

**PENGARUH PENAMBAHAN GLISEROL PADA PENGECER SUSU SKIM
KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SPERMA IKAN MAS
(*Cyprinus carpio* L.) PADA PEMBEKUAN SUHU – 196 °C**

**SKRIPSI
BUDIDAYA PERAIRAN**

Oleh:

HUSNI YULHAM

NIM. 0210850031



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERIKANAN

MALANG

2007

**PENGARUH PENAMBAHAN GLISEROL PADA PENGENCER SUSU SKIM
KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SPERMA IKAN MAS
(*Cyprinus carpio* L.) PADA PEMBEKUAN SUHU – 196 °C**

**SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
BUDIDAYA PERAIRAN**

Oleh:

**HUSNI YULHAM
NIM. 0210850031**

Dosen Penguji I

**(Ir. ACHMAD MUCHLIS, 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**

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

RINGKASAN

HUSNI YULHAM. Pengaruh Penambahan Gliserol Pada Pengencer Susu Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Sperma Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) Pada Pembekuan Suhu -196°C . (dibawah bimbingan **Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS.,** dan **Ir. M. RASYID FADHOLI, MSi.**)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gliserol pada pengencer susu skim terhadap kualitas sperma ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) setelah pembekuan pada suhu -196°C sehingga akan didapatkan kualitas dan daya awet terbaik. Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Kabupaten Malang Jawa Timur, pada bulan September hingga Oktober 2006.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Teknik pengumpulan data yang dilakukan dengan cara pengamatan langsung (observasi). Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan masing-masing perlakuan menggunakan 3 kali ulangan. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur, digunakan analisa keragaman atau Uji F. Apabila nilai F berbeda nyata atau sangat nyata, maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Parameter utama yang diukur dalam penelitian ini adalah motilitas sperma, viabilitas dan lama gerak. Sedangkan parameter penunjang yang diukur adalah daya fertilitas sperma ikan mas yang telah dibekukan. Pengamatan dilakukan setiap minggu dengan lama pengamatan selama 4 minggu atau 4 kali pengamatan.

Dosis gliserol yang diberikan adalah sebanyak 0% (kontrol), 2 %, 4%, 6%, 8% serta 10%. Sedangkan perbandingan jumlah semen dengan pengencer susu skim kuning telur yang digunakan sebanyak 1:6.

Pada motilitas sperma, hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa penambahan gliserol pada pengencer susu skim memiliki nilai berbeda sangat nyata pada tiap perlakuan. Nilai motilitas tertinggi didapatkan pada penambahan gliserol sebanyak 10% sedangkan yang terendah adalah pada kontrol (tanpa pemberian gliserol) dengan persamaan linier pada minggu IV yaitu $Y = 37,159 + 2,048 x$ dengan $r = 0,9776$.

Untuk pengamatan viabilitas sperma, berdasarkan analisa sidik ragam didapatkan bahwa tiap perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata. Nilai viabilitas tertinggi didapatkan pada pemberian gliserol sebanyak 10% sedangkan yang terendah adalah pada kontrol. Begitu juga pada pengamatan lama gerak spermatozoa, dimana nilai tertinggi didapatkan pada pemberian gliserol sebanyak 10% sedangkan yang terendah adalah pada kontrol. Persamaan regresi untuk viabilitas sperma pada minggu ke IV adalah $Y = 47,807 + 2,182x$ dengan $r = 0,9812$, sedangkan lama gerak spermatozoa pada minggu IV adalah $Y = 16,929 + 1,893x$ dengan $r = 0,99$.

Pada fertilitasi yang dilakukan setelah penyimpanan selama 4 minggu, didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata antara tiap perlakuan. Hal ini disebabkan karena kualitas telur yang digunakan tidak begitu baik sehingga daya fertilitas spermatozoa tidak sesuai dengan yang diharapkan.

Dari hasil diatas dapat disimpulkan bahwa untuk mendapatkan daya awet sperma ikan mas yang terbaik pada pembekuan dapat dilakukan dengan cara menggunakan pengencer susu skim kuning telur dengan perbandingan 1:6 dan penambahan *cryoprotectant* berupa gliserol sebanyak 10%.

KATA PENGANTAR

Assalamua'alaikum Wr...Wb...

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulisan laporan skripsi ini dapat terselesaikan. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.

Terima kasih penulis ucapkan kepada berbagai pihak yang telah membantu kelancaran penulisan laporan ini, antara lain:

- Bapak Ir. Maheno Sri Widodo, MS. dan bapak Ir. M. Rasyid Fadholi MSi. sebagai dosen pembimbing I dan II atas petunjuk dan bimbingan yang telah diberikan selama ini.
- Ibu Sarastina selaku kepala Laboratorium Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari, Ibu Ani, Pak Mufidz serta Pak Wawan sebagai staf Laboratorium yang telah banyak membantu serta memberikan masukan dan saran sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.
- Rekan-rekan Budidaya Perairan 2002, Junaedi, Teguh, Hemo, Dedi, Juni, David, Adi, mbak Indah serta mas Udin yang telah banyak membantu penulis dalam penyelesaian laporan ini.

Akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi masyarakat pada umumnya dan penulis sendiri pada khususnya.

Wassalamu'alaikum Wr...Wb...

Malang, Februari 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Perumusan masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Kegunaan	4
1.5 Hipotesis	4
1.6 Tempat dan Waktu	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Biologi Ikan Mas	6
2.1.1 Klasifikasi	6
2.1.2. Morfologi Ikan Mas	6
2.2 Sperma Ikan Mas	7
2.2.1 Proses Spermatogenesis	7
2.2.2 Morfologi dan Biokimiawi Spermatozoa	9
2.2.3 Metabolisme Spermatozoa	11
2.2.4 Parameter Kualitas Sperma	13
2.3 Pengencer Susu Skim	16
2.4 Jenis-jenis <i>Cryoprotectant</i>	17
2.4.1 Kuning Telur	17
2.4.2 Gliserol	18
3. MATERI DAN METODE.....	20
3.1 Materi Penelitian	20
3.1.1 Pemeriksaan Kualitas Sperma.....	20
3.1.2 Pengenceran Sperma	20
3.1.3 Pembekuan Sperma.....	21
3.1.4 Thawing.....	21
3.2 Rancangan Penelitian.....	21

3.3	Parameter Uji	23
3.3.1	Parameter Utama	23
3.3.2	Parameter Penunjang	24
3.4	Prosedur Penelitian	25
3.4.1	Persiapan Penelitian	25
3.4.2	Pelaksanaan Penelitian	26
3.5	Analisa Data	28
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1	Evaluasi Sperma Segar Ikan Mas	29
4.2	Pemeriksaan Kualitas Sperma Sebelum <i>Pre-freezing</i> Pada Suhu 5 °C	31
4.2.1	Motilitas Sperma Sebelum <i>Pre-freezing</i>	32
4.2.2	Viabilitas Sperma Sebelum <i>Pre-freezing</i>	33
4.2.3	Lama Gerak Sperma Sebelum <i>Pre-freezing</i>	34
4.3	Evaluasi Kualitas Sperma Setelah Pembekuan dan Thawing	35
4.3.1	Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Motilitas Sperma	35
4.3.2	Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Viabilitas Sperma	41
4.3.3	Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Lama Gerak Sperma ..	47
4.3.4	Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Fertilitas dan Daya Tetas Telur	52
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	55
5.1	Kesimpulan	55
5.2	Saran	56
	DAFTAR PUSTAKA	57
	LAMPIRAN	59



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Proses Spermatogenesis	7
2. Morfologi Spermatozoa	9
3. Proses Metabolisme Spermatozoa.....	11
4 Denah Percobaan.....	20
5. Hubungan antara dosis gliserol dan motilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu I.....	35
6. Hubungan antara dosis gliserol dan motilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu II.....	35
7. Hubungan antara dosis gliserol dan motilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu III.....	36
8. Hubungan antara dosis gliserol dan motilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu IV.....	36
9. Hubungan antara dosis gliserol dan viabilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu I	40
10. Hubungan antara dosis gliserol dan viabilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu II	40
11 Hubungan antara dosis gliserol dan viabilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu III	41
12 Hubungan antara dosis gliserol dan viabilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu IV	41
13 Hubungan antara dosis gliserol dan lama gerak sperma ikan mas pada pengamatan minggu I	45
14 Hubungan antara dosis gliserol dan lama gerak sperma ikan mas pada pengamatan minggu II	45
15 Hubungan antara dosis gliserol dan lama gerak sperma ikan mas pada pengamatan minggu III	46

16 Hubungan antara dosis gliserol dan lama gerak sperma ikan mas pada pengamatan minggu IV 46

17 Hubungan antara dosis gliserol dan daya fertilitas telur ikan mas 36



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi pengencer susu skim kuning telur.....	20
2. Hasil pemeriksaan sperma segar ikan mas (<i>Cyprinus carpio</i>).....	29
3. Data pengamatan sperma ikan mas sebelum <i>Pre-freezing</i>	32
4. Nilai prosentase motilitas sperma pada tiap minggu.....	36
5. Nilai analisa sidik ragam motilitas sperma ikan mas.....	36
6. Uji Beda Nyata Terkecil motilitas spermatozoa ikan mas.....	37
7. Data pengamatan nilai rata-rata viabilitas sperma ikan mas.....	41
8. Sidik ragam viabilitas sperma ikan mas.....	42
9. Uji Benda Nyata Terkecil viabilitas sperma ikan mas.....	42
10. Nilai rata-rata lama gerak sperma ikan mas.....	47
11. Nilai sidik ragam lama gerak sperma ikan mas.....	47
12. Uji Beda Nyata Terkecil lama gerak sperma ikan mas.....	48
13. Data prosentase fertilitas telur ikan mas.....	44
14. Nilai sidik ragam fertilitas telur ikan mas.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data persentase motilitas Minggu ke I.....	56
2. Data persentase motilitas Minggu ke II.....	60
3. Data persentase motilitas Minggu ke III	64
4. Data persentase motilitas Minggu ke IV.....	68
6. Data persentase viabilitas sperma Minggu ke I.....	73
7. Data persentase viabilitas sperma Minggu ke II	77
8. Data persentase viabilitas sperma Minggu ke III.....	81
9. Data persentase viabilitas sperma Minggu ke IV.....	84
11. Data lama gerak Minggu ke I.....	89
12. Data lama gerak Minggu ke II	92
13. Data lama gerak Minggu ke III.....	96
14. Data lama gerak Minggu ke IV.....	100
16. Data persentase fertilitas	105



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan mas adalah salah satu jenis ikan yang bernilai ekonomis penting. Ikan ini telah memasyarakat dan tersebar hampir di seluruh propinsi di Indonesia. Kini di Indonesia ikan mas telah menduduki produksi terbesar untuk jenis ikan budidaya air tawar. Bahkan, pada tahun 1987-1988 ikan mas telah dicoba diekspor. Ekspor ikan tersebut hanya berlangsung dalam waktu yang sangat singkat, dikarenakan mutu dan kontinuitas produksinya belum memenuhi permintaan negara pengimpor (Suseno, 1994).

Untuk meningkatkan produksi ikan yang dibutuhkan tersebut, salah satu caranya adalah dengan melakukan reproduksi atau pemijahan buatan. Agar supaya pemijahannya dapat dilakukan kapan saja, sehingga produksi ikan mas diharapkan menjadi lebih meningkat.

Untuk melakukan pemijahan buatan ini, ketersediaan semen merupakan suatu kebutuhan yang sangat penting agar proses pembuahan dapat terjadi. Kebutuhan akan semen ini dapat dipenuhi dengan cara penyediaan induk jantan ikan mas yang berkualitas baik. Kenyataannya tidak semua petani ikan memiliki induk ikan mas jantan yang berkualitas baik sehingga benih yang dihasilkan tidak begitu baik. Untuk memecahkan masalah ini, akhir-akhir ini sering dilakukan penelitian tentang pengawetan sperma dari induk jantan yang berkualitas sehingga para petani ikan yang tidak memiliki induk jantan berkualitas baik dapat menggunakan sperma hasil awetan tersebut pada proses pemijahan buatan.

Kendala utama selama ini pada proses pengenceran dan penyimpanan semen ikan adalah belum ditemukannya jenis-jenis bahan pengencer yang baik sehingga menyebabkan kualitas semen selama masa penyimpanan menjadi cepat menurun.

Pengencer susu skim merupakan salah satu jenis pengencer yang sering digunakan pada pengawetan sperma ternak. Pengencer susu skim ini lebih disukai karena terdapat hanya sedikit butir-butir lemak yang dapat menghambat pemeriksaan mikroskopis (Toelihere,1981). Menurut Michajilov (1950) *dalam* Toelihere (1981) bahwa air susu yang dididihkan dan kemudian disaring akan memberikan hasil yang memuaskan pada pengenceran 1:25 pada semen ternak. Adanya penambahan kuning telur pada pengencer susu skim akan meningkatkan daya tahan hidup spermatozoa. Menurut Toelihere (1981) menyebutkan bahwa fungsi kuning telur terletak pada lipoprotein dan lechitin yang terkandung di dalamnya dan bekerja dengan cara mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein sel spermatozoa. Selain itu, kuning telur juga mengandung glukosa yang dapat digunakan oleh spermatozoa untuk proses metabolismenya.

Menurut Willet dan Ohms (1956) *dalam* Toelihere (1981), pada proses pembekuan semen, penambahan gliserol sebagai *cryoprotectant* ke dalam pengencer merupakan hal yang sangat essensial. Untuk semen yang tidak dibekukan, penambahan gliserol meninggikan daya tahan hidup spermatozoa terutama dengan susu pengencer, tidak pada pengencer sitrat kuning telur. McLean (1950) *dalam* Toelihere (1981) melaporkan bahwa spermatozoa di dalam semen ternak yang diencerkan dengan susu pengencer ditambah 10% gliserol ternyata mempunyai daya tahan hidup dan fertilitas yang baik.

Pada pembekuan semen ikan yang digunakan sebagai pengencer selama ini adalah dari jenis ringer laktat dan DMSO (*dimethylsulfoxide*) sebagai *cryoprotectant*. Untuk penggunaan pengencer susu skim kuning telur dengan penambahan gliserol masih sangat jarang dilakukan sehingga akan sangat menarik sekali jika dilakukan penelitian tentang pembekuan semen ikan dengan menggunakan bahan tersebut, sehingga nantinya diharapkan akan dapat menghasilkan suatu jenis pengencer yang dapat memberikan hasil yang optimal pada proses pembekuan semen ikan mas.

1.2 Perumusan Masalah

Untuk mendapatkan induk ikan mas jantan yang berkualitas baik merupakan suatu hal yang cukup sulit selain karena harganya yang cukup mahal juga disebabkan karena ketersediaan induk jantan yang berkualitas cukup terbatas. Untuk mengatasi hal ini para petani ikan terkadang membawa induk jantan yang berkualitas dari satu tempat untuk digunakan pada pemijahan buatan di tempat lain. Hal ini menyebabkan timbulnya berbagai hal yang tidak diinginkan seperti timbulnya stress pada induk jantan yang dapat menyebabkan kematian.

Oleh karena itulah, dalam dunia perikanan beberapa tahun terakhir ini telah mulai dilakukan berbagai penelitian untuk memecahkan masalah tersebut. Salah satu cara yang dilakukan yaitu dengan menggunakan sperma ikan mas yang telah diawetkan untuk melakukan pemijahan buatan.

Sperma ikan mas yang telah dikeluarkan dari tubuh induk jantan tanpa melalui proses pengawetan akan cepat mengalami penurunan kualitas. Untuk mempertahankan agar kualitasnya tetap terjaga maka perlu dilakukan suatu proses pengawetan dengan

menggunakan bahan pengencer. Pada sperma ikan mas, penggunaan bahan pengencer susu skim kuning telur dan gliserol masih sangat jarang dilakukan, sehingga diperlukan adanya suatu penelitian tentang jumlah penggunaan pengencer susu skim kuning telur dan gliserol untuk memperoleh daya simpan yang terbaik.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan jumlah penambahan gliserol yang terbaik pada pengencer susu skim kuning telur, sehingga diperoleh kualitas dan daya awet yang baik pada sperma ikan mas.

1.4 Kegunaan

Dengan diadakannya penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai data dasar untuk penggunaan gliserol pada pengencer susu skim kuning telur dalam proses pengawetan sperma ikan mas sehingga diharapkan nantinya dapat meningkatkan produksi ikan mas pada masa yang akan datang.

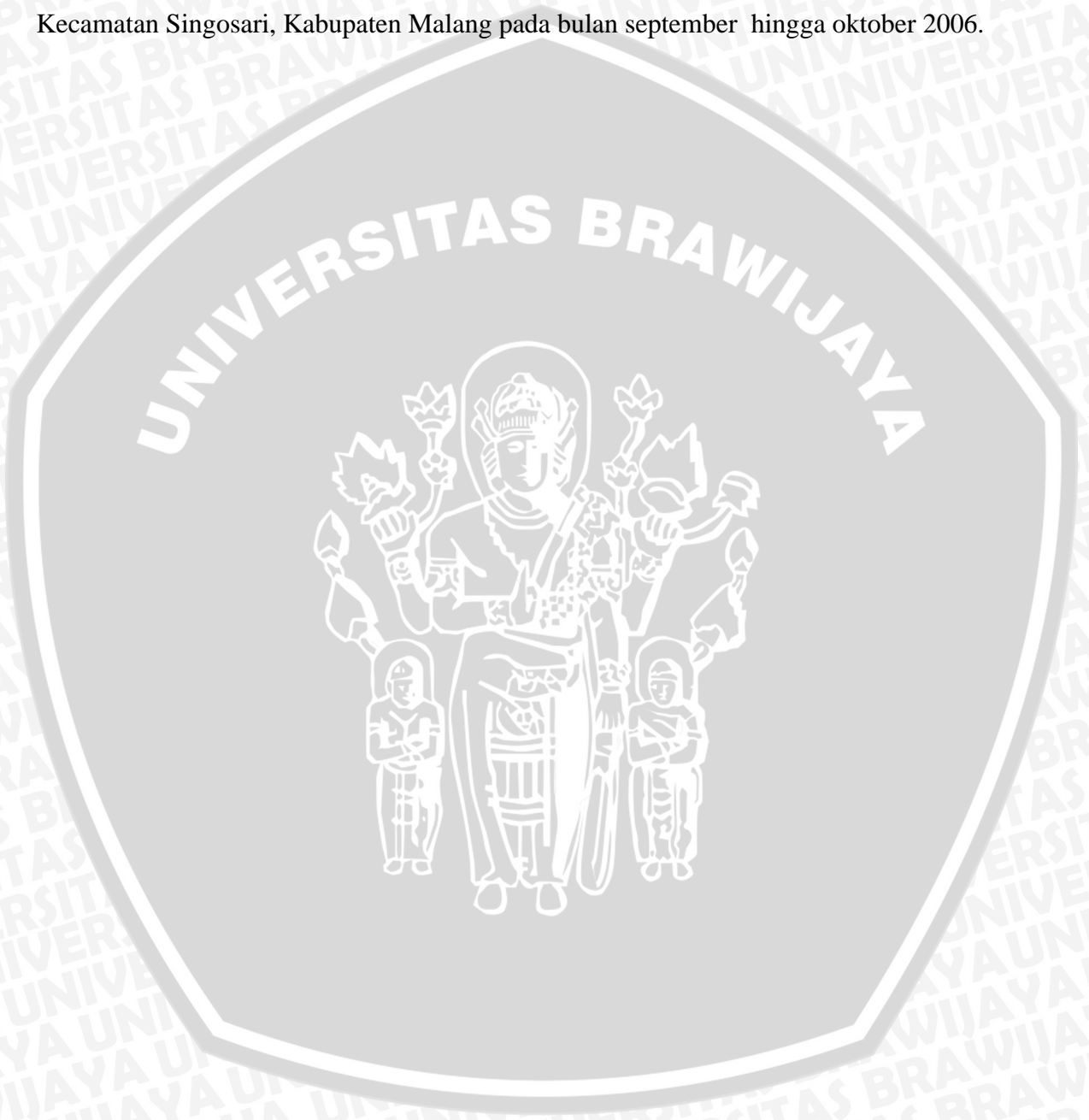
1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga bahwa pemberian konsentrasi gliserol yang berbeda pada pengencer susu skim kuning telur tidak akan memberikan pengaruh terhadap kualitas dan daya awet sperma ikan mas (*Cyprinus carpio* L.)

H_1 : Diduga bahwa pemberian konsentrasi gliserol yang berbeda pada pengencer susu skim kuning telur akan memberikan pengaruh terhadap kualitas dan daya awet sperma ikan mas (*Cyprinus carpio* L.)

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari, Kecamatan Singosari, Kabupaten Malang pada bulan september hingga oktober 2006.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Mas

2.1.1 Klasifikasi

Menurut Amri dan Khairuman (2002), ikan mas dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Superclass	: Pisces
Class	: Osteichthyes
Subclass	: Actinopterygii
Ordo	: Cypriniformes
Subordo	: Cyprinoidea
Family	: Cyprinidae
Subfamily	: Cyprininae
Genus	: Cyprinus
Species	: <i>Cyprinus carpio</i> L.

2.1.2 Morfologi Ikan Mas

Tubuh ikan mas agak memanjang dan memipih tegak (*compressed*). Mulut terletak di ujung tengah (terminal) dan dapat disembulkan (protaktil). Pada bagian anterior mulut terdapat dua pasang sungut. Secara umum, hampir seluruh tubuh ikan mas ditutupi oleh sisik. Hanya sebagian kecil saja bagian tubuhnya yang tidak tertutup oleh sisik. Sisik ikan mas berukuran relatif besar dan digolongkan dalam tipe sisik sikloid. Selain itu, tubuh

ikan mas juga dilengkapi dengan sirip. Sirip punggung (dorsal) berukuran relatif panjang dengan bagian belakang berjari-jari keras dan sirip terakhir, yaitu sirip ketiga dan keempat, bergerigi. Letak permukaan sirip punggung berseberangan dengan permukaan sirip perut (ventral). Sirip dubur (anal) yang terakhir bergerigi. *Linea lateralis* (gurat sisi) terletak di pertengahan tubuh, melintang dari tutup insang sampai ke ujung belakang pangkal ekor. *Pharyngeal teeth* (gigi kerongkongan) terdiri dari 3 baris yang berbentuk gigi geraham (Suseno,1994).

Menurut Santoso (1993), perbedaan induk jantan dan betina ikan mas adalah sebagai berikut :

a. Jantan

- Badan tampak ramping atau langsing.
- Gerakannya lincah dan gesit.
- Jika bagian perut diurut (perlahan-lahan) dari depan ke arah sirip ekor akan mengeluarkan sperma.

b. Betina

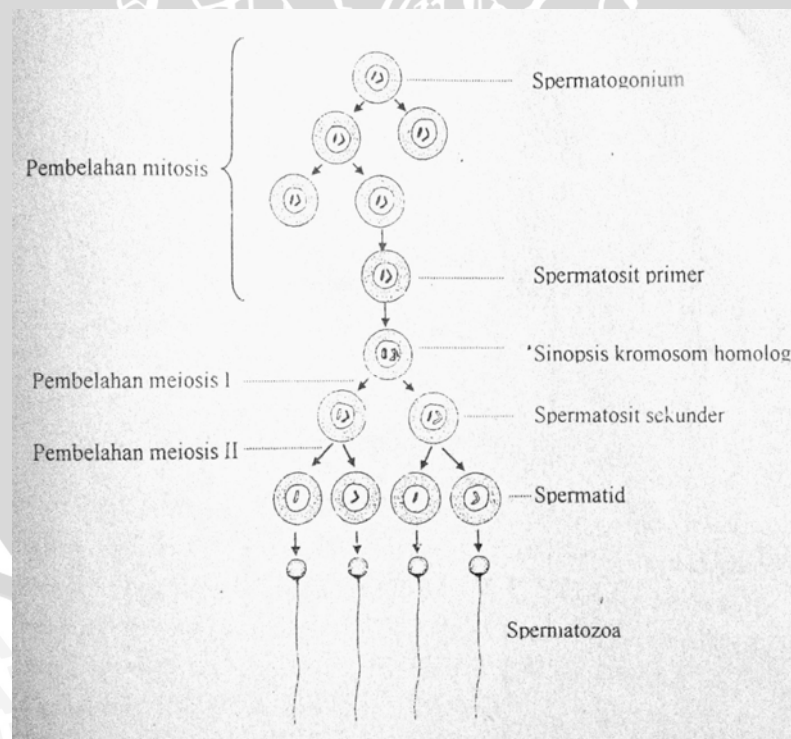
- Badan terutama bagian perut membesar atau buncit; bila diraba terasa lembek.
- Gerakannya lamban, memberi kesan malas bergerak.
- Jika perut diurut, akan mengeluarkan cairan berwarna bening.
- Pada malam hari biasanya meloncat-loncat.

2.2. Sperma Ikan Mas

2.2.1 Proses Spermatogenesis

Perkembangan gamet jantan dibagi dalam dua tahap, yakni spermatogenesis dan spermiogenesis. Spermatogenesis adalah proses perkembangan spermatogonium menjadi

spermatid sedangkan spermiogenesis adalah proses metamorfosa spermatid menjadi spermatozoa. Awal spermatogenesis ditandai dengan perbanyakan spermatogonia beberapa kali melalui pembelahan mitosis, untuk memasuki tahap spermatosit primer. Selanjutnya terjadi tahap 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), selanjutnya terjadi pematangan spermatid menjadi spermatozoa. Proses dari spermatogonium sampai menjadi spermatid disebut spermatogenesis, yang selanjutnya mengalami metamorfosis menjadi spermatozoa (Fujaya, 2002). Proses spermatogenesis ikan dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini:



Gambar 1. Proses spermatogenesis

Pada akhir spermiogenesis, spermatozoa dilepaskan dari cyste dan masuk ke dalam lumen. Proses ini disebut spermiasi. Proses spermiasi terjadi akibat kenaikan tekanan hidrostatik di dalam kantung sperma sehingga spermatozoa terdorong keluar. Proses ini dipengaruhi oleh hormon-hormon yang disekresi oleh sel-sel sertoli di bawah rangsangan gonadotropin. Spermatozoa didorong ke dalam sistem pengeluaran, disini akan bercampur dengan plasma semen (Fujaya, 2002).

2.2.2 Morfologi dan Biokimiawi Spermatozoa

Spermatozoa merupakan suatu sel kecil, kompak dan sangat khas, yang tidak bertumbuh atau membagi diri. Secara essensial spermatozoa terdiri dari kepala yang membawa materi hereditas paternal, dan ekor yang mengandung sarana penggerak. Spermatozoa tidak memegang peranan apapun dalam fisiologi hewan yang menghasilkannya dan hanya melibatkan diri dalam pembuahan untuk membentuk individu baru sejenis darimana dia berasal (Toelihere, 1985).

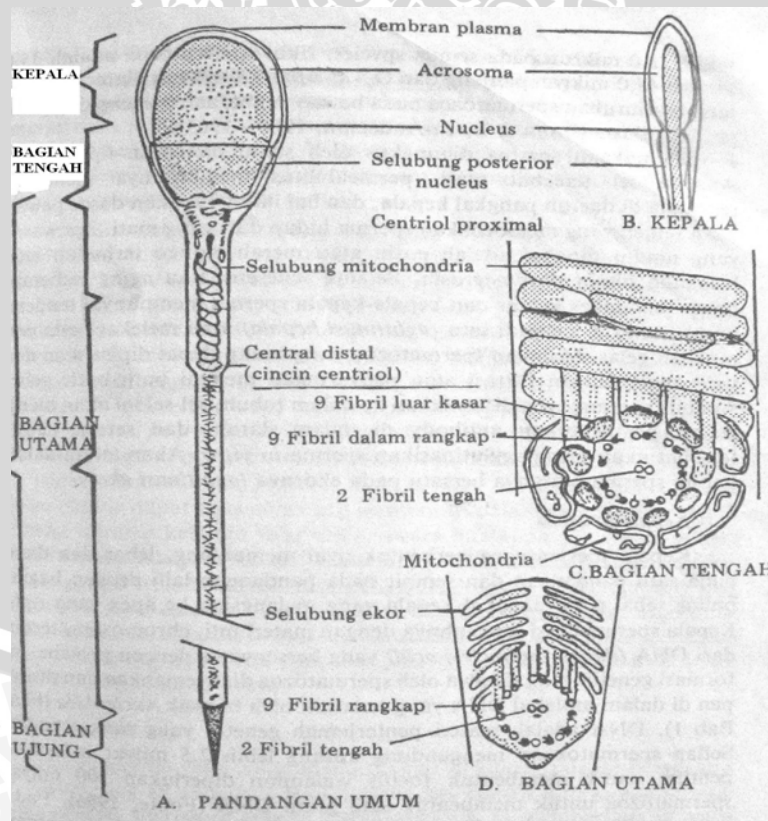
Walaupun pada berbagai jenis ikan atau hewan ukuran dan bentuk spermatozoanya berbeda, namun struktur morfologinya sama. Permukaan spermatozoa dibungkus oleh suatu membran lipoprotein. Apabila sel spermatozoa tersebut mati maka permeabilitas membrannya akan meningkat terutama di daerah pangkal kepala dan hal ini merupakan dasar pewarnaan semen yang membedakan spermatozoa hidup dari yang mati (Tang dan Affandi, 2001).

Kepala spermatozoa berisi materi inti berupa kromosom terdiri yang dari DNA yang bersenyawa dengan asam nukleat. Pada ikan mas kepala spermatozoa berbentuk oval dan sedikit memanjang dimana perbandingan panjang kepala sedikit lebih besar dibandingkan bagian leher kepala. Spermatozoa pada ikan teleostei mempunyai struktur

yang sederhana dan ukurannya hampir sama. Umumnya ukuran panjang kepala spermatozoa antara 2-3 μm dan panjang totalnya adalah antara 40-60 μm . Pada ikan mas lebar kepala spermatozoa adalah $1,832 \pm 0,179 \mu\text{m}$ dan panjang ekor spermatozoa adalah $33,733 \pm 2,093 \mu\text{m}$ (Tang dan Affandi, 2001).

Ekor spermatozoa dapat dibagi atas tiga bagian, bagian utama, bagian tengah, dan bagian ujung yang berasal dari sentriol spermatid selama spermiogenesis. Ekor spermatozoa berfungsi memberi gerak maju kepada spermatozoa dengan gelombang-gelombang yang dimulai di daerah implantasi ekor dan berjalan ke arah distal sepanjang ekor seperti pukulan cambuk (Toelihere, 1985).

Bentuk morfologi spermatozoa ikan mas dapat dilihat pada gambar 2 berikut ini:



Gambar 2. Morfologi spermatozoa

Menurut Fujaya (2002) rata-rata panjang total spermatozoa ikan teleostei adalah 40-60 μ . Produksi sperma ikan jantan cukup tinggi. Pada ikan mas, jumlah spermatozoa mencapai $1,9 \pm 0,2 \times 10^{12}$ spermatozoa per kg berat badan. Warna sperma ikan mas keputih-putihan dengan kekentalan yang tinggi. Mengandung glukosa 5,70 mg/100 ml, lipid 80,69 mg/100 ml, protein plasma 0,13 mg/100 ml, serta urea 10,75 mg/100 ml, dan pH 7,53.

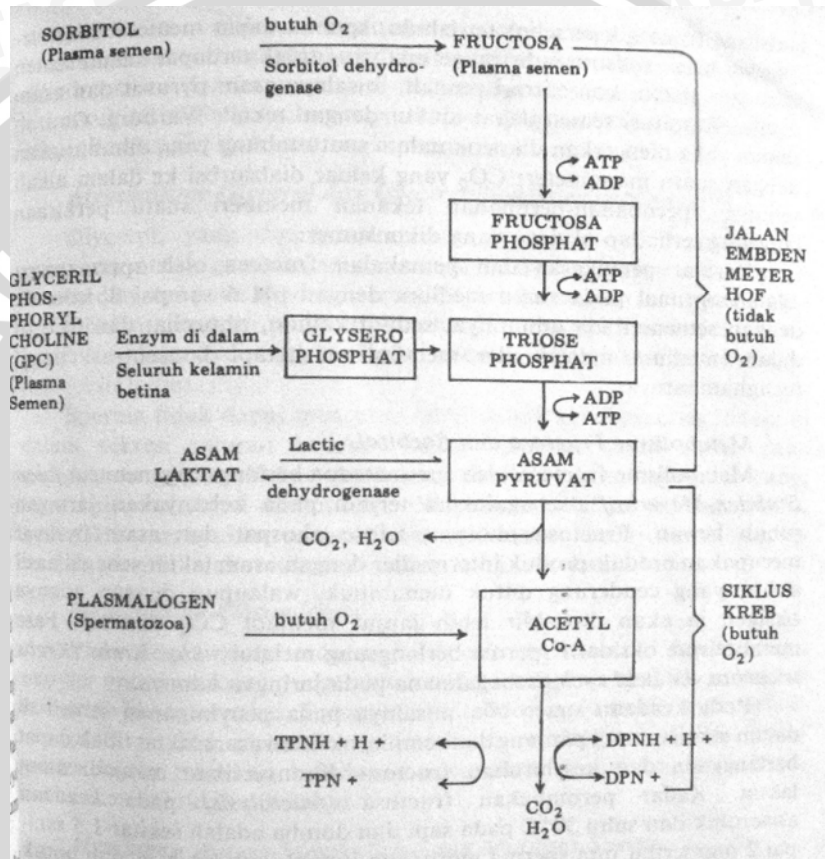
2.2.3 Metabolisme Spermatozoa

Reaksi-reaksi yang menghasilkan energi di dalam sperma hanya berlangsung pada spermatozoa. Dalam plasma semen dan semen yang *azoospermik* (ejakulat tanpa spermatozoa) reaksi-reaksi tersebut tidak ditemukan. Energi untuk motilitas sperma berasal dari perombakan adenosin triphosphat (ATP) di dalam selubung mitochondria melalui reaksi-reaksi penguraiannya menjadi adenosin diphosphat (ADP) dan adenosin monophosphat (AMP) :



Dalam keadaan normal energi yang dilepaskan dapat dipakai sebagai energi mekanik (pergerakan) atau sebagai energi biokimiawi (biosintesa), yang jika tidak dipergunakan sewaktu dilepaskan, energi tersebut akan menghilang sebagai panas. Apabila pemberian energi berupa senyawa phosphat (P~P) di dalam ATP dan ADP habis, maka kontraksi fibril-fibril spermatozoa akan terhenti dan spermatozoa tidak bergerak. Untuk melangsungkan pergerakan sperma maka ADP dan ATP harus dibangun kembali. Untuk membangun kembali ATP dan ADP, atau ADP dari AMP, dengan penambahan gugusan phosphoryl, diperlukan sumber energi dari luar. Dalam kebanyakan aktifitas fisiologik

sumber energi tersebut berasal dari hidrat arang atau lemak. Suatu sumber fosfat anorganik dalam jumlah minimum dibutuhkan untuk membentuk lagi senyawa P~P (Toelihere, 1985). Proses metabolisme spermatozoa ditunjukkan pada gambar 3 di bawah ini:



Gambar 3. Proses metabolisme spermatozoa

Sekurang-kurangnya ditemukan empat bahan organik di dalam sperma yang dapat dipakai secara langsung atau tidak langsung oleh sperma sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitasnya. Bahan-bahan tersebut adalah fruktosa, serbitol, GPC (*Glycerolphosphoryl-choline*) dan plasmalogen. Ketiga zat pertama adalah konstituen plasma semen sedangkan plasmalogen terdapat di dalam spermatozoa itu sendiri. Keempat zat tersebut dapat dipergunakan secara langsung oleh spermatozoa

apabila tersedia oksigen yang secara normal terdapat dalam hampir semua bagian saluran kelamin betina. Jadi pembentukan kembali ATP sebagai pemberian energi dapat terjadi pada keadaan tanpa oksigen, oleh fructolisa dan dengan oksigen, melalui respirasi dan fructolisa (Toelihere, 1985).

Pengikatan oksigen atau respirasi semen mencerminkan oksidasi zat-zat tersebut di atas dan mencapai sekitar 5 sampai 20 mikroliter O_2 per seratus juta spermatozoa per jam pada suhu $37^\circ C$. Asam laktat yang menumpuk dalam sperma sebagai hasil metabolisme spermatozoa berasal dari konstituen-konstituen plasma, tetapi tidak dari plasmalogen. Disamping keempat substrat fisiologik tersebut terdahulu, spermatozoa dapat memetabolisme sejumlah besar substrat-substrat serupa yang tidak terdapat dalam sperma atau ada dalam konsentrasi rendah, misalnya asam pyruvat dan asam acetat. Derajat pengikatan dan pemakaian fruktosa oleh spermatozoa adalah optimal pada suatu medium dengan pH 6 sampai 8, isotom dengan sperma (Toelihere, 1985).

2.2.4 Parameter Kualitas Sperma

Menurut Toelihere (1981) dalam Darwisito (2002), parameter kualitas sperma dapat dibagi menjadi empat, yaitu :

a. Makroskopis

- Warna; sperma ikan yang normal warnanya seperti susu atau krim keputihan dan derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi sperma. Ada juga yang normal berwarna kekuningan dimana warna ini dikarenakan oleh adanya pigmen riboflavin yang dibawa oleh satu autosoma dan tidak berpengaruh terhadap fertilisasi.

- Volume yang bervariasi antara 1-1,5 ml; volume rendah tidak merugikan ikan akan tetapi jika diikuti dengan konsentrasi sperma rendah akan membatasi jumlah spermatozoa yang tersedia.
- Konsentrasi atau kekentalan; pada dasarnya derajat kekentalan sperma ikan agak encer berwarna krem. Sperma dikatakan baik jika memiliki kekentalan tinggi.
- Bau; bila tercium bau busuk maka menunjukkan banyak mengandung organisme sperma yang mati. Hal ini terjadi pada alat kelamin jantan yang disebabkan sperma bercampur darah.

b. Biologi

- Pengukuran aktifitas metabolisme sperma; kegiatan metabolik spermatozoa sejak lama dianggap sebagai kriterium penentuan kualitas sperma. Akan tetapi, korelasi antara aktifitas metabolisme dan kapasitas fertilisasi belum ditemukan.
- Pengikatan oksigen; teknik ini perlu dipakai sebagai indikator terhadap kapasitas fertilisasi spermatozoa dan meliputi pengukuran terhadap konsumsi oksigen oleh spermatozoa pada sistem tertutup dimana karbondioksida yang dihasilkan akan diserap oleh alkali.
- Normalitas sperma; spermatozoa abnormal bila keadaan ekor spermatozoanya pendek dengan kepala besar dan bentuknya melengkung.
- Jumlah yang hidup; hal ini dapat diketahui dengan membuat olesan yang tipis pada objek glass dan diberi larutan eosin kemudian dilihat di bawah mikroskop. Hasilnya yaitu spermatozoa yang mati intinya akan berwarna

kemerahan sedangkan spermatozoa yang hidup dinding selnya kemerah-merahan.

c. Mikroskopis

➤ Motilitas; motilitas sperma merupakan parameter yang sangat penting pada pengamatan kualitas sperma ikan. Jika spermatozoa bergerak cepat, memiliki arah yang lurus, tidak terpilin-pilin, maka spermatozoa itu berkualitas baik. Jika spermatozoa mempunyai gerak yang bergelombang maka kualitasnya jelek.

➤ Konsentrasi; penilaian konsentrasi spermatozoa per mili liter semen sangat penting karena faktor inilah yang menggambarkan sifat sperma yang dipakai sebagai salah satu kriteria penentuan kualitas sperma. Cara menghitung konsentrasi dengan menghitung jarak antar kepala spermatozoa dengan menggunakan alat hitung elektronik, kolorimeter fotoelektrik dan haemocytometer.

d. Biokimiawi

➤ pH; metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerob menghasilkan produk yang akhirnya tertimbun dan meningkatkan pH. pH sangat mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa.

➤ Reaksi methylen blue; contoh pemeriksaan terbaik secara biokimiawi adalah uji methylen blue. Zat biru methylen akan kehilangan warna biru tuanya jika direduksi dengan penambahan dua ion hidrogen pada molekul tersebut. Waktu yang diperlukan untuk menghilangkan warna biru methylen merupakan indikator yang baik untuk mengetahui aktifitas dehidrogenisasi. Semen dengan

waktu hilang warna yang singkat mengandung banyak sel-sel spermatozoa yang hidup.

2.3 Pengencer Susu Skim

Menurut Toelihere (1981), spermatozoa tidak dapat tahan hidup untuk waktu yang lama kecuali bila ditambahkan berbagai unsur ke dalam semen. Unsur-unsur ini yang membentuk suatu pengencer yang baik, mempunyai fungsi sebagai berikut :

1. menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa;
2. melindungi spermatozoa terhadap *cold shock* (kejutan suhu dingin).
3. menyediakan suatu penyangga untuk mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa;
4. mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai;
5. mencegah pertumbuhan kuman; dan
6. memperbanyak volume semen sehingga lebih banyak hewan betina dapat diinseminasi dengan satu ejakulat.

Beberapa zat hidrat arang yang sederhana, seperti glukosa, dapat dipakai sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Kuning telur dan air susu yang mengandung *lipoprotein* dan *lechitin* berfungsi melindungi spermatozoa terhadap *cold shock*. Berbagai bahan penyangga dapat dipakai untuk mempertahankan pH sperma, antara lain penyangga-penyangga sitrat, fosfat dan Tris. Penicillin dan streptomycin adalah zat-zat penghambat pertumbuhan mikroorganisme. Untuk semen beku ditambah gliserol untuk melindungi spermatozoa terhadap efek lethal pembekuan (Toelihere, 1981).

Susu skim adalah bagian yang tertinggal setelah susu diambil krimnya. Komposisi susu skim terdiri dari lemak 1.0 %, laktosa 5 %, abu 0.8 % dan air 90.4 % (Buckle *et all*,

1987). Ditambahkan oleh Chamberlain (1989) bahwa komposisi susu skim antara lain terdiri atas protein 35.6 %, lemak 1.0 %, karbohidrat 52 %, kalsium 0.11 %, dan phosphor 0.093 %.

Susu skim digunakan sebagai bahan pengencer sperma karena memiliki beberapa kelebihan yaitu, cepat dibuat, bahannya mudah didapat dan kadar lemaknya rendah sehingga mempermudah pemeriksaan kualitas spermatozoa di bawah mikroskop (Evan dan Maxwell, 1987). Laktosa merupakan komponen gula dalam air susu yang merupakan sumber energi bagi spermatozoa dan berfungsi menonaktifkan laktenin yang merupakan komponen dari air susu yang bersifat racun bagi spermatozoa, sedangkan kandungan asam sitratnya merupakan buffer (Buckle *et all*, 1987).

2.4 Jenis-Jenis Cryoprotectant

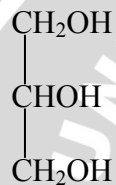
2.4.1 Kuning Telur

Pengenceran sperma yang dibekukan membutuhkan bahan *cryoprotectant* yang berfungsi mereduksi efek lethal larutan maupun pembentukan kristal es ekstra maupun intraseluler sehingga dapat menjaga viabilitas sel setelah kriopreservasi. Kuning telur termasuk bahan krioprotektan ekstraseluler, yaitu krioprotektan dengan molekul-molekul besar yang tidak dapat menembus membran sel (Supriatna, 1993).

Daya pelindung kuning telur sebagai krioprotektan terletak pada lipoprotein dan lesitin yang terdapat di dalam kuning telur. Bahan pelindung ini bekerja pada kelopak lipoprotein spermatozoa. Kuning telur juga mengandung glukosa, yang dapat digunakan oleh spermatozoa seperti fruktosa, bermacam-macam protein, vitamin-vitamin yang larut dalam air dan lemak dan indeks viskositas yang menguntungkan bagi spermatozoa (Salisbury dan Vandenmark, 1985).

2.4.2 Gliserol

Gliserol adalah alkohol trihidrik yang paling sederhana gugus hidroksilnya, mempunyai berat molekul 92,10 dan berat jenis 1,25 (gr/cm³). Dalam keadaan murni gliserol bersifat tidak berwarna, tidak berbau, cair dan manis, bersifat larut dalam air dan alkohol, tapi hanya sebagian yang larut dalam pelarut biasa seperti etil dan etil asetat (Parker, 1984). Hawab (2003) menambahkan bahwa gliserol adalah senyawa organik dari polialkohol atau polioliol dengan struktur :



Gliserol merupakan substansi yang langsung berdifusi ke dalam spermatozoa dan dioksidir oleh spermatozoa untuk proses energinya dan membentuk fruktosa. Jadi secara aerob memiliki persediaan fruktosa yang aktif; lebih sedikit asam laktat yang dihasilkan ; tetapi spermatozoa memiliki aktifitas optimal. Penambahan gliserol ke dalam bahan pengencer sangat penting untuk proses pembekuan sperma. Bagi sperma yang tidak dibekukan, penambahan gliserol menyebabkan kenaikan daya hidup spermatozoa dalam penyimpanan di atas titik beku dengan bahan pengencer susu skim yang dicairkan kembali tanpa kuning telur sitrat, dan dengan susu murni yang dipanaskan dan dicampurkan dengan 82 % susu skim, 10 % kuning telur, 8 % gliserol (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Gliserol bekerja setelah memasuki spermatozoa dengan cara menembus dinding sel. Gliserol akan memasuki sel seperti fruktosa dan digunakan oleh sel dalam aktifitas metabolisme oksidasinya. Reaksi tertentu menunjukkan bahwa gliserol masuk ke dalam

sel menggantikan air bebas dan mendesak keluarinya elektrolit intraseluler sampai titik tak berbahaya lagi selama pembekuan (Salisbury dan Vandemark, 1985).



III. MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian ini meliputi pemeriksaan kualitas sperma, pengenceran sperma, pembekuan sperma serta thawing (pencairan sperma).

3.1.1 Pemeriksaan Kualitas Sperma

Alat-alat : mikroskop cahaya, gelas objek, gelas penutup, ose, kertas lakmus, penjepit straw (pinset), gunting straw, pipet eritrosit, *haemocytometer*, kertas tissue dan *hand tally counter*.

Bahan-bahan : NaCl fisiologis 0,9 %, Eosin-Negrosin, dan sperma ikan mas.

3.1.2 Pengenceran Sperma

Alat-alat : erlenmeyer 100 ml, beaker glass, tabung reaksi, thermometer, *cool top*, *sput disposable*, rak tabung reaksi, pipet mikroliter dan *water bath*.

Bahan-bahan pengencer sperma dalam 50 ml menurut BBIB Singosari ditampilkan pada tabel 1 berikut :

Tabel 1. Komposisi pengencer susu skim kuning telur

Bahan	Jumlah
Aquadest	40 ml
Susu skim	5 gr
Kuning telur	2,5 ml
Penicillin	0,05 gr
Streptomycin	0,05 gr
Glukosa	0,5 gr
Gliserol	0, 2, 4, 6, 8 dan 10 %

3.1.3 Pembekuan Sperma

Alat-alat : *mini straw* 0,25 ml, tabung reaksi, beaker glass, thermometer, lilin pemanas (api), penjepit straw (pinset), rak straw, *cool top*, kanister, kontainer pembekuan.

Bahan-bahan : Nitrogen cair, sperma yang telah diencerkan (dalam bentuk straw).

3.1.4 Thawing

Alat-alat : Penjepit straw, gunting straw, *beaker glass* 100 ml dan thermometer.

Bahan-bahan : Sperma beku dan air bersuhu 37 °C.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen dimana menurut Nazir (1983), metode eksperimen adalah suatu metode yang melakukan serangkaian percobaan untuk melihat suatu hasil yang akan menjelaskan bagaimana kedudukan hubungan antara variabel yang akan diselidiki. Tujuannya untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen.

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung yaitu teknik pengambilan data dimana penyelidik mengadakan pengamatan secara langsung terhadap subjek yang diselidiki, baik pengamatan ini dilakukan dalam situasi yang sebenarnya maupun situasi buatan yang khusus diadakan (Nazir, 1983).

Rancangan penelitian yang diadakan adalah Rancangan Penelitian Acak Lengkap (RAL), karena media yang digunakan bersifat homogen dan perlakuan yang diberikan

jumlahnya terbatas, sehingga yang mempengaruhi hasil penelitian hanyalah perlakuan dan faktor kebetulan saja.

Penelitian ini terdiri dari 5 faktor perlakuan sebagai berikut:

A = Pengencer susu skim tanpa penambahan gliserol (kontrol)

B = Pengencer susu skim dengan penambahan gliserol 2 %

C = Pengencer susu skim dengan penambahan gliserol 4 %

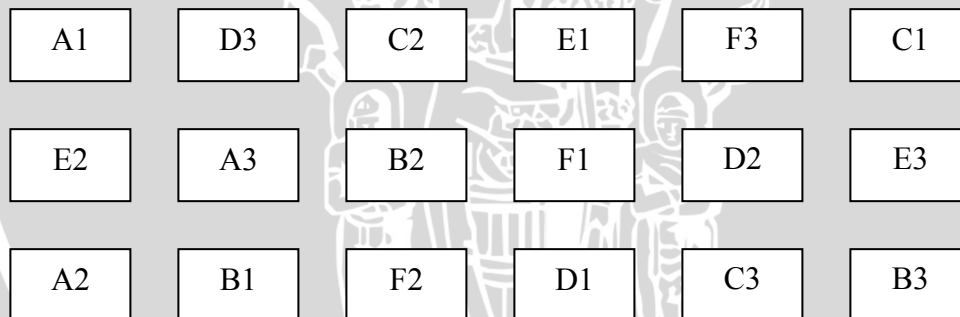
D = Pengencer susu skim dengan penambahan gliserol 6 %

E = Pengencer susu skim dengan penambahan gliserol 8 %

F = Pengencer susu skim dengan penambahan gliserol 10 %

Penempatan perlakuan dilakukan dengan denah perlakuan seperti pada gambar 4

berikut :



Gambar 4. Denah percobaan

Keterangan :

A, B, C, D, E dan F = Perlakuan

1,2,3 = Ulangan

3.3 Parameter Uji

3.3.1 Parameter Utama

a. Motilitas spermatozoa

Menurut Toelihere (1981), ciri utama spermatozoa adalah motilitas atau daya gerak yang dijadikan potensi atau cara paling sederhana untuk penilaian sperma.

Motilitas individual spermatozoa yang terbaik adalah gerakan maju progresif atau gerak aktif maju ke depan. Adanya gerakan melingkar (*inverse*) atau mundur (*reverse*), sering menunjukkan adanya *cold shock* atau medianya tidak isotonik dengan semen. Gerakan berputar-putar atau berayun-ayun di tempat sering terlihat apabila sperma tua dan jika kebanyakan spermatozoa berhenti bergerak dianggap mati (Ikhsan, 1992).

Berdasarkan gerakan individual ini kualitas sperma dapat dibedakan :

- Spermatozoa immotil atau tidak bergerak; spermatozoa yang bergerak kurang dari 20 % dan bergerak maju 0 %.
- Gerakan berputar di tempat; spermatozoa yang bergerak antara 20-40 % dengan prosentase gerak maju 10%.
- Gerakan mengayun atau melingkar; spermatozoa bergerak antara 40-60 % dan yang bergerak progresif kurang dari 50 % dan tidak ada gelombang.
- Spermatozoa yang bergerak progresif antara 50-80 % dan menimbulkan gerakan massa.
- Pergerakan progressif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90 % spermatozoa motil.

- Gerakan sangat progressif dengan gelombang sangat cepat, yang menunjukkan bahwa hampir 100 % spermatozoa motil aktif.

b. Prosentase hidup spermatozoa

Menurut Salisbury dan Vandenmark (1985), spermatozoa yang hidup dan mati dibedakan reaksinya terhadap zat warna tertentu dan perhitungan spermatozoa yang hidup dan mati perlu dinilai secara selektif. Spermatozoa yang mati dapat menyerap zat warna, sedangkan yang hidup tidak dapat menyerap zat warna.

Permukaan spermatozoa dibungkus oleh suatu membran lipoprotein. Apabila spermatozoa tersebut mati maka permeabilitas membrannya meninggi, terutama didaerah pangkal kepala dan hal ini merupakan dasar pewarnaan sperma yang membedakan spermatozoa hidup dari yang mati (Tang dan Affandi, 2001).

Partodiharjo (1992) menyatakan bahwa setelah sperma mati sedikitnya ada 100-2.000 sel atau terbaik 500 sel dihitung untuk menentukan prosentase spermatozoa yang hidup.

3.3.2 Parameter Penunjang

a. Fertilitas

Fertilisasi merupakan proses bergabungnya inti spermatozoa dengan inti telur dalam sitoplasma sehingga membentuk zigot. Fertilitas merupakan prosentase keberhasilan proses penyatuan atau fusi sel gamet jantan dan sel gamet betina untuk membentuk satu sel (zygot) (Tang dan Affandi, 2001).

b. Daya tetas telur

Daya tetas telur merupakan prosentase larva yang menetas normal dibandingkan dengan jumlah seluruh larva yang menetas normal, menetas cacat dan yang tidak

menetas. Daya tetas telur ikan mas yang telah terbuahi akan dapat diketahui setelah 60-72 jam setelah dilakukan fertilisasi.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian meliputi :

1. Persiapan alat dan bahan
2. Pembuatan pengencer

Prosedur pembuatan pengencer susu skim adalah :

- Susu skim bubuk dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml, kemudian ditambahkan aquadest dan dihomogenkan selama 12 menit.
- Glukosa, penicillin, dan streptomycin dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dihomogenkan selama 12 menit.
- Erlenmeyer dimasukkan ke dalam panci yang berisi air panas di atas nyala api dan dipanaskan sampai suhu 100 °C selama 10 menit.
- Kuning telur dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dihomogenkan selama 15 menit.
- Erlenmeyer disimpan di dalam lemari es selama 2 sampai 3 hari untuk memisahkan endapan dengan supernatannya.
- Supernatan yang telah terbentuk telah siap digunakan sebagai pengencer semen.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Pengambilan sperma ikan

Induk ikan mas jantan yang telah matang gonad di ambil dari bak induk dan diangkat keatas. Selanjutnya bagian kepala induk tersebut ditutup dengan kain lap basah dan induk dipegang dengan posisi bagian ventral (perut) menghadap ke atas. Kemudian bagian perut induk diurut dengan perlahan ke arah genital papilla untuk mengeluarkan spermanya. Sperma yang telah keluar melalui genital papilla langsung dihisap dengan menggunakan spuit plastik, dan selanjutnya spuit tersebut langsung dibungkus dengan menggunakan aluminium foil untuk mencegah sperma ikan terkontaminasi langsung dengan udara luar. Sperma yang telah didapatkan langsung diamati warnanya, diukur volume dan pH nya, dihitung prosentase spermatozoa yang bergerak (motilitas), prosentase spermatozoa yang hidup dan mati (viabilitas), lama gerak spermatozoa dan konsentrasi sperma segar tersebut.

b. Penentuan konsentrasi spermatozoa

Pengujian konsentrasi spermatozoa dilakukan dengan menggunakan haemocytometer. Sperma dihisap sebanyak 0,5 ml ke dalam pipet erythrocyt, lalu hisap NaCl 3 % sampai angka 101 pada pipet dan larutan tersebut dikocok dengan agak cepat dan hati-hati membentuk angka 8 selama 2 hingga 3 menit, setelah itu dibuang 4 atau 5 tetes kemudian ditetaskan larutan sperma tersebut pada gelas objek haemocytometer. Dihitung sperma yang terdapat dalam 5 kotak yaitu 4 kotak di sudut dan 1 kotak ditengah. Jika dalam kelima kotak itu = X, maka konsentrasi sperma adalah $X \times 10^7$ per ml semen (Toelihere, 1981).

c. Pengenceran sperma

Sperma segar yang telah dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis, selanjutnya ditentukan volume pengencernya. Pada proses pengenceran terdapat dua tahapan yaitu tahapan pra pengenceran dan tahapan pengenceran akhir. Pada tahap pra pengenceran, setengah semen dicampur dengan pengencer dan setengahnya dicampur dengan gliserol yang masing-masing kadarnya berbeda. Pada pengenceran akhir, sedikit demi sedikit kedua pengencer tadi dicampur jadi satu (Sarastina, Herliantien dan Zenichiro, 2002).

d. Pengisian dan penutupan mini straw

Pengisian mini straw dilakukan dengan menggunakan spuit. Ujung spuit diletakkan pada ujung mini straw dekat kapas. Sperma dihisap masuk ke dalam mini straw hingga menempel pada kapas. Ujung mini straw yang lain kemudian dijepit dengan pinset panas hingga tertutup rapat.

e. Equilibrium time

Equilibrium time dilakukan dengan cara memasukkan sperma dalam mini straw ke refrigerator yang bersuhu 5 °C selama 2 jam. Equilibrium time dilakukan dengan tujuan untuk memberi kesempatan kepada spermatozoa agar dapat menyesuaikan diri dengan bahan pengencer.

f. *Pre freezing*

Pre freezing dilakukan dengan cara meletakkan mini straw di mulut kontainer pada suhu -140 °C pada posisi horizontal setinggi 4 cm di atas permukaan nitrogen cair selama 9 menit.

g. *Freezing*

Dilakukan dengan cara memasukkan mini straw secara perlahan-lahan ke dalam nitrogen cair yang bersuhu $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 2×24 jam sebelum dilakukan *Thawing*.

h. *Thawing*

Thawing atau pencairan sperma di dalam mini straw dilakukan dengan cara memasukkan mini straw ke dalam air yang bersuhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 10 detik. Selanjutnya mini straw tersebut diangkat dari air hangat dan dilap dengan menggunakan tissue, selanjutnya langsung diamati parameter kualitas spermanya di bawah mikroskop.

3.5 Analisa Data

Untuk mengetahui apakah asumsi pada uji nyata ($E(\sigma_{ij}) = \sigma^2$) terpenuhi maka data percobaan dapat diuji apakah memiliki keragaman yang homogen dengan melakukan uji Barlett. Untuk mengetahui apakah 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%).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Evaluasi Sperma Segar Ikan Mas

Evaluasi sperma segar meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis antara lain pemeriksaan pH dan warna, sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan lama gerak. Hasil pemeriksaan kualitas sperma dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Data pengamatan kualitas sperma segar ikan mas

Parameter Kualitas Sperma	Nilai
Warna	Putih Susu
pH	7
Konsentrasi	$4,6 \times 10^9$ sperm/ml
Motilitas individu	80 %
Viabilitas	84,6 %
Lama Gerak	3,56 menit

Berdasarkan dari data pengamatan di atas dapat terlihat bahwa warna sperma ikan mas yang diamati adalah putih susu, ini berarti bahwa sperma ikan mas tersebut berada dalam kondisi yang baik tanpa adanya kontaminasi dari bakteri maupun darah. Hal ini sesuai dengan pendapat Fujaya (2002) bahwa pada plasma semen ikan mas berwarna keputih-putihan dengan kekentalan yang tinggi. Dan Toelihere (1985) juga menyebutkan bahwa sperma yang berwarna merah gelap sampai merah muda menandakan adanya darah segar dalam jumlah berbeda. Warna kecoklat-coklatan menunjukkan adanya darah yang telah mengalami dekomposisi. Suatu warna coklat muda atau warna kehijau-hijauan menunjukkan kemungkinan kontaminasi dengan feces.

Sperma segar ikan mas yang telah ditampung, langsung diperiksa nilai pH nya dengan menggunakan pH paper. Nilai pH sperma segar ikan mas yang didapatkan

sebesar 7, dimana nilai pH ini cukup baik. Hal ini sesuai dengan pendapat Fujaya (2002) yang menyebutkan bahwa nilai pH ikan mas yang baik berkisar sekitar 7,53.

Pemeriksaan konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini menggunakan *spectrophotometer*. Nilai konsentrasi sperma segar ikan mas yang didapatkan adalah sebesar $4,6 \times 10^9$ spermatozoa/ml. Menurut Billard (1995) disebutkan bahwa tiap mililiter sperma ikan mas mengandung $10-20 \times 10^9$ spermatozoa. Ini berarti bahwa konsentrasi sperma ikan mas yang digunakan pada penelitian ini cukup encer.

Penilaian motilitas individu pada sperma segar dilakukan dengan menggunakan mikroskop dimana nilai yang didapatkan yaitu sebesar 80%. Nilai motilitas ini sudah cukup bagus untuk dilakukan pembekuan, hal ini juga sesuai dengan yang disebutkan oleh Stoss dan Refstie dalam Stoss dan Donaldson (1982) yang menyebutkan bahwa sperma segar yang akan digunakan untuk pembekuan harus mempunyai nilai motilitas minimal 70%. Selain itu Toelihere (1981) juga menyebutkan bahwa prosentase motilitas spermatozoa yang di bawah 40 % menunjukkan nilai sperma yang kurang baik dan sering berhubungan dengan infertilitas.

Pengamatan viabilitas sperma segar sangat penting dilakukan sebelum pembekuan, karena hal ini menyangkut dengan nilai sperma yang hidup dan yang mati sebelum dibekukan. Nilai viabilitas sperma segar ikan mas yang didapatkan adalah sebesar 84,6 %. Nilai ini tergolong baik karena menurut Anonymous (1998) menyebutkan bahwa prosentase hidup spermatozoa segar dalam sperma yang baik minimal 70 %. Penilaian viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan bahan pewarna eosin dan diamati di bawah mikroskop. Zat warna eosin ini akan mewarnai spermatozoa yang mati menjadi merah atau merah muda, sedangkan spermatozoa yang

hidup tetap tidak berwarna. Menurut Toelihere (1981) menyebutkan bahwa pada waktu sperma segar dicampur dengan zat warna, spermatozoa yang hidup tidak atau sedikit sekali menyerap zat warna sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap zat warna dalam jumlah banyak karena permeabilitas dinding spermatozoa akan meninggi setelah mati.

Penilaian lama gerak spermatozoa dilakukan di bawah mikroskop dengan cara meneteskan sedikit aquades pada sperma segar yang ada di atas objek glass dan kemudian dihitung lama gerak spermatozoa secara individual hingga spermatozoa tersebut tidak bergerak lagi. Nilai lama gerak spermatozoa yang didapatkan adalah sebesar 3,56 menit. Menurut Ginzburg (1972) dalam Tang dan Affandi (2001) menyebutkan bahwa lama gerak spermatozoa ikan mas berkisar antara 3-5 menit pada temperature 18,21 °C. Begitu juga dengan Fujaya (2002) juga menyebutkan bahwa gerak progressif spermatozoa secara berkesinambungan hanya terjadi satu menit setelah bersentuhan dengan air dan hanya 50 % yang masih dapat berenang setelah 3 menit. Sebagian besar spermatozoa ikan air tawar dapat bergerak tidak lebih dari 2 hingga 3 menit setelah bersentuhan dengan air.

4.2 Pemeriksaan Kualitas Sperma Sebelum *Pre-Freezing* Pada Suhu 5 °C

Pemeriksaan kualitas sperma ikan mas sebelum *Pre-Freezing* meliputi pemeriksaan motilitas, viabilitas dan lama gerak sperma. Data pemeriksaan sperma pada saat *Pre-Freezing* ditampilkan pada tabel 3 dibawah ini:

Tabel 3. Data kualitas sperma sebelum *Pre-Freezing*

Perlakuan	Nilai Kualitas Sperma		
	Motilitas	Viabilitas	Lama Gerak
0%	55	65,28	33,2
2%	60	70,26	38,15
4%	60	72,64	39,55
6%	60	71,45	38,35
8%	65	76,33	42,78
10%	65	76,94	43,12

4.2.1 Sperma Sebelum *Pre-Freezing*

Berdasarkan data diatas dapat terlihat data motilitas sperma untuk setiap perlakuan secara berurutan adalah 55, 60, 60, 60, 65 dan 65 %. Dari nilai tersebut dapat terlihat bahwa pemberian gliserol sebelum *Pre-Freezing* pada suhu 5 °C berpengaruh terhadap motilitas sperma. Hal ini sesuai dengan yang disebutkan oleh Salisbury dan Vandenmark (1985) bahwa penambahan gliserol pada sperma yang tidak dibekukan akan menyebabkan kenaikan daya hidup spermatozoa dalam penyimpanan di atas titik beku dengan bahan pengencer susu skim yang dicairkan kembali tanpa kuning telur citrate. Kemudian Hariyanto (2005) juga menyebutkan bahwa penambahan gliserol kedalam pengencer dengan jumlah 7-14 % akan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan penambahan gliserol lebih dari 14%.

Akan tetapi, nilai motilitas spermatozoa yang didapatkan ini sedikit lebih rendah jika dibandingkan dengan kondisi motilitas sperma segar. Penurunan motilitas ini dapat diakibatkan karena terjadinya adaptasi antara spermatozoa dengan pengencer sehingga mengakibatkan terjadinya gangguan terhadap permeabilitas membran, menurunkan aktifitas metabolisme, kerusakan sel, dan penurunan motilitas (Supriatna, 1993).

Maxwell dan Watson (1996) juga menyebutkan bahwa proses pengenceran dapat menyebabkan kerusakan membran plasma serta menurunkan motilitas. Suyadi dan Isnaini (2004) menambahkan bahwa penurunan motilitas individu spermatozoa terjadi karena adanya perubahan suhu 37 °C pada saat ejakulasi menjadi 4 °C saat penyimpanan setelah pengenceran yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran spermatozoa hingga terjadi perpecahan membran sel.

Walaupun terjadi penurunan pada motilitas spermatozoa, akan tetapi nilai motilitas spermatozoa tersebut tetap layak untuk dilakukan pembekuan. Sebagaimana disebutkan oleh Sarastina, Zenichiro dan Herliantien (2002) bahwa motilitas individu spermatozoa sebelum dibekukan minimal 55%, jika kurang dari 55% maka sperma tersebut tidak layak untuk dibekukan.

4.2.2 Viabilitas Sperma Sebelum *Pre-Freezing*

Data viabilitas sperma pada *Pre-Freezing* secara berurutan berdasarkan perlakuan adalah 65,28; 70,26; 72,64; 71,45; 76,33 dan 76,94. Nilai prosentase rata-rata viabilitas sperma ini masih cukup bagus. Adanya penurunan nilai viabilitas sperma setelah pengenceran dibandingkan dengan sperma segar dapat disebabkan karena proses pengenceran sperma yang menyebabkan rusaknya membran plasma dan menurunkan motilitasnya. Maxwell dan Watson (1996) menyatakan bahwa kerusakan membran spermatozoa akan berdampak pada membran yang pada awalnya mempunyai sifat permeabel tidak lagi mampu menyeleksi keluar masuknya zat yang akhirnya pada saat dilakukan uji warna eosin-negrosin zat tersebut bisa masuk ke dalam plasma.

Walaupun mengalami penurunan, akan tetapi prosentase viabilitas tersebut masih cukup tinggi, hal ini disebabkan oleh adanya bahan *cryoprotectant* intraselluler yang

berupa gliserol dan *cryoprotectant* ekstra selluler yang berupa kuning telur. Kedua jenis *cryoprotectant* ini memberikan efek perlindungan pada sel sperma. Situmorang, Toelihere dan Yusuf (1999) menyebutkan bahwa pada pengencer kuning telur mengandung lipid yang terdapat dari kuning telur ayam. Lipid akan membentuk lipoprotein dan phospholipid yang berfungsi untuk melindungi spermatozoa terhadap kerusakan membran plasma. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Willet dan Ohms (1956) dalam Toelihere (1981) bahwa pada sperma yang tidak dibekukan, penambahan gliserol akan meningkatkan daya tahan hidup spermatozoa terutama dengan susu pengencer, tidak pada pengencer sitrat kuning telur.

4.2.3 Lama Gerak Sperma Pada *Pre-Freezing*

Berdasarkan data yang didapat, terlihat nilai lama gerak sperma pada *pre-freezing* adalah 33,2; 38,15; 39,55; 38,35 ; 42,78 dan 43,12 menit. Nilai lama gerak sperma yang didapatkan ini sangat tinggi, jauh lebih besar dibandingkan dengan lama gerak sperma ikan mas tanpa penambahan pengencer, dimana rata-rata lama gerak sperma ikan mas di air tawar adalah 3-5 menit. Sesuai dengan yang disebutkan oleh Ginzburg (1972) dalam Tang dan Affandi (2001) bahwa lama gerak sperma ikan mas di air tawar berkisar antara 3-5 menit pada suhu 18 °C. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Fujaya (2002) yang menyatakan bahwa spermatozoa akan bergerak apabila bersentuhan dengan air, dan gerak progresif spermatozoa secara berkesinambungan hanya terjadi satu menit setelah bersentuhan dengan air dan hanya 50% yang masih dapat berenang setelah tiga menit. Sebagian besar spermatozoa ikan air tawar dapat bergerak tidak lebih dari dua sampai tiga menit setelah bersentuhan dengan air.

Lamanya pergerakan spermatozoa yang telah diencerkan dengan pengencer susu skim ini dapat disebabkan karena adanya kandungan nutrisi berupa laktosa di dalam pengencer susu skim, selain itu di dalam pengencer juga ditambahkan bahan berupa glukosa yang dapat dimanfaatkan oleh sperma sebagai sumber utama cadangan energi. Buckle *et all* (1987) menyebutkan bahwa laktosa merupakan komponen gula dalam air susu yang merupakan sumber energi bagi spermatozoa dan berfungsi menonaktifkan laktenin yang merupakan komponen dari air susu yang bersifat racun bagi spermatozoa, sedangkan kandungan asam sitratnya merupakan buffer. Kemudian ditambahkan juga oleh Toelihere (1981) bahwa beberapa zat hidrat arang yang sederhana, seperti glukosa, dapat dipakai sebagai sumber energi bagi sperma sehingga akan meningkatkan daya tahan hidup spermatozoa.

Selain itu, Salisbury dan Vandenmark (1985) juga menyebutkan bahwa gliserol yang ditambahkan pada pengencer merupakan substansi yang langsung berdifusi ke dalam sel mani dan dioksidir oleh spermatozoa untuk proses energinya dan membentuk fruktosa. Dengan tersedia bahan untuk cadangan energi bagi spermatozoa, maka lama gerak spermatozoa dalam pengencer susu skim kuning telur jauh lebih tinggi jika dibandingkan lama gerak sperma ikan mas tanpa penambahan pengencer.

4.3 Evaluasi Kualitas Sperma Setelah Pembekuan dan Thawing

4.3.1 Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Motilitas Sperma

Sperma segar ikan mas yang telah diamati kualitasnya kemudian dibekukan dengan menggunakan pengencer susu skim kuning telur dan ditambahkan *Cryoprotectant* berupa gliserol sesuai dengan dosis yang telah ditentukan, kemudian

dibekukan pada suhu $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan menggunakan nitrogen cair dan selanjutnya disimpan di dalam kontainer nitrogen cair selama 28 hari. Pengamatan kualitas sperma dilakukan setiap minggu dengan parameter pengamatan kualitasnya antara lain motilitas, viabilitas, dan lama gerak sperma.

Berdasarkan dari pengamatan motilitas sperma yang telah dilakukan, didapatkan nilai motilitas sperma pada tabel 4.

Tabel 4. Nilai prosentase motilitas sperma pada tiap minggu

Perlakuan	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu IV
0%	41,6667	43,3333	38,3333	38,3333
2%	48,3333	46,6667	46,6667	43,3333
4%	51,6667	51,6667	50	48,3333
6%	53,3333	55	53,3333	51,6667
8%	56,6667	56,6667	56,6667	56,6667
10%	60	60	58,3333	58,3333
Total	311,667	313,333	303,333	296,667
Rata-Rata	51,9444	52,2222	50,5556	49,4444

Selanjutnya dilakukan analisa sidik ragam untuk motilitas pada tiap minggu pengamatan, hasilnya dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Nilai analisa sidik ragam motilitas sperma ikan mas

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Minggu I						
1. Perlakuan	5	623,611	124,722	17,96**	3,11	5,06
2. Acak	12	83,333	6,944			
3. Total	17	706,944				
Minggu II						
1. Perlakuan	5	594,444	118,889	21,4**	3,11	5,06
2. Acak	12	66,667	5,556			
3. Total	17	661,111				
Minggu III						
1. Perlakuan	5	811,111	162,222	23,36**	3,11	5,06
2. Acak	12	83,333	6,944			
3. Total	17	894,444				

Tabel 5. Lanjutan

Minggu IV						
1. Perlakuan	5	894,444	178,889	21,467**	3,11	5,06
2. Acak	12	100	8,333			
3. Total	17	994,444				

Berdasarkan dari analisa sidik ragam untuk tiap minggu pengamatan didapatkan bahwa F hitung $>$ F 1%. Hal ini dapat dilihat dari nilai F hitung pada tiap minggu pengamatan, dimana nilai F hitung pada minggu pertama adalah 17,96; pada minggu kedua 21,4; minggu ketiga 23,36 dan minggu keempat sebesar 21,467. Berdasarkan dari nilai diatas dapat disimpulkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap motilitas sperma ikan mas.

Setelah dilakukan analisa sidik ragam, kemudian dilakukan uji Beda Nyata Terkecil dengan hasil yang ditunjukkan pada tabel 6.

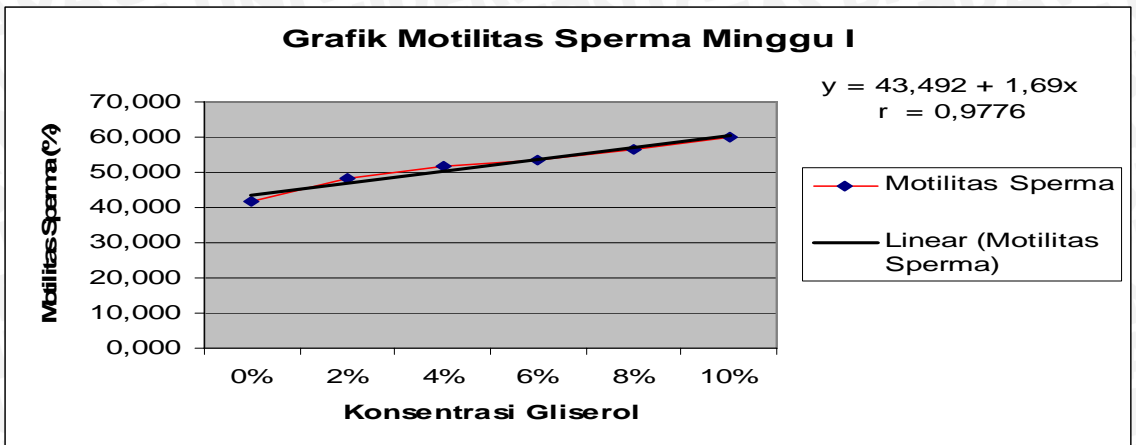
Tabel 6. Uji Beda Nyata Terkecil motilitas spermatozoa ikan mas

Perlakuan	Rata-rata	Notasi	Perlakuan	Rata-rata	Notasi
Minggu I			Minggu II		
0%	41,6667	a	0%	43,3333	a
2%	48,3333	b	2%	46,6667	a
4%	51,6667	bc	4%	51,6667	b
6%	53,3333	c	6%	55	bc
8%	56,6667	cd	8%	56,6667	cd
10%	60	d	10%	60	d
Minggu III			Minggu IV		
0%	38,3333	a	0%	38,3333	a
2%	46,6667	b	2%	43,3333	a
4%	50	bc	4%	48,3333	b
6%	53,3333	cd	6%	51,6667	b
8%	56,6667	de	8%	56,6667	c
10%	58,3333	e	10%	58,3333	c

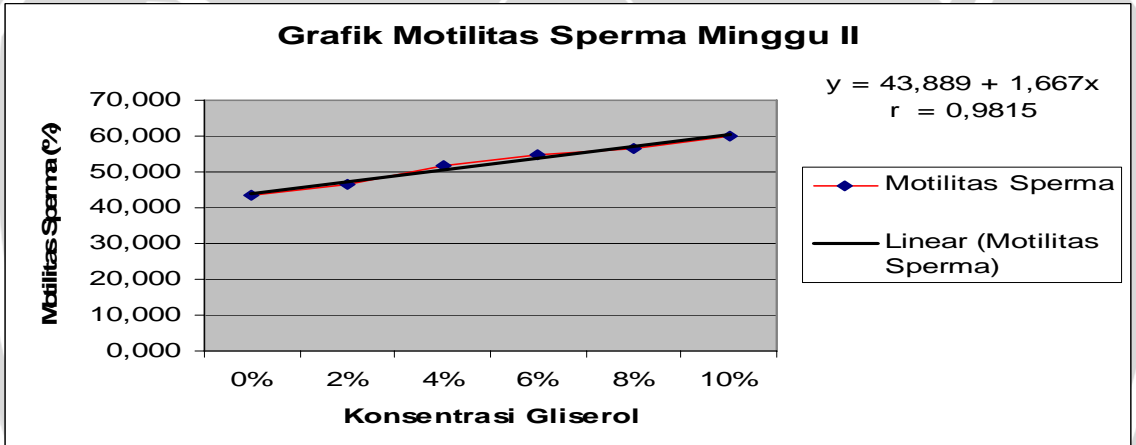
Dari hasil pengamatan diatas dapat terlihat bahwa pemberian gliserol pada pengencer susu skim kuning telur memiliki pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap motilitas spermatozoa ikan mas. Nilai motilitas yang tertinggi didapatkan pada pemberian gliserol sebanyak 10% dengan nilai motilitas rata-rata sebesar 58,33 % – 0 %. Sedangkan nilai motilitas terendah didapatkan pada pemberian gliserol 0% atau tanpa adanya pemberian gliserol (kontrol) dengan nilai motilitas rata-rata yang didapatkan sebesar 38,333%-43,333%. Pada umumnya, motilitas rata-rata sperma ikan yang didapatkan setelah pembekuan akan lebih rendah nilainya dibandingkan dengan sebelum pembekuan. Farstad (1996) menyebutkan bahwa prosentase motilitas individu spermatozoa setelah pembekuan akan lebih rendah dibandingkan dengan sebelum pembekuan, yang diakibatkan karena adanya proses pendinginan dan pembekuan pada suhu -196°C yang umumnya disebut dengan efek *lethal* pembekuan.

Berdasarkan perhitungan, didapatkan nilai persamaan regresi pada minggu I adalah $Y = 43,492 + 1,690 x$ dengan nilai $r = 0,9776$. Untuk minggu II didapatkan persamaan regresi adalah sebagai berikut $Y = 43,889 + 1,667 x$ dengan $r = 0,9815$. Pada minggu ke III didapatkan persamaan regresi $Y = 41,032 + 1,905 x$ dengan $r = 0,9923$. Sedangkan pada minggu keempat persamaan regresinya adalah $Y = 37,159 + 2,048 x$ dengan $r = 0,9827$.

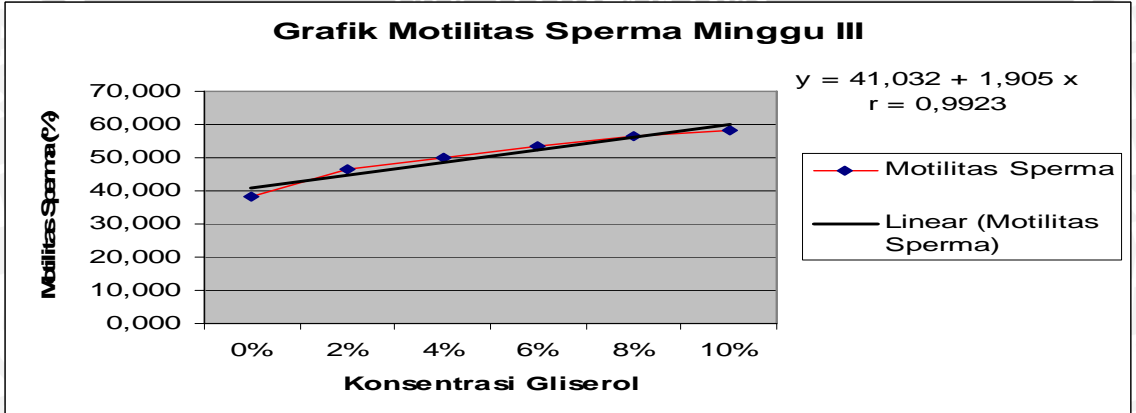
Dari nilai persamaan regresi ini, maka didapatkan grafik seperti yang ditunjukkan pada gambar 5 hingga gambar 8 berikut ini:



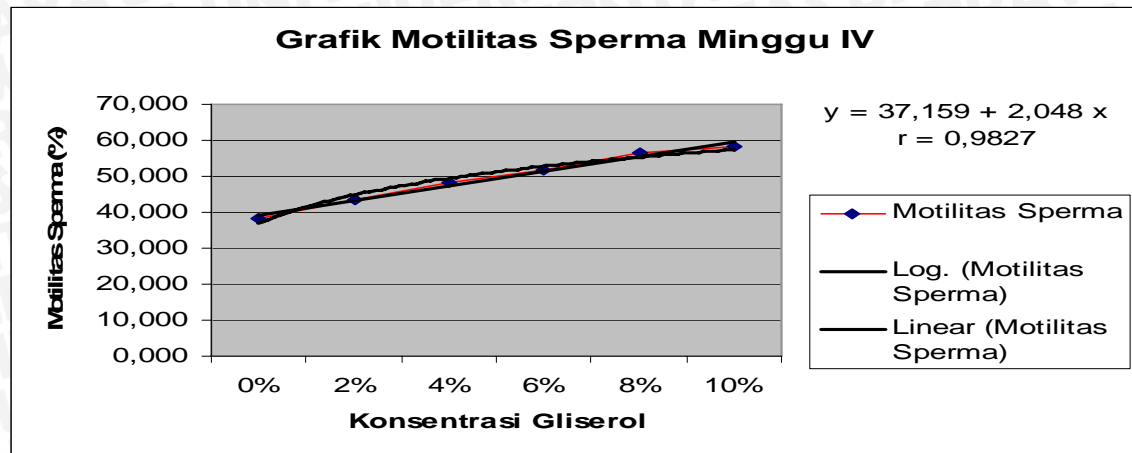
Gambar 5. Hubungan antara dosis gliserol dan motilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu I



Gambar 6. Hubungan antara dosis gliserol dan motilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu II



Gambar 7. Hubungan antara dosis gliserol dan motilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu III



Gambar 8. Hubungan antara dosis gliserol dan motilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu IV

Dari grafik yang digambarkan diatas, dapat terlihat garis grafik menunjukkan nilai linier positif. Ini berarti setiap perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap nilai prosentase motilitas spermatozoa ikan mas. Semakin tinggi konsentrasi gliserol yang diberikan, maka semakin tinggi juga nilai prosentase motilitas sperma yang didapatkan. Nilai motilitas sperma yang paling rendah didapatkan pada penambahan gliserol 0% atau kontrol. Rendahnya nilai motilitas sperma disebabkan karena tidak adanya penambahan gliserol pada susu pengencer, sehingga banyak spermatozoa akan mengalami kematian ketika dilakukan proses pembekuan. Walaupun begitu, masih terdapat cukup banyak jumlah spermatozoa yang tetap hidup ketika diamati setelah *post-thawing*. Hal ini dapat terjadi karena adanya penambahan kuning telur pada pengencer susu skim. Hal ini sesuai dengan pernyataan Holt *et al* (1992) menyatakan bahwa pengencer yang mengandung 20% kuning telur dan 4% gliserol dapat mempertahankan kehidupan spermatozoa setelah thawing. Selain itu, Salisbury dan Vandemark (1985) juga menyebutkan bahwa kuning telur ayam yang masih segar melindungi spermatozoa terhadap kejutan dingin dimana daya pelindung kuning telur

tersebut terletak pada lipoprotein dan lesitin yang terdapat di dalam kuning telur. Kedua bahan pelindung ini bekerja pada selubung lipoprotein pada membran spermatozoa. Selain itu, kuning telur juga mengandung glukosa, yang dapat digunakan oleh sperma lebih baik daripada fruktosa yang terdapat pada sperma.

Pada pengencer yang ditambahkan gliserol, dapat terlihat bahwa nilai motilitas terbaik dari tiap minggu pengamatan adalah pada penambahan gliserol 10% dengan nilai setiap minggu pengamatan secara berurutan adalah 60%, 60%, 58,33% dan 58,33%. Sedangkan pada penambahan gliserol 2% didapatkan nilai motilitas yang paling rendah dengan rata-rata nilai motilitas setiap minggunya adalah 48,333%, 46,667%, 46,667% dan 43,333%. Hasil yang didapatkan ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1981) yang menyebutkan bahwa penambahan gliserol ke dalam pengencer sperma yang akan dibekukan adalah hal yang sangat essensial. Selain itu Mc Lean (1956) dalam Toelihere (1981) juga melaporkan bahwa spermatozoa di dalam sperma yang diencerkan dengan susu pengencer ditambah 10% gliserol ternyata mempunyai daya tahan hidup dan fertilitas yang baik. Hal ini juga diperkuat dengan pernyataan Hariyanto (2005) menyebutkan bahwa penambahan gliserol kedalam pengencer dengan jumlah 7-14 % akan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan penambahan gliserol lebih dari 14%.

4.3.2 Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Viabilitas Sperma

Pada pengamatan viabilitas sperma yang telah dilakukan, didapatkan nilai viabilitas sperma setiap minggu pengamatan seperti pada tabel 7 berikut:

Tabel 7. Data pengamatan nilai rata-rata viabilitas sperma ikan mas

Perlakuan	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu IV
0%	54,3267	55,5667	49,39	47,74667
2%	63,0333	61,63	58,2067	51,81
4%	65,5733	65,1833	62,48	56,103333
6%	67,47	66,82	65,7533	61,786667
8%	69,6367	67,3967	68,83	66,536667
10%	69,8533	70,7733	70,47	68,323333
Total	389,893	387,37	375,13	352,30667
Rata-rata	64,9822	64,5617	62,5217	58,717778

Kemudian setelah dilakukan analisa sidik ragam pada tiap minggu pengamatan, maka diperoleh hasil yang ditunjukkan pada tabel 8.

Tabel 8. Sidik ragam viabilitas sperma ikan mas

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Minggu I						
1. Perlakuan	5	25303,41	5060,68	949,22**	3,11	5,06
2. Acak	12	63,977	5,331			
3. Total	17	25367,4				
Minggu II						
1. Perlakuan	5	25335,9	5067,18	1255,539**	3,11	5,06
2. Acak	12	48,43	4,036			
3. Total	17	25384,3				
Minggu III						
1. Perlakuan	5	24865,8	4973,17	583,636**	3,11	5,06
2. Acak	12	102,252	8,521			
3. Total	17	24968,1				
Minggu IV						
1. Perlakuan	5	22749,9	4549,99	470,031**	3,11	5,06
2. Acak	12	116,162	9,68			
3. Total	17	22866,1				

Berdasarkan tabel diatas, dapat terlihat nilai F hitung setiap minggu secara berurutan adalah sebesar 949,22; 1255,539; 583.636 dan 470, 031. Dari nilai-nilai F hitung tersebut dapat terlihat bahwa nilai F hitung lebih besar dari F 1% yaitu 5,06. Jadi,

dapat dikatakan bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap viabilitas spermatozoa ikan mas.

Selanjutnya dilakukan uji BNT yang hasilnya ditampilkan pada tabel 9 di bawah ini.

Tabel 9. Uji Benda Nyata Terkecil viabilitas sperma ikan mas

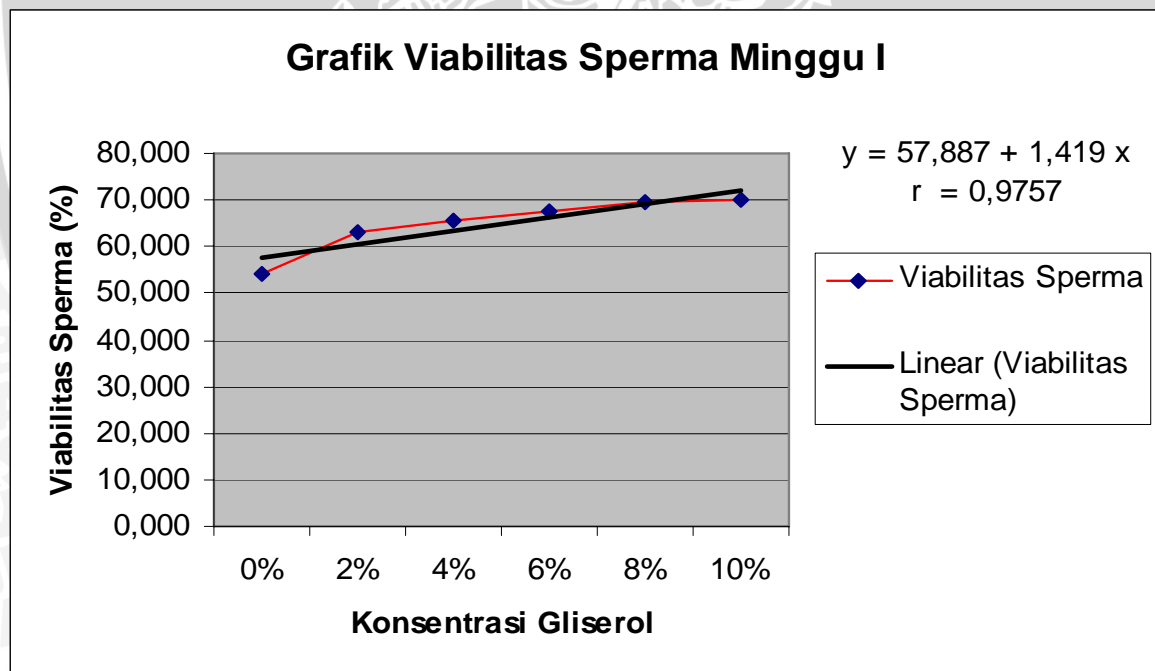
Perlakuan	Rata-rata	Notasi	Perlakuan	Rata-rata	Notasi
Minggu I			Minggu II		
0%	54,3267	a	0%	55,5667	a
2%	63,0333	b	2%	61,63	b
4%	65,5733	b	4%	65,1833	bc
6%	67,47	bc	6%	66,82	c
8%	69,6367	bc	8%	67,3967	cd
10%	69,8533	c	10%	70,7733	d
Perlakuan	Rata-rata	Notasi	Perlakuan	Rata-rata	Notasi
Minggu III			Minggu IV		
0%	49,39	a	0%	47,74667	a
2%	58,2067	b	2%	51,81	ab
4%	62,48	bc	4%	56,103333	b
6%	65,7533	cd	6%	61,786667	c
8%	68,83	d	8%	66,536667	cd
10%	70,47	d	10%	68,323333	d

Berdasarkan tabel uji beda nyata terkecil diatas dapat terlihat bahwa perlakuan pemberian gliserol pada pengencer susu skim memiliki pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap viabilitas spermatozoa ikan mas. Prosentase viabilitas spermatozoa ikan mas terbesar didapatkan pada pemberian gliserol sebanyak 10%, yaitu dengan nilai viabilitas setiap minggu secara berurutan adalah 69,8533 %; 70,7733 %; 70,47 % serta 68,323 %. Sedangkan nilai viabilitas terendah didapatkan pada pemberian gliserol 0%

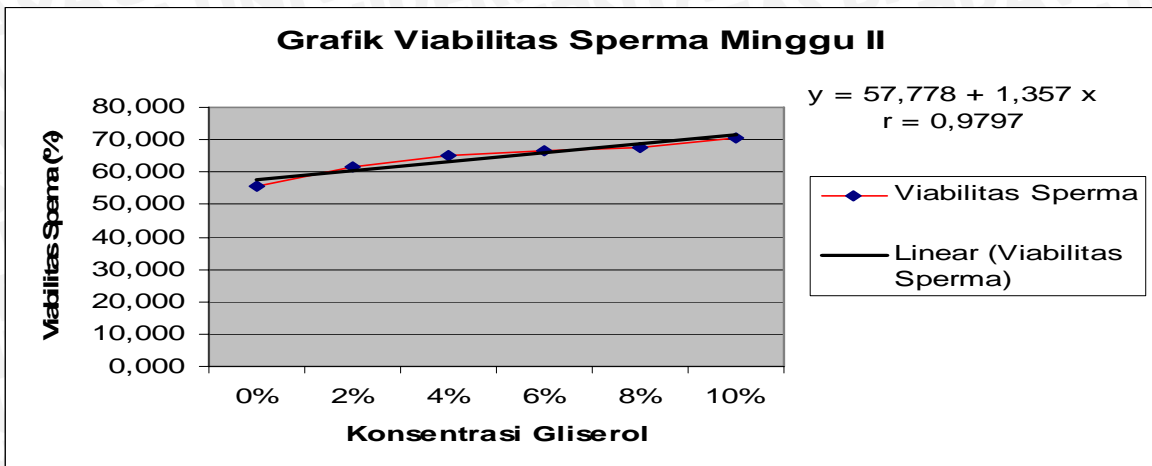
atau pada kontrol dengan nilai viabilitas rata-rata setiap minggunya adalah 54,3267 %; 55,5667 %; 49,39% dan 47,74667 %.

Berdasarkan perhitungan, didapatkan nilai persamaan regresi pada minggu I adalah $Y = 57,887 + 1,419 x$ dengan nilai $r = 0,9757$. Untuk minggu II didapatkan persamaan regresi adalah sebagai berikut $Y = 57,778 + 1,357 x$ dengan $r = 0,9797$. Pada minggu ke III didapatkan persamaan regresi $Y = 52,483 + 2,008 x$ dengan $r = 0,9804$. Sedangkan pada minggu keempat persamaannya adalah $Y = 47,807 + 2,182 x$ dengan $r = 0,9812$.

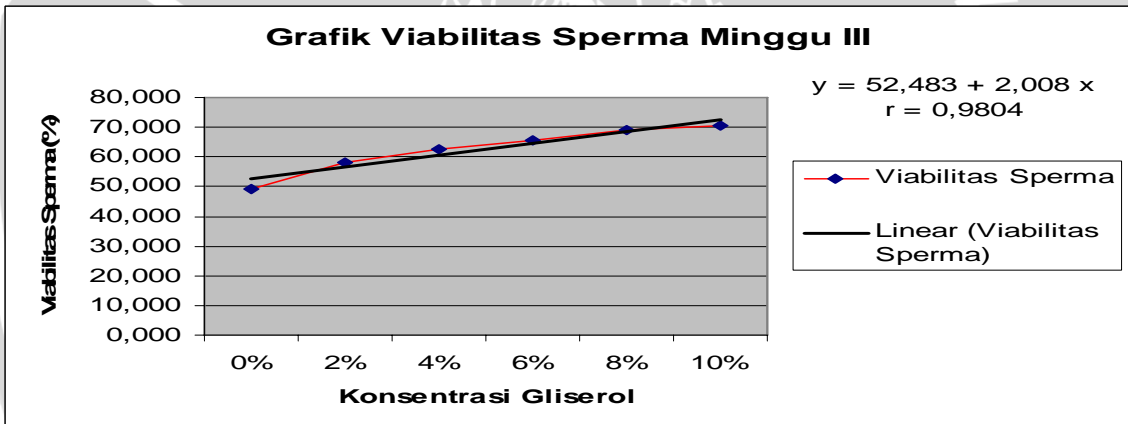
Dari persamaan regresi tersebut, diperoleh grafik seperti pada gambar 9 hingga gambar 12 berikut :



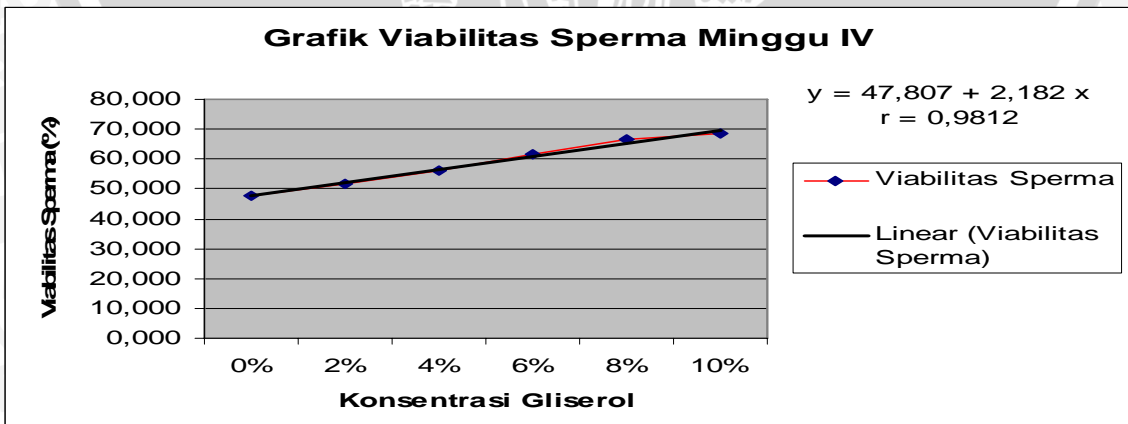
Gambar 9. Hubungan antara dosis gliserol dan Viabilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu I



Gambar 10. Hubungan antara dosis gliserol dan Viabilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu II



Gambar 11. Hubungan antara dosis gliserol dan Viabilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu III



Gambar 12. Hubungan antara dosis gliserol dan Viabilitas sperma ikan mas pada pengamatan minggu IV

Dari grafik yang telah ditampilkan sebelumnya, terlihat bahwa grafik tersebut menunjukkan garis yang linier positif. Ini berarti bahwa perlakuan penambahan gliserol pada pengencer susu skim memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap prosentase viabilitas sperma ikan mas. Semakin tinggi jumlah gliserol yang ditambahkan, maka semakin besar pula nilai prosentase viabilitas spermatozoa ikan mas.

Prosentase hidup spermatozoa setelah pembekuan berhubungan dengan bahan-bahan pelindung *cold shock* yang dipakai pada pengencer. Salisbury dan Vandenmark (1985) menyatakan bahwa efek utama *cold shock* adalah kerusakan sel akibat daya konsentrasi selubung lipoprotein spermatozoa yang lebih besar daripada kontraksi spermatozoa karena temperature yang rendah sehingga menyebabkan bocornya substansi intraselluler yang vital. Keadaan ini menyebabkan semakin tingginya spermatozoa yang menyerap zat warna eosin-negrosin yang menandakan bahwa spermatozoa telah mati.

Fujaya (2002) juga menyebutkan bahwa penurunan suhu penyimpanan pada taraf di bawah titik beku memperpanjang daya simpan sperma. Akan tetapi, gejala-gejala fisik selama pembekuan terutama pada suhu di bawah 0 °C yaitu terbentuknya es pada medium ekstra selluler, dimana kristal es ini akan meyebabkan kerusakan sperma sehingga sperma akan mati. Oleh sebab itulah dibutuhkan bahan *cryoprotectant* seperti gliserol yang akan melindungi spermatozoa terhadap kerusakan selama proses pembekuan.

Berdasarkan dari hasil diatas, dapat terlihat bahwa pemberian gliserol 10% akan menyebabkan nilai viabilitas spermatozoa ikan mas menjadi lebih besar. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Partodihardjo (1992) bahwa penambahan gliserol selalu

membawa efek baik bagi pembekuan sperma, dimana jumlah gliserol yang baik untuk ditambahkan adalah antara 7-10%. Pernyataan ini juga diperkuat oleh Salisbury dan Vandemark (1985) yang menyatakan bahwa penambahan gliserol sebanyak 8% pada pengencer susu murni yang dipanaskan dan dicampurkan dengan 82% susu skim, dan 10% kuning telur akan meningkatkan daya hidup spermatozoa.

4.3.3 Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Lama Gerak Sperma

Berdasarkan hasil pengamatan lama gerak sperma ikan mas pada tiap minggu, didapatkan data yang hasilnya pada tabel 10 berikut :

Tabel 10. Nilai rata-rata lama gerak sperma ikan mas (menit)

Perlakuan	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu IV
0%	20,35	21,417	14,663	17,047
2%	27,5467	26,0533	25,3667	20,42
4%	30,41	30,0233	29,2	24,8433
6%	31,47	32,2867	30,5933	27,8
8%	30,75	34,6833	32,55	32,6267
10%	37,11	36,9667	35,9667	35,64
Total	177,637	181,43	168,34	158,377
Rata-Rata	29,6061	30,2384	28,0566	26,3962

Setelah didapatkan data lama gerak diatas, kemudian dilakukan analisa sidik ragam yang hasilnya pada tabel 11 berikut ini :

Tabel 11. Nilai sidik ragam lama gerak sperma ikan mas

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Minggu I						
1. Perlakuan	5	6358,483	1271,697	111,182**	3,11	5,06
2. Acak	12	137,255	11,438			
3. Total	17	6495,738				
Minggu II						
1. Perlakuan	5	6517,414	1303,483	266,687**	3,11	5,06
2. Acak	12	58,652	4,888			
3. Total	17	6576,067				
Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%

Tabel 11. Lanjutan

Minggu III						
1. Perlakuan	5	6239,181	1247,836	203,020**	3,11	5,06
2. Acak	12	73,756	6,146			
3. Total	17	6312,937				
Minggu IV						
1. Perlakuan	5	5764,772	1152,954	129,724**	3,11	5,06
2. Acak	12	106,653	8,888			
3. Total	17	5871,424				

Dari perhitungan analisa sidik ragam diatas, terlihat bahwa F hitung pada tiap minggu secara berurutan adalah 111,182; 266,687; 203,020 dan 129,724, sedangkan F tabel 1 % sebesar 5,06. Jadi, dari perhitungan tersebut dapat dikatakan bahwa nilai F hitung > F 1%. Ini berarti perlakuan yang diberikan akan memberikan pengaruh yang sangat nyata pada lama gerak spermatozoa ikan mas.

Setelah dilakukan analisa sidik ragam, kemudian dilakukan uji beda nyata terkecil yang hasilnya seperti pada tabel 12.

Tabel 12. Uji Beda Nyata Terkecil lama gerak sperma ikan mas

Perlakuan	Rata-rata	Notasi	Perlakuan	Rata-rata	Notasi
Minggu I			Minggu II		
0%	20,35	a	0%	21,417	a
2%	27,5467	bc	2%	26,0533	b
4%	30,41	c	4%	30,0233	c
6%	31,47	c	6%	32,2867	cd
8%	30,75	cd	8%	34,6833	d
10%	37,11	d	10%	36,9667	d

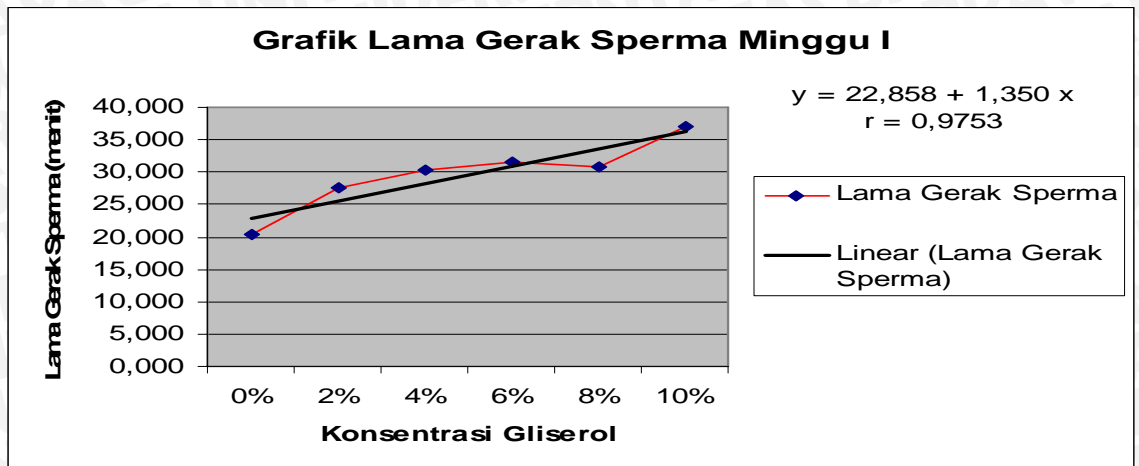
Tabel 12. Lanjutan

Perlakuan	Rata-rata	Notasi	Perlakuan	Rata-rata	Notasi
Minggu III			Minggu IV		
0%	14,663	a	0%	17,047	a
2%	25,3667	b	2%	20,42	ab
4%	29,2	bc	4%	24,8433	bc
6%	30,5933	c	6%	27,8	cd
8%	32,55	cd	8%	32,6267	de
10%	35,9667	d	10%	35,64	e

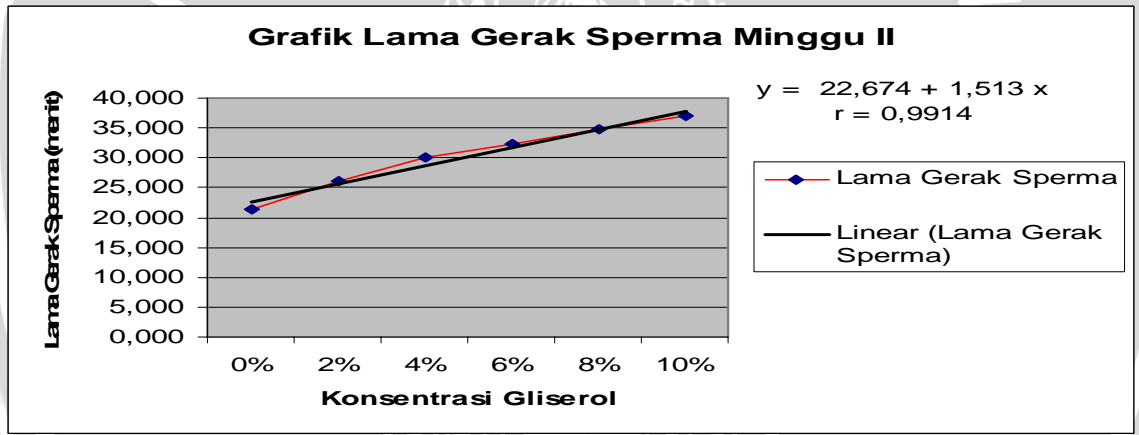
Dari data diatas, dapat terlihat bahwa nilai lama gerak sperma yang tertinggi terjadi pada perlakuan dengan penambahan gliserol sebanyak 10%, dimana nilai lama gerak sperma yang didapatkan setiap minggu secara berurutan adalah 37,11 menit, 36,9667 menit, 35,9667 menit serta 35,64 menit. Sedangkan nilai lama gerak sperma yang paling rendah didapatkan pada pemberian gliserol sebanyak 0% atau pada kontrol dengan nilai rata-rata lama gerak sperma yang didapatkan setiap minggu adalah sebesar 20,35 menit, 21,417 menit, 14,663 menit, 17,047 menit.

Berdasarkan perhitungan, didapatkan nilai persamaan regresi pada minggu I adalah $Y = 22,858 + 1,350 x$ dengan nilai $r = 0,9753$. Untuk minggu II didapatkan persamaan regresi adalah sebagai berikut $Y = 22,674 + 1,513 x$ dengan $r = 0,9914$. Pada minggu ke III didapatkan persamaan regresi $Y = 18,810 + 1,849 x$ dengan $r = 0,9927$. Sedangkan pada minggu keempat persamaan regresinya adalah $Y = 16,929 + 1,893x$ dengan $r = 0,99$.

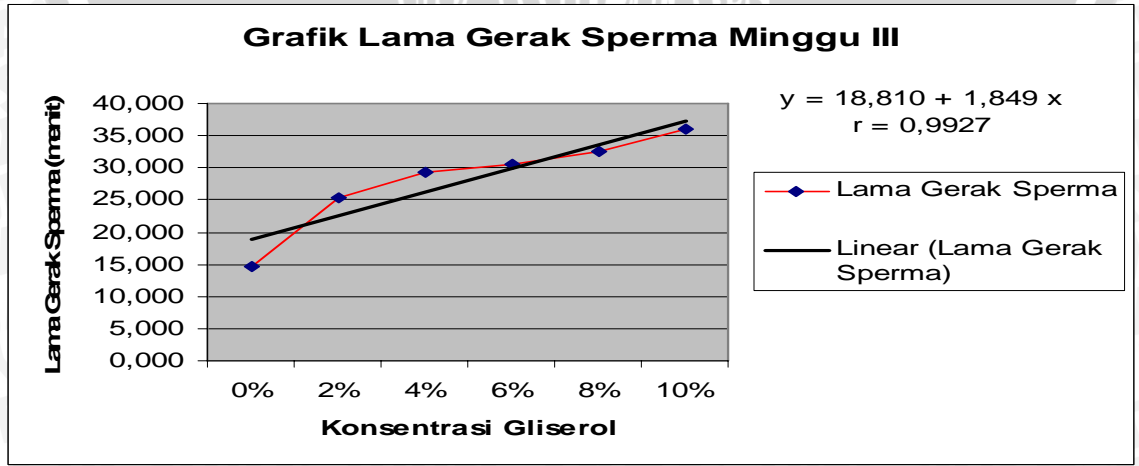
Berdasarkan persamaan regresi tersebut, diperoleh grafik lama gerak sperma setiap minggu seperti pada gambar 13 hingga 16 sebagai berikut:



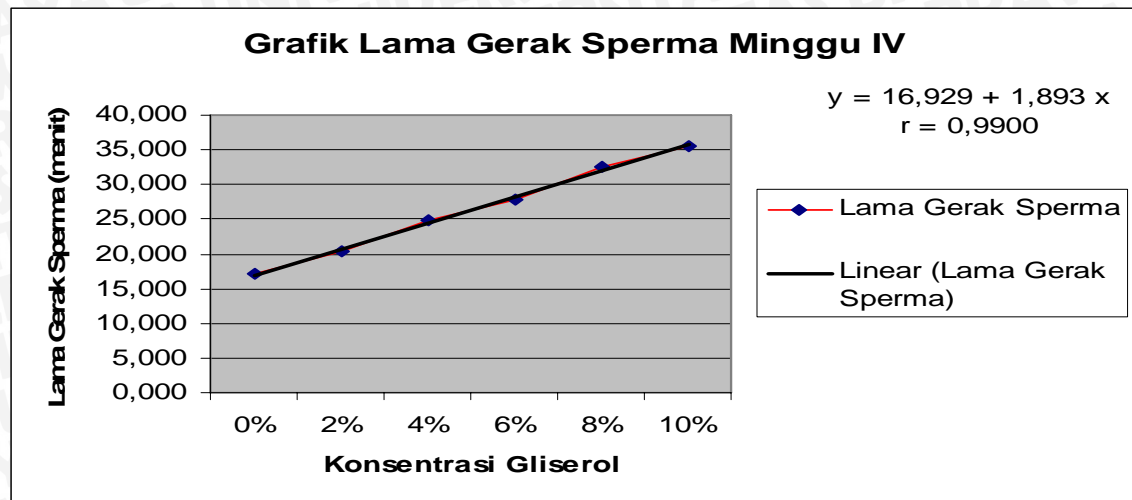
Gambar 13. Hubungan antara dosis gliserol dan lama gerak sperma ikan mas pada pengamatan minggu I



Gambar 14. Hubungan antara dosis gliserol dan lama gerak sperma ikan mas pada pengamatan minggu II



Gambar 15. Hubungan antara dosis gliserol dan lama gerak sperma ikan mas pada pengamatan minggu III



Gambar 16. Hubungan antara dosis gliserol dan lama gerak sperma ikan mas pada pengamatan minggu IV

Berdasarkan dari data yang ditunjukkan oleh grafik diatas, dapat terlihat bahwa lama gerak spermatozoa ikan mas yang didapatkan pada setiap perlakuan tersebut cukup tinggi. Sebagaimana disebutkan oleh Ginzburg (1972) dalam Tang dan Affandi (2001) bahwa lama gerak spermatozoa ikan mas di dalam air yang bersuhu 18,21 °C adalah 3 – 5 menit. Tingginya nilai lama gerak spermatozoa dapat disebabkan oleh konsentrasi spermatozoa yang cukup encer di dalam plasma semen. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Munkittrick dan Moccia (1987) dalam Tang dan Affandi (2001) bahwa terdapat hubungan antara volume sperma dengan pergerakan spermatozoa, dimana semakin encer sperma ikan maka pergerakan spermatozoa akan semakin tinggi karena spermatozoa memperoleh zat makanan yang cukup dari plasma semen.

Selain itu, lama gerak spermatozoa ikan mas pada pengencer susu skim yang telah ditambahkan gliserol juga dipengaruhi oleh adanya penambahan bahan-bahan seperti glukosa yang merupakan sumber utama energi untuk pergerakan spermatozoa.

Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1981) yang menyatakan bahwa glukosa yang

ditambahkan pada pengencer dapat dimanfaatkan sebaik fruktosa yang terdapat dalam plasma semen sebagai sumber energi untuk metabolisme dan pergerakan spermatozoa. Laktosa juga merupakan komponen gula dalam air susu pengencer yang merupakan sumber energi bagi spermatozoa dan berfungsi menonaktifkan laktenin yang merupakan komponen dari air susu yang bersifat racun bagi spermatozoa, sedangkan kandungan asam sitratnya merupakan buffer (Buckle, Edward, Fleet dan Wootton, 1987).

4.3.4 Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Daya Fertilitas dan Daya Tetas Telur

Berdasarkan fertilisasi yang telah dilakukan pada minggu keempat setelah pembekuan, maka didapatkan hasil fertilitas telur ikan mas pada tabel 13 berikut:

Tabel 13. Data prosentase fertilitas telur ikan mas

Perlakuan	Jumlah Telur Yang Terbuahi	Jumlah Total Telur	Fertilitas (%)
(0 %) A1	12	125	9,600
A2	11	143	7,692
A3	8	152	5,263
(2 %) B1	13	145	8,966
B2	15	153	9,804
B3	16	127	12,598
(4 %) C1	10	135	7,407
C2	13	128	10,156
C3	14	132	10,606
(6 %) D1	14	123	11,382
D2	15	142	10,563
D3	18	137	13,139
(8 %) E1	19	135	14,074
E2	13	154	8,442
E3	16	134	11,94
(10 %) F1	17	144	11,806
F2	20	126	15,873
F3	15	138	10,87

Setelah didapatkan data fertilitas telur ikan mas seperti yang ditunjukkan pada tabel diatas, selanjutnya dilakukan analisa sidik ragam. Hasil analisa sidik ragam tersebut dapat dilihat pada tabel 14 berikut.

Tabel 14. Nilai sidik ragam fertilitas telur ikan mas

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	53,969	10,794	2,295 ^{ns}	3,11	5,06
2. Acak	12	56,447	4,704			
3. Total	17	110,416				

Berdasarkan dari hasil sidik ragam diatas, dapat terlihat nilai F hitung hanya sebesar 2,295 sedangkan F 5% sebesar 3,11. Dari kedua nilai tersebut terlihat bahwa nilai F hitung < F 5%. Ini berarti perlakuan yang diberikan tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata (non significant) terhadap hasil fertilisasi telur ikan mas.

Berdasarkan dari data diatas, dapat terlihat bahwa nilai fertilisasi yang tertinggi didapatkan pada pemberian gliserol sebanyak 10% dengan prosentase fertilisasi sebesar 12,849 sedangkan yang terendah didapatkan pada kontrol yaitu sebesar 7,518. Hasil fertilisasi pada tiap perlakuan yang diberikan berdasarkan analisa sidik ragam diatas menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata.

Rendahnya nilai fertilisasi dapat disebabkan karena rendahnya kualitas telur ikan mas yang digunakan. Hal ini dapat terlihat dari warna telur yang kurang bening serta terlihat keruh. Kondisi telur yang seperti ini menyebabkan daya fertilitas telur menjadi berkurang dari yang seharusnya.

Selain itu, menurut Rustidja (2000) bahwa lama penyimpanan spermatozoa berpengaruh sangat nyata terhadap fertilitas telur ikan mas. Semakin lama spermatozoa

disimpan maka kemampuan untuk membuahi sel telur semakin menurun. Hal ini disebabkan antara lain oleh menurunnya motilitas spermatozoa pasca pencairan. Stoss (1982) dalam Rustidja (2000) menambahkan bahwa prosentase motilitas spermatozoa akan berhubungan dengan prosentase fertilitasnya. Semakin tinggi nilai motilitas spermatozoa maka jumlah telur yang akan terbuahi juga akan semakin besar. Motilitas yang rendah menyebabkan spermatozoa kehilangan daya gerak untuk menembus *microphyl* dan akhirnya kehilangan kemampuan untuk membuahi telur.

Rendahnya nilai fertilisasi juga dapat disebabkan karena keterbatasan waktu spermatozoa untuk masuk ke dalam telur. Proses masuknya spermatozoa ke dalam sel telur melalui *microphyl* hanya berlangsung antara 45-60 detik, kemudian *microphyl* tertutup. Keterbatasan waktu yang dibutuhkan spermatozoa ini menyebabkan terbatasnya jumlah telur yang dapat terbuahi (Tang, 2000).

Pada penelitian ini, tidak terdapat telur ikan mas yang menetas. Hal ini disebabkan karena kualitas telur yang digunakan kurang baik sehingga telur tersebut gagal berkembang dan mengalami kematian. Selain itu, rendahnya nilai fertilisasi yang didapatkan juga menyebabkan penurunan prosentase daya tetas telur yang didapatkan.

Faktor lain yang mempengaruhi adalah karena penyebaran telur di dalam saringan penetasan tidak merata dan kebanyakan menumpuk dan saling lengket. Menurut Rustidja (2000) bahwa telur yang saling menumpuk dan lengket menyebabkan sirkulasi oksigen untuk tiap telur tersebut mengalami gangguan sehingga kemungkinan gagalnya penetasan pada telur-telur tersebut akan semakin besar.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Pemberian gliserol dengan dosis yang berbeda pada pengencer susu skim dengan perbandingan pengenceran semen dan pengencer 1:6 memberikan pengaruh yang positif terhadap daya awet sperma ikan mas. Semakin tinggi konsentrasi gliserol yang diberikan pada pengencer susu skim, maka semakin besar pula daya awet sperma ikan mas yang didapatkan.
- Dari hasil penelitian didapatkan bahwa motilitas sperma yang tertinggi setelah pembekuan dan thawing pada minggu ke 4 terdapat pada perlakuan dengan pemberian gliserol sebanyak 10% dengan nilai rata-rata motilitas sebesar 58,333%. Untuk pengamatan viabilitas dan lama gerak didapatkan nilai tertinggi juga pada penambahan gliserol sebanyak 10% dengan nilai viabilitas 68,323% dan lama gerak 35,64 menit.
- Untuk fertilitas didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata antar perlakuan. Rendahnya nilai fertilitas yang didapatkan disebabkan karena kualitas telur ikan mas yang digunakan kurang begitu baik.
- Semakin lama sperma ikan mas diawetkan, maka kualitasnya juga akan semakin menurun. Dari hasil penelitian menunjukkan nilai rata-rata kualitas sperma ikan mas yang diukur mengalami penurunan dari nilai awal walaupun penurunan kualitas sperma tersebut tidak terlalu tinggi.

5.2 Saran

Berdasarkan dari hasil penelitian yang dilakukan, disarankan untuk :

- Konsentrasi gliserol yang baik untuk digunakan pada pengencer susu skim pada perbandingan sperma dengan pengencer sebanyak 1:6 adalah 10%.
- Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk penggunaan gliserol pada pengencer susu skim dengan konsentrasi yang lebih tinggi sehingga akan didapatkan konsentrasi optimum gliserol yang dapat digunakan untuk meningkatkan daya awet sperma ikan mas.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1998. **Petunjuk Penampungan Semen, Processing, Distribusi, dan Evaluasi Mani Beku**. Balai Inseminasi Buatan Singosari. Malang. 47 hal.
- Amri, K. dan Khairuman. 2002. **Menanggulangi Penyakit Pada Ikan Mas dan Koi**. Agromedia Pustaka. 62 hal.
- Billard, R., J. Cosson, G. Perchee and O. Linhart. 1995. **Biology of Sperm and Artificial Reproduction in Carp**. Aquaculture. Elsevier Science. 95-112pg.
- Buckle, K.A., R.A. Edward, G.H. Fleet and Wootton. 1987. **Ilmu Pangan**. Universitas Indonesia. Jakarta. 365 hal.
- Chamberlain, A.A. 1989. **Milk Production In Tropic**. Longman Group. England. 350 pg.
- Darwisito, S. 2002. **Strategi Reproduksi Pada Ikan Kerapu (*Epinephelus sp.*)**. Makalah Pengantar Falsafah Sains Program Pasca Sarjana / S3 Institut Pertanian Bogor. Bogor. 5 hal.
- Farstad, W. 1996. **Semen Cryopreservation in Dog and foxes, Animal Reproduction Research and Practice in Animal Reproduction**. G.W. Stone and Evan (Edition) Elsevier Sci. Vol. 42. Amsterdam. 104-112 pp.
- Fujaya, Y. 2002. **Fisiologi Ikan**. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makasar. 204 hal.
- Hariyanto, A. 2005. **Pengaruh Kadar Gliserol Pada Pengencer Susu Skim Terhadap Kualitas Semen Kambing PE Setelah Pembekuan dan Thawing**. Skripsi S1. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang. 54 hal.
- Hawab, H.M. 2003. **Pengantar Biokimia**. Bayumedia Publishing. Malang. 187 hal.
- Holt, W.V., M.F. Head and R.D. North. 1992. **Freeze Inouced Membrane Damage in Ram Spermatozoa is Manifested After Thawing: Observations With Experimental Cryomicroscopy**. Journal Biology of Reproduction 46. 1086-1094 pp.
- Ikhsan, M.U. 1992. **Ilmu Reproduksi Ternak**. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang. 150 hal.
- Maxwell, W.M.C., and P.F Watson. 1996. **Recent Progress in The Preservation of Ram Semen**. Journal of Animal Reproduction Science. Vol 42. Elsevier Science Publisher. Amsterdam. 53-62 hal.

- Nazir, M. 1983. **Metode Penelitian**. Ghalia Indonesia. Jakarta Timur. 205 hal.
- Parker. 1984. **Dictionary of Chemistry**. Third Edition. McGraw Hill Book Company. New York. 665 hal.
- Partodihardjo, S. 1992. **Ilmu Reproduksi Hewan**. Edisi ketiga. Penerbit Mutiara Sumber Widya. Jakarta. 309 hal.
- Pillay, T. V. R. 1990. **Aquaculture: Principles and Practices**. Fishing News Books. London. 575 pg.
- Rustidja. 2000. **Prospek Pembekuan Sperma**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 68 hal.
- Salisbury, G.W. dan N.L. Vandemark. 1985. **Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi**. Alih Bahasa oleh R. Djanuar. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 867 hal.
- Santoso, B. 1993. **Ikan Mas**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 83 hal.
- Sarastina, K. Zenichiro, dan Herliantien. 2002. **Practical Instruction Technology of Frozen Semen Processing fo Cattle**. Balai Inseminasi Buatan Singosari. Malang. 56 hal.
- Situmorang, P., M.R. Toelihere, dan T.I. Yusuf. 1999. **Pengaruh Plasma Semen Sapi Terhadap Kualitas Semen Beku Kerbau Lumpur (*Bubalus bubalus*)**. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. Vol 4 No. 1. Departemen Pertanian Ciawi. Jawa Barat. 24-28 hal.
- Stoss, J., and E.M. Donaldson. 1982. **Preservation of Fish Gametes. Proceeding of International Symposium on Reproductive Physiology of Fish**. Centre for Agricultural Publishing and Documentation. Wageningen. Netherland. 114-120 pg.
- Supriatna, I. 1993. **Metode Dasar Dalam Pembekuan Embrio Mamalia**. Jurusan Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan. IPB. Bogor. 602 hal.
- Suseno, D. 2004. **Pengelolaan Usaha Pembenihan Ikan Mas**. Penebar Swadaya. Jakarta. 74 hal.
- Suyadi, dan N. Isnaini. 2004. **Angka Kebuntingan Setelah Inseminasi Buatan dengan Semen Kambing PE yang Diencerkan dengan Pengencer Susu Skim Tanpa dan dengan Pendinginan**. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati. Vol-16 No.1. Juni 2004. 32-36 hal.
- Tang, M.U., dan R. Affandi. 2001. **Biologi Reproduksi Ikan**. P2KP2 UNRI. Riau. 165 hal.

Toelihere, M.R. 1981. **Inseminasi Buatan Pada Ternak**. Angkasa. Bandung. 292 hal

_____ . 1985. **Fisiologi Reproduksi Pada Ternak**. Angkasa. Bandung. 327 hal.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data hasil pengamatan motilitas sperma ikan mas

Parameter Uji	Minggu I			Minggu II		
	Ulangan			Ulangan		
Motilitas (%)	I	II	III	I	II	III
0%	40	45	40	45	45	40
2%	45	50	50	45	45	50
4%	50	55	50	55	50	50
6%	50	55	55	55	55	55
8%	55	55	60	55	60	55
10%	60	60	60	60	60	60

Parameter Uji	Minggu III			Minggu IV		
	Ulangan			Ulangan		
Motilitas (%)	I	II	III	I	II	III
0%	35	40	40	40	40	35
2%	50	45	45	40	45	45
4%	50	50	50	50	50	45
6%	55	55	50	55	50	50
8%	55	55	60	60	55	55
10%	60	60	55	55	60	60

Lampiran 2. Uji Barlett, analisa sidik ragam, uji BNT, dan analisa regresi data pengamatan motilitas sperma

Tabel 1. Pengamatan motilitas sperma minggu 1

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0 %	40	45	40	125	41,667
B = 2 %	45	50	50	145	48,333
C = 4 %	50	55	50	155	51,667
D = 6 %	50	55	55	160	53,333
F = 8 %	55	55	60	170	56,667
E = 10 %	60	60	60	180	60,000
Total	-	-	-	935	

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S ²	LOG S ²	(r-1)LOG S ²
0%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
2%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
4%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
6%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
8%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
10%	2	0,5	0,000	0,000	0,000	0,000
Total	12	3	83,333	41,667	4,604	9,208

$$\begin{aligned} \text{JK } 0\% &= (40)^2+(45)^2+(40)^2-125^2/3 \\ &= 16,667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK } 2\% &= (45)^2+(50)^2+(50)^2-145^2/3 \\ &= 16,667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK } 4\% &= (50)^2+(55)^2+(50)^2-155^2/3 \\ &= 16,667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK } 6\% &= (50)^2+(55)^2+(55)^2-160^2/3 \\ &= 16,667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK } 8\% &= (55)^2+(55)^2+(60)^2-170^2/3 \\ &= 16,667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK } 10\% &= (60)^2+(60)^2+(60)^2-180^2/3 \\ &= 0 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} S^2 \text{ gabungan} &= \sum \text{jk} / \text{db} \\ &= 83,333/12 \\ &= 6,944 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Log } S^2 &= \text{Log } 6,944 \\ &= 0,842 \\ X^2 &= 2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1) \text{Log } S_i^2] \\ &= 2,3026 [(12 \times 0,842) - 9,208] \\ &= 2,05 \\ \text{Faktor Koreksi (C)} &= 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum i 1/(r-1) - [1/\sum i (r-1)] \} \\ &= 1 + [1/3(6-1)] \{ 3 - [1/12] \} \\ &= 1 + 0,194 \\ X^2 \text{ terkoreksi} &= (1/C)X^2 \\ &= (1/1,194) \times 2,05 \\ &= 1,717 \\ X^2 \text{ Tabel } 5\% &= 11,070 \end{aligned}$$

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti penyebaran data motilitas tersebut normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \sigma^2/r \times n \\ &= 935^2/3 \times 6 \\ &= 48568,056 \\ \text{JK Total} &= (40^2 + 45^2 + 40^2 + \dots + 60^2 + 60^2 + 60^2) - \text{FK} \\ &= 706,944 \\ \text{JK Perlakuan} &= (125^2 + 145^2 + 155^2 + 160^2 + 170^2 + 180^2)/3 - \text{FK} \\ &= 623,611 \\ \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 83,333 \end{aligned}$$

Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	623,611	124,722	17,960**	3,11	5,06
2. Acak	12	83,333	6,944			
3. Total	17	706,944				

Keterangan : ^{ns} = Tidak berbeda nyata (non significant)

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}} \\ &= \sqrt{2 \times (6,944) / 3} \\ &= 2,152 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t5\% \times \text{SED} \\ &= 2,179 \times 2,152 \\ &= 4,688 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t1\% \times \text{SED} \\ &= 3,055 \times 2,152 \\ &= 7,201 \end{aligned}$$

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 41,667	B = 2% 48,333	C = 4% 51,667	D = 6% 53,333	E = 8% 56,667	F = 10% 58,333	Notasi
A = 0% 41,667	-					-	a
B = 2% 48,333	6,666*	-				-	b
C = 4% 51,667	10**	3,334 ^{ns}	-			-	bc
D = 6% 53,333	11,666**	5*	1,666 ^{ns}	-		-	c
E = 8% 56,667	15**	8,334**	5*	3,334 ^{ns}	-	-	cd
F = 10% 58,333	16,666**	10**	6,666*	5*	1,666 ^{ns}	-	d

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata
 * = berbeda nyata
 ns = non signifikan

Tabel Polynomial Ortogonal

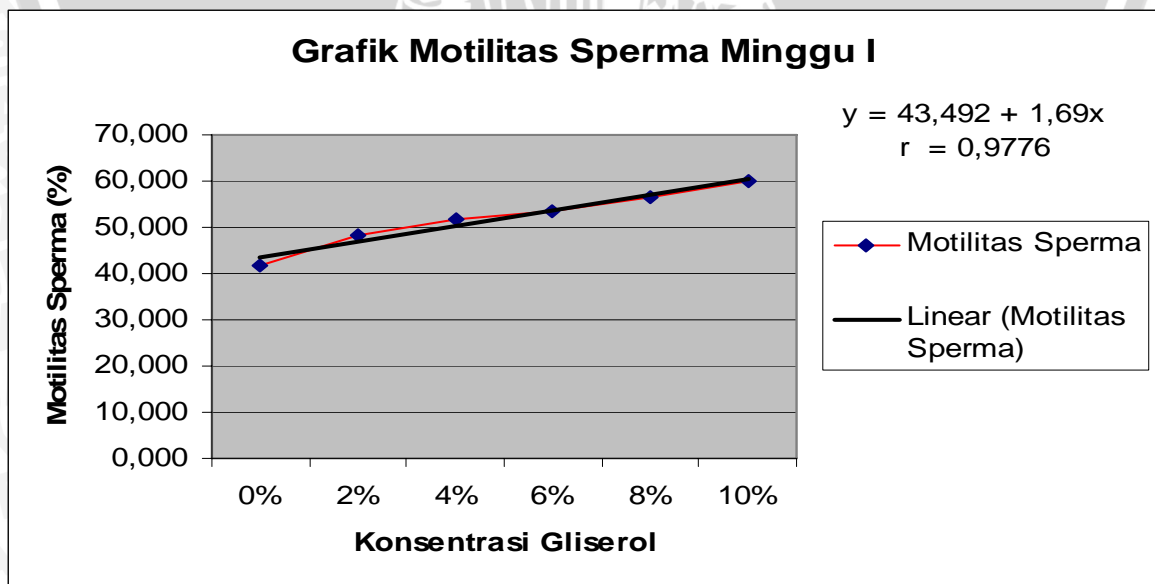
Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	125	-5	5	-5	1
B = 2%	145	-3	-1	7	-3
C = 4%	155	-1	-4	4	2
D = 6%	160	1	-4	-4	2
E = 8%	170	3	-1	-7	-3
F = 10%	180	5	5	5	1
Q = $\sum (C_i \times T_i)$		355	-50	80	-10
Kr = $\sum (C_i)^2 \times r$		70	84	180	28
JK Regresi = Q^2 / KR		1800,357	29,762	35,556	3,571

Analisa Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	623,611	-	-	-	-
Linear	1	1800,357	1800,357	259,251**	4,75	9,33
Kuadratik	1	29,762	29,762	4,286 ^{ns}		
Kubik	1	35,556	35,556	5,120*		
Kuartik	1	3,571	3,571	0,514 ^{ns}		
Acak	12	83,333	6,944			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	41,667	0,000	0	1736,111
B	2	48,333	96,667	4	2336,111
C	4	51,667	206,667	16	2669,444
D	6	53,333	320,000	36	2844,444
E	8	56,667	453,333	64	3211,111
F	10	60,000	600,000	100	3600,000
JUMLAH	30	311,667	1676,667	220	16397,222
Rata-Rata	5	51,944	279,444	36,6667	2732,870



Tabel 2. Data pengamatan motilitas sperma minggu 2

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0 %	45	45	40	130	43,333
B = 2 %	45	45	50	140	46,667
C = 4 %	55	50	50	155	51,667
D = 6 %	55	55	55	165	55,000
E = 8 %	55	60	55	170	56,667
F = 10 %	60	60	60	180	60,000
Total	-	-	-	940	

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S ²	LOG S ²	(r-1)LOG S ²
0%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
2%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
4%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
6%	2	0,5	0,000	0,000	0,000	0,000
8%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
10%	2	0,5	0,000	0,000	0,000	0,000
total	12	3	66,667	33,333	3,683	7,367

JK 0% = 16,667

JK 2% = 16,667

JK 4% = 16,667

JK 6% = 0

JK 8% = 16,667

JK 10 % = 0

S² gabungan = $\sum jk / db$
= 5,556

Log S² = Log 5,556
= 0,745

X² = $2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1)\text{Log } S_i^2]$
= 3,611

$$\text{Faktor Koreksi (C)} = 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum_i 1/(r-1) - [1/\sum_i (r-1)] \} \\ = 1,194$$

$$X^2 \text{ terkoreksi} = (1/C)X^2 \\ = 3,024$$

$$X^2 \text{ Tabel } 5\% = 11,070$$

Karena $X^2 \text{ tabel } 5\% > X^2 \text{ terkoreksi}$, maka berarti penyebaran data motilitas tersebut normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \sigma^2/r \times n \\ = 49088,889$$

$$\text{JK Total} = 661,111$$

$$\text{JK Perlakuan} = 594,444$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ = 66,667$$

Sidik ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	594,444	118,889	21,400**	3,11	5,06
2. Acak	12	66,667	5,556			
3. Total	17	661,111				

$$\text{SED} = \sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}} \\ = 1,925$$

$$\text{BNT } 5\% = t_{5\%} \times \text{SED} \\ = 2,179 \times 1,925 \\ = 4,193$$

$$\text{BNT } 1\% = t_{1\%} \times \text{SED} \\ = 3,055 \times 1,925 \\ = 5,879$$

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 43,333	B = 2% 46,667	C = 4% 51,667	D = 6% 55	E = 8% 56,667	F = 0% 60	Notasi
A = 0% 43,333	-					-	a
B = 2% 46,667	3,334 ^{ns}	-				-	a
C = 4% 51,667	8,334 ^{**}	5*	-			-	b
D = 6% 55	11,667 ^{**}	8,333 ^{**}	3,333 ^{ns}	-		-	bc
E = 8% 56,667	13,334 ^{**}	10 ^{**}	5*	1,667 ^{ns}	-	-	cd
F = 10% 60	16,667 ^{**}	13,333 ^{**}	8,333 ^{**}	5*	3,333 ^{ns}	-	d

Keterangan: ** = sangat berbeda nyata
 * = berbeda nyata
 ns = non significant

Tabel Polynomial orthogonal

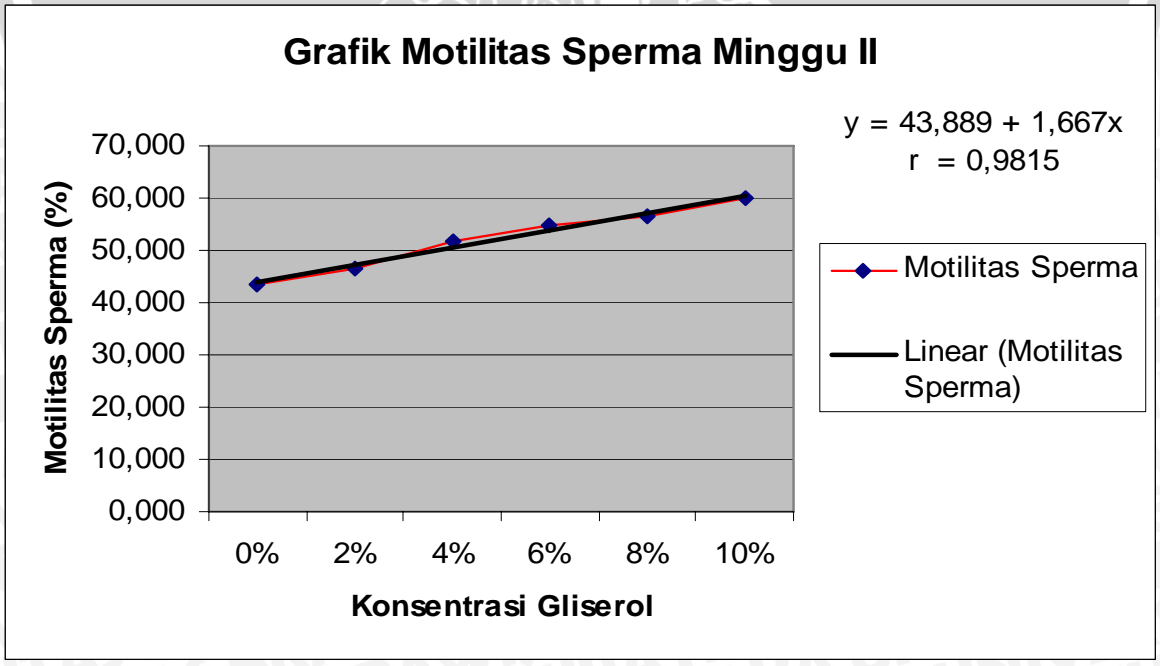
Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	130	-5	5	-5	1
B = 2%	140	-3	-1	7	-3
C = 4%	155	-1	-4	4	2
D = 6%	165	1	-4	-4	2
E = 8%	170	3	-1	-7	-3
F = 10%	180	5	5	5	1
Q= ∑ (CixTi)		350	-40	0	20
Kr= ∑ (Ci) ² x r		70	84	180	28
JK Regresi = Q ² /KR		1750,000	19,048	0	14,286

Analisa sidik ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	594,444	-	-	-	-
Linear	1	1750,000	1750,000	315,000**	4,75	9,33
Kuadratik	1	19,048	19,048	3,429 ^{ns}		
Kubik	1	0,000	0,000	0,000 ^{ns}		
Kuartik	1	14,286	14,286	2,571 ^{ns}		
Acak	12	66,667	5,556			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	43,333	0,000	0	1877,778
B	2	46,667	93,333	4	2177,778
C	4	51,667	206,667	16	2669,444
D	6	55,000	330,000	36	3025,000
E	8	56,667	453,333	64	3211,111
F	10	60,000	600,000	100	3600,000
JUMLAH	30	313,333	1683,333	220	16561,111
Rata-Rata	5	52,222	280,556	36,6667	2760,185



Tabel 3. Data motilitas sperma minggu 3

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0%	35	40	40	115	38,333
B = 2%	50	45	45	140	46,667
C = 4%	50	50	50	150	50,000
D = 6%	55	55	50	160	53,333
E = 8%	55	55	60	170	56,667
F = 10%	60	60	55	175	58,333
Total	-	-	-	910	

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S ²	LOG S ²	(r-1)LOG S ²
0%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
2%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
4%	2	0,5	0,000	0,000	0,000	0,000
6%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
8%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
10%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
total	12	3	83,333	41,667	4,604	9,208

JK 0% = 16,667

JK 2% = 16,667

JK 4% = 0

JK 6% = 16,667

JK 8% = 16,667

JK 10 % = 16,667

S² gabungan = $\sum jk / db$
= 6,944

Log S² = Log 6,944
= 0,842

X² = 2,3026 [($\sum i(r-1) \times \text{Log S}^2$) - $\sum i(r-1)\text{Log Si}^2$]
= 2,050

$$\text{Faktor Koreksi (C)} = 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum_i 1/(r-1) - [1/\sum_i (r-1)] \} \\ = 1,194$$

$$X^2 \text{ terkoreksi} = (1/C)X^2 \\ = 1,717$$

$$X^2 \text{ Tabel } 5\% = 11,070$$

Karena $X^2 \text{ tabel } 5\% > X^2 \text{ terkoreksi}$, maka berarti penyebaran data motilitas tersebut normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \sigma^2/r \times n \\ = 46005,556$$

$$\text{JK Total} = 894,444$$

$$\text{JK Perlakuan} = 811,111$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ = 83,333$$

Sidik ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	811,111	162,222	23,360**	3,11	5,06
2. Acak	12	83,333	6,944			
3. Total	17	894,444				

$$\text{SED} = \sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}} \\ = 2,152$$

$$\text{BNT } 5\% = t_{5\%} \times \text{SED} \\ = 2,179 \times 2,152 \\ = 4,688$$

$$\text{BNT } 1\% = t_{1\%} \times \text{SED} \\ = 3,055 \times 2,152 \\ = 6,573$$

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 38,333	B = 2% 46,667	C = 4% 50	D = 6% 53,333	E = 8% 56,667	F = 10% 58,333	Notasi
A = 0% 38,333	-					-	a
B = 2% 46,667	8,334**	-				-	b
C = 4% 50	11,667**	3,337 ^{ns}	-			-	bc
D = 6% 53,333	15**	6,666**	3,333 ^{ns}	-		-	cd
E = 8% 56,667	18,334**	10**	6,667**	3,334 ^{ns}	-	-	de
F = 10% 58,333	20**	11,666**	8,333**	5*	1,666 ^{ns}	-	e

Keterangan: ** = berbeda sangat nyata
 * = berbeda nyata
 ns = non significant (tidak berbeda nyata)

Tabel Polynomial orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	115	-5	5	-5	1
B = 2%	140	-3	-1	7	-3
C = 4%	150	-1	-4	4	2
D = 6%	160	1	-4	-4	2
E = 8%	170	3	-1	-7	-3
F = 10%	175	5	5	5	1
Q= $\sum (CixTi)$		400	-100	50	-20
KR= $\sum (Ci)^2 \times r$		30	42	30	210
JK Regresi = Q^2/KR		5333,333	238,095	83,333	1,905

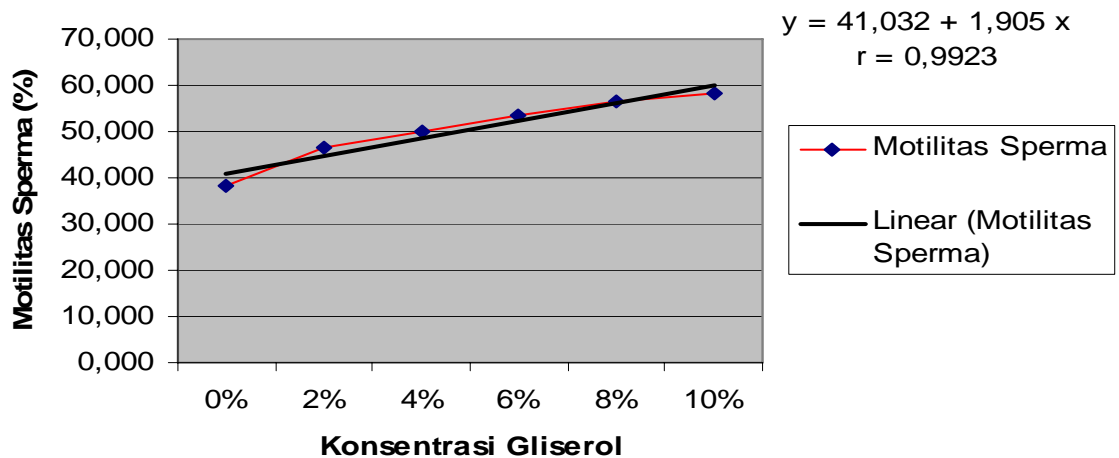
Analisa sidik ragam

Ragam	dB	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	811,111	-	-	-	-
Linear	1	5333,333	5333,333	768,000**	4,75	9,33
Kuadratik	1	238,095	238,095	34,286**		
Kubik	1	83,333	83,333	12,000**		
Kuartik	1	1,905	1,905	0,274 ^{ns}		
Acak	12	83,333	6,944			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	38,333	0	0	1469,444
B	2	46,667	93,333	4	2177,778
C	4	500	200,000	16	2500,000
D	6	53,333	320,000	36	2844,444
E	8	56,667	453,333	64	3211,111
F	10	58,333	583,333	100	3402,778
JUMLAH	30	303,333	1650,000	220	15605,556
Rata-Rata	5	50,556	275,000	36,6667	2600,926

Grafik Motilitas Sperma Minggu III



Tabel 4. Data motilitas sperma minggu 4

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0%	40	40	35	115	38,333
B = 2%	40	45	45	130	43,333
C = 4%	50	50	45	145	48,333
D = 6%	55	50	50	155	51,667
E = 8%	60	55	55	170	56,667
F = 10%	55	60	60	175	58,333
Total	-	-	-	890	

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S ²	LOG S ²	(r-1)LOG S ²
0%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
2%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
4%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
6%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
8%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
10%	2	0,5	16,667	8,333	0,921	1,842
total	12	3	100	50	5,525	11,050

JK 0% = 16,667

JK 2% = 16,667

JK 4% = 16,667

JK 6% = 16,667

JK 8% = 16,667

JK 10% = 16,667

S² gabungan = $\sum jk / db$
 = 8,333

Log S² = Log 8,333
 = 0,921

X² = $2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1)\text{Log } S_i^2]$
 = 0

$$\text{Faktor Koreksi (C)} = 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum_i 1/(r-1) - [1/\sum_i (r-1)] \} \\ = 1,194$$

$$X^2 \text{ terkoreksi} = (1/C)X^2 \\ = 0$$

$$X^2 \text{ Tabel } 5\% = 11,070$$

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti penyebaran data motilitas tersebut normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \sigma^2/r \times n \\ = 44005,556$$

$$\text{JK Total} = 994,444$$

$$\text{JK Perlakuan} = 894,444$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ = 100$$

Sidik ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	894,444	178,889	21,467**	3,11	5,06
2. Acak	12	100,000	8,333			
3. Total	17	994,444				

$$\text{SED} = \sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}} \\ = 2,357$$

$$\text{BNT } 5\% = t_{5\%} \times \text{SED} \\ = 2,179 \times 2,357 \\ = 5,136$$

$$\text{BNT } 1\% = t_{1\%} \times \text{SED} \\ = 3,055 \times 2,357 \\ = 7,201$$

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 38,333	B = 2% 43,333	C = 4% 48,333	D = 6% 51,667	E = 8% 56,667	F = 10% 58,333	Notasi
A = 0% 38,333	-					-	a
B = 2% 43,333	5 ^{ns}	-				-	a
C = 4% 48,333	10 ^{**}	5 [*]	-			-	b
D = 6% 51,667	13,334 ^{**}	8,334 ^{**}	3,334 ^{ns}	-		-	b
E = 8% 56,667	18,334 ^{**}	13,334 ^{**}	8,334 ^{**}	5 [*]	-	-	c
F = 10% 58,333	20 ^{**}	15 ^{**}	10 ^{**}	6,666 [*]	1,666 ^{ns}	-	c

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata
 * = Berbeda nyata
 ns = non significant (tidak berbeda nyata)

Tabel Polynomial ortoghonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	115	-5	5	-5	1
B = 2%	130	-3	-1	7	-3
C = 4%	145	-1	-4	4	2
D = 6%	155	1	-4	-4	2
E = 8%	170	3	-1	-7	-3
F = 10%	175	5	5	5	1
Q= $\sum (CixTi)$		430	-50	-20	-10
Kr= $\sum (Ci)^2 \times r$		70	84	180	28
JK Regresi = Q^2/KR		2641,429	29,762	2,222	3,571

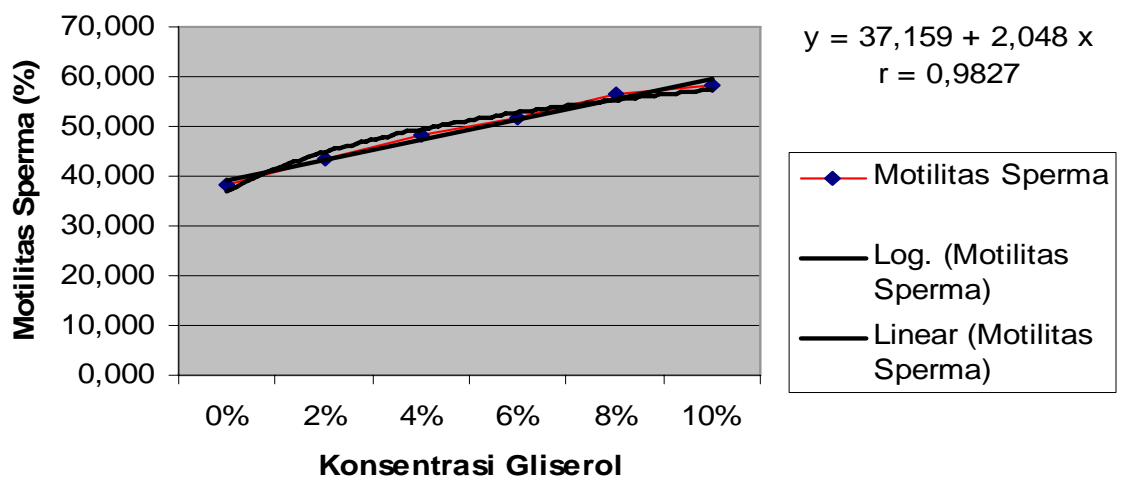
Analisa sidik ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	894,444	-	-	-	-
Linear	1	2641,429	2641,429	316,971**	4,75	9,33
Kuadratik	1	29,762	29,762	3,571 ^{ns}		
Kubik	1	2,222	2,222	0,267 ^{ns}		
Kuartik	1	3,571	3,571	0,429 ^{ns}		
Acak	12	100,000	8,333			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	38,333	0,000	0	1469,444
B	2	43,333	86,667	4	1877,778
C	4	48,333	193,333	16	2336,111
D	6	51,667	310,000	36	2669,444
E	8	56,667	453,333	64	3211,111
F	10	58,333	583,333	100	3402,778
JUMLAH	30	296,667	1626,667	220	14966,667
Rata-Rata	6	49,444	325,333	44	2993,333

Grafik Motilitas Sperma Minggu IV



Lampiran 2. Data Pengamatan Viabilitas Sperma Ikan Mas

Parameter Uji	Minggu I			Minggu II		
	Ulangan			Ulangan		
Viabilitas (%)	I	II	III	I	II	III
0%	53,31	55,24	54,43	57,74	55,34	53,62
2%	58,76	64,78	65,56	60,53	59,04	65,32
4%	65,8	68,21	62,71	67,67	64,72	63,16
6%	64,67	69,76	67,98	65,76	67,24	67,46
8%	68,33	69,97	70,61	66,25	69,07	66,87
10%	69,61	68,75	71,2	71,8	69,98	70,54

Parameter Uji	Minggu III			Minggu IV		
	Ulangan			Ulangan		
Viabilitas (%)	I	II	III	I	II	III
0%	45,21	50,32	52,64	48,65	51,23	43,36
2%	63,79	56,87	53,96	51,23	53,45	50,75
4%	61,32	60,78	65,34	57,89	60,21	50,21
6%	67,04	65,98	64,24	64,67	62,15	58,54
8%	68,36	67,56	70,57	68,32	65,76	65,53
10%	69,76	70,42	71,23	67,54	69,12	68,31

Tabel 5. Data pengamatan Viabilitas sperma ikan mas minggu I

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0%	53,31	55,24	54,43	162,98	54,327
B = 2%	58,76	64,78	65,56	189,1	63,033
C = 4%	65,8	68,21	62,71	196,72	65,573
D = 6%	64,67	69,76	67,98	202,41	67,470
E = 8%	68,33	69,97	70,61	208,91	69,637
F = 10%	69,61	68,75	71,2	209,56	69,853
Total				1169,68	

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	jk	S ²	log S ²	(r-1)log S ²
0%	2	0,5	1,878	0,939	-0,027	-0,054
2%	2	0,5	27,696	13,848	1,141	2,283
4%	2	0,5	15,202	7,601	0,881	1,762
6%	2	0,5	13,344	6,672	0,824	1,649
8%	2	0,5	2,766	1,383	0,141	0,282
10%	2	0,5	3,090	1,545	0,189	0,378
total	12	3	63,977	31,988	3,149	6,298

JK 0% = 1,878

JK 2% = 27,696

JK 4% = 15,202

JK 6% = 13,344

JK 8% = 2,766

JK 10% = 3,090

S² gabungan = $\sum jk / db$
= 5,331

Log S² = Log 5,331
= 0,727

X² = 2,3026 [($\sum i(r-1) \times \text{Log S}^2$) - $\sum i(r-1)\text{Log Si}^2$]
= 5,575

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

$$= 1,194$$

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

$$= 4,668$$

$$X^2 \text{ Tabel 5\%} = 11,070$$

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti data viabilitas sperma tersebut memiliki distribusi yang normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \sigma^2/r \times n$$

$$= 51212,801$$

$$\text{JK Total} = 25367,389$$

$$\text{JK Perlakuan} = 25303,412$$

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

$$= 63,977$$

Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	25303,412	5060,682	949,220**	3,11	5,06
2. Acak	12	63,977	5,331			
3. Total	17	25367,389				

$$\text{SED} = \sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}}$$

$$= 1,885$$

$$\text{BNT 5\%} = t5\% \times \text{SED}$$

$$= 2,179 \times 1,885$$

$$= 4,108$$

$$\text{BNT 1\%} = t1\% \times \text{SED}$$

$$= 3,055 \times 1,885$$

$$= 5,760$$

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 54,327	B = 2% 63,033	C = 4% 65,573	D = 6% 67,470	E = 8% 69,637	F = 10% 69,853	Notasi
A = 0% 54,327	-					-	a
B = 2% 63,033	8,706**	-				-	b
C = 4% 65,573	11,246**	2,54 ^{ns}	-			-	b
D = 6% 67,470	13,143**	4,437*	1,897 ^{ns}	-		-	bc
E = 8% 69,637	15,31**	6,604**	4,064 ^{ns}	2,167 ^{ns}	-	-	bc
F = 10% 69,853	15,526**	6,82**	4,28*	2,383 ^{ns}	0,216 ^{ns}	-	c

Tabel Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	162,98	-5	5	-5	1
B = 2%	189,1	-3	-1	7	-3
C = 4%	196,72	-1	-4	4	2
D = 6%	202,41	1	-4	-4	2
E = 8%	208,91	3	-1	-7	-3
F = 10%	209,56	5	5	5	1
Q = $\sum (C_i \times T_i)$		298,02	-131,83	71,47	-23,23
K _r = $\sum (C_i)^2 \times r$		70	84	180	28
JK Regresi = Q ² /K _r		1268,799	206,895	28,378	19,273

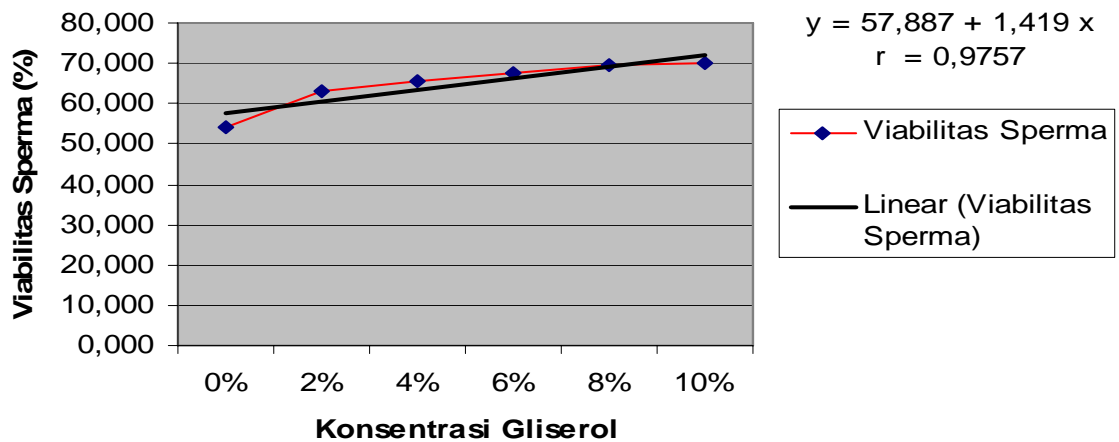
Analisa Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	25303,412	-	-	-	-
Linear	1	1268,799	1268,799	237,986**	4,75	9,33
Kuadratik	1	206,895	206,895	38,807**		
Kubik	1	28,378	28,378	5,323**		
Kuartik	1	19,273	19,273	3,615*		
Acak	12	63,977	5,331			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	54,327	0,000	0	2951,387
B	2	63,033	126,067	4	3973,201
C	4	65,573	262,293	16	4299,862
D	6	67,470	404,820	36	4552,201
E	8	69,637	557,093	64	4849,265
F	10	69,853	698,533	100	4879,488
JUMLAH	30	389,893	2048,807	220	25505,404
Rata-Rata	5	64,982	341,468	36,6667	4250,901

Grafik Viabilitas Sperma Minggu I



Tabel 6. Data pengamatan viabilitas sperma ikan mas minggu 2

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0%	57,74	55,34	53,62	166,7	55,56667
B = 2%	60,53	59,04	65,32	184,89	61,63
C = 4%	67,67	64,72	63,16	195,55	65,18333
D = 6%	65,76	67,24	67,46	200,46	66,82
E = 8%	66,25	69,07	66,87	202,19	67,39667
F = 10%	71,8	69,98	70,54	212,32	70,77333
Total				1162,11	

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	jk	S ²	log S ²	(r-1)log S ²
0%	2	0,5	8,564	4,282	0,632	1,263
2%	2	0,5	21,534	10,767	1,032	2,064
4%	2	0,5	10,492	5,246	0,720	1,440
6%	2	0,5	1,710	0,855	-0,068	-0,136
8%	2	0,5	4,392	2,196	0,342	0,683
10%	2	0,5	1,738	0,869	-0,061	-0,122
total	12	3	48,430	24,215	2,596	5,192

- JK 0% = 8,564
- JK 2% = 21,534
- JK 4% = 10,492
- JK 6% = 1,710
- JK 8% = 4,392
- JK 10% = 1,738

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

$$= 4,036$$

$$\text{Log } S^2 = \text{Log } 4,036$$

$$= 0,606$$

$$X^2 = 2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1) \text{Log } S_i^2]$$

$$= 4,782$$

$$\text{Faktor Koreksi (C)} = 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum i 1/(r-1) - [1/\sum i (r-1)] \}$$

$$= 1,194$$

$$X^2 \text{ terkoreksi} = (1/C)X^2 \\ = 4,003$$

$$X^2 \text{ Tabel } 5\% = 11,070$$

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti penyebaran data viabilitas sperma tersebut normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \sigma^2/r \times n \\ = 50116,725$$

$$\text{JK Total} = 25384,304$$

$$\text{JK Perlakuan} = 25335,874$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ = 48,430$$

Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	25335,874	5067,175	1255,539**	3,11	5,06
2. Acak	12	48,430	4,036			
3. Total	17	25384,304				

$$\text{SED} = \sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}} \\ = 1,640$$

$$\text{BNT } 5\% = t_{5\%} \times \text{SED} \\ = 2,179 \times 1,640 \\ = 3,574$$

$$\text{BNT } 1\% = t_{1\%} \times \text{SED} \\ = 3,055 \times 1,640 \\ = 5,011$$

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 55,567	B = 2% 61,630	C = 4% 65,183	D = 6% 66,820	E = 8% 67,397	F = 10% 70,773	Notasi
A = 0% 55,567	-					-	a
B = 2% 61,630	6,063**	-				-	b
C = 4% 65,183	9,616**	3,553 ^{ns}	-			-	bc
D = 6% 66,820	11,253**	5,19**	1,637 ^{ns}	-		-	c
E = 8% 67,397	11,83**	5,767**	2,214 ^{ns}	0,577 ^{ns}	-	-	cd
F = 10% 70,773	15,206**	9,143**	5,59**	3,953*	3,376 ^{ns}	-	d

Tabel Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	166,7	-5	5	-5	1
B = 2%	184,89	-3	-1	7	-3
C = 4%	195,55	-1	-4	4	2
D = 6%	200,46	1	-4	-4	2
E = 8%	202,19	3	-1	-7	-3
F = 10%	212,32	5	5	5	1
Q= $\sum (CixTi)$		284,91	-76,02	87,36	9,8
K _r = $\sum (Ci)^2 \times r$		70	84	180	28
JK Regresi = Q ² /K _R		1159,624	68,798	42,399	3,430

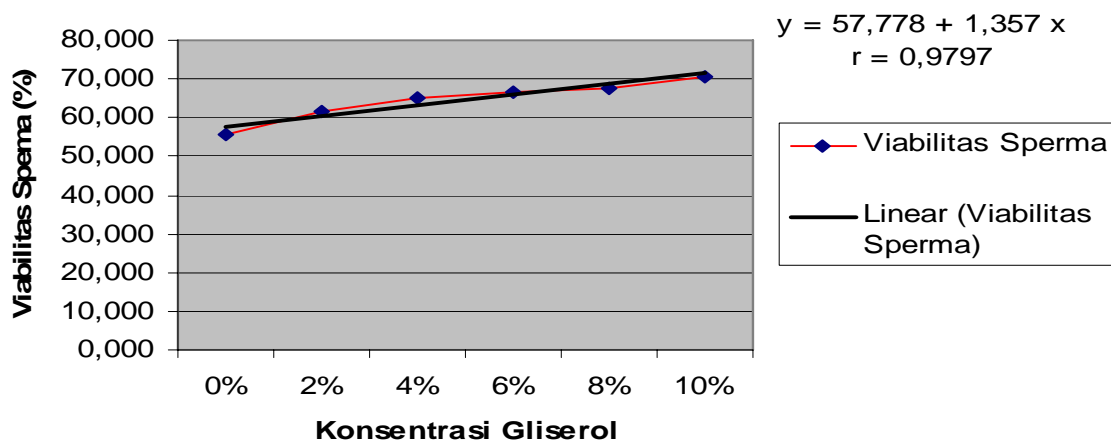
Analisa Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	25335,874	-	-	-	-
Linear	1	1159,624	1159,624	287,331**	4,75	9,33
Kuadratik	1	68,798	68,798	17,047**		
Kubik	1	42,399	42,399	10,506**		
Kuartik	1	3,430	3,430	0,850 ^{ns}		
Acak	12	48,430	4,036			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	55,567	0,000	0	3087,654
B	2	61,630	123,260	4	3798,257
C	4	65,183	260,733	16	4248,867
D	6	66,820	400,920	36	4464,912
E	8	67,397	539,173	64	4542,311
F	10	70,773	707,733	100	5008,865
JUMLAH	30	387,370	2031,820	220	25150,866
Rata-Rata	5	64,562	338,637	36,6667	4191,811

Grafik Viabilitas Sperma Minggu II



Tabel 7. Data Pengamatan Viabilitas sperma minggu III

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0%	45,21	50,32	52,64	148,17	49,390
B = 2%	63,79	56,87	53,96	174,62	58,207
C = 4%	61,32	60,78	65,34	187,44	62,480
D = 6%	67,04	65,98	64,24	197,26	65,753
E = 8%	68,36	67,56	70,57	206,49	68,830
F = 10 %	69,76	70,42	71,23	211,41	70,470
Total				1125,39	

$$JK 0\% = 28,900$$

$$JK 2\% = 50,994$$

$$JK 4\% = 12,415$$

$$JK 6\% = 3,997$$

$$JK 8\% = 4,861$$

$$JK 10\% = 1,084$$

$$S^2 \text{ gabungan} = \sum jk / db \\ = 8,521$$

$$\text{Log } S^2 = \text{Log } 8,521 \\ = 0,930$$

$$X^2 = 2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1) \text{Log } S_i^2] \\ = 8,294$$

$$\text{Faktor Koreksi (C)} = 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum i 1/(r-1) - [1/\sum i (r-1)] \} \\ = 1,194$$

$$X^2 \text{ terkoreksi} = (1/C)X^2 \\ = 6,944$$

$$X^2 \text{ Tabel } 5\% = 11,070$$

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti penyebaran data viabilitas sperma tersebut normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \sigma^2/r \times n \\ = 46408,858$$

JK Total = 24968,082

JK Perlakuan = 24865,830

JK Acak = JK Total – JK Perlakuan
= 102,252

Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	24865,830	4973,166	583,636**	3,11	5,06
2. Acak	12	102,252	8,521			
3. Total	17	24968,082				

SED = $\sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}}$
= 2,383

BNT 5 % = $t_{5\%} \times \text{SED}$
= 2,179 x 2,383
= 5,193

BNT 1% = $t_{1\%} \times \text{SED}$
= 3,055 x 2,383
= 7,281

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 49,390	B = 2% 58,207	C = 4% 62,480	D = 6% 65,753	E = 8% 68,830	F = 10% 70,470	Notasi
A = 0% 49,390	-					-	a
B = 2% 58,207	8,817**	-				-	b
C = 4% 62,480	13,09**	4,273 ^{ns}	-			-	bc
D = 6% 65,753	16,363**	7,546**	3,273 ^{ns}	-		-	cd
E = 8% 68,830	19,44**	10,623**	6,35*	3,077 ^{ns}	-	-	d
F = 10% 70,470	21,08**	12,263**	7,99**	4,717 ^{ns}	1,64 ^{ns}	-	d

Tabel Polynomial Ortogonal

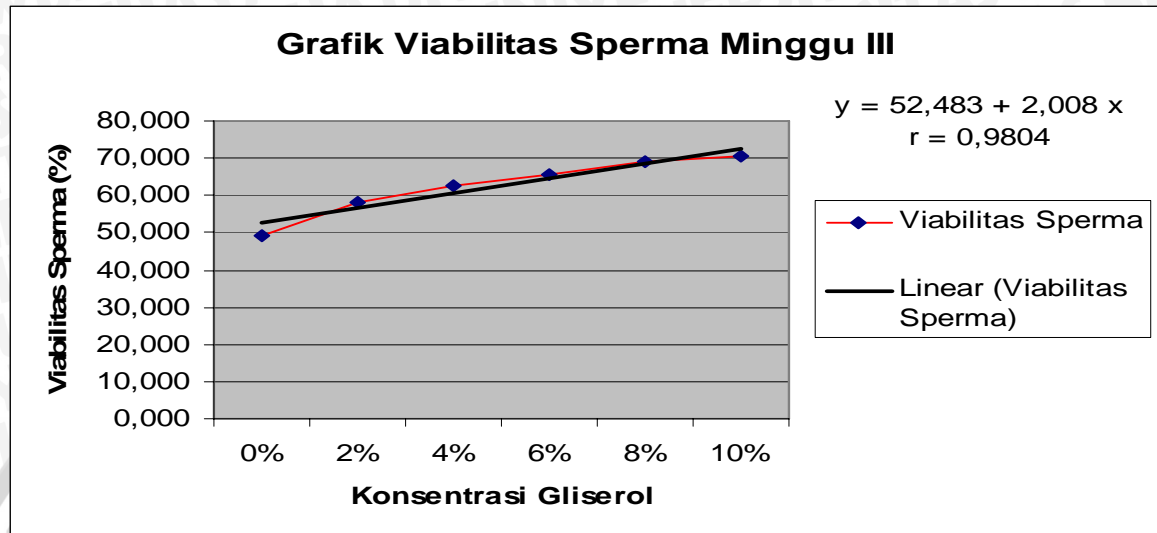
Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	148,17	-5	5	-5	1
B = 2%	174,62	-3	-1	7	-3
C = 4%	187,44	-1	-4	4	2
D = 6%	197,26	1	-4	-4	2
E = 8%	206,49	3	-1	-7	-3
F = 10%	211,41	5	5	5	1
Q= $\sum (C_i \times T_i)$		421,63	-122,01	53,83	-14,35
K _r = $\sum (C_i)^2 \times r$		70	84	180	28
JK Regresi = Q ² /K _R		2539,598	177,220	16,098	7,354

Analisa Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	24865,830	-	-	-	-
Linear	1	2539,598	2539,598	298,040**	4,75	9,33
Kuadratik	1	177,220	177,220	20,798**		
Kubik	1	16,098	16,098	1,889 ^{ns}		
Kuartik	1	7,354	7,354	0,863 ^{ns}		
Acak	12	102,252	8,521			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	49,390	0,000	0	2439,372
B	2	58,207	116,413	4	3388,016
C	4	62,480	249,920	16	3903,750
D	6	65,753	394,520	36	4323,501
E	8	68,830	550,640	64	4737,569
F	10	70,470	704,700	100	4966,021
JUMLAH	30	375,130	2016,193	220	23758,229
Rata-Rata	5	62,522	336,032	36,6667	3959,705



Tabel 8. Data Pengamatan Viabilitas sperma minggu IV

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0%	48,65	51,23	43,36	143,24	47,747
B = 2%	51,23	53,45	50,75	155,43	51,810
C = 4%	57,89	60,21	50,21	168,31	56,103
D = 6%	64,67	62,15	58,54	185,36	61,787
E = 8%	68,32	65,76	65,53	199,61	66,537
F = 10%	67,54	69,12	68,31	204,97	68,323
Total				1056,92	

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	jk	S ²	log S ²	(r-1)log S ²
0%	2	0,5	32,192	16,096	1,207	2,413
2%	2	0,5	4,150	2,075	0,317	0,634
4%	2	0,5	54,788	27,394	1,438	2,875
6%	2	0,5	18,986	9,493	0,977	1,955
8%	2	0,5	4,797	2,398	0,380	0,760
10%	2	0,5	1,248	0,624	-0,205	-0,409
total	12	3	116,162	58,081	4,114	8,228

JK 0% = 32,192

$$\begin{aligned} \text{JK 2\%} &= 4,150 \\ \text{JK 4\%} &= 54,788 \\ \text{JK 6\%} &= 18,986 \\ \text{JK 8\%} &= 4,797 \\ \text{JK 10\%} &= 1,248 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} S^2 \text{ gabungan} &= \sum jk / db \\ &= 9,680 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Log } S^2 &= \text{Log } 9,680 \\ &= 0,986 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} X^2 &= 2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1) \text{Log } S_i^2] \\ &= 8,286 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi (C)} &= 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum i 1/(r-1) - [1/\sum i (r-1)] \} \\ &= 1,194 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} X^2 \text{ terkoreksi} &= (1/C)X^2 \\ &= 6,937 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tabel 5\%} = 11,070$$

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti penyebaran data viabilitas sperma tersebut normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \sigma^2 / r \times n \\ &= 40323,267 \end{aligned}$$

$$\text{JK Total} = 22866,102$$

$$\text{JK Perlakuan} = 22749,940$$

$$\begin{aligned} \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 116,162 \end{aligned}$$

Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	22749,940	4549,988	470,031**	3,11	5,06
2. Acak	12	116,162	9,680			
3. Total	17	22866,102				

SED = $\sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}}$
 = 2,540

BNT 5 % = $t_{5\%} \times \text{SED}$
 = $2,179 \times 2,540$
 = 5,535

BNT 1% = $t_{1\%} \times \text{SED}$
 = $3,055 \times 2,540$
 = 7,761

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 47,747	B = 2% 51,810	C = 4% 56,103	D = 6% 61,787	E = 8% 66,537	F = 10% 68,323	Notasi
A = 0% 47,747	-					-	a
B = 2% 51,810	4,063 ^{ns}	-				-	ab
C = 4% 56,103	8,356**	4,293 ^{ns}	-			-	b
D = 6% 61,787	14,04**	9,977**	5,684*	-		-	c
E = 8% 66,537	18,79**	14,727**	10,434**	4,75 ^{ns}	-	-	cd
F = 10% 68,323	20,576**	16,513**	12,22**	6,536*	1,786 ^{ns}	-	d

Tabel Polynomial Orthogonal

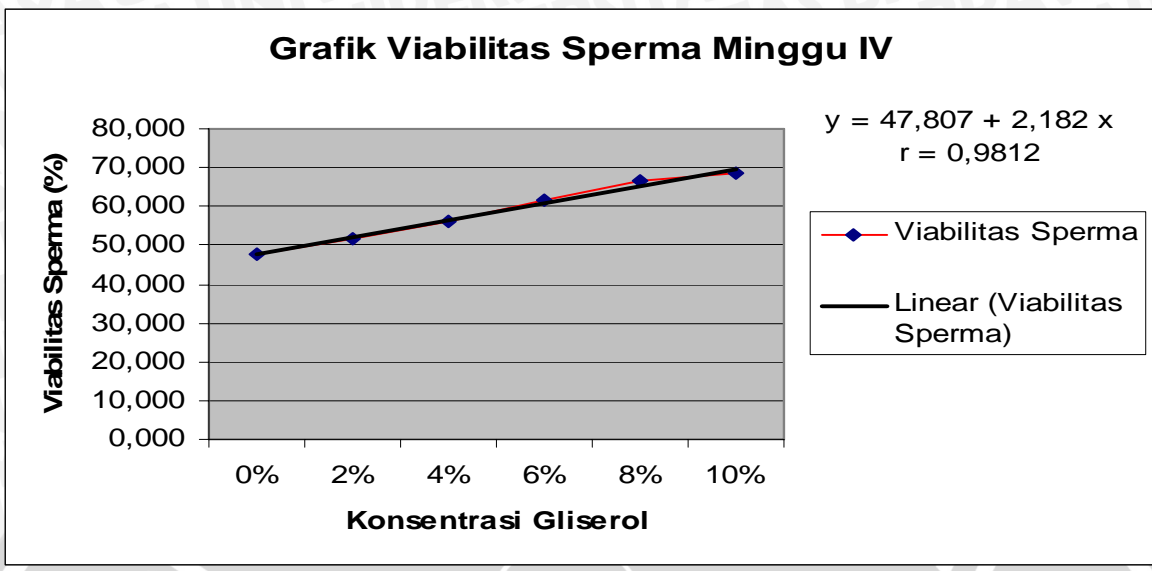
Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	143,24	-5	5	-5	1
B = 2%	155,43	-3	-1	7	-3
C = 4%	168,31	-1	-4	4	2
D = 6%	185,36	1	-4	-4	2
E = 8%	199,61	3	-1	-7	-3
F = 10%	204,97	5	5	5	1
$Q = \sum (C_i x T_i)$		458,24	-28,67	-68,81	-9,57
$Kr = \sum (C_i)^2 x r$		70	84	180	28
$JK \text{ Regresi} = Q^2 / KR$		2999,770	9,785	26,305	3,271

Analisa Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	22749,940	-	-	-	-
Linear	1	2999,770	2999,770	309,888**	4,75	9,33
Kuadratik	1	9,785	9,785	1,011 ^{ns}		
Kubik	1	26,305	26,305	2,717 ^{ns}		
Kuartik	1	3,271	3,271	0,338 ^{ns}		
Acak	12	116,162	9,680			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	47,747	0,000	0	2279,744
B	2	51,810	103,620	4	2684,276
C	4	56,103	224,413	16	3147,584
D	6	61,787	370,720	36	3817,592
E	8	66,537	532,293	64	4427,128
F	10	68,323	683,233	100	4668,078
JUMLAH	30	352,307	1914,280	220	21024,402
Rata-Rata	5	58,718	319,047	36,6667	3504,067



Lampiran 3. Data Pengamatan Lama Gerak Sperma Ikan Mas

Parameter Uji	Minggu I			Minggu II		
	Ulangan			Ulangan		
Lama Gerak (menit)	I	II	III	I	II	III
0%	15,53	25,38	20,14	23,45	26,35	18,45
2%	24,32	28,17	30,15	34,21	32,54	30,56
4%	26,17	28,57	25,21	27,34	24,43	26,33
6%	27,53	34,32	32,56	31,48	30,22	32,16
8%	29,23	27,54	35,48	34,22	36,58	33,25
10%	38,29	37,56	35,48	37,43	38,29	35,18

Parameter Uji	Minggu III			Minggu IV		
	Ulangan			Ulangan		
Lama Gerak (menit)	I	II	III	I	II	III
0%	10,45	17,34	16,2	18,5	20,41	9,23
2%	29,44	24,27	25,39	18,53	19,28	23,45
4%	24,55	25,47	25,58	25,27	23,14	15,12
6%	30,34	31,23	25,21	28,49	25,37	24,54
8%	30,17	32,24	35,24	36,28	30,14	31,46
10%	36,22	37,47	34,21	33,35	36,23	37,34

Tabel 9. Data pengamatan lama gerak sperma minggu I

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0%	15,53	25,38	20,14	61,050	20,350
B = 2%	24,32	28,17	30,15	82,640	27,547
C = 4%	26,17	28,57	25,21	79,950	26,650
D = 6%	27,53	34,32	32,56	94,410	31,470
E = 8%	29,23	27,54	35,48	92,250	30,750
F = 10%	38,29	37,56	35,48	111,330	37,110
Total	-	-	-	521,630	-

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S ²	LOG S ²	(r-1)LOG S ²
0%	2	0,5	48,577	24,289	1,385	2,771
2%	2	0,5	17,577	8,789	0,944	1,888
4%	2	0,5	5,990	2,995	0,476	0,953
6%	2	0,5	24,834	12,417	1,094	2,188
8%	2	0,5	34,987	17,494	1,243	2,486
10%	2	0,5	4,252	2,126	0,328	0,655
total	12	3	136,218	68,109	5,470	10,940

JK 0% = 48,577

JK 2% = 17,577

JK 4% = 5,990

JK 6% = 24,834

JK 8% = 34,987

JK 10% = 4,252

S² gabungan = $\sum jk / db$
= 11,352

Log S² = Log 11,352
= 1,055

X² = $2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1)\text{Log } S_i^2]$
= 3,957

Faktor Koreksi (C) = $1 + [1/3(t-1)] \{ \sum i 1/(r-1) - [1/\sum i (r-1)] \}$
= 1,194

X² terkoreksi = $(1/C)X^2$
= 3,313

X² Tabel 5% = 11,070

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti data lama gerak sperma tersebut memiliki distribusi yang normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \sigma^2/r \times n \\ &= 9873,872 \\ \text{JK Total} &= 6495,738 \\ \text{JK Perlakuan} &= 6358,483 \\ \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 137,255 \end{aligned}$$

Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	6358,483	1271,697	111,182**	3,11	5,06
2. Acak	12	137,255	11,438			
3. Total	17	6495,738				

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}} \\ &= 2,761 \\ \text{BNT 5 \%} &= t_{5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,179 \times 2,761 \\ &= 6,017 \\ \text{BNT 1 \%} &= t_{1\%} \times \text{SED} \\ &= 3,055 \times 2,761 \\ &= 8,436 \end{aligned}$$

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 20,350	B = 2% 27,547	C = 4% 30,410	E = 8% 30,750	D = 6% 31,470	F = 10% 37,110	Notasi
A = 0% 20,350	-					-	a
B = 2% 27,547	7,197*	-				-	bc
C = 4% 30,410	10,06**	2,863 ^{ns}	-			-	c
E = 8% 30,750	10,4**	3,203 ^{ns}	0,34 ^{ns}	-		-	c
D = 6% 31,470	11,12**	3,923 ^{ns}	1,06 ^{ns}	0,72 ^{ns}	-	-	cd
F = 10% 37,110	16,76**	9,563**	6,7*	6,36*	5,64 ^{ns}	-	d

Tabel Polynomial Ortogonal

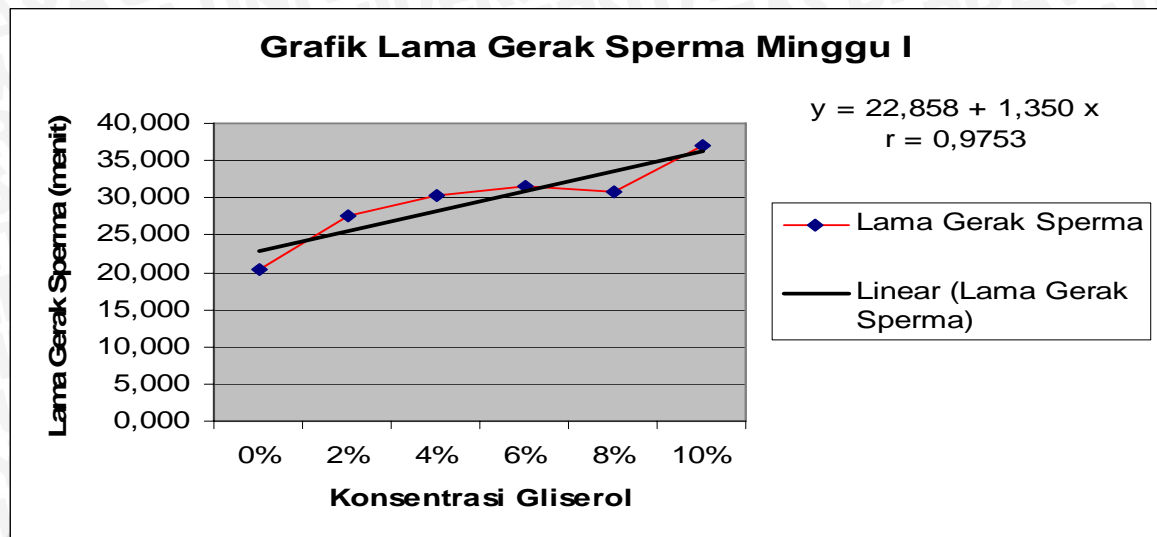
Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	61,05	-5	5	-5	1
B = 2%	82,64	-3	-1	7	-3
C = 4%	91,23	-1	-4	4	2
D = 6%	94,41	1	-4	-4	2
E = 8%	92,25	3	-1	-7	-3
F = 10%	111,33	5	5	5	1
$Q = \sum (C_i x T_i)$		283,41	-55,55	171,41	18,99
$K_r = \sum (C_i)^2 \times r$		30	42	30	210
$JK \text{ Regresi} = Q^2 / K_r$		2677,374	73,471	979,380	1,717

Analisa Sidik Ragam

Ragam	dB	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	6358,483	-	-	-	-
Linear	1	2677,374	2677,374	234,078**	4,75	9,33
Kuadratik	1	73,471	73,471	6,423**		
Kubik	1	979,380	979,380	85,626**		
Kuartik	1	1,717	1,717	0,150 ^{ns}		
Acak	12	137,255	11,438			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	20,350	0,000	0	414,123
B	2	27,547	55,093	4	758,819
C	4	30,410	121,640	16	924,768
D	6	31,470	188,820	36	990,361
E	8	30,750	246,000	64	945,563
F	10	37,110	371,100	100	1377,152
JUMLAH	30	177,637	982,653	220	5410,785
Rata-Rata	5	29,606	163,776	36,66667	901,797



Tabel 10. Data pengamatan lama gerak sperma ikan mas minggu II

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0%	23,45	26,35	18,45	68,250	22,750
B = 2%	34,21	32,54	30,56	97,310	32,437
C = 4%	27,34	24,43	26,33	78,100	26,033
D = 6%	31,48	30,22	32,16	93,860	31,287
E = 8%	34,22	36,58	33,25	104,050	34,683
F = 10%	37,43	38,29	35,18	110,900	36,967
Total	-	-	-	552,470	-

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	jk	S ²	log S ²	(r-1)log S ²
0%	2	0,5	31,940	15,970	1,203	2,407
2%	2	0,5	6,677	3,339	0,524	1,047
4%	2	0,5	4,366	2,183	0,339	0,678
6%	2	0,5	1,938	0,969	-0,014	-0,027
8%	2	0,5	5,866	2,933	0,467	0,935
10%	2	0,5	5,158	2,579	0,411	0,823
total	12	3	55,946	27,973	2,931	5,862

JK 0% = 31,940

$$JK\ 2\% = 6,677$$

$$JK\ 4\% = 4,366$$

$$JK\ 6\% = 1,938$$

$$JK\ 8\% = 5,866$$

$$JK\ 10\% = 5,158$$

$$S^2\ gabungan = \sum jk / db \\ = 4,662$$

$$\text{Log } S^2 = \text{Log } 4,662 \\ = 0,669$$

$$X^2 = 2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1) \text{Log } S_i^2] \\ = 4,970$$

$$\text{Faktor Koreksi (C)} = 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum i 1/(r-1) - [1/\sum i (r-1)] \} \\ = 1,194$$

$$X^2\ terkoreksi = (1/C)X^2 \\ = 4,161$$

$$X^2\ \text{Tabel } 5\% = 11,070$$

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti data lama gerak sperma tersebut memiliki distribusi yang normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \sigma^2 / r \times n \\ = 10434,827$$

$$JK\ \text{Total} = 6576,067$$

$$JK\ \text{Perlakuan} = 6517,414$$

$$JK\ \text{Acak} = JK\ \text{Total} - JK\ \text{Perlakuan} \\ = 58,652$$

Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	6517,414	1303,483	266,687**	3,11	5,06
2. Acak	12	58,652	4,888			
3. Total	17	6576,067				

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}} \\ &= 1,805 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t_{5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,179 \times 1,805 \\ &= 3,933 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t_{1\%} \times \text{SED} \\ &= 3,055 \times 1,805 \\ &= 5,515 \end{aligned}$$

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 21,417	B = 2% 26,053	C = 4% 30,023	D = 6% 32,287	E = 8% 34,683	F = 10% 36,967	Notasi
A = 0% 21,417	-					-	a
B = 2% 26,053	4,636*	-				-	b
C = 4% 30,023	8,606**	3,97*	-			-	c
D = 6% 32,287	10,87**	6,234**	2,264 ^{ns}	-		-	cd
E = 8% 34,683	13,266**	8,63**	4,66*	2,396 ^{ns}	-	-	d
F = 10% 36,967	15,55**	10,914**	6,944**	4,68 ^{ns}	2,284 ^{ns}	-	d

Tabel Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	64,25	-5	5	-5	1
B = 2%	78,16	-3	-1	7	-3
C = 4%	90,07	-1	-4	4	2
D = 6%	96,86	1	-4	-4	2
E = 8%	104,05	3	-1	-7	-3
F = 10%	110,9	5	5	5	1
Q = $\sum (C_i \times T_i)$		317,71	-54,18	24,86	2,38
KR = $\sum (C_i)^2 \times r$		30	42	30	210
JK Regresi = Q^2 / KR		3364,655	69,892	20,601	0,027

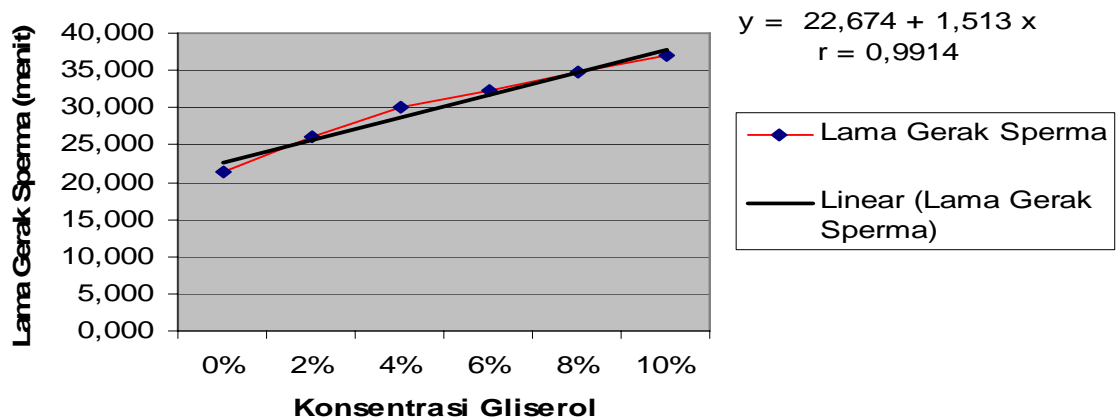
Analisa Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	6517,414	-	-	-	-
Linear	1	3364,655	3364,655	688,395**	4,75	9,33
Kuadratik	1	69,892	69,892	14,300***		
Kubik	1	20,601	20,601	4,215		
Kuartik	1	0,027	0,027	0,006 ^{ns}		
Acak	12	58,652	4,888			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	21,417	0,000	0	458,674
B	2	26,053	52,107	4	678,776
C	4	30,023	120,093	16	901,401
D	6	32,287	193,720	36	1042,429
E	8	34,683	277,467	64	1202,934
F	10	36,967	369,667	100	1366,534
JUMLAH	30	181,430	1013,053	220	5650,747
Rata-Rata	5	30,238	168,842	36,6667	941,791

Grafik Lama Gerak Sperma Minggu II



Tabel 11. Data pengamatan sperma minggu III

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0%	10,45	17,34	16,2	43,990	14,663
B = 2%	29,44	24,27	25,39	79,100	26,367
C = 4%	24,55	25,47	25,58	75,600	25,200
D = 6%	30,34	31,23	25,21	86,780	28,927
E = 8%	30,17	32,24	35,24	97,650	32,550
F = 10%	36,22	37,47	34,21	107,900	35,967
Total	-	-	-	491,020	-

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S ²	LOG S ²	(r-1)LOG S ²
0%	2	0,5	27,278	13,639	1,135	2,270
2%	2	0,5	14,795	7,398	0,869	1,738
4%	2	0,5	0,640	0,320	-0,495	-0,990
6%	2	0,5	21,116	10,558	1,024	2,047
8%	2	0,5	12,997	6,498	0,813	1,626
10%	2	0,5	5,410	2,705	0,432	0,864
total	12	3	82,236	41,118	3,777	7,555

JK 0 % = 27,278

JK 2 % = 14,795

JK 4 % = 0,640

JK 6% = 21,116

JK 8% = 12,997

JK 10% = 5,410

S² gabungan = $\sum jk / db$
 = 6,853

Log S² = Log 6,853
 = 0,836

X² = $2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1) \text{Log } S_i^2]$
 = 5,694

Faktor Koreksi (C) = $1 + [1/3(t-1)] \{ \sum i 1/(r-1) - [1/\sum i (r-1)] \}$
 = 1,194

$$\begin{aligned} X^2 \text{ terkoreksi} &= (1/C)X^2 \\ &= 4,767 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tabel } 5\% = 11,070$$

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti data lama gerak sperma tersebut memiliki distribusi yang normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \sigma^2/r \times n \\ &= 8761,350 \end{aligned}$$

$$\text{JK Total} = 6312,937$$

$$\text{JK Perlakuan} = 6239,181$$

$$\begin{aligned} \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 73,756 \end{aligned}$$

Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	6239,181	1247,836	203,020**	3,11	5,06
2. Acak	12	73,756	6,146			
3. Total	17	6312,937				

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}} \\ &= 2,024 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t_{5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,179 \times 2,024 \\ &= 4,411 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t_{1\%} \times \text{SED} \\ &= 3,055 \times 2,024 \\ &= 6,184 \end{aligned}$$

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 14,663	B = 2% 25,367	C = 4% 29,2	D = 6% 30,593	E = 8% 32,550	F = 10% 35,967	Notasi
A = 0% 14,663	-					-	a
B = 2% 25,367	10,704**	-				-	b
C = 4% 29,2	14,537**	3,833 ^{ns}	-			-	bc
D = 6% 30,593	15,93**	5,226*	1,393 ^{ns}	-		-	c
E = 8% 32,550	17,887**	7,183**	3,35 ^{ns}	1,957 ^{ns}	-	-	cd
F = 10% 35,967	21,304**	10,6**	6,767**	5,374*	3,417 ^{ns}	-	d

Tabel Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	43,99	-5	5	-5	1
B = 2%	76,1	-3	-1	7	-3
C = 4%	87,6	-1	-4	4	2
D = 6%	91,78	1	-4	-4	2
E = 8%	97,65	3	-1	-7	-3
F = 10%	107,9	5	5	5	1
Q= $\sum (C_i \times T_i)$		388,38	-131,82	151,98	-10,6
KR= $\sum (C_i)^2 \times r$		30	42	30	210
JK Regresi = Q^2 / KR		5027,967	413,726	769,931	0,535

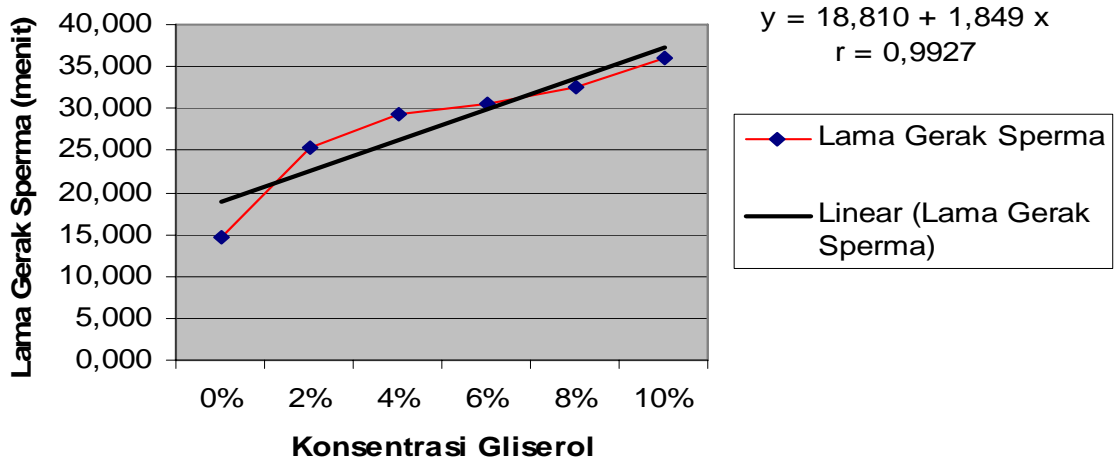
Analisa Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	6239,181	-	-	-	-
Linear	1	5027,967	5027,967	818,040**	4,75	9,33
Kuadratik	1	413,726	413,726	67,312**		
Kubik	1	769,931	769,931	125,266**		
Kuartik	1	0,535	0,535	0,087 ^{ns}		
Acak	12	73,756	6,146			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	14,663	0	0	215,013
B	2	25,367	50,733	4	643,468
C	4	29,200	116,800	16	852,640
D	6	30,593	183,560	36	935,952
E	8	32,550	260,400	64	1059,503
F	10	35,967	359,667	100	1293,601
JUMLAH	30	168,340	971,160	220	5000,177
Rata-Rata	5	28,057	161,860	36,6667	833,363

Grafik Lama Gerak Sperma Minggu III



Tabel 12. Data pengamatan lama gerak sperma minggu IV

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0%	18,5	20,41	9,23	48,140	16,047
B = 2%	18,53	19,28	23,45	61,260	20,420
C = 4%	25,27	23,14	15,12	63,530	21,177
D = 6%	28,49	25,37	24,54	78,400	26,133
E = 8%	36,28	30,14	31,46	97,880	32,627
F = 10%	33,35	36,23	37,34	106,920	35,640
Total	-	-	-	456,130	-

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S ²	LOG S ²	(r-1)LOG S ²
0%	2	0,5	71,524	35,762	1,553	3,107
2%	2	0,5	14,053	7,026	0,847	1,693
4%	2	0,5	57,293	28,647	1,457	2,914
6%	2	0,5	8,675	4,338	0,637	1,275
8%	2	0,5	20,891	10,446	1,019	2,038
10%	2	0,5	8,482	4,241	0,627	1,255
total	12	3	180,919	90,460	6,141	12,282

JK 0% = 71,524

JK 2% = 14,053

JK 4% = 57,293

JK 6% = 8,675

JK 8% = 20,891

JK 10% = 8,482

S² gabungan = $\sum jk / db$
 = 15,077

Log S² = Log 15,077
 = 1,178

X² = $2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1)\text{Log } S_i^2]$
 = 4,273

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

$$= 1,194$$

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

$$= 3,577$$

$$X^2 \text{ Tabel } 5\% = 11,070$$

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti data lama gerak sperma tersebut memiliki distribusi yang normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \sigma^2/r \times n$$

$$= 7532,145$$

$$\text{JK Total} = 5871,424$$

$$\text{JK Perlakuan} = 5764,772$$

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

$$= 106,653$$

Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	5764,772	1152,954	129,724**	3,11	5,06
2. Acak	12	106,653	8,888			
3. Total	17	5871,424				

$$\text{SED} = \sqrt{2 \text{ Kt Acak} / \text{Ulangan}}$$

$$= 2,434$$

$$\text{BNT } 5\% = t_{5\%} \times \text{SED}$$

$$= 2,179 \times 2,434$$

$$= 5,304$$

$$\text{BNT } 1\% = t_{1\%} \times \text{SED}$$

$$= 3,055 \times 2,434$$

$$= 7,436$$

Uji BNT

Perlakuan	A = 0% 17,047	B = 2% 20,420	C = 4% 24,843	D = 6% 27,8	E = 8% 32,627	F = 10% 35,640	Notasi
A = 0% 17,047	-					-	a
B = 2% 20,420	3,373 ^{ns}	-				-	ab
C = 4% 24,843	7,796**	4,423 ^{ns}	-			-	bc
D = 6% 27,8	10,753**	7,38*	2,957 ^{ns}	-		-	cd
E = 8% 32,627	15,58**	12,207**	7,784**	4,827 ^{ns}	-	-	de
F = 10% 35,640	18,593**	15,22**	10,797**	7,84**	3,013 ^{ns}	-	e

Tabel Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A = 0%	51,14	-5	5	-5	1
B = 2%	61,26	-3	-1	7	-3
C = 4%	74,53	-1	-4	4	2
D = 6%	83,4	1	-4	-4	2
E = 8%	97,88	3	-1	-7	-3
F = 10%	106,92	5	5	5	1
Q= $\sum (C_i \times T_i)$		397,63	-0,56	-12,92	-3,5
K _r = $\sum (C_i)^2 \times r$		30	42	30	210
JK Regresi = Q^2 / K_R		5270,321	0,007	5,564	0,058

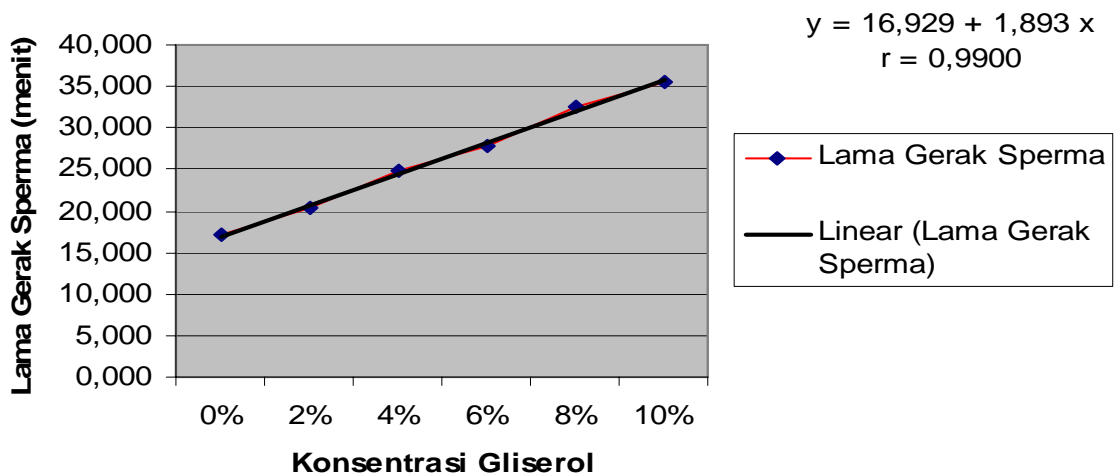
Analisa Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	5764,772	-	-	-	-
Linear	1	5270,321	5270,321	592,989**	4,75	9,33
Kuadratik	1	0,007	0,007	0,001 ^{ns}		
Kubik	1	5,564	5,564	0,626 ^{ns}		
Kuartik	1	0,058	0,058	0,007 ^{ns}		
Acak	12	106,653	8,888			
Total	17					

Persamaan Linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²	Y ²
A	0	17,047	0,000	0	290,589
B	2	20,420	40,840	4	416,976
C	4	24,843	99,373	16	617,191
D	6	27,800	166,800	36	772,840
E	8	32,627	261,013	64	1064,499
F	10	35,640	356,400	100	1270,210
JUMLAH	30	158,377	924,427	220	4432,305
Rata-Rata	5	26,396	154,071	36,6667	738,718

Grafik Lama Gerak Sperma Minggu IV



Lampiran 4. Data Fertilitas Telur Ikan Mas

Perlakuan	Jumlah Telur Yang Terbuahi	Jumlah Total Telur	Fertilitas (%)
(0 %) A1	12	125	9,600
A2	11	143	7,692
A3	8	152	5,263
(2 %) B1	13	145	8,966
B2	15	153	9,804
B3	16	127	12,598
(4 %) C1	10	135	7,407
C2	13	128	10,156
C3	14	132	10,606
(6 %) D1	14	123	11,382
D2	15	142	10,563
D3	18	137	13,139
(8 %) E1	19	135	14,074
E2	13	154	8,442
E3	16	134	11,940
(10 %) F1	17	144	11,806
F2	20	126	15,873
F3	15	138	10,870

Tabel 13. Data Fertilitas Telur Ikan Mas

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A = 0 %	9,600	7,692	5,263	22,555	7,518
B = 2 %	8,966	9,804	12,598	31,368	10,456
C = 4 %	7,407	10,156	10,606	28,169	9,390
D = 6 %	11,382	10,563	13,139	35,084	11,695
E = 8 %	14,047	8,422	11,94	34,409	11,470
F = 10 %	11,806	15,873	10,87	38,549	12,84967
Total	-	-	-	190,134	

Uji Barlett

Perlakuan	db	1/r-1	JK	S ²	LOG S ²	(r-1)LOG S ²
0%	2	0,5	9,450	4,725	0,674	1,349
2%	2	0,5	7,233	3,617	0,558	1,117
4%	2	0,5	5,998	2,999	0,477	0,954
6%	2	0,5	3,465	1,732	0,239	0,477
8%	2	0,5	16,152	8,076	0,907	1,814
10%	2	0,5	14,149	7,074	0,000	0,000
total	12	3	56,447	28,223	2,855	5,711

JK 0 % = 9,450

JK 2 % = 7,233

JK 4 % = 5,998

JK 6 % = 3,465

JK 8 % = 16,152

JK 10 % = 14,149

S² gabungan = $\sum jk / db$
= 4,704

Log S² = Log 4,704
= 0,672

$$\begin{aligned} X^2 &= 2,3026 [(\sum i(r-1) \times \text{Log } S^2) - \sum i(r-1) \text{Log } S_i^2] \\ &= 5,425 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi (C)} &= 1 + [1/3(t-1)] \{ \sum i 1/(r-1) - [1/\sum i (r-1)] \} \\ &= 1,194 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} X^2 \text{ terkoreksi} &= (1/C)X^2 \\ &= 4,542 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tabel } 5\% = 11,070$$

Karena X^2 tabel 5% > X^2 terkoreksi, maka berarti data fertilitas telur tersebut memiliki distribusi yang normal.

Analisa Sidik Ragam

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \sigma^2/r \times n \\ &= 2008,385 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= 110,416 \\ \text{JK Perlakuan} &= 53,969 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 56,447 \end{aligned}$$

Sidik Ragam

Ragam	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	5	53,969	10,794	2,295 ^{ns}	3,11	5,06
2. Acak	12	56,447	4,704			
3. Total	17	110,416				

Dari hasil perhitungan di atas, didapatkan nilai F hitung < F 5%. Ini menunjukkan bahwa perlakuan tidak memberikan pengaruh yang nyata (non significant) terhadap hasil fertilisasi. Dengan didapatkannya nilai yang non significant, pengolahan data dihentikan sampai disini dan tidak dilanjutkan lagi ke perhitungan BNT (beda nyata terkecil).