer. Spermatozoa yang terdapat dalam 5 kotak (tiap kotak terdapat 80 ruangan kecil, sehingga ada 400 kotak dengan volume masing-masing kotak  $0,1 \text{ mm}^3$ ) yaitu 4 kotak disudut dan 1 kotak ditengah dihitung dibawah mikroskop dengan pembesaran  $10 \times 40$ . Jika jumlah spermatozoa dalam 5 kotak adalah A, maka konsentrasi spermatozoa dalam cairan tersebut adalah :

$$= (A \times 400 \times 0,1 \times 200) / (80) \text{ juta sel / mm}^3$$

$$= A \times 0,001 \text{ juta sel / mm}^3 = A \times 1 \text{ juta sel / mm}^3 = \dots\dots\dots \text{ juta sel / mm}^3$$

❖ Pengenceran sperma

Sperma yang ada dalam spuit dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi bahan pengencer. Penambahan sperma disesuaikan dengan masing-masing perlakuan. Agar sperma dan bahan pengencer tercampur, tabung reaksi digoyang perlahan sekitar 2 menit (Proses pencampuran ini dilakukan didalam cool top / kamar pendingin) kemudian perlakuan dalam tabung reaksi ini dibiarkan dalam cool top pada suhu  $3^\circ\text{C}$  sampai  $5^\circ\text{C}$  (Rustidja, 2000).

❖ Pengisian sperma kedalam *mini straw* (sedotan).

*Mini straw* kosong disterilkan selama 1 jam dalam sterilisator. Sperma yang telah diencerkan dengan penambahan glukosa sesuai dengan masing-masing perlakuan dimasukkan kedalam mini straw dengan menggunakan spuit dalam cool top. Salah satu ujung *mini straw* sudah ditutup dengan serat sintetis dan kapas steril tak menyerap dari pabrik. Pengisian dilakukan dengan cara menancapkan mini straw pada spuit 1 ml. Pengencer tersebut dihisap menggunakan spuit hingga tanda volume pada spuit tadi sudah menunjukkan 0,25 ml, lalu tutup dan tekan ujung sisi lain dari mini straw dengan pinset yang telah dipanaskan di atas burnsen, di dalam spuit disisakan udara. Setelah

selesai, masing-masing straw diseleksi, kemudian diletakkan di atas rak dan dibiarkan selama 60 menit dalam cool top (Rustidja, 2000).

❖ Waktu equilibrasi

Menurut Rustidja (2000), waktu equilibrasi adalah waktu yang diperlukan untuk proses penyesuaian suhu sari 3° sampai 5°C dalam bahan pengencer yang sudah mengandung bahan *cryoprotectant* menuju suhu pembekuan -196°C Proses ini berlangsung 2 jam, karena dihubungkan dengan efektifitas antibiotika yang bekerja selama 2 jam.

❖ Pembekuan sperma

Proses pembekuannya menggunakan nitrogen cair. Teknik pembekuannya menggunakan dua tahap, yaitu: Pertama sperma dibekukan pada suhu -140°C dengan jalan memindahkan rak yang berisi mini straw dari cool top lalu ditaruh diatas uap nitrogen cair didalam kontainer dan dibiarkan selama 10 menit; selanjutnya tahap kedua pembekuan dilanjutkan dengan cara memindahkan *mini straw* dari uap nitrogen cair ke dalam nitrogen cair bersuhu -196°C dalam kontainer (Zenichiro 2002).

❖ Thawing

Menurut Zenichiro (2002), sperma beku dalam mini straw diambil dari kontainer satu demi satu menggunakan pinset kemudian segera dicelupkan kedalam air yang bersuhu 37°C selama 10 detik. Lalu mini straw dikeringkan menggunakan tissue dan diperiksa dibawah mikroskop.

❖ Pemeriksaan kualitas sperma

Sperma dikeluarkan dari mini straw dengan menggunting ujung straw dan sedikit bagian tengahnya, lalu ditetaskan di atas objek glass yang telah dibersihkan dengan alkohol, akan tetapi sperma terlebih dahulu ditetesi dengan aquadest lalu ditutup cover

glass, hal ini dilakukan karena sperma ikan akan aktif bergerak apabila bersentuhan dengan air. Kemudian diamati di bawah mikroskop (Zenichiro 2002).

#### ❖ Fertilisasi

Dilakukan fertilisasi setelah sperma dalam *mini straw* di thawing terlebih dahulu lalu sperma yang telah dicairkan dicampur dengan telur dari ikan tawes yang telah disiapkan. Dihitung rata-rata telur yang telah dibuahi dan daya tetas telur yang terbuahi selama 3-24 jam setelah fertilisasi (Rustidja, 2000).

### 3.4 Parameter uji

#### 3.4.1 Parameter utama

Parameter utama yang menjadi tolok ukur dalam mengetahui kualitas dari sperma ikan yang diawetkan dapat dilakukan dengan menguji kemampuan dari sperma tersebut untuk membuahi dan menjadikan telur yang terbuahi tersebut menetas menjadi larva ikan adalah:

#### ❖ Fertilisasi

Fertilisasi adalah kemampuan dari sperma ikan yang telah diawetkan untuk mampu membuahi telur. Telur yang terbuahi dan yang tidak terbuahi dihitung kemudian dilanjutkan dengan menghitung persentase fertilisasinya dengan rumus :

$$= \frac{\Sigma \text{ telur yang terbuahi}}{\Sigma \text{ total telur}} \times 100 \%$$

(Rustidja, 2000).

### 3.4.2 Parameter Penunjang

Ada beberapa parameter penunjang yang perlu diamati untuk mengetahui kualitas dari sperma. Setelah semen tertampung dalam spuit lalu diambil sampelnya untuk dilakukan pengamatan semen segar, baik secara makroskopis maupun mikroskopis antara lain ; volume, warna, pH, motilitas, lama gerak, konsentrasi dan prosentase hidup spermatozoa. Dan kualitas air meliputi; DO, suhu, pH dan amonia.

### 3.5 Analisa Data

Yitnosumarto (1993), menyatakan bahwa data yang didapatkan dilakukan uji barlet untuk mengetahui keragaman data tiap perlakuan sehingga dapat diketahui homogen atau tidaknya data yang didapatkan. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur (variabel tidak bebas) digunakan analisa keragaman atau uji F sesuai dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Apabila nilai F berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*) dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menemukan perlakuan yang memberikan respon terbaik pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%). Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antar perlakuan dengan respon parameter yang diukur dilakukan dengan analisa regresi yang bertujuan untuk menentukan sifat dan fungsi regresi yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan yang terbaik pada respon. Untuk perhitungan analisa data dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2.

## 4 PEMBAHASAN

### 4.1 Persentase Fertilisasi Telur Ikan Tawes (*Puntius javanicus*) Hasil Pembuahan Dengan Sperma Beku Pasca Pencairan.

Hasil fertilisasi telur ikan tawes (*Puntius javanicus*) yang terbuahi dengan sperma beku yang telah disimpan dalam nitrogen cair dengan melakukan penambahan glukosa pada media pengencer dengan dosis A (0,7%), B (0,8%), C (0,9%), D (1,0%), E (1,1%) sebagaimana tertera pada tabel 1. berikut :

**Tabel 1.** Persentase telur ikan tawes (*Puntius javanicus*) yang terbuahi.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	20	28	17	65	21,67
B	26	29	25	80	26,67
C	40	37	43	120	40,00
D	36	31	40	107	35,67
E	31	30	32	93	31,00
Total	-	-	-	465	151,01
K = 0 %	-	-	-	-	-

Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa penambahan glukosa pada perlakuan C 0,9% memberikan nilai rata-rata dalam kemampuan sperma untuk melakukan pembuahan terbaik yaitu sebesar 40,00 % dibandingkan dengan perlakuan lain.

Perhitungan analisa sidik ragam daya fertilisasi dari penambahan glukosa dengan menggunakan uji keragaman model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Setelah dilakukan uji statistik pada Lampiran 1 maka diperoleh bahwa nilai F hitung lebih besar dari nilai F 5% dan F 1% yang artinya perlakuan ini berbeda sangat nyata terhadap tiap tiap perlakuan pada Tabel 2. Hal ini berarti menerima  $H_1$  dan menolak  $H_0$ .

**Tabel 2.** Analisa sidik ragam daya fertilisasi dari penambahan dosis glukosa yang berbeda pasca pencairan.

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	4	626,00	156,50	11,68**	3,48	5,99
2. Acak	10	134,00	13,40			
Total	14	760,00				

(\*\*) = Berbeda sangat nyata

Untuk mengetahui tingkat perbedaan masing-masing perlakuan, maka dilakukan pengujian BNT (Beda Nyata Terkecil) seperti yang tertera pada lampiran 1. dan pada tabel 3 berikut ini.

**Tabel 3.** Daftar uji BNT daya fertilisasi dari penambahan dosis glukosa yang berbeda pasca pencairan.

Perlakuan	A = 21,67	B = 26,67	E = 31,00	D = 35,67	C = 40,00	Notasi
A = 21,67	-					a
B = 26,67	5,00 <sup>ns</sup>	-				ab
E = 31,00	9,33*	4,33 <sup>ns</sup>	-			bc
D = 35,67	14,00**	9,00*	4,67 <sup>ns</sup>	-		cd
C = 40,00	18,33**	13,33**	9,00*	4,33 <sup>ns</sup>	-	d

(ns) = Tidak berbeda nyata

(\*) = Berbeda nyata

(\*\*) = Sangat berbeda nyata

Dari daftar BNT tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa perlakuan C (0,9%) tidak berbeda dengan perlakuan D (1,0%) akan tetapi berbeda dengan perlakuan A (0,7%), B(0,8%) dan E(1,1%).

Untuk mengetahui pola hubungan antara penambahan dosis glukosa yang berbeda terhadap daya fertilisasi sperma ikan tawes (*Puntius javanicus*) maka dilakukan menggunakan uji keragaman model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Setelah dilakukan uji statistik analisa regresi pada Lampiran 1 dan Tabel 4 berikut ini.

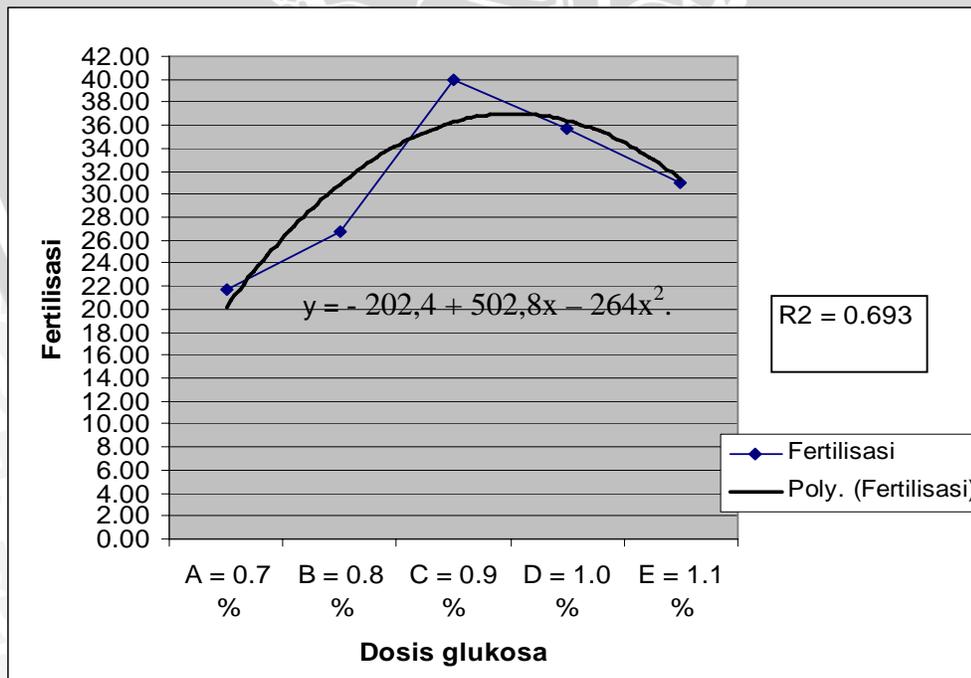
**Tabel 4.** Hasil sidik ragam regresi untuk mengetahui hubungan antara dosis penambahan glukosa terhadap daya fertilisasi sperma ikan tawes (*Puntius javanicus*) beku pasca pencairan.

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	626,00	-	-	-	-
Linear	1	229,63	229,63	17,66**	4,96	10,04
Kuadratik	1	293,36	293,36	22,57**		
Kubik	1	22,53	22,53	1,73 <sup>ns</sup>		
Kuartik	1	80,48	80,48	6,19*		
Acak	10	130,00	13,00			
Total	14					

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

Pada tabel sidik ragam diatas, pola kuadratik lebih sesuai untuk mencari  $R^2$  karena mempunyai nilai yang lebih besar dibandingkan dengan nilai pola linier. Maka didapatkan persamaan regresi kuadratiknya  $Y = -202,4 + 502,8x - 264x^2$ .

Untuk lebih jelasnya hubungan antara perlakuan penambahan dosis glukosa yang berbeda pada media dengan daya fertilisasi sperma ikan tawes setelah dibekukan pada tiap perlakuan selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 6. berikut ini.



**Gambar 6.** Hubungan antara dosis penambahan glukosa pada media pengencer terhadap daya fertilisasi sperma ikan tawes pasca pencairan.

Berdasarkan gambar di atas terlihat bahwa dengan semakin tinggi dosis glukosa yang diberikan mengakibatkan adanya penurunan nilai setelah melalui titik maksimum dan dari kurva diatas didapatkan nilai optimum untuk penambahan dosis glukosa pada 0,95 % dan mencapai hasil fertilisasinya sebesar 37. Akan tetapi dengan dosis glukosa yang berlebih ternyata mengakibatkan kemampuan hidup dari spermatozoa akan menurun hal ini dikarenakan media pengencer tidak isotonis lagi atau pengencer yang digunakan menjadi lebih kental. Wulandari (2004) juga berpendapat peningkatan dosis glukosa yang berlebih diduga akan mengakibatkan media ekstender menjadi hipertonik (larutan yang tekanan osmosisnya menjadi lebih tinggi), sehingga mengakibatkan air sel akan ke luar atau terjadi plasmolisis dan menyebabkan kematian.

Tang (2004) mengatakan, glukosa merupakan salah satu sumber energi bagi spermatozoa ikan. Kadar glukosa 0,95% merupakan dosis yang optimum untuk digunakan sebagai cadangan makanan atau sebagai sumber energi untuk metabolisme dan pergerakan spermatozoa ikan tawes (*Puntius javanicus*). Apabila penambahan glukosa melebihi nilai maksimum diduga akan menyebabkan media pengencer tidak isotonis lagi atau pengencer yang digunakan menjadi lebih kental.

Lama hidup spermatozoa pasca pencairan sangat tergantung pada persediaan energi yang terkandung di dalam tubuhnya, maka perlu dilakukan penambahan glukosa pada media untuk memberikan energi tambahan agar dapat menaikkan motilitas spermatozoa juga dapat meningkatkan daya fertilisasinya. Menurut Stoss (1983) dalam Rustidja (2000) bahwa persentase motilitas spermatozoa pasca pencairan berhubungan dengan hasil fertilisasinya. Akan tetapi menurut Harvey dan Hoar (1979) dalam Rustidja (2000) berpendapat bahwa sesungguhnya motilitas spermatozoa tidak menjamin terjadinya pembuahan (fertilisasi), tetapi spermatozoa yang tidak bergerak tidak akan

mampu membuahi sel telur. Motilitas spermatozoa yang tinggi akan menghasilkan daya fertilisasi telur yang tinggi pula. Motilitas spermatozoa yang rendah menyebabkan spermatozoa kehilangan daya gerak untuk menembus *microphyl* dan akhirnya kehilangan kemampuan untuk membuahi sel telur.

Proses masuknya spermatozoa kedalam sel telur melalui *microphyl* hanya berlangsung antara 45 sampai 60 detik, kemudian *microphyl* tertutup. Agar fertilisasi dapat terjadi secara optimum dalam penelitian ini ditambahkan larutan penyubur dengan melarutkan 3 gram urea dan 4 gram NaCl ke dalam satu liter air. Pemberian larutan penyubur ini diberikan 20 persen dari volume telur. Menurut Richter dan Rustidja (1985) dalam Rustidja (2000) menyatakan pergerakan spermatozoa dalam larutan penyubur ini dapat berlangsung selama 20 sampai 25 menit.

#### 4.1.1 Perkembangan Telur Ikan Tawes Yang Terfertilisasi Oleh Perlakuan Penambahan Dosis Glukosa Pasca Fertilisasi.

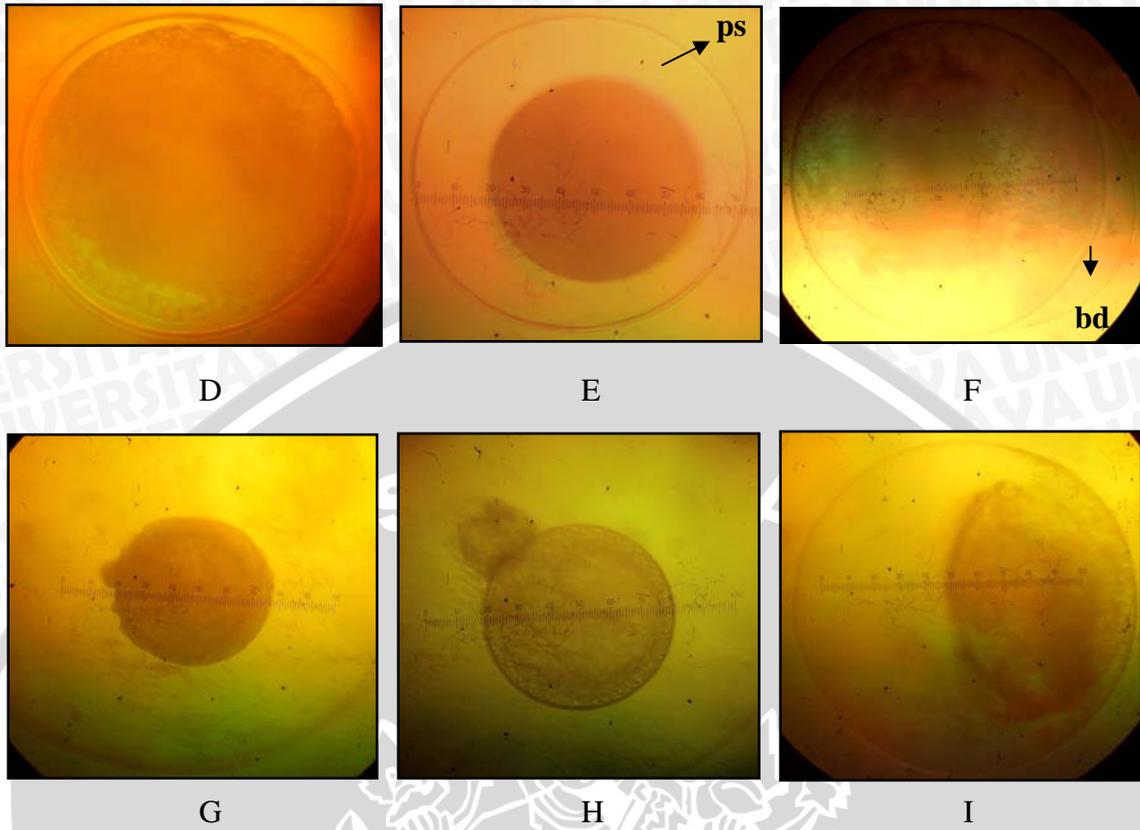
Pembuahan atau disebut juga dengan fertilisasi adalah proses bergabungnya inti sperma dengan inti sel telur hingga membentuk zigot. Dari hasil penelitian didapat data perkembangan telur ikan tawes pasca fertilisasi dapat dilihat pada Gambar 7. berikut ini.



A

B

C



**Gambar 7.** Perkembangan telur ikan tawes dari hasil fertilisasi dengan sperma perlakuan.

Keterangan gambar :

A : Telur tanpa sperma

B : Pengamatan 5 menit-1

C : Pengamatan 5 menit-2

D : Pengamatan 5 menit-3

E : Pengamatan 10 menit-1

F : Pengamatan 10 menit-2

G : Pengamatan 10 menit-3

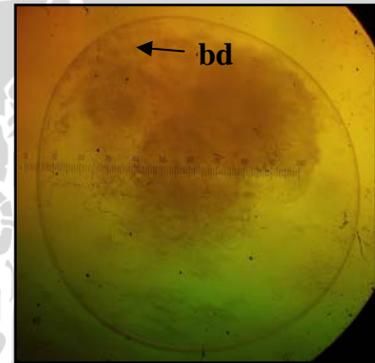
H : Pengamatan 10 menit-4

I : Pengamatan 15 menit-1

J : Pengamatan 15 menit-2

ps : Perivitelline space

bd : Blastodisc



J

Dari gambar di atas dapat dilihat adanya proses fertilisasi atau pembuahan oleh spermatozoa beku dari perlakuan penelitian ini. Telur kontrol pada gambar diatas ialah telur ikan tawes sebelum dilakukan proses fertilisasi. Setelah dilakukan proses fertilisasi telur diamati dibawah mikroskop pada menit ke 5 pertama, kedua, ketiga. Pada menit ke

5 kedua atau 10 menit dari proses fertilisasi, lapisan *perivitellin* terlihat dengan jelas. Hal ini berlanjut hingga pada menit ke 10 pertama atau 25 menit dari proses fertilisasi (pada gambar E) dari gambar tersebut dapat dilihat bahwa lapisan *perivitellin* semakin melebar dan kuning telur semakin menuju ke kutub animal. Pada gambar 7 (F) Setelah 35 menit pasca fertilisasi telur berkembang hingga membentuk ruang *blastodisc* pada kutub animal. Dari hasil fertilisasi oleh sperma beku perlakuan ini tidak sampai mengalami fase pembelahan sel, akan tetapi tanda dari sperma beku dari perlakuan ini sudah memfertilisasi dapat dibuktikan pada gambar (F). Hasil ini diperkuat oleh pendapat Yamamoto (1962) fase fertilisasi telur dimulai pada 3 menit setelah fertilisasi, Telur terus berkembang akibat rangsangan oleh spermatozoa yang melalui permukaan telur dan masuk dalam *microphyl* dan aktivasi sel spermatozoa dimulai hingga membentuk lapisan *perivitellin*. Lalu fase selanjutnya disebut fase *blastodisc*, berpindah ke arah yang berhubungan satu dengan lainnya ke tengah pada kutub animal. Fase *blastodisc* ini berlangsung pada 30 menit setelah fertilisasi dan *blastodisc* merupakan tempat nantinya *blastomer* melakukan pembelahan. Kemudian dilanjutkan dengan fase morula awal yang berlangsung 4 jam 5 menit atau setelah sel (*blastomer*) mengalami pembelahan hingga menjadi 32 sel.

Hasil fertilisasi oleh perlakuan ini pada 45 menit pasca pembuahan (gambar G) lapisan kuning telur pecah hingga partikel dari kuning telur tersebut keluar, setelah 10 sampai 25 menit kemudian dilakukan pengamatan kembali peristiwa ini tetap terjadi bahkan partikel-partikel telur tersebut keluar dan tidak beraturan (pada gambar H&I). Pada gambar (J) ditemukan lapisan *blastodisc* sudah terlihat jelas akan tetapi kondisi kuning telurnya juga mengalami kerusakan. Pada gambar (G, H, I, J) telur tersebut terjadi kerusakan, maka dari hasil fertilisasi keseluruhan tidak didapatkan data bahwa

terjadi penetasan pada semua perlakuan sehingga tidak dapat dilakukan analisis perbedaan diantara semua perlakuan berkenaan dengan laju penetasan. Dengan kondisi ini diduga bahwa faktor kualitas telur yang jelek dan kualitas air tidak mendukung sehingga perlakuan gagal untuk menetas.

## 4.2 Parameter Penunjang

### 4.2.1 Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Sperma Ikan Tawes (*Puntius javanicus*).

Hasil pemeriksaan kualitas sperma segar ikan tawes (*puntius javanicus*) dapat dilihat pada pada Tabel 5 di bawah ini :

**Tabel 5.** Hasil pemeriksaan kualitas sperma segar ikan tawes (*Puntius javanicus*)

NO	Kualitas Sperma Segar Ikan Tawes	Keterangan
1.	Volume	10 ml
2.	Warna	Putih kental
3.	pH	7,4
4.	Konsentrasi	$3,1 \times 10^9$ sel/ml
5.	Motilitas Sperma	75 %
6.	Lama Gerak Spermatozoa	2 - 3 menit
7.	Viabilitas	79,4 %

#### 4.2.1.1 Pengamatan makroskopis

Pengamatan secara makroskopis dapat dilakukan secara langsung tanpa menggunakan alat bantu, antara lain untuk menilai :

##### ➤ Volume

Volume sperma yang tertampung untuk proses pengawetan sperma didapatkan sebanyak 10 ml dari 3 induk ikan tawes yang memiliki berat rata-rata 700-900 gram. Menurut Hardijanto (1994) bahwa jumlah sperma ikan yang dihasilkan tergantung

banyak faktor diantaranya, umur, besar tubuh, kondisi ikan. Selain itu besar kecilnya volume semen tergantung pada temperatur dan musim serta banyaknya pakan yang dikonsumsi.

➤ **Warna**

Dari hasil pengamatan didapatkan warna sperma ikan tawes pada saat penampungan yaitu sperma berwarna putih susu kental. Sedangkan menurut Fujaya (2004) warna cairan sperma ikan mas mewakili ikan air tawar pada umumnya adalah keputih-putihan dengan kekentalan yang tinggi.

➤ **pH**

Pemeriksaan derajat keasaman (pH) sperma segar dilakukan dengan menggunakan kertas lakmus. Dari hasil pemeriksaan didapatkan pH sperma segar sebesar 7,4 dan pH sperma sesudah pembekuan 6,4. Tang (2004) mengatakan pada umumnya sperma sangat aktif dan tahan hidup lebih lama pada pH sekitar 7,0 sedangkan untuk motilitas sperma dapat dipertahankan pada pH antara 5-10 Jadi pH yang didapat pada waktu penampungan masih dalam kisaran normal.

#### 4.2.1.2 Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan bantuan mikroskop karena ukuran obyek pengamatan yang sangat kecil, antara lain meliputi :

➤ **Konsentrasi**

Pada penelitian ini didapatkan konsentrasi sebesar  $3,1 \times 10^9$  sel/ml. Akan tetapi jumlah konsentrasi tersebut juga dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya, umur, besar tubuh, kondisi ikan. Selain itu besar kecilnya volume semen tergantung pada temperatur dan musim serta banyaknya pakan yang dikonsumsi (Hardijanto, 1994).

### ➤ **Motilitas Spermatozoa**

Menurut Toelihere (1981), motilitas adalah daya gerak spermatozoa yang dinilai segera setelah penampungan sperma, yang merupakan kriteria utama dalam penilaian kualitas sperma untuk inseminasi buatan. Pada penelitian ini didapatkan nilai motilitas massa adalah +++ (baik), dimana pergerakannya terlihat berbentuk gelombang besar, banyak, gelap tebal dan aktif. Sedangkan nilai motilitas individu yang didapat adalah 75% karena sperma bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa. Syarat sperma yang baik untuk dilakukan pengenceran minimal motilitas individu sebesar 70 % dengan motilitas massa sebesar +++. Sehingga dari hasil pengamatan tersebut dapat disepakati bahwa sperma tersebut layak diawetkan untuk dijadikan sampel pengamatan. Dari hasil perlakuan penelitian ini didapatkan pengamatan rata-rata motilitas total dari penambahan dosis glukosa pasca pencairan yang dapat dilihat pada Tabel 6 di bawah ini, dan untuk melihat perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 2.

**Tabel 6.** Rata-rata persentase motilitas total dari hasil perlakuan penambahan dosis glukosa pasca pencairan.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	18,75	21,25	20	60	20,00
B	27,5	22,5	25	75	25,00
C	33,75	28,75	33,75	96,25	32,08
D	26,25	25	26,25	77,5	25,83
E	23,75	18,75	20	62,5	20,83
Total	-	-	-	371,25	
K = 0 %	7,5	6,25	7,5	21,25	7,08

Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa penambahan dosis glukosa pada perlakuan C 0,9% memberikan nilai rata-rata motilitas terbaik yaitu sebesar 32,08 % dibandingkan dengan perlakuan lain dan kontrol sebagai pembanding. Perhitungan analisa sidik ragam motilitas dari penambahan glukosa dengan menggunakan uji

keragaman model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Setelah dilakukan uji statistik pada Lampiran 2. maka diperoleh bahwa nilai F hitung lebih besar dari nilai F 5% dan F 1% artinya perlakuan ini berbeda sangat nyata terhadap tiap tiap perlakuan pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Analisa sidik ragam motilitas total dari penambahan dosis glukosa yang berbeda pasca pencairan.

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	4	278,75	69,68	14,87**	3,48	5,99
2. Acak	10	46,87	4,68			
Total	14	325,62				

(\*\*) = Berbeda sangat nyata

Untuk mengetahui tingkat perbedaan masing-masing perlakuan, maka dilakukan pengujian BNT (Beda Nyata Terkecil) seperti yang tertera pada Lampiran 2. dan pada Tabel 8 berikut ini.

**Tabel 8.** Daftar uji BNT motilitas total dari penambahan dosis glukosa yang berbeda pasca pencairan.

Perlakuan	A = 20,00	E = 20,83	B = 25,00	D = 25,83	C = 32,08	Notasi
A = 20,00	-					a
E = 20,83	0,83 <sup>ns</sup>	-				a
B = 25,00	5,00*	4,16*	-			bc
D = 25,83	5,83**	5,00*	0,83 <sup>ns</sup>	-		cd
C = 32,08	12,08**	11,25**	7,08**	6,25**	-	d

(ns) = Tidak berbeda nyata

(\*) = Berbeda nyata

(\*\*) = Sangat berbeda nyata

Dari daftar BNT tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa perlakuan C (0,9%) tidak berbeda dengan perlakuan D (1,0%) akan tetapi perlakuan C (0,9%) berbeda dengan perlakuan A (0,7%), B(0,8%) dan E(1,1%).

Untuk mengetahui pola hubungan antara penambahan dosis glukosa yang berbeda terhadap motilitas total sperma ikan tawes (*Puntius javanicus*) maka dilakukan menggunakan uji keragaman model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Setelah

dilakukan uji statistik analisa regresi pada Lampiran 2. hasilnya dapat dilihat pada Tabel 9 berikut ini.

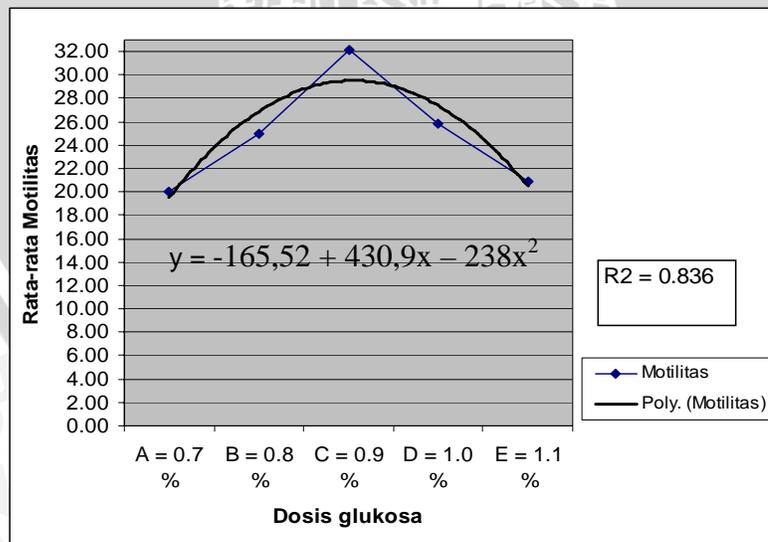
**Tabel 9.** Hasil sidik ragam regresi untuk mengetahui hubungan antara dosis penambahan glukosa terhadap motilitas total sperma ikan tawes (*Puntius javanicus*) beku pasca pencairan.

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	278,75	-	-	-	-
Linear	1	1,87	1.875	0,40 <sup>ns</sup>	4,96	10,04
Kuadratik	1	238,09	238,09	50,87**		
Kubik	1	0,21	0,21	0,04 <sup>ns</sup>		
Kuartik	1	38,57	38,57	8,24*		
Acak	10	46,87	4,68			
Total	14					

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

Pada tabel sidik ragam diatas, pola kuadratik lebih sesuai untuk mencari R<sup>2</sup> karena mempunyai nilai yang lebih besar dibandingkan dengan nilai pola linier. Maka didapatkan persamaan regresi kuadratiknya  $Y = -165,52 + 430,9x - 238x^2$ .

Untuk lebih jelasnya hubungan antara perlakuan penambahan dosis glukosa yang berbeda pada media dengan motilitas sperma ikan tawes setelah dibekukan pada tiap perlakuan selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 7. berikut ini.



**Gambar 8.** Hubungan antara dosis penambahan glukosa pada media pengencer terhadap motilitas total rata-rata sperma ikan tawes pasca pencairan

Berdasarkan gambar di atas terlihat bahwa dengan semakin tinggi dosis glukosa yang diberikan mengakibatkan penurunan nilai setelah melalui titik maksimum dan dari kurva diatas didapatkan nilai optimum untuk penambahan dosis glukosa pada 0,90 % dan Rata-rata motilitasnya mencapai hasil sebesar 29,51. walaupun penambahan glukosa pada media pengencer dapat memberikan energi tambahan untuk dapat menaikkan persentase motilitas spermatozoa pasca pencairan Akan tetapi dengan dosis glukosa yang melebihi nilai maksimal ternyata mengakibatkan kemampuan hidup dari spermatozoa akan menurun hal ini dikarenakan media pengencer tidak isotonis lagi. Wulandari (2004) bahwa dosis glukosa yang berlebih diduga akan mengakibatkan media ekstender menjadi hipertonik (larutan yang tekanan osmosisnya menjadi lebih tinggi), sehingga mengakibatkan air sel akan ke luar (*plasmolisis*) dan menyebabkan kematian.

➤ **Lama Gerak Spermatozoa**

Dengan mengamati spermatozoa yang motil (bergerak) dapat dihitung lama pergerakan dari spermatozoa tersebut pasca pencairan akan tetapi dilakukan pemberian air terlebih dahulu lalu penghitungan dimulai bersamaan dengan waktu pemberian air. Dari pengamatan yang dilakukan didapatkan nilai pergerakannya rata-rata sebesar 2-3 menit. Dengan lama gerak tersebut dapat dikatakan bahwa sperma tersebut layak untuk dilakukan pengawetan, karena menurut Fujaya (2004) mengatakan bahwa sebagian besar spermatozoa ikan air tawar dapat motil (bergerak) tidak lebih dari 2-3 menit setelah bersentuhan dengan air.

➤ **Persentase Sperma Hidup (*Viabilitas*)**

Pewarnaan sperma dilakukan untuk mengetahui jumlah sperma yang hidup dan mati untuk mengetahui persentase sperma yang hidup. Dari pengamatan sperma segar

diketahui bahwa rata-rata sperma yang hidup sebesar 79,4 %. Dengan persentase sperma yang hidup tersebut dapat dikatakan bahwa sperma yang tertampung cukup baik dan layak untuk dilakukan pengawetan.

#### 4.2.2 Kualitas Air

Kualitas air merupakan salah satu faktor pembatas di dalam budidaya ikan. Kualitas air yang diukur dalam penelitian ini meliputi oksigen terlarut, suhu, pH dan amonia. Secara keseluruhan nilai kualitas air masih berada pada kisaran yang mendukung bagi kehidupan ikan tawes kecuali kadar amonia. Kadar amonia selama penelitian didapatkan berkisar antara 0,16 sampai 0,21 ppm. Dalam kondisi seperti ini sangat berbahaya dan dapat menyebabkan kematian pada ikan. Hal ini diduga menjadi salah satu faktor gagalnya dari perlakuan yang berkenaan dengan laju penetasan. Degani *et al* (1985) dalam Herianti (2005) menyatakan bahwa konsentrasi amonia antara 1,0-2,0 mg/liter tidak menurunkan laju pertumbuhan ikan budidaya selama pH berkisar antara 6,8-7,9. Untuk lebih jelasnya, hasil pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 6 berikut ini.

**Tabel 10.** Nilai DO, Suhu, pH dan amonia selama penelitian

Parameter	Hasil	Normal	Pustaka
DO (ppm)	6,87-7,20	Min. 3	Rochdianto (2002) dalam Widodo (2006).
Suhu (°C)	28-30	25-30	Sutisna dan Sutarmanto (1995) dalam Widodo (2006).
pH	6,06-7,37	7-8,5	Cahyono (2000).
Amonia	0,16-0,21	< 0,1	Cahyono (2000).

## 5 KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh penambahan glukosa pada media dalam proses penyimpanan sperma beku terhadap fertilisasi ikan tawes (*Puntius javanicus*) dapat disimpulkan sebagai berikut:

- ❖ Dosis glukosa sebesar 0,95 % memberikan nilai optimum dalam proses penyimpanan sperma beku ikan tawes (*Puntius javanicus*) memberikan pengaruh optimum bagi fertilisasinya apabila pemberian dosis melebihi nilai tersebut akan menyebabkan penurunan persentase hasil fertilisasinya.
- ❖ Dosis glukosa untuk motilitas total didapatkan nilai optimum sebesar 0,90 %.
- ❖ Dari hasil pengamatan motilitas terjadi penurunan persentasenya seiring dengan lama waktu penyimpanan.
- ❖ Dari hasil fertilisasi keseluruhan tidak terjadi penetasan pada semua perlakuan sehingga tidak dapat dilakukan analisis perbedaan diantara semua perlakuan berkenaan dengan laju penetasan. Dengan kondisi ini diduga bahwa faktor kualitas telur yang jelek dan kualitas air tidak mendukung sehingga perlakuan gagal untuk menetas.
- ❖ Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian masih berada dalam kisaran normal kecuali kadar amonia. yaitu: DO 6,87-7,20 ppm ; suhu 28-30°C ; pH 6,06-7,37 dan amonia sebesar 0,16-0,21 ppm.

## 5.2 Saran

- ❖ Pengawetan sperma ikan tawes dengan pengencer *Tris aminomethane* akan lebih baik bila disuplementasi dengan glukosa dengan dosis yang tak lebih dari 0,95% karena dosis tersebut merupakan nilai optimum.
- ❖ Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya mengoptimalkan faktor kualitas telur dan kualitas air agar dari proses fertilisasi dapat menghasilkan daya tetas telur yang tinggi.
- ❖ Untuk mengetahui lama waktu penyimpanan yang terbaik dari sperma yang telah dibekukan apabila dihubungkan dengan tingkat fertilisasinya maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh lama waktu penyimpanan sperma beku yang berbeda terhadap daya fertilisasinya.
- ❖ Agar usaha pembenihan ikan tawes (*Puntius javanicus*) ini dapat dilakukan setiap saat, juga disarankan untuk dilakukannya penelitian tentang pengawetan telur ikan tawes (*Puntius javanicus*) agar dapat mendukung tersedianya benih yang berkesinambungan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 2006. **Molecular Structure**. [www.yahoo.com](http://www.yahoo.com). Di akses tanggal 25 juli pukul 21.30 WIB.
- \_\_\_\_\_, 2006a. **Pembenihan Ikan Tawes (*Puntius javanicus*, blkr)**. [www.indonet.com](http://www.indonet.com). Di akses tanggal 25 juli pukul 21.30 WIB.
- \_\_\_\_\_, 2006b. **The Spermatozoa**. [www.Embriology.com](http://www.Embriology.com). Di akses tanggal 25 juli pukul 21.30 WIB.
- Almaister, M. 2004. **Ilmu Gizi Makanan**. Gramedia Pustaka. Jakarta.107 hal.
- Bearden, H.J and J.W. Fuquay. 1984. **Applied Animal Reproduction**, Reston Publishing Co, Inc. Virginia. 133-150 hal.
- Billard, R. 1982. **On Some Patterns Of Reproductive Physiology In Male Teleost Fish**. *Proceeding of The International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Centre for Agricultural Publishing and Documentation*. Wageningen, Netherland. 192 hal.
- Cahyono, B. 2000. **Budidaya Ikan Air Tawar**. Kanisius. Yogyakarta. 113 hal.
- Fujaya, Y. 2004. **Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknik Perikanan**. Rineka Cipta. Jakarta.167 hal.
- Hafez, E.S.E. 2000. **Reproduction Information 7<sup>th</sup>**. Lea and Febiger. Philadelphia, United States of America. 82-109 hal.
- Hardijanto. 1994. **Diklat Kuliah Ilmu Inseminasi Buatan**. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 86 hal.
- Hardjopranto. 1995. **Ilmu Kemajiran Pada Ternak**. Airlangga University Press. Surabaya. 55-79 hal.
- Harvey, B. J. And W. S. Hoar, 1979. **The Theory And Practice Of Induced Breeding In Fish**. IDRC-2le, Ottawa. 1-48 hal.
- Herianti I. 2005. **Rekayasa Lingkungan Untuk Memacu Perkembangan Ovarium Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*)**. Jurnal Oseanologi dan Limnologi di Indonesia No. 37 : 25-41
- Hoar, W.S. 1969. **Reproduction in Fish Physiology**. W.S. Hoar and D.J. Randall (Eds.) Fish Physiology Volume III. NY Academic Press.303-350 hal.

- Kimbal, J. W. 1993. **Biologi Jilid 1**. Penerbit Erlangga. Jakarta. 333 hal.
- Kruger.J.C.D., G. L. Smit, J. H. J. Van and J. T. Ferrera. 1984. **Same Chemical and Physical Characteristics Of Semen Of *Cyprinus carpio* L And *Oreochromis mossambicus***. Peters. J. Fish, Biol. 263-273 hal.
- Nurman. 1995. **Pengaruh Kombinasi Penyuntikan Ovaprim dan PGF<sub>2</sub> $\alpha$  Terhadap Kualitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus* Burchell)**. Tesis Program Pascasarjana. IPB. Bogor.
- Plouidy, M. G. dan Billard R. 1982. **The Chemical Composition of Companion Fluids of The Gametes in The Common Carp (*Cyprinus carpio* L.)**. *Proceeding of The International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Centre for Agricultural Publishing and Documentation*. Wageningen, Netherland. 203 hal.
- Lagler, K.F. 1972. **Freshwater Fishery Biology**. WMC. Brow Co. Publ. USA. 450 hal.
- Raven, P. H., Johnson. G. B., Losos. J. B., Singer. S. R., 2005. **Biology, International Edition, Seventh Edition**. McGraw-Hill Companies. New York. America., 162-183 hal.
- Richter, C.J.J. and Rustidja. 1988. **Pengantar Ilmu Reproduksi Ikan**. Fakultas Perikanan. Brawijaya. Malang. 86 hal.
- Risnawati N. W. 1995. **Ukuran Dan Morfologi Sperma Beberapa Spesies Ikan Famili Cyprinidae**. Skripsi, Jurusan Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan. IPB. Bogor.
- Rochdianto, A. 2002. **Budidaya Ikan di Jaring Terapung**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rustidja.2000. **Prospek Pembekuan Ikan**. Fakultas Perikanan Brawijaya. Malang. 68 hal.
- Saanin, H., 1984. **Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan**. Binacipta. Jakarta. 17-85 hal.
- Salisbury, G.W. and N.L. Van Demark. 1985. **Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi**. Fakultas Peternakan Universitas Jendral Sudirman. Gajahmada *University Press*. 227-611 hal.
- Scott, A. P. And S. M. Baynes. 1980. **A Riview Of Biology, Handling And Storage Of Salmmid Spermatozoa**. J. Fish. Biol., 17:-707-739.
- Shiantiningsih, D. 2005. **Pengaruh Penambahan Glukosa Pada Proses Penyimpanan Terhadap Motilitas dan Lama Hidup Spermatozoa Ikan Mas**. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. Tidak Dipublikasikan. 102 hal.

- Silfianansyah, H. 2004. **Pengaruh Penambahan Fruktosa Dengan Dosis Yang Berbeda Dalam Pengencer Ringer Laktat Terhadap Kualitas Semen Ikan Koi (*Cyprinus Carpio L*) Yang Disimpan Pada Suhu 5<sup>0</sup>C.** Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas. Brawijaya. Malang. Tidak Dipublikasikan. 107 hal.
- Stoss, J. and E.M. Donaldson. 1982. **Preservation of Fish Gametes.** *Proceeding of The International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Centre for Agricultural Publishing and Documentation.* Wageningen, Netherland.114-122 hal.
- Suhaili, A., 1986. **Pemeliharaan Ikan Dalam Karamba.** PT. Gramedia. Jakarta. 80 hal.
- Sumantadinata, K. 1981. **Pengembangbiakan Ikan-ikan Peliharaan di Indonesia.** PT. Sastra Hudaya. Bogor. 105 hal.
- Sutoyo, A. 2000. **Peranan Bahan Pengencer Terhadap Penyimpanan Spermatozoa Sampai Penetasan Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio L.*).** Tesis. Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi. Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya. Tidak Dipublikasikan.
- Tang, M.U., dan Affandi R. 2004. **Biologi Reproduksi Ikan.** UNRI PRESS Pekanbaru. Riau. 128 hal.
- Toelihere, M. S. 1981. **Inseminasi Buatan Pada Ternak.** Angkasa. Bandung. 29-292 hal.
- Widodo, M. S., 2006. **Pengaruh Dosis dan Latency Time Penyuntikan Ovaprim Terhadap Daya Tetas Ikan Tawes (*Puntius javanicus*).** Jurnal Penelitian Perikanan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang No.1 : 58-63
- Wulandari, W. 2004. **Lama Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Ettawa Pada Beberapa Kadar Glukosa Dalam Pengencer Larutan Ringer – Kuning Telur Yang Disimpan Pada Suhu 5<sup>0</sup>C.** Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. Tidak Dipublikasikan.
- Yamamoto, T., 1962 **Mechanism Of Breakdown Of Cortical Alveoli During Fertilization In The Medaka Fish, *Oryzias latipes*.** *Embryologia.* Di akses tanggal 12 juli 2006 pukul 23.30 WIB.
- Yitnosumarto, S., 1993. **Percobaan Perancangan, Analisis, Dan Interpretasinya.** PT.Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 298 hal.
- Zenichiro, Herliantien, dan Sarastina., 2002. **Instruksi Praktis Teknologi Prosesing Semen Beku Pada Sapi.** Jica – BIBS. Malang. 67 hal.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Telur Terfertilisasi Pasca Pencairan.

Tabel Data Fertilisasi

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A = 0,7 %	20	28	17	65	21,67
B = 0,8 %	26	29	25	80	26,67
C = 0,9 %	40	37	43	120	40,00
D = 1,0 %	36	31	40	107	35,67
E = 1,1 %	31	30	32	93	31,00
Total	-	-	-	465	151,01
K = 0 %	-	-	-	-	-

Uji Barlet

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S <sup>2</sup>	Log S <sup>2</sup>	(r-1)Log S <sup>2</sup>
A = 0,7 %	2	0.5	64,67	32,33	1,50	3
B = 0,8 %	2	0.5	8,67	4,33	0,64	1,28
C = 0,9 %	2	0.5	18	9	0,95	1,9
D = 1,0 %	2	0.5	40,67	20,33	1,31	2,62
E = 1,1 %	2	0.5	2	1	0	0
Total	10	2.5	134	67	4,39	8,8

$$\begin{aligned}
 S^2 \text{ Gabungan} &= \sum jk/db \\
 &= 134/10 \\
 &= 13,4
 \end{aligned}$$

$$\text{Log } S^2 = 1,13$$

$$\begin{aligned}
 X^2 &= 2,3026 [(\sum_i(r-1) \times \log S^2) - \sum_i(r-1)\log S_i^2] \\
 &= 2,3026 [(10 \times 1,13) - 8,8] \\
 &= 5,75
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi (C)} &= 1 + [1/3(t-1)]\{ \sum_i 1/(r-1) - [1/\sum_i(r-1)]\} \\
 &= 1 + [1/3(5-1)]\{2.5 - [1/10]\} \\
 &= 1,2
 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Terkoreksi} = (1/C)X^2$$

**Lampiran 1. (Lanjutan)**

$$= (1/1,2) \times 5,75$$

$$= 4,79$$

$$X^2 \text{ Tabel } 5\% = 9,488$$

Karena  $X^2$  Terkoreksi lebih kecil dari  $X^2$  Tabel maka dapat disimpulkan bahwa ragam dalam penelitian ini homogen.

$$\text{Faktor koreksi} = 465^2 / 15$$

$$= 14415$$

$$\text{JK Total} = [(20)^2 + (28)^2 + \dots + (32)^2] - 14415$$

$$= 760,00$$

$$\text{JK Perlakuan} = \{(65^2 + 80^2 + 120^2 + 107^2 + 93^2) / 3\} - 14415$$

$$= 626,00$$

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

$$= 760,00 - 626,00$$

$$= 134,00$$

**Tabel Sidik Ragam**

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	4	626,00	156,50	11,68**	3,48	5,99
2. Acak	10	134,00	13,40			
Total	14	760,00				

(\*\*) = Berbeda sangat nyata

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2KT_{acak}}{3}}$$

$$= \sqrt{\frac{2.13,4}{3}}$$

$$= 2,99$$

$$\text{BNT } 5\% = 2,228 \times 2,99 = 6,66$$

$$\text{BNT } 1\% = 3,169 \times 2,99 = 9,47$$

**Lampiran 1. (Lanjutan)****Tabel Uji BNT**

Perlakuan	A = 21,67	B = 26,67	E = 31,00	D = 35,67	C = 40,00	Notasi
A = 21,67	-					a
B = 26,67	5,00 <sup>ns</sup>	-				ab
E = 31,00	9,33*	4,33 <sup>ns</sup>	-			bc
D = 35,67	14,00**	9,00*	4,67 <sup>ns</sup>	-		cd
C = 40,00	18,33**	13,33**	9,00*	4,33 <sup>ns</sup>	-	d

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

**Tabel Analisa Regresi**

Perlakuan	Data	Pembanding (Ci)			
	(Ti)	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0.5%	65	-2	2	-1	1
B = 0.6%	80	-1	-1	2	-4
C = 0.7%	120	0	-2	0	6
D = 0.8%	107	1	-1	-2	-4
E = 0.9%	93	2	2	1	1
$Q = \sum (Ci Ti)$		83	-111	-26	130
$Kr = \sum (Ci^2)r$		30	42	30	210
$JK = Q^2/Kr$		229,63	293,36	22,53	80,48

**Tabel Sidik Ragam Regresi**

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	626,00	-	-	-	-
Linear	1	229,63	229,63	17,66**	4,96	10,04
Kuadratik	1	293,36	293,36	22,57**		
Kubik	1	22,53	22,53	1,73ns		
Kuartik	1	80,48	80,48	6,19*		
Acak	10	130,00	13,00			
Total	14					

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

$$R^2 \text{ Linear} = 229,63 / (229,63 + 130,00)$$

$$R^2 = 0,638$$

$$r = 0,80$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = 293,36 / (293,36 + 130,00)$$

$$R^2 = 0,693$$

$$r = 0,83$$

**Lampiran 1. (Lanjutan)**

$$R^2 \text{ Kuartik} = 80,48/(80,48+130,00)$$

$$R^2 = 0,382$$

$$r = 0,62$$

Karena  $R^2$  Kuadrat lebih besar dari  $R^2$  Linear,  $R^2$  Kuartik maka persamaan regresi yang cocok adalah persamaan Kuadrat. Untuk mencari persamaan kuadrat  $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$  digunakan transformasi :

$$U_j = \frac{x_j - \bar{x}}{d} \quad d = 0,1$$

$$\bar{x} = \frac{0,7+0,8+0,9+1,0+1,1}{5} = 0,9 \text{ sehingga transformasinya adalah } u_j = \frac{x_j - 0,9}{0,1}$$

untuk :

$$x_j = 0,7, \text{ maka } u_j = \frac{0,7 - 0,9}{0,1} = -2$$

$$x_j = 0,8, \text{ maka } u_j = \frac{0,8 - 0,9}{0,1} = -1$$

$$x_j = 0,9, \text{ maka } u_j = \frac{0,9 - 0,9}{0,1} = 0$$

$$x_j = 1,0, \text{ maka } u_j = \frac{1,0 - 0,9}{0,1} = 1$$

$$x_j = 1,1, \text{ maka } u_j = \frac{1,1 - 0,9}{0,1} = 2$$

$x_j$	0.7	0.8	0.9	1	1.1	$\sum x_j = 4.5$
$u_j$	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j = 0$
$u_j^2$	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2 = 10$
$u_j^4$	16	1	0	1	16	$\sum u_j^4 = 34$
$y_{ij}$	65	80	120	107	93	$\sum y_{ij} = 465$
$u_j y_{ij}$	-130	-80	0	107	186	$\sum u_j y_{ij} = 83$
$u_j^2 y_{ij}$	260	80	0	107	372	$\sum u_j^2 y_{ij} = 819$

**Lampiran 1. (Lanjutan)**

- $\sum u_j \cdot y_{ij} = b_1 \cdot r \cdot \sum u_j^2$   
 $83 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$   
 $b_1 = 2,76$
- $\sum y_{ij} = b_0 \cdot n + b_2 \cdot r \cdot \sum u_j^2$   
 $465 = b_0 \cdot 15 + 30 b_2 \dots\dots\dots(1)$
- $\sum u_j^2 y_{ij} = b_0 \cdot r \cdot \sum u_j^2 + b_2 \cdot r \cdot \sum u_j^4$   
 $819 = b_0 \cdot 30 + 102 \cdot b_2 \dots\dots\dots(2)$

$$\begin{array}{r}
 15 b_0 + 30 b_2 = 465 \quad || \cdot 2x || \quad 30 b_0 + 60 b_2 = 930 \\
 30 b_0 + 102 b_2 = 819 \quad || \cdot 1x || \quad 30 b_0 + 102 b_2 = 819 \\
 \hline
 -42 b_2 = 111 \\
 b_2 = -2,64
 \end{array}$$

- $15 b_0 + 30 \cdot (-2,64) = 465$   
 $15 b_0 + (-79,3) = 465$   
 $15 b_0 = 465 + 79,3$   
 $b_0 = 36,28$

Setelah itu nilai  $b_0$ ,  $b_1$  dan  $b_2$  di substitusikan ke dalam rumus umum yaitu :

$$\begin{aligned}
 Y &= b_0 + b_1 U_j + b_2 U_j^2 \\
 Y &= 36,28 + 2,76 \left( \frac{x - 0,9}{0,1} \right) - 2,64 \left( \frac{x - 0,9}{0,1} \right)^2 \\
 Y &= 36,28 + 27,6x - 24,84 - 264x^2 + 475,2x - 213,84 \\
 Y &= - 202,4 + 502,8x - 264x^2
 \end{aligned}$$

Jadi persamaan kuadratnya adalah  **$Y = - 202,4 + 502,8x - 264x^2$**

- jika  $X = 0,7 \rightarrow Y = 20,20$
- $X = 0,8 \rightarrow Y = 30,88$
- $X = 0,9 \rightarrow Y = 36,28$
- $X = 1,0 \rightarrow Y = 36,40$
- $X = 1,1 \rightarrow Y = 31,24$

**Lampiran 1. (Lanjutan)**

Titik puncak dari persamaan tersebut dapat dicari melalui turunan pertama persamaan

$$Y = -202,4 + 502,8x - 264x^2$$

$$Y' = 502,8 - 2(264x)$$

$$Y' = 502,8 - 528x$$

$$Y' = 0 \rightarrow 528x = 502,8$$

$$x = \frac{502,8}{528}$$

$$x = 0,95$$

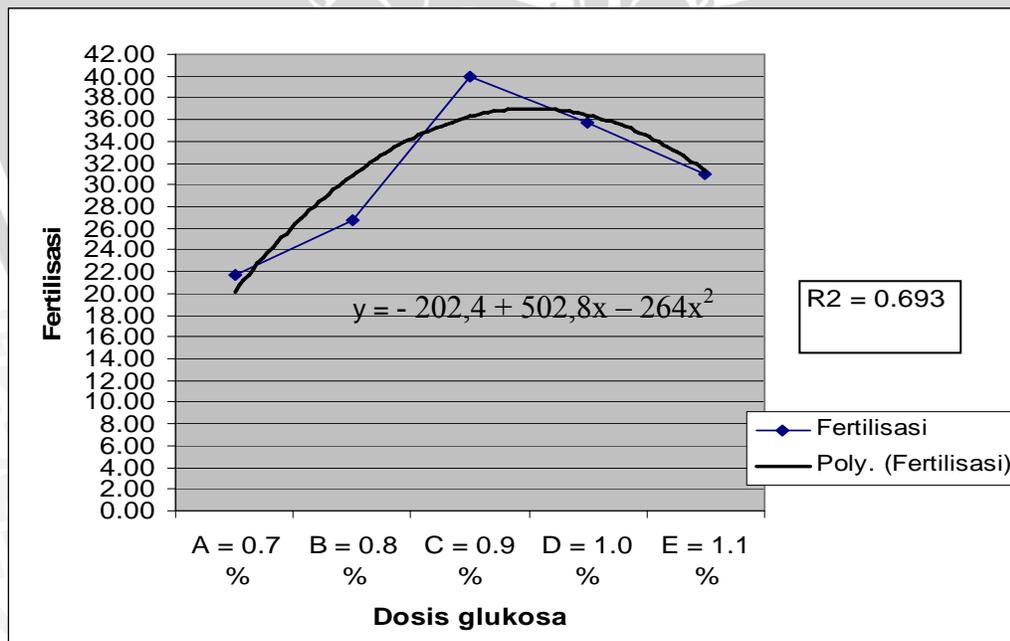
$$\text{maka } x = 0,95 \rightarrow Y = -202,4 + 502,8x - 264x^2$$

$$Y = -202,4 + 502,8(0,95) - 264(0,95)^2$$

$$Y = 37$$

Dari persamaan tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai penambahan dosis glukosa optimum pada 0,95 dengan hasil telur terfertilisasi sebesar 37.

**Grafik Hubungan Antara Dosis Penambahan Glukosa Pada Media Pengencer Terhadap Daya Fertilisasi Sperma Ikan Tawes Pasca Pencairan.**



**Lampiran 2. Data Motilitas Yang Diamati Pasca Pencairan**

**Data Motilitas Minggu ke 2**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A = 0,7 %	25	30	25	80	26,67
B = 0,8 %	40	35	30	105	35,00
C = 0,9 %	45	40	45	130	43,33
D = 1,0 %	40	30	40	110	36,67
E = 1,1 %	30	30	30	90	30,00
Total	-	-	-	515	
K = 0 %	15	10	15	40	13,33

**Uji Barlet**

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S <sup>2</sup>	Log S <sup>2</sup>	(r-1)Log S <sup>2</sup>
A = 0,7 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
B = 0,8 %	2	0,5	50	25	1,38	2,79
C = 0,9 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
D = 1,0 %	2	0,5	66,67	33,33	1,52	3,04
E = 1,1 %	2	0,5	0	0	0	0
Total	10	2,5	150	75	4,76	9,52

$$S^2 \text{ Gabungan} = \sum jk/db$$

$$= 150/10$$

$$= 15$$

$$\text{Log } S^2 = 1,18$$

$$X^2 = 2,3026 [(\sum_i(r-1) \times \log S^2) - \sum_i(r-1)\log S_i^2]$$

$$= 2,3026 [(10 \times 1,18) - 9,52]$$

$$= 5,24$$

$$\text{Faktor koreksi (C)} = 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum_i 1/(r-1) - [1/\sum_i(r-1)] \}$$

$$= 1 + [1/3(5-1)] \{ 2.5 - [1/10] \}$$

$$= 1,2$$

$$X^2 \text{ Terkoreksi} = (1/C)X^2$$

$$= (1/1,2) \times 5,24$$

$$= 4,36$$

$$X^2 \text{ Tabel } 5\% = 9,488$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

Karena  $X^2$  Terkoreksi lebih kecil dari  $X^2$  Tabel maka dapat disimpulkan bahwa ragam dalam penelitian ini homogen.

$$\text{Faktor koreksi} = 515^2 / 15$$

$$= 17681,67$$

$$\text{JK Total} = [(25)^2 + (30)^2 + \dots + (30)^2] - 17681,67$$

$$= 643,33$$

$$\text{JK Perlakuan} = \{(80^2 + 105^2 + 130^2 + 110^2 + 90^2) / 3\} - 17681,67$$

$$= 493,33$$

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

$$= 643,33 - 493,33$$

$$= 150,00$$

**Tabel Sidik Ragam**

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	4	493,33	123,33	8,22**	3,48	5,99
2. Acak	10	150	15			
Total	14	643,33				

(\*\*) = Berbeda sangat nyata

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2KT_{\text{acak}}}{3}}$$

$$= \sqrt{\frac{2.15}{3}}$$

$$= 3,16$$

$$\text{BNT 5\%} = 2,228 \times 3,16 = 7,05$$

$$\text{BNT 1\%} = 3,169 \times 3,16 = 10,02$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

**Tabel Uji BNT**

Perlakuan	A=26,67	E =30,00	B=35,00	D=36,67	C=43,33	Notasi
A = 26,67	-					a
E = 30,00	3,33 <sup>ns</sup>	-				ab
B = 35,00	8,33*	5,00 <sup>ns</sup>	-			b
D = 36,67	10,00*	6,67 <sup>ns</sup>	1,67 <sup>ns</sup>	-		bc
C = 43,33	16,67**	13,33**	8,33*	6,67 <sup>ns</sup>	-	c

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

**Tabel Analisa Regresi**

Perlakuan	Data	Pembanding (Ci)			
	(Ti)	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0,7 %	80	-2	2	-1	1
B = 0,8 %	105	-1	-1	2	-4
C = 0,9 %	130	0	-2	0	6
D = 1,0 %	110	1	-1	-2	-4
E = 1,1 %	90	2	2	1	1
Q = $\sum (Ci Ti)$		25	-135	0	90
Kr = $\sum (Ci^2)r$		30	42	30	210
JK = Q <sup>2</sup> /Kr		20,83	433,93	0	38,57

**Tabel Sidik Ragam Regresi**

Ragam	dB	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	493,33	-	-	-	-
Linear	1	20,83	20,83	1,39 <sup>ns</sup>	4,96	10,04
Kuadratik	1	433,93	433,93	28,93**		
Kubik	1	0	0	0 <sup>ns</sup>		
Kuartik	1	38,57	38,57	2,57 <sup>ns</sup>		
Acak	10	150,00	15,00			
Total	14					

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

R<sup>2</sup> kuadratik = 433,93/(433,93+150,00)

R<sup>2</sup> = 0,743

r = 0,86

Karena R<sup>2</sup> Kuadratik lebih besar maka persamaan regresi yang cocok adalah persamaan Kuadratik. Untuk mencari persamaan kuadratik  $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$  digunakan transformasi :

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

$$U_j = \frac{x_j - \bar{x}}{d} \quad d = 0,1$$

$$\bar{x} = \frac{0,7 + 0,8 + 0,9 + 1,0 + 1,1}{5} = 0,9 \text{ sehingga transformasinya adalah } u_j = \frac{x_j - 0,9}{0,1}$$

untuk :

$$x_j = 0,7, \text{ maka } u_j = \frac{0,7 - 0,9}{0,1} = -2$$

$$x_j = 0,8, \text{ maka } u_j = \frac{0,8 - 0,9}{0,1} = -1$$

$$x_j = 0,9, \text{ maka } u_j = \frac{0,9 - 0,9}{0,1} = 0$$

$$x_j = 1,0, \text{ maka } u_j = \frac{1,0 - 0,9}{0,1} = 1$$

$$x_j = 1,1, \text{ maka } u_j = \frac{1,1 - 0,9}{0,1} = 2$$

$x_j$	0.7	0.8	0.9	1	1.1	$\sum x_j = 4.5$
$u_j$	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j = 0$
$u_j^2$	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2 = 10$
$u_j^4$	16	1	0	1	16	$\sum u_j^4 = 34$
$y_{ij}$	80	105	130	110	90	$\sum y_{ij} = 515$
$u_j y_{ij}$	-160	-105	0	110	180	$\sum u_j y_{ij} = 25$
$u_j^2 y_{ij}$	320	105	0	110	360	$\sum u_j^2 y_{ij} = 895$

- $\sum u_j \cdot y_{ij} = b_1 \cdot r \cdot \sum u_j^2$   
 $25 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$   
 $b_1 = 0,83$
- $\sum y_{ij} = b_0 \cdot n + b_2 \cdot r \cdot \sum u_j^2$   
 $515 = b_0 \cdot 15 + 30 b_2 \dots \dots \dots (1)$
- $\sum u_j^2 y_{ij} = b_0 \cdot r \cdot \sum u_j^2 + b_2 \cdot r \cdot \sum u_j^4$   
 $895 = b_0 \cdot 30 + 102 \cdot b_2 \dots \dots \dots (2)$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

$$\begin{array}{r}
 \rightarrow 15 b_0 + 30 b_2 = 515 \quad \| \quad 2x \| \quad 30 b_0 + 60 b_2 = 1030 \\
 30 b_0 + 102 b_2 = 895 \quad \| \quad 1x \| \quad 30 b_0 + 102 b_2 = 895 \\
 \hline
 -42 b_2 = 135 \\
 b_2 = -3,21
 \end{array}$$

$$\begin{array}{l}
 \rightarrow 15 b_0 + 30 \cdot (-3,214) = 515 \\
 15 b_0 + (-96,42) = 515 \\
 15 b_0 = 515 + 96,42 \\
 b_0 = 40,76
 \end{array}$$

Setelah itu nilai  $b_0$ ,  $b_1$  dan  $b_2$  di substitusikan ke dalam rumus umum yaitu :

$$Y = b_0 + b_1 U_j + b_2 U_j^2$$

$$Y = 40,76 + 0,83 \left( \frac{x-0,9}{0,1} \right) - 3,21 \left( \frac{x-0,9}{0,1} \right)^2$$

$$Y = 40,76 + 8,3x - 7,47 - 321x^2 + 577,8 - 260,01$$

$$Y = -226,72 + 586,1x - 321x^2$$

Jadi persamaan kuadratnya adalah  $Y = -226,72 + 586,1x - 321x^2$

$$\text{Jika } X = 0,7 \rightarrow Y = 26,26$$

$$X = 0,8 \rightarrow Y = 36,72$$

$$X = 0,9 \rightarrow Y = 40,76$$

$$X = 1,0 \rightarrow Y = 38,38$$

$$X = 1,1 \rightarrow Y = 29,58$$

Titik puncak dari persamaan tersebut dapat dicari melalui turunan pertama persamaan

$$Y = -226,72 + 586,1x - 321x^2$$

$$Y' = 586,1 - 2(321x)$$

$$Y' = 586,1 - 642x$$

$$Y' = 0 \rightarrow 642x = 586,1$$

$$X = \frac{586,1}{642}$$

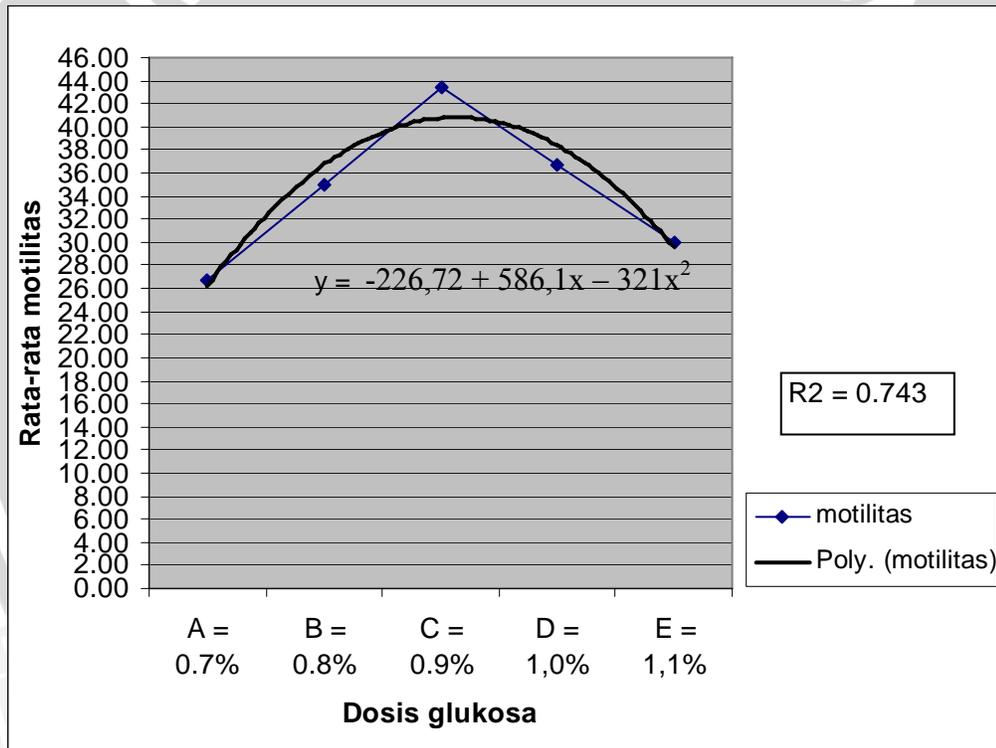
$$X = 0,91$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

maka  $X = 0,91 \rightarrow Y = -226,72 + 586,1x - 321x^2$   
 $Y = -226,72 + 586,1(0,91) - 321(0,91)^2$   
 $Y = 40,81$

Dari persamaan tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai penambahan dosis glukosa optimum pada 0,91 dengan hasil motilitas rata-rata sebesar 40,81.

**Grafik Hubungan Antara Dosis Penambahan Glukosa Pada Media Pengencer Terhadap Motilitas Rata-rata Pada minggu ke 2 Sperma Ikan Tawes Pasca Pencairan**



**Lampiran 2. (Lanjutan)****Data Motilitas Minggu ke 4**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
A = 0,7 %	25	25	25	75	25,00
B = 0,8 %	30	25	35	90	30,00
C = 0,9 %	35	30	40	105	35,00
D = 1,0 %	25	25	30	80	26,67
E = 1,1 %	25	20	25	70	23,33
Total	-	-	-	420	
K = 0 %	10	10	10	30	10

**Uji Barlet**

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S <sup>2</sup>	Log S <sup>2</sup>	(r-1)Log S <sup>2</sup>
A = 0,7 %	2	0,5	0	0	0	0
B = 0,8 %	2	0,5	50	25	1,39	2,78
C = 0,9 %	2	0,5	50	25	1,39	2,78
D = 1,0 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
E = 1,1 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
Total	10	2,5	133,34	66,66	4,62	9,24

$$\begin{aligned}
 S^2 \text{ Gabungan} &= \sum jk/db \\
 &= 133,34/10 \\
 &= 13,33
 \end{aligned}$$

$$\text{Log } S^2 = 1,12$$

$$\begin{aligned}
 X^2 &= 2,3026 [(\sum_i (r-1) \times \log S^2) - \sum_i (r-1) \log S_i^2] \\
 &= 2,3026 [(10 \times 1,12) - 9,24] \\
 &= 4,51
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi (C)} &= 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum_i 1/(r-1) - [1/\sum_i (r-1)] \} \\
 &= 1 + [1/3(5-1)] \{ 2,5 - [1/10] \} \\
 &= 1,2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ Terkoreksi} &= (1/C)X^2 \\
 &= (1/1,2) \times 4,51 \\
 &= 3,76
 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tabel 5\%} = 9,488$$

## Lampiran 2. (Lanjutan)

Karena  $X^2$  Terkoreksi lebih kecil dari  $X^2$  Tabel maka dapat disimpulkan bahwa ragam dalam penelitian ini homogen.

$$\begin{aligned}\text{Faktor koreksi} &= 420^2 / 15 \\ &= 11760\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Total} &= [(25)^2 + (25)^2 + \dots + (25)^2] - 11760 \\ &= 390,00\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Perlakuan} &= \{(75^2 + 90^2 + 105^2 + 80^2 + 70^2) / 3\} - 17681,67 \\ &= 256,67\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 390,00 - 256,67 \\ &= 133,33\end{aligned}$$

**Tabel Sidik Ragam**

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	4	256,67	64,17	4,81*	3,48	5,99
2. Acak	10	133,33	13,33			
Total	14	390				

(\*) = Berbeda nyata

$$\begin{aligned}\text{SED} &= \sqrt{\frac{2KT_{\text{acak}}}{3}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \cdot 13,33}{3}} \\ &= 2,98\end{aligned}$$

$$\text{BNT 5\%} = 2,228 \times 2,98 = 6,64$$

$$\text{BNT 1\%} = 3,169 \times 2,98 = 9,45$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

**Tabel Uji BNT**

Perlakuan	E = 23,33	A = 25,00	D = 26,67	B = 30,00	C = 35,00	Notasi
E = 23,33	-					a
A = 25,00	1,67 <sup>ns</sup>	-				a
D = 26,67	3,34 <sup>ns</sup>	1,67 <sup>ns</sup>	-			ab
B = 30,00	6,67*	5,00 <sup>ns</sup>	3,33 <sup>ns</sup>	-		bc
C = 35,00	11,67**	10,00**	8,33*	5,00 <sup>ns</sup>	-	c

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

**Tabel Analisa Regresi**

Perlakuan	Data	Pembanding (Ci)			
	(Ti)	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0,7 %	75	-2	2	-1	1
B = 0,8 %	90	-1	-1	2	-4
C = 0,9 %	105	0	-2	0	6
D = 1,0 %	80	1	-1	-2	-4
E = 1,1 %	70	2	2	1	1
Q = $\sum (Ci Ti)$		-20	-90	15	95
Kr = $\sum (Ci^2)r$		30	42	30	210
JK = $Q^2/Kr$		13,33	192,86	7,50	42,98

**Tabel Sidik Ragam Regresi**

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	256,67	-	-	-	-
Linear	1	13,33	13,33	1,00 <sup>ns</sup>	4,96	10,04
Kuadratik	1	192,86	192,86	14,46**		
Kubik	1	7,50	7,50	0,56 <sup>ns</sup>		
Kuartik	1	42,98	42,98	3,22 <sup>ns</sup>		
Acak	10	133,33	13,33			
Total	14					

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

$$R^2 \text{ kuadratik} = 192,86 / (192,86 + 133,33)$$

$$R^2 = 0,591$$

$$r = 0,77$$

Karena R<sup>2</sup> Kuadratik lebih besar maka persamaan regresi yang cocok adalah persamaan Kuadratik. Untuk mencari persamaan kuadratik  $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$  digunakan transformasi :

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

$$U_j = \frac{x_j - \bar{x}}{d} \quad d = 0,1$$

$$\bar{x} = \frac{0,7 + 0,8 + 0,9 + 1,0 + 1,1}{5} = 0,9 \text{ sehingga transformasinya adalah } u_j = \frac{x_j - 0,9}{0,1}$$

untuk :

$$x_j = 0,7, \text{ maka } u_j = \frac{0,7 - 0,9}{0,1} = -2$$

$$x_j = 0,8, \text{ maka } u_j = \frac{0,8 - 0,9}{0,1} = -1$$

$$x_j = 0,9, \text{ maka } u_j = \frac{0,9 - 0,9}{0,1} = 0$$

$$x_j = 1,0, \text{ maka } u_j = \frac{1,0 - 0,9}{0,1} = 1$$

$$x_j = 1,1, \text{ maka } u_j = \frac{1,1 - 0,9}{0,1} = 2$$

$x_j$	0.7	0.8	0.9	1	1.1	$\sum x_j = 4.5$
$u_j$	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j = 0$
$u_j^2$	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2 = 10$
$u_j^4$	16	1	0	1	16	$\sum u_j^4 = 34$
$y_{ij}$	75	90	105	80	70	$\sum y_{ij} = 420$
$u_j y_{ij}$	-150	-90	0	80	140	$\sum u_j y_{ij} = -20$
$u_j^2 y_{ij}$	300	90	0	80	280	$\sum u_j^2 y_{ij} = 750$

- $\sum u_j \cdot y_{ij} = b_1 \cdot r \cdot \sum u_j^2$   
 $-20 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$   
 $b_1 = -0,66$
- $\sum y_{ij} = b_0 \cdot n + b_2 \cdot r \cdot \sum u_j^2$   
 $420 = b_0 \cdot 15 + 30 b_2 \dots \dots \dots (1)$
- $\sum u_j^2 y_{ij} = b_0 \cdot r \cdot \sum u_j^2 + b_2 \cdot r \cdot \sum u_j^4$   
 $750 = b_0 \cdot 30 + 102 \cdot b_2 \dots \dots \dots (2)$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

$$\begin{array}{r} \rightarrow 15 b_0 + 30 b_2 = 420 \quad \parallel \quad 2x \quad \parallel \quad 30 b_0 + 60 b_2 = 840 \\ 30 b_0 + 102 b_2 = 750 \quad \parallel \quad 1x \quad \parallel \quad 30 b_0 + 102 b_2 = 750 \\ \hline -42 b_2 = 90 \\ b_2 = -2,14 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} \rightarrow 15 b_0 + 30 \cdot (-2,14) = 420 \\ 15 b_0 + (-64,2) = 420 \\ 15 b_0 = 420 + 64,2 \\ b_0 = 32,28 \end{array}$$

Setelah itu nilai  $b_0$ ,  $b_1$  dan  $b_2$  di substitusikan ke dalam rumus umum yaitu :

$$Y = b_0 + b_1 U_j + b_2 U_j^2$$

$$Y = 32,28 - 0,66 \left( \frac{x - 0,9}{0,1} \right) - 2,14 \left( \frac{x - 0,9}{0,1} \right)^2$$

$$Y = 32,28 - 6,6x + 5,94 - 214x^2 + 385,2x - 173,34$$

$$Y = -135,12 + 378,6x - 214x^2$$

Jadi persamaan kuadratnya adalah  $Y = -135,12 + 378,6x - 214x^2$

$$\text{jika } X = 0,7 \rightarrow Y = 25,04$$

$$X = 0,8 \rightarrow Y = 30,80$$

$$X = 0,9 \rightarrow Y = 32,28$$

$$X = 1,0 \rightarrow Y = 29,48$$

$$X = 1,1 \rightarrow Y = 22,40$$

Titik puncak dari persamaan tersebut dapat dicari melalui turunan pertama persamaan

$$Y = -135,12 + 378,6x - 214x^2$$

$$Y' = 378,6 - 2(214x)$$

$$Y' = 378,6 - 428x$$

$$Y' = 0 \rightarrow 428x = 378,6$$

$$X = \frac{378,6}{428}$$

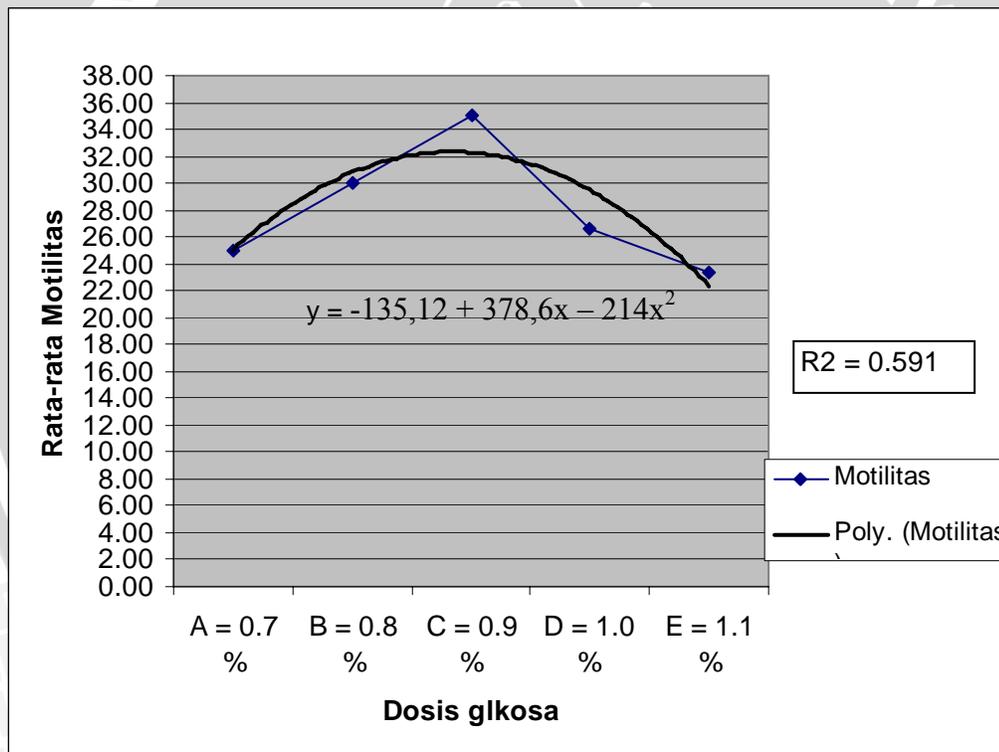
$$X = 0,88$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

maka  $X = 0,88 \rightarrow Y = -135,12 + 378,6x - 214x^2$   
 $Y = -135,12 + 378,6(0,88) - 214(0,88)^2$   
 $Y = 32,32$

Dari persamaan tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai penambahan dosis glukosa optimum pada 0,88 dengan hasil motilitas rata-rata sebesar 32,32.

**Grafik Hubungan Antara Dosis Penambahan Glukosa Pada Media Pengencer Terhadap Motilitas Rata-rata Pada minggu ke 4 Sperma Ikan Tawes Pasca Pencairan**



**Lampiran 2. (Lanjutan)****Data Motilitas Minggu ke 6**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
A = 0,7 %	15	20	20	55	18,33
B = 0,8 %	25	20	25	70	23,33
C = 0,9 %	30	25	30	85	28,33
D = 1,0 %	20	25	20	65	21,67
E = 1,1 %	20	15	15	50	16,67
Total	-	-	-	325	
K = 0 %	5	5	10	20	6,67

**Uji Barlet**

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S <sup>2</sup>	Log S <sup>2</sup>	(r-1)Log S <sup>2</sup>
A = 0,7 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
B = 0,8 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
C = 0,9 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
D = 1,0 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
E = 1,1 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
Total	10	2,5	83,35	41,65	4,6	9,2

$$\begin{aligned}
 S^2 \text{ Gabungan} &= \sum jk/db \\
 &= 83,35/10 \\
 &= 8,335
 \end{aligned}$$

$$\text{Log } S^2 = 0,92$$

$$\begin{aligned}
 X^2 &= 2,3026 [(\sum_i (r-1) \times \log S^2) - \sum_i (r-1) \log S_i^2] \\
 &= 2,3026 [(10 \times 0,92) - 9,2] \\
 &= 0
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi (C)} &= 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum_i 1/(r-1) - [1/\sum_i (r-1)] \} \\
 &= 1 + [1/3(5-1)] \{ 2,5 - [1/10] \} \\
 &= 1,2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ Terkoreksi} &= (1/C)X^2 \\
 &= (1/1,2) \times 0 \\
 &= 0
 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tabel 5\%} = 9,488$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

Karena  $X^2$  Terkoreksi lebih kecil dari  $X^2$  Tabel maka dapat disimpulkan bahwa ragam dalam penelitian ini homogen.

$$\begin{aligned}\text{Faktor koreksi} &= 420^2 / 15 \\ &= 7041,67\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Total} &= [(15)^2 + (20)^2 + \dots + (15)^2] - 7041,67 \\ &= 333,33\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Perlakuan} &= \{(55^2 + 70^2 + 85^2 + 65^2 + 50^2) / 3\} - 7041,67 \\ &= 250,00\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 333,33 - 250,00 \\ &= 83,33\end{aligned}$$

**Tabel Sidik Ragam**

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	4	250,00	62,50	7,50**	3,48	5,99
2. Acak	10	83,33	8,33			
Total	14	333,33				

(\*\*) = Berbeda sangat nyata

$$\begin{aligned}\text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{KT}_{\text{acak}}}{3}} \\ &= \sqrt{\frac{2,8,33}{3}} \\ &= 2,36\end{aligned}$$

$$\text{BNT 5\%} = 2,228 \times 2,36 = 5,25$$

$$\text{BNT 1\%} = 3,169 \times 2,36 = 7,47$$

## Lampiran 2. (Lanjutan)

**Tabel Uji BNT**

Perlakuan	E=16,67	A= 18,33	D=21,67	B=23,33	C=28,33	Notasi
E = 16,67	-					a
A = 18,33	1,66 <sup>ns</sup>	-				a
D = 21,67	5,00 <sup>ns</sup>	3,34 <sup>ns</sup>	-			ab
B = 23,33	6,66*	5,00 <sup>ns</sup>	1,66 <sup>ns</sup>	-		bc
C = 28,33	11,66**	10,00**	6,66*	5,00 <sup>ns</sup>	-	c

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

**Tabel Analisa Regresi**

Perlakuan	Data	Pembanding (Ci)			
	(Ti)	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0,7 %	55	-2	2	-1	1
B = 0,8 %	70	-1	-1	2	-4
C = 0,9 %	85	0	-2	0	6
D = 1,0 %	65	1	-1	-2	-4
E = 1,1 %	50	2	2	1	1
$Q = \sum (C_i T_i)$		-15	-95	5	75
$Kr = \sum (C_i^2) r$		30	42	30	210
$JK = Q^2 / Kr$		7,50	214,88	0,83	26,79

**Tabel Sidik Ragam Regresi**

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	250,00	-	-	-	-
Linear	1	7,50	7,50	0,90 <sup>ns</sup>	4,96	10,04
Kuadratik	1	214,88	214,88	25,79**		
Kubik	1	0,83	0,83	0,10 <sup>ns</sup>		
Kuartik	1	26,79	26,79	3,21 <sup>ns</sup>		
Acak	10	83,33	8,33			
Total	14					

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

$$R^2 \text{ kuadratik} = 214,88 / (214,88 + 83,33)$$

$$R^2 = 0,721$$

$$r = 0,85$$

Karena  $R^2$  Kuadratik lebih besar maka persamaan regresi yang cocok adalah persamaan Kuadratik. Untuk mencari persamaan kuadratik  $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$  digunakan transformasi :

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

$$U_j = \frac{x_j - \bar{x}}{d} \quad d = 0,1$$

$$\bar{x} = \frac{0,7 + 0,8 + 0,9 + 1,0 + 1,1}{5} = 0,9 \text{ sehingga transformasinya adalah } u_j = \frac{x_j - 0,9}{0,1}$$

untuk :

$$x_j = 0,7, \text{ maka } u_j = \frac{0,7 - 0,9}{0,1} = -2$$

$$x_j = 0,8, \text{ maka } u_j = \frac{0,8 - 0,9}{0,1} = -1$$

$$x_j = 0,9, \text{ maka } u_j = \frac{0,9 - 0,9}{0,1} = 0$$

$$x_j = 1,0, \text{ maka } u_j = \frac{1,0 - 0,9}{0,1} = 1$$

$$x_j = 1,1, \text{ maka } u_j = \frac{1,1 - 0,9}{0,1} = 2$$

$x_j$	0.7	0.8	0.9	1	1.1	$\sum x_j = 4.5$
$u_j$	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j = 0$
$u_j^2$	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2 = 10$
$u_j^4$	16	1	0	1	16	$\sum u_j^4 = 34$
$y_{ij}$	55	70	85	65	50	$\sum y_{ij} = 325$
$u_j y_{ij}$	-110	-70	0	65	100	$\sum u_j y_{ij} = -15$
$u_j^2 y_{ij}$	220	70	0	65	200	$\sum u_j^2 y_{ij} = 555$

- $\sum u_j \cdot y_{ij} = b_1 \cdot r \cdot \sum u_j^2$   
 $-15 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$   
 $b_1 = -0,5$
- $\sum y_{ij} = b_0 \cdot n + b_2 \cdot r \cdot \sum u_j^2$   
 $325 = b_0 \cdot 15 + 30 b_2 \dots \dots \dots (1)$
- $\sum u_j^2 y_{ij} = b_0 \cdot r \cdot \sum u_j^2 + b_2 \cdot r \cdot \sum u_j^4$   
 $555 = b_0 \cdot 30 + 102 \cdot b_2 \dots \dots \dots (2)$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

$$\begin{array}{r}
 \rightarrow 15 b_0 + 30 b_2 = 325 \quad \parallel \quad 2x \quad \parallel \quad 30 b_0 + 60 b_2 = 650 \\
 30 b_0 + 102 b_2 = 555 \quad \parallel \quad 1x \quad \parallel \quad 30 b_0 + 102 b_2 = 555 \\
 \hline
 -42 b_2 = 95 \\
 b_2 = -2,26
 \end{array}$$

$$\begin{array}{l}
 \rightarrow 15 b_0 + 30(-2,26) = 325 \\
 15 b_0 + (-67,8) = 325 \\
 15 b_0 = 325 + 67,8 \\
 b_0 = 26,19
 \end{array}$$

Setelah itu nilai  $b_0$ ,  $b_1$  dan  $b_2$  di substitusikan ke dalam rumus umum yaitu :

$$Y = b_0 + b_1 U_j + b_2 U_j^2$$

$$Y = 26,19 - 0,5 \left( \frac{x - 0,9}{0,1} \right) - 2,26 \left( \frac{x - 0,9}{0,1} \right)^2$$

$$Y = 26,19 - 5x + 4,5 - 226x^2 + 406,8 - 183,06$$

$$Y = -152,37 + 401,8x - 226x^2$$

Jadi persamaan kuadratnya adalah  $Y = -152,37 + 401,8x - 226x^2$

$$\text{Jika } X = 0,7 \rightarrow Y = 18,15$$

$$X = 0,8 \rightarrow Y = 24,43$$

$$X = 0,9 \rightarrow Y = 26,19$$

$$X = 1,0 \rightarrow Y = 23,43$$

$$X = 1,1 \rightarrow Y = 16,15$$

Titik puncak dari persamaan tersebut dapat dicari melalui turunan pertama persamaan

$$Y = -152,37 + 401,8x - 226x^2$$

$$Y' = 401,8 - 2(226x)$$

$$Y' = 401,8 - 452x$$

$$Y' = 0 \rightarrow 452x = 401,8$$

$$X = \frac{401,8}{452}$$

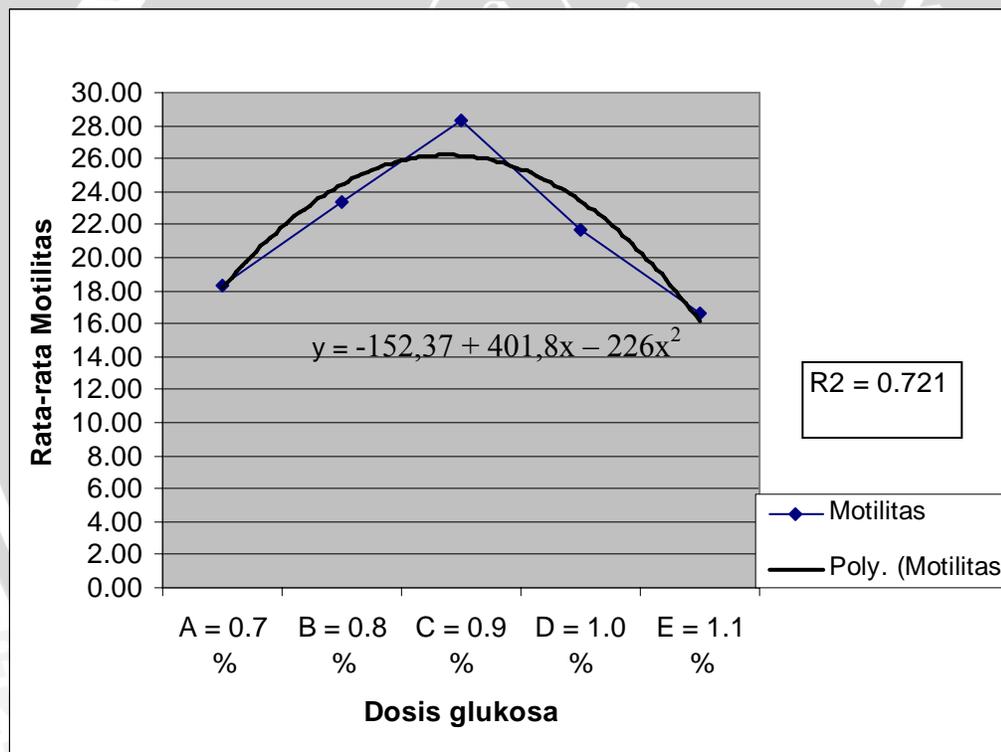
$$X = 0,88$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

maka  $X = 0,88 \rightarrow Y = -152,37 + 401,8x - 226x^2$   
 $Y = -152,37 + 401,8(0,88) - 226(0,88)^2$   
 $Y = 26,20$

Dari persamaan tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai penambahan dosis glukosa optimum pada 0,88 dengan hasil motilitas rata-rata sebesar 26,20.

**Grafik Hubungan Antara Dosis Penambahan Glukosa Pada Media Pengencer Terhadap Motilitas Rata-rata Pada minggu ke 6 Sperma Ikan Tawes Pasca Pencairan.**



**Lampiran 2. (Lanjutan)**

**Data Motilitas Minggu ke 8**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
A = 0,7 %	10	10	10	30	10,00
B = 0,8 %	15	10	10	35	11,67
C = 0,9 %	25	20	20	65	21,67
D = 1,0 %	20	20	15	55	18,33
E = 1,1 %	20	10	10	40	13,33
Total	-	-	-	225	
K = 0 %	-	-	-	-	-

**Uji Barlet**

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S <sup>2</sup>	Log S <sup>2</sup>	(r-1)Log S <sup>2</sup>
0,7 %	2	0,5	0	0	0	0
0,8 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
0,9 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
1,0 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
1,1 %	2	0,5	66,67	33,33	1,52	3,04
Total	10	2,5	116,68	58,32	4,28	8,56

$$\begin{aligned}
 S^2 \text{ Gabungan} &= \sum jk/db \\
 &= 116,68/10 \\
 &= 11,66
 \end{aligned}$$

$$\text{Log } S^2 = 1,06$$

$$\begin{aligned}
 X^2 &= 2,3026 [(\sum_i(r-1) \times \log S^2) - \sum_i(r-1)\log S_i^2] \\
 &= 2,3026 [(10 \times 1,06) - 8,56] \\
 &= 4,69
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi (C)} &= 1 + [1/3(t-1)]\{ \sum_i 1/(r-1) - [1/\sum_i(r-1)]\} \\
 &= 1 + [1/3(5-1)]\{2.5 - [1/10]\} \\
 &= 1,2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ Terkoreksi} &= (1/C)X^2 \\
 &= (1/1,2) \times 4,69 \\
 &= 3,90
 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tabel 5\%} = 9,488$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

Karena  $X^2$  Terkoreksi lebih kecil dari  $X^2$  Tabel maka dapat disimpulkan bahwa ragam dalam penelitian ini homogen.

$$\begin{aligned}\text{Faktor koreksi} &= 225^2 / 15 \\ &= 3375\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Total} &= [(10)^2 + (10)^2 + \dots + (10)^2] - 3375 \\ &= 400,00\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Perlakuan} &= \{(30^2 + 35^2 + 65^2 + 55^2 + 40^2) / 3\} - 3375 \\ &= 283,33\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 400,00 - 283,33 \\ &= 116,67\end{aligned}$$

**Tabel Sidik Ragam**

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	4	283,33	70,83	6,07**	3,48	5,99
2. Acak	10	116,67	11,67			
Total	14	400,00				

(\*\*) = Berbeda sangat nyata

$$\begin{aligned}\text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{KT}_{\text{acak}}}{3}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \cdot 11,67}{3}} \\ &= 2,79\end{aligned}$$

$$\text{BNT 5\%} = 2,228 \times 2,79 = 6,21$$

$$\text{BNT 1\%} = 3,169 \times 2,79 = 8,84$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

**Tabel Uji BNT**

Perlakuan	A = 10,00	B = 11,67	E = 13,33	D = 18,33	C = 21,67	Notasi
A = 10,00	-					a
B = 11,67	1,67 <sup>ns</sup>	-				a
E = 13,33	3,33 <sup>ns</sup>	1,66 <sup>ns</sup>	-			ab
D = 18,33	8,33*	6,66*	5,00 <sup>ns</sup>	-		bc
C = 21,67	11,67**	10,00**	8,34*	3,34 <sup>ns</sup>	-	c

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

**Tabel Analisa Regresi**

Perlakuan	Data	Pembanding (Ci)			
	(Ti)	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0,7 %	30	-2	2	-1	1
B = 0,8 %	35	-1	-1	2	-4
C = 0,9 %	65	0	-2	0	6
D = 1,0 %	55	1	-1	-2	-4
E = 1,1 %	40	2	2	1	1
Q = $\sum (Ci Ti)$		40	-80	-30	100
Kr = $\sum (Ci^2)r$		30	42	30	210
JK = Q <sup>2</sup> /Kr		53,33	152,38	30,00	47,62

**Tabel Sidik Ragam Regresi**

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	283,33	-	-	-	-
Linear	1	53,33	53,33	4,57 <sup>ns</sup>	4,96	10,04
Kuadratik	1	152,38	152,38	13,06**		
Kubik	1	30,00	30,00	2,57 <sup>ns</sup>		
Kuartik	1	47,62	47,62	4,08 <sup>ns</sup>		
Acak	10	116,67	11,67			
Total	14					

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

$$R^2 \text{ kuadratik} = 152,38 / (152,38 + 116,67)$$

$$R^2 = 0,566$$

$$r = 0,75$$

Karena R<sup>2</sup> Kuadratik lebih besar maka persamaan regresi yang cocok adalah persamaan Kuadratik. Untuk mencari persamaan kuadratik  $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$  digunakan transformasi :

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

$$U_j = \frac{x_j - \bar{x}}{d} \quad d = 0,1$$

$$\bar{x} = \frac{0,7 + 0,8 + 0,9 + 1,0 + 1,1}{5} = 0,9 \text{ sehingga transformasinya adalah } u_j = \frac{x_j - 0,9}{0,1}$$

untuk :

$$x_j = 0,7, \text{ maka } u_j = \frac{0,7 - 0,9}{0,1} = -2$$

$$x_j = 0,8, \text{ maka } u_j = \frac{0,8 - 0,9}{0,1} = -1$$

$$x_j = 0,9, \text{ maka } u_j = \frac{0,9 - 0,9}{0,1} = 0$$

$$x_j = 1,0, \text{ maka } u_j = \frac{1,0 - 0,9}{0,1} = 1$$

$$x_j = 1,1, \text{ maka } u_j = \frac{1,1 - 0,9}{0,1} = 2$$

$x_j$	0.7	0.8	0.9	1	1.1	$\sum x_j = 4.5$
$u_j$	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j = 0$
$u_j^2$	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2 = 10$
$u_j^4$	16	1	0	1	16	$\sum u_j^4 = 34$
$y_{ij}$	30	35	65	55	40	$\sum y_{ij} = 225$
$u_j y_{ij}$	-60	-35	0	55	80	$\sum u_j y_{ij} = 40$
$u_j^2 y_{ij}$	120	35	0	55	160	$\sum u_j^2 y_{ij} = 370$

- $\sum u_j \cdot y_{ij} = b_1 \cdot r \cdot \sum u_j^2$   
 $40 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$   
 $b_1 = 1,33$
- $\sum y_{ij} = b_0 \cdot n + b_2 \cdot r \cdot \sum u_j^2$   
 $225 = b_0 \cdot 15 + 30 b_2 \dots \dots \dots (1)$
- $\sum u_j^2 y_{ij} = b_0 \cdot r \cdot \sum u_j^2 + b_2 \cdot r \cdot \sum u_j^4$   
 $370 = b_0 \cdot 30 + 102 \cdot b_2 \dots \dots \dots (2)$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

$$\begin{array}{r}
 \text{➤ } 15 b_0 + 30 b_2 = 225 \parallel 2x \parallel 30 b_0 + 60 b_2 = 450 \\
 30 b_0 + 102 b_2 = 370 \parallel 1x \parallel 30 b_0 + 102 b_2 = 370 \\
 \hline
 -42 b_2 = 80 \\
 b_2 = -1,90
 \end{array}$$

$$\begin{array}{l}
 \text{➤ } 15 b_0 + 30 \cdot (-1,90) = 225 \\
 15 b_0 + (-57,1) = 225 \\
 15 b_0 = 225 + 57,1 \\
 b_0 = 18,80
 \end{array}$$

Setelah itu nilai  $b_0$ ,  $b_1$  dan  $b_2$  di substitusikan ke dalam rumus umum yaitu :

$$Y = b_0 + b_1 U_j + b_2 U_j^2$$

$$Y = 18,80 + 1,33 \left( \frac{x-0,9}{0,1} \right) - 1,90 \left( \frac{x-0,9}{0,1} \right)^2$$

$$Y = 18,80 + 13,3x - 11,97 - 190x^2 + 342x - 153,9$$

$$Y = -147,07 + 355,3x - 190x^2$$

Jadi persamaan kuadratnya adalah  $Y = -147,07 + 355,3x - 190x^2$

$$\text{Jika } X = 0,7 \rightarrow Y = 8,54$$

$$X = 0,8 \rightarrow Y = 15,57$$

$$X = 0,9 \rightarrow Y = 18,80$$

$$X = 1,0 \rightarrow Y = 18,23$$

$$X = 1,1 \rightarrow Y = 13,86$$

Titik puncak dari persamaan tersebut dapat dicari melalui turunan pertama persamaan

$$Y = -147,07 + 355,3x - 190x^2$$

$$Y' = 355,3 - 2(190x)$$

$$Y' = 355,3 - 380x$$

$$Y' = 0 \rightarrow 380x = 355,3$$

$$X = \frac{355,3}{380}$$

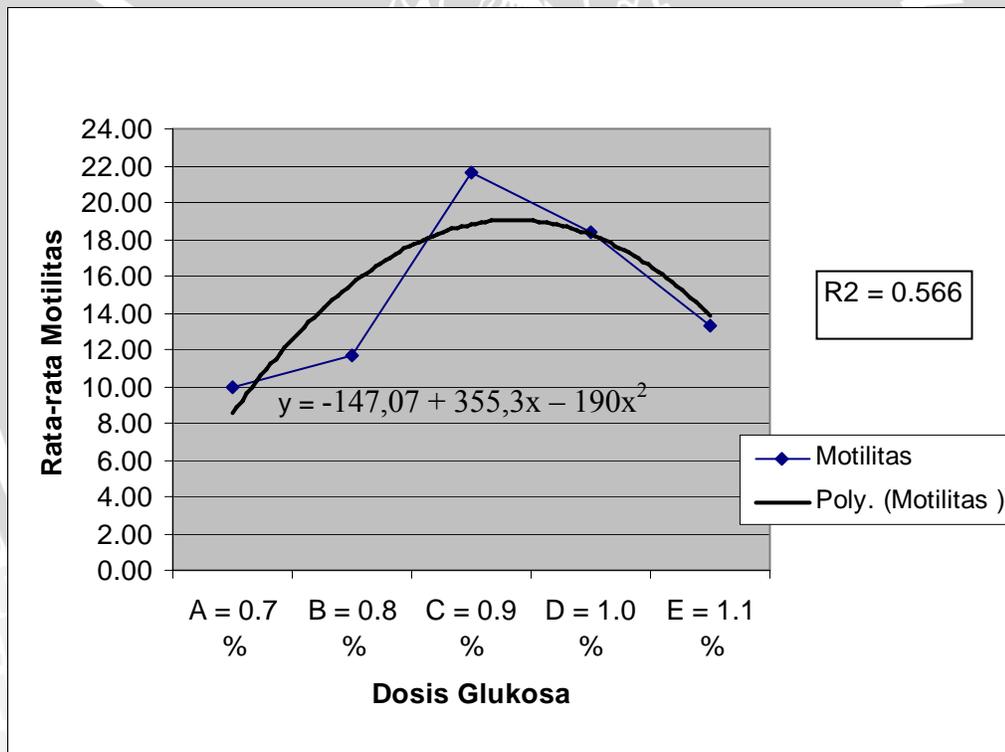
$$X = 0,93$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

maka  $X = 0,93 \rightarrow Y = -147,07 + 355,3x - 190x^2$   
 $Y = -147,07 + 355,3(0,93) - 190(0,93)^2$   
 $Y = 19,03$

Dari persamaan tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai penambahan dosis glukosa optimum pada 0,93 dengan hasil motilitas rata-rata sebesar 19,03.

**Grafik Hubungan Antara Dosis Penambahan Glukosa Pada Media Pengencer Terhadap Motilitas Rata-rata Pada minggu ke 8 Sperma Ikan Tawes Pasca Pencairan.**



**Lampiran 2. (Lanjutan)**

**Data Motilitas Total**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan
	1	2	3		
A = 0,7 %	18,75	21,25	20	60	20,00
B = 0,8 %	27,5	22,5	25	75	25,00
C = 0,9 %	33,75	28,75	33,75	96,25	32,08
D = 1,0 %	26,25	25	26,25	77,5	25,83
E = 1,1 %	23,75	18,75	20	62,5	20,83
Total	-	-	-	371,25	
K = 0 %	7,5	6,25	7,5	21,25	7,08

**Uji Barlet**

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S <sup>2</sup>	Log S <sup>2</sup>	(r-1)Log S <sup>2</sup>
A = 0,7 %	2	0,5	3,12	1,56	0,19	0,38
B = 0,8 %	2	0,5	12,50	6,25	0,79	1,58
C = 0,9 %	2	0,5	16,67	8,33	0,92	1,84
D = 1,0 %	2	0,5	1,04	0,52	-0,28	-0,56
E = 1,1 %	2	0,5	13,54	6,77	0,83	1,66
Total	10	2,5	46,87	23,43	2,45	4,9

$$S^2 \text{ Gabungan} = \sum_{jk} / db$$

$$= 46,87 / 10$$

$$= 4,68$$

$$\text{Log } S^2 = 0,67$$

$$X^2 = 2,3026 [(\sum_i (r-1) \times \log S_i^2) - \sum_i (r-1) \log S_i^2]$$

$$= 2,3026 [(10 \times 0,67) - 4,9]$$

$$= 4,14$$

$$\text{Faktor koreksi (C)} = 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum_i 1/(r-1) - [1/\sum_i (r-1)] \}$$

$$= 1 + [1/3(5-1)] \{ 2,5 - [1/10] \}$$

$$= 1,2$$

$$X^2 \text{ Terkoreksi} = (1/C) X^2$$

$$= (1/1,2) \times 4,14$$

$$= 3,45$$

$$X^2 \text{ Tabel 5\%} = 9,488$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

Karena  $X^2$  Terkoreksi lebih kecil dari  $X^2$  Tabel maka dapat disimpulkan bahwa ragam dalam penelitian ini homogen.

$$\begin{aligned}\text{Faktor koreksi} &= 371,25^2 / 15 \\ &= 9188,44\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Total} &= [(18,75)^2 + (21,25)^2 + \dots + (20)^2] - 9188,44 \\ &= 325,62\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Perlakuan} &= \{(60^2 + 75^2 + 96,25^2 + 77,5^2 + 62,5^2) / 3\} - 9188,44 \\ &= 278,75\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 325,62 - 278,75 \\ &= 46,87\end{aligned}$$

**Tabel Sidik Ragam**

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	4	278,75	69,68	14,87**	3,48	5,99
2. Acak	10	46,87	4,68			
Total	14	325,62				

(\*\*) = Berbeda sangat nyata

$$\begin{aligned}\text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{KT}_{\text{acak}}}{3}} \\ &= \sqrt{\frac{2,4,68}{3}} \\ &= 1,77\end{aligned}$$

$$\text{BNT } 5\% = 2,228 \times 1,77 = 3,94$$

$$\text{BNT } 1\% = 3,169 \times 1,77 = 5,60$$

## Lampiran 2. (Lanjutan)

### Tabel Uji BNT

Perlakuan	A = 20,00	E = 20,83	B = 25,00	D = 25,83	C = 32,08	Notasi
A = 20,00	-					a
E = 20,83	0,83 <sup>ns</sup>	-				a
B = 25,00	5,00*	4,16*	-			bc
D = 25,83	5,83**	5,00*	0,83 <sup>ns</sup>	-		cd
C = 32,08	12,08**	11,25**	7,08**	6,25**	-	d

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

### Tabel Analisa Regresi

Perlakuan	Data	Pembanding (Ci)			
	(Ti)	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0,7 %	60	-2	2	-1	1
B = 0,8 %	75	-1	-1	2	-4
C = 0,9 %	96,25	0	-2	0	6
D = 1,0 %	77,5	1	-1	-2	-4
E = 1,1 %	62,5	2	2	1	1
Q = $\sum (Ci Ti)$		7,5	-100	-2,5	90
Kr = $\sum (Ci^2)r$		30	42	30	210
JK = $Q^2/Kr$		1,88	238,10	0,21	38,57

### Tabel Sidik Ragam Regresi

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	278,75	-	-	-	-
Linear	1	1,88	1,88	0,40 <sup>ns</sup>	4,96	10,04
Kuadratik	1	238,10	238,10	50,79**		
Kubik	1	0,21	0,21	0,04 <sup>ns</sup>		
Kuartik	1	38,57	38,57	8,23*		
Acak	10	46,88	4,69			
Total	14					

(ns) = Tidak berbeda nyata (\*) = Berbeda nyata (\*\*) = Sangat berbeda nyata

$$R^2 \text{ kuadratik} = 238,10 / (238,10 + 46,88)$$

$$R^2 = 0,836$$

$$r = 0,91$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = 38,57 / (38,57 + 46,88)$$

$$R^2 = 0,451$$

$$r = 0,67$$

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

Karena  $R^2$  Kuadrat lebih besar dari  $R^2$  Kuartik maka persamaan regresi yang cocok adalah persamaan Kuadrat.

Untuk mencari persamaan kuadrat  $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$  digunakan transformasi :

$$U_j = \frac{x_j - \bar{x}}{d} \quad d = 0,1$$

$$\bar{x} = \frac{0,7 + 0,8 + 0,9 + 1,0 + 1,1}{5} = 0,9 \text{ sehingga transformasinya adalah } u_j = \frac{x_j - 0,9}{0,1}$$

untuk :

$$x_j = 0,7, \text{ maka } u_j = \frac{0,7 - 0,9}{0,1} = -2$$

$$x_j = 0,8, \text{ maka } u_j = \frac{0,8 - 0,9}{0,1} = -1$$

$$x_j = 0,9, \text{ maka } u_j = \frac{0,9 - 0,9}{0,1} = 0$$

$$x_j = 1,0, \text{ maka } u_j = \frac{1,0 - 0,9}{0,1} = 1$$

$$x_j = 1,1, \text{ maka } u_j = \frac{1,1 - 0,9}{0,1} = 2$$

$x_j$	0,7	0,8	0,9	1	1,1	$\sum x_j = 4,5$
$u_j$	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j = 0$
$u_j^2$	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2 = 10$
$u_j^4$	16	1	0	1	16	$\sum u_j^4 = 34$
$y_{ij}$	60	75	96,25	77,5	62,5	$\sum y_{ij} = 371,25$
$u_j y_{ij}$	-120	-75	0	77,5	125	$\sum u_j y_{ij} = 7,5$
$u_j^2 y_{ij}$	220	70	0	77,5	250	$\sum u_j^2 y_{ij} = 642,5$

➤  $\sum u_j \cdot y_{ij} = b_1 \cdot r \cdot \sum u_j^2$

$$7,5 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$$

$$b_1 = 0,25$$



### Lampiran 2. (Lanjutan)

Titik puncak dari persamaan tersebut dapat dicari melalui turunan pertama persamaan

$$Y = -165,52 + 430,9x - 238x^2$$

$$Y' = 430,9 - 2(238x)$$

$$Y' = 430,9 - 476x$$

$$Y' = 0 \rightarrow 476x = 430,9$$

$$x = \frac{430,9}{476}$$

$$x = 0,90$$

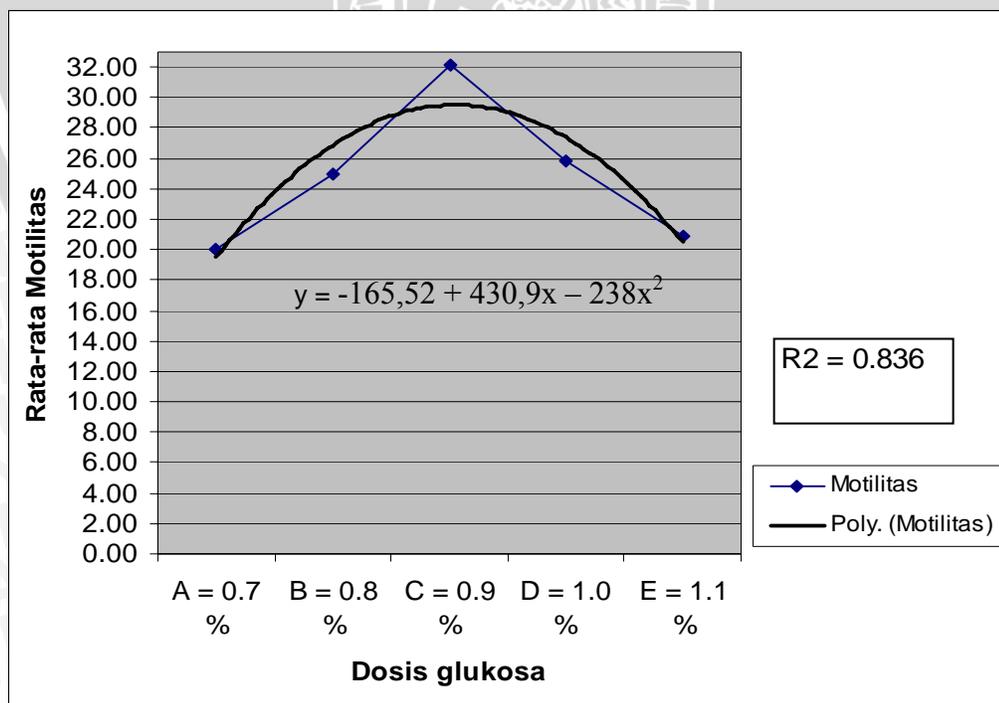
$$\text{maka } x = 0,90 \rightarrow Y = -165,52 + 430,9x - 238x^2$$

$$Y = -165,52 + 430,9(0,90) - 238(0,90)^2$$

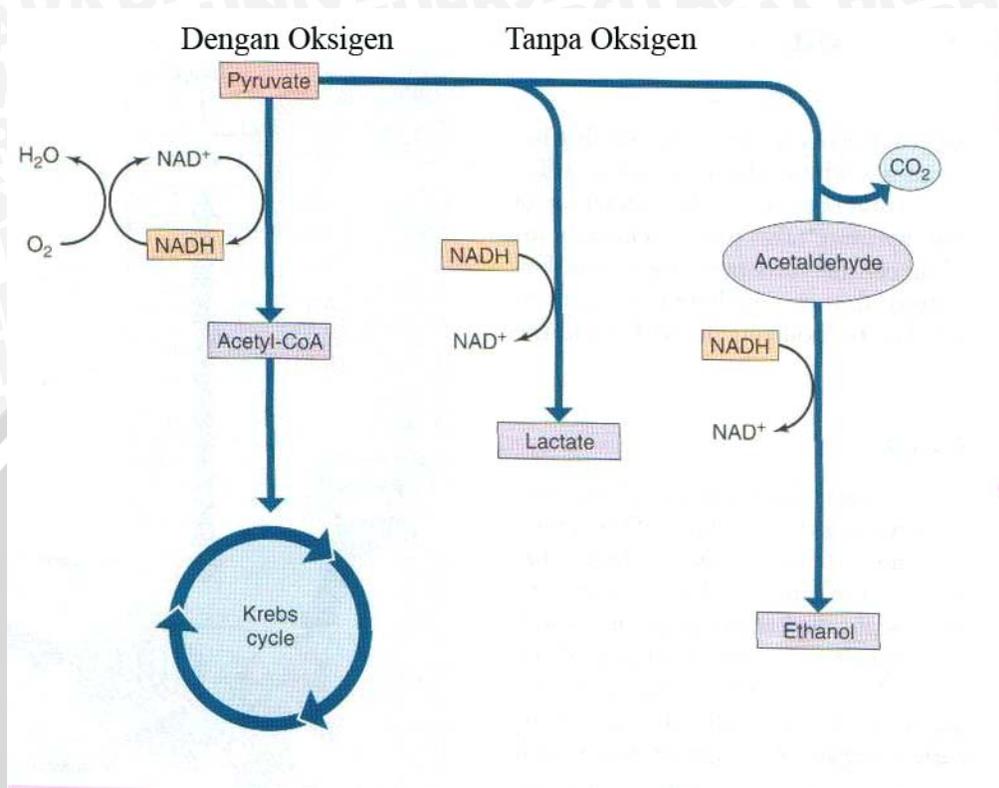
$$Y = 29,51$$

Dari persamaan tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai penambahan dosis glukosa optimum pada 0,90 dengan hasil motilitas rata-rata sebesar 29,51.

**Grafik Hubungan Antara Dosis Penambahan Glukosa Pada Media Pengencer Terhadap Motilitas Total Rata-rata Sperma Ikan Tawes Pasca Pencairan.**



### Lampiran 3. Mekanisme Piruvat Dengan dan Tanpa Oksigen



(Raven, *et.al*, 2005)



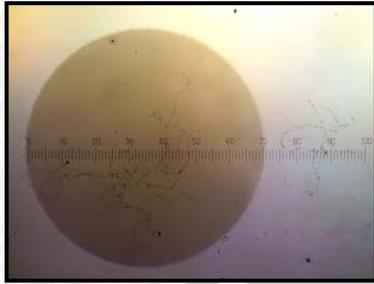
**Lampiran 4. Komposisi *Tris Aminomethane***

No	Bahan	Per 100 ml
1.	<i>Tris aminomethane</i>	1,6 gr
2.	Asam sitrat	0,9 gr
3.	Laktose	1,4 gr
4.	Raffinose	2,5 gr
5.	Aquadest	80 ml
6.	Streptomisin	0,29 ml
7.	Penicillin	0,43 ml
8.	Kuning telur	20%
9.	Gliserol	13%

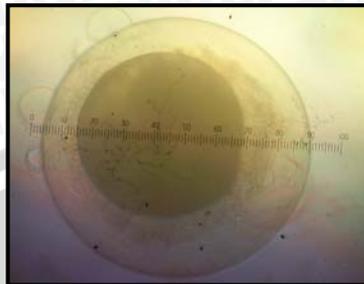
(Zenichiro, 2002)



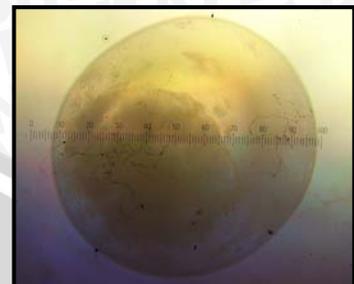
**Lampiran 5. Hasil Fertilisasi Menggunakan Sperma Ikan Tawes (*Puntius javanicus*) Alami Yang Digunakan Sebagai Perbandingan Dari Hasil Perlakuan Pembekuan.**



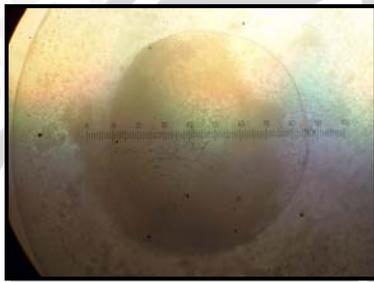
**KONTROL**



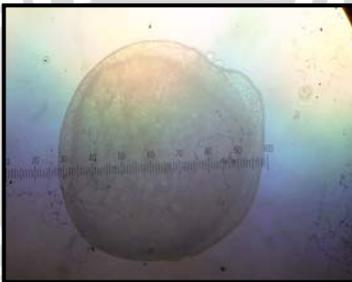
**5 MENIT -1**



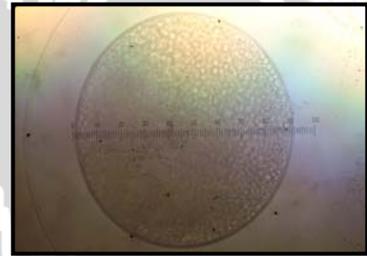
**5 MENIT -2**



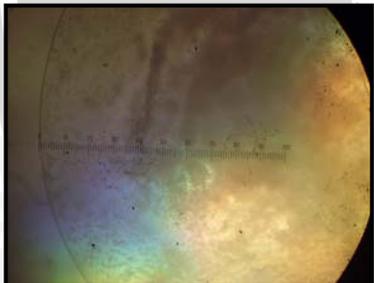
**5 MENIT -3**



**10 MENIT -1**



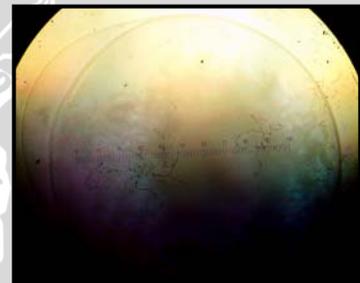
**10 MENIT -2**



**15 MENIT -1**



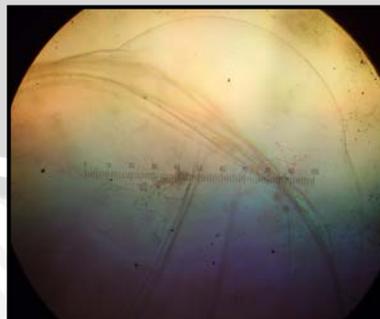
**15 MENIT -2**



**1 JAM -1**



**1 JAM -2**



**4 JAM**

