PENGARUH KONSENTRASI SARI KURMA DALAM NaCl-FISIOLOGIS TERHADAP VIABILITAS DAN MOTILITAS SPERMATOZOA IKAN LELE DUMBO (*Clarias* sp.) SELAMA MASA PENYIMPANAN

SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh:

KHOIRUL ANWAR

NIM. 115080501111038

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

PENGARUH KONSENTRASI SARI KURMA DALAM NaCl-FISIOLOGIS TERHADAP VIABILITAS DAN MOTILITAS SPERMATOZOA IKAN LELE DUMBO (*Clarias* sp.) SELAMA MASA PENYIMPANAN

SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

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

Oleh:
KHOIRUL ANWAR
NIM. 115080501111038

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

SKRIPSI
PENGARUH KONSENTRASI SARI KURMA DALAM NaCl-FISIOLOGIS TERHADAP VIABILITAS DAN MOTILITAS SPERMATOZOA IKAN LELE DUMBO (*Clarias* sp.) SELAMA MASA PENYIMPANAN

Oleh:

KHOIRUL ANWAR

NIM. 115080501111038

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 19 November 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No :
Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Penguji I	**Dosen Pembimbing I**
(Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D)	**(Dr. Ir. AgoesSoeprijanto, MS.)**
NIP.19460320 197303 1 001	**NIP. 19590807 198601 1 001**
Tanggal: 13 JAN 2016	**Tanggal:** 13 JAN 2016
Dosen Penguji II	**Dosen Pembimbing II**
(Ir. M. Rasyid Fadholi, MS)	**(Dr.Ir. ABD. Rahem Faqih, M.Si)**
NIP. 19520713 198003 1 001	**NIP. 19671010 199702 1 001**
Tanggal: 13 JAN 2016	**Tanggal:** 13 JAN 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal: 13 JAN 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa penulisan Skripsi ini berdasarkan hasil penelitian, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri, baik untuk naskah laporan maupun data *programming* yang tercantum sebagai bagian dari skripsi ini. Jika terdapat karya orang lain saya akan mencantumkan sumber yang jelas.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya apabila dikemudian hari terdapat peyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dan sanksi lain sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Brawijaya Malang.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa paksaan dari pihak manapun.

Malang, 19 November 2015

Mahasiswa

KHOIRUL ANWAR

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar–besarnya kepada:

1. Allah SWT atas segala nikmat dan karunia yang telah diberikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan lancar.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen pembimbing I yang senantiasa dengan sabar dan telaten dalam membimbing penulis.
3. Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si. selaku dosen pembimbing II yang senantiasa memberi dukungan dan motivasi kepada penulis untuk terus belajar dan masukan yang beliau berikan untuk penulis.
4. Keluarga Besar Tercinta Ibunda (Supini) dan Nenek (Laminah) dan adik tersayang (Febbi Eri Setiawan) senantiasa memberi dorongan yang kuat, motivasi dan do'a yang tiada putusnya kepada penulis.
5. Sahabat seperjuangan "Keluarga Belanda" (Tiwi : Tarakan, Molip : Madura, Mbak Zaza : Rembang, Jeje : Medan, Ifaf : Gresik, Eko : Djambi, Bang Anes : Makasar, Arum : Pacitan, Afina : Sidoarjo) yang bersama-sama dalam pelaksanaan penelitian, membantu dengan do'a dan telah sabar memberi semangat untuk menyelesaikan penelitian dan laporan ini
6. Kepada teman–teman BP 2011 (Aquatic Spartans) yang telah membantu dengan do'a dan memberi semangat untuk menyelesaikan laporan ini.
7. Seluruh pihak yang telah memberikan dukungan baik moril maupun materi sehingga laporan ini dapat tereselesaikan.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

KHOIRUL ANWAR. Pengaruh Konsentrasi Sari Kurma Dalam Nacl-Fisiologis Terhadap Viabilitas Dan Motilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Selama Masa Penyimpanan. (Di bawah bimbingan **Dr. Ir. AgoesSoeprijanto, MS dan Dr. Ir. Abd.Rahem Faqih, MSi**).

Kegiatan produksi atau budidaya ikan Lele Dumbo bergantung pada beberapa factor penting termasuk kuantitas dan kualitas benih. Menurut Shafrudin *et al*. (2006), untuk memenuhi permintaan atau kebutuhan masyarakat akan Lele Dumbo yang terus meningkat, maka diperlukan peningkatan intensifikasi usaha budidaya yang didukung oleh adanya ketersediaan benih yang memadai. Kuantitas dan kualitas benih Lele Dumbo selain dipengaruhi oleh kondisi internal juga ditentukan oleh beberapa proses eksternal salah satunya perlakuan penyimpanan gamet atau kriopreservasi. Proses penyimpanan sperma memerlukan suatu bahan yang dapat berfungsi rangkap yaitu mengurangi aktifitas dan mempertahankan kehidupan spermatozoa. Larutan yang sering digunakan untuk penyimpanan sperma yaitu larutan NaCl-Fisiologis. Larutan NaCl-fisiologis sebagai pengencer semen masih memiliki kelemahanya itu tidak dapat digunakan dalam waktu yang cukup lama karena kurang mengandung energy yang dibutuhkan oleh spermatozoa. Kebutuhan energi spermatozoa untuk mempertahankan peforma (Viabilitas dan Motilitas) disediakan oleh gula sederhana (monosakarida) seperti glukosa dan fruktosa. Salah satu bahan yang memenuhi criteria sebagai bahan tambahan dalam larutan pengencer sperma adalah sari kurma.

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Reproduski Ikan (pengawetan sperma) dan Keamanan Hasil Perikanan (Pengamatan Viabilitas dan Motilitas), Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 15 Juni sampai dengan 30 Juni 2015. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai konsentrasi terbaik sari kurma dalam NaCl-Fisiologis untuk mempertahankan kualitas sperma ikan Lele Dumbo selama penyimpanan.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan yaitu K (0%), A (0,5%), B (1%), C (1,5%), D (2%), E (2,5%) masing-masing diulang 3 kali. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur, digunakan analisis keragaman (uji F).

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah parameter makrokopis sperma (warna, pH, volume, kekentalan, bau dan konsentrasi) dan parameter mikrokopis (motilitas dan viabilitas). Parameter penunjang yang diamati adalah suhu penyimpanan sperma.

Pengamatan parameter makrokopis sperma gabungan (induk 1 dan 2) didapatkan hasil yaitu warna putih susu, pH 8, bau amis, volume total 12,5 ml dan 5,32 x 10^9. Hasil pengamatan mikrokopis (viabilitas dan motilitas) yaitu untuk

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

viabilitas perlakuan Kontrolsebesar 37.17% perlakuan A sebesar 52.5%, B sebesar 58,83%, C sebesar 64,33%, D sebesar 71% dan E sebesar 75,33% sedangkan hasil motilitas yaitu perlakuan K sebesar26%, A sebesar35,5%, B sebesar 48%, C sebesar 54,83%, D sebesar 60,17% dan E sebesar 63,67%. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa penambahan sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis berpengaruh sangat nyata terhadap viabilitas dan motilitas sperma ikan lele Dumbo selama masa penyimpanan dengan nilai F hitung sebesar 13,91 untuk data viabilitas dan 18,16 data motilitas. Hasil uji BNT pada data viabilitas menunjukkan hasil perlakuan dengan perbedaan nyata terdapat pada perlakuan K dengan A, B, C, D, E, perlakuan A dengan C,D,E, perlakuan B dengan D, E. Perlakuan dengan perbedaan tidak nyata terdapat pada perlakuan A dengan B, perlakuan B dengan C, perlakuan C dengan D, perlakuan D dengan E sedangkan hasil uji BNT data motilitas yaitu perlakuan dengan perbedaan nyata terdapat perlakuan K dengan B, C, D dan E, B dengan D, E sedangkan perlakuan dengan perbedaan tidak nyata terdapat pada perlakuan K dengan A, B dengan C , C dengan D dan E, D dengan E. Hubungan antara penambahan sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis dengan viabilitas dan motilitas sperma ikan lele Dumbo berbentuk regresi linier dengan persamaan y = 14,39x + 41,87 dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,85 untuk viabilitas sedangkan motilitas memiliki persamaan y = 15,38x + 28,8 dengan nialai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,88. Nilai suhu peyimpanan sperma ikan lele Dumbo pada penelitian yaitu sebesar 4±5 ^{0}C.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapatkan dapat disimpulkan bahwa perlakuan E (2,5%) memberikan hasil viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan lele Dumbo tertinggi sehingga dapat disarankan perlu adanya aplikasi penambahan konsentrasi sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis sebesar 2,5% dalam penyimpanan sperma ikan lele Dumbo. Selain itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi terbaik atau optimal sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis dan kemampuan fertilisai spermatozoa yang disimpan dengan perlakuan penambahan konsentrasi sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis sebesar 2,5%.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT karena atas karunia-Nya, maka penyusunan laporan ini dapat diselesaikan. Laporan dengan judul "Pengaruh Konsentrasi Sari Kurma Dalam Nacl-Fisiologis Terhadap Viabilitas Dan Motilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Selama Masa Penyimpanan" ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa penulisan laporan skripsi ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan laporan Skripsi ini. Penulis berharap semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat dalam menambah pengetahuan dan memberikan informasi bagi pihak yang membutuhkannya.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PENGESAHAN i

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI ii

UCAPAN TERIMA KASIH iii

RINGKASAN iv

KATA PENGANTAR v

DAFTAR ISI vi

DAFTAR GAMBAR ix

DAFTAR TABEL x

DAFTAR LAMPIRAN xi

1. PENDAHULUAN. 1

1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan Penelitian 5
1.4 Kegunaan Penelitian 5
1.5 Hipotesis 5
1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian 5

2. TINJAUAN PUSTAKA 7

2.1 Biologi Ikan Lele (*Clarias* sp.) 7
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi 7
2.1.2 Reproduksi dan Pemijahan Alami 8
2.1.3 Reproduksi dan Pemijahan Buatan 8
2.2. Ciri-ciri Induk Jantan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Matang Gonad 9
2.3 Perkembangan Testis Ikan 10
2.4 Teknik Pengawetan Sperma Ikan 11
2.5 Jenis Teknik Pengawetan Sperma 12
2.6 Morfolgi Spermatozoa 13
2.7 Spermatogenesis 15
2.8 Karakteristik dan Komposisi Sprema Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 16
2.9 Viabilitas Spermatozoa 17
2.10 Motilitas Spermatozoa 18
2.10.1 Motilitas Massa Spermatozoa 18
2.10.2 Motilitas Individu Spermatozoa 19
2.11 Parameter Makrokopis Sperma 20

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2.13 Struktur Kimia Fruktosa 22
2.14 Kandungan Sari Buah Kurma 23
2.15 Mekanisme Pemanfaatan Glukosa dan Fruktosa Sebagai Sumber Energi Sperma 24

3. METODE PENELITIAN 26

3.1 Materi Penelitian 26
3.1.1 Alat-alat Penelitian 26
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian 27
3.2 Metode Penelitian 27
3.3 Rancangan Percobaan 27
3.4 Prosedur Penelitian 30
3.4.1 Persiapan Induk 30
3.4.2 Sterilisasi Wadah Percobaan (Tabung *Eppendorf* 15 ml) 31
3.4.3 Penyuntikan Hormon Pada Induk Jantan 32
3.4.4 Pengambilan Gonad Induk Jantan 33
3.4.5 Pengamatan Makrokopis Spermatozoa 35
3.4.6 Perlakuan Kontrol 35
3.4.7 Perlakuan Penambahan Sari Kurma 36
3.4.8 Penyimpanan Sampel Pada Lemari Pendingin (4˚C) 37
3.4.9 Perhitungan Konsentrasi Spermatozoa 37
3.4.10 Pengamatan Motilitas Spermatozoa 37
3.4.11 Pengamatan Viabilitas Spermatozoa 38
3.5 Parameter Uji 38
3.5.1 Parameter Utama 38
A. Motilitas Spermatozoa 39
B. Viabilitas Spermatozoa 39
3.5.2 Parameter Penunjang 40
3.6 Analisa Data 41

4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN 43

4.1 Hasil Penelitian Parameter Utama 43
4.1.1 Viabilitas Spermatozoa 43
4.1.2 Motilitas Individu Spermatozoa 49
4.1.3 Motilitas Massa Spermatozoa 54
4.2 Hasil Penelitian Parameter Penunjang 57
4.2.1 Konsentrasi Sperma 57
4.2.2 Parameter Makrokopis Sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 58
4.2.3 Suhu penyimpanan 59

5. KESIMPULAN DAN SARAN 62
5.1 Kesimpulan 62
5.2 Saran 63

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR PUSTAKA **64**

LAMPIRAN **68**

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR **Halaman**

1. Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 7
2. Morfometri Spermatozoa Hewan 14
3. Morfometri Spermatozoa Ikan 15
4. Spermatogenesis..... 16
5. Hasil Pewarnaan Spermatozoa Menggunakan Eosin 18
6. Struktur Kimia Glukosa 22
7. Struktur Kimia Fruktosa 23
8. Skema Proses Pemanfaatan Glukosa dan Fruktosa Dalam Metabolisme Spermatozoa..... 25
9. Denah Rancangan Percobaan..... 30
10. Hasil penilaian ViabilitasIkan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 43
11. Grafik Viabilitas SpermaIkan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 45
12. Grafik hubungan Sari Buah Kurma Dengan ViabilitasIkan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 48
13. Grafik Motilitas SpermaIkan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 50
14. Grafik Hubungan Sari Buah Kurma Dengan MotilitasIkan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 54
15. Skema Proses Glikolisis dan Fruktolisis..... 57

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR TABEL

TABEL **Halaman**

1. Hasil Pengamatan Viabilitas Sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 44
2. Hasil Sidik Ragam Viabilitas Sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 46
3. Hasil Uji BNT Viabilitas Sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 47
4. Hasil Pengamatan Motilitas Sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 49
5. Hasil Sidik Ragam Motilitas Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 52
6. Hasil Uji BNT Motilitas Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 52
7. Hasil Penilaian Subjektif Motilitas Massa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 55
8. Pemeriksaan Makrokopis Sperma Segar Induk Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 58

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN **Halaman**

1. Data Viabilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 66
2. Data Perhitungan Viabilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 67
3. Data Motilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 72
4. Data Perhitungan MotilitasSpermatozoa Ikan Lele Dumbo(*Clarias* sp.) . 73
5. Grafik Regresi Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 78
6. Perhitungan Kepadatan Sel Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)..... 82
7. Hasil Pengamatan Viabilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) 80
8. Gambar Alat dan Bahan Penelitian 81

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peningkatan jumlah penduduk di Indonesia menyebabkan meningkatnya kebutuhan pangan sebagai sumber gizi masyarakat. Perubahan gaya hidup masyarakat menuju sehat dan berkualitas telah menjadikan upaya seleksi bahan pangan semakin diperhatikan. Bahan pangan yang diolah diharuskan memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi terutama protein sebagai sumber pertumbuhan. Menurut Hendrawati (2011), ikan merupakan bahan pangan berkadar protein tinggi serta mengadung asam amino penting yang dibutuhkan oleh manusia. Selain itu harga ikan yang relatif murah menjadikan bahan pangan tersebut mudah didapat dan dijangkau oleh semua lapisan masyarakat. Keunggulan ikan tersebut, saat ini menjadi alasan utama peningkatan dan pengembangan usaha budidaya ikan ekonomis di Indonesia.

Lele Dumbo (*Clarias*sp.) merupakan salah satu biota perikanan tawar yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Saat ini usaha budidaya ikan tersebut terus meningkat dan berkembang pesat, hal ini dikarenakan Lele Dumbo memiliki banyak keunggulan yang menarik bagi para petani ikan dan konsumennya. Menurut Adi (2008), beberapa keunggulan ikan lele yaitu dapat dibudidayakan dengan padat tebar tinggi di lahan dan sumber air terbatas, teknologi budidayanya mudah dikuasi masyarakat, memiliki jangkauan pemasaran luas, rasa daging gurih dan komposisi gizi yang cukup baik. Keunggulan tersebut secara tidak langsung menyebabkan angka permintaan Lele Dumbo terus menaik.

Meningkatnya permintaan Lele Dumbosebagai bahan baku makanan telah menuntut produksi atau budidaya ikan tersebut untuk ditingkatkan secara intesif. Peningkatan produksi atau budidaya lele Dumbotersebut, terlihat dari data total

produksinya yang terus menaik setiap tahun. Menurut Direktorat Jendral Perikanan Budidaya (2013), produksi ikan Lele di Indonesia pada beberapa tahun terakhir meningkat secara siginifikan yaitu tahun 2009 sebesar 1.44755 ton, tahun 2010 sebesar 2.42811 ton, tahun 2011 sebesar 3.37577 ton, tahun 2012 sebesar 4.41217 ton dan pada tahun 2013 sebesar 5.43461 ton. Data tersebut menunjukkan bahwa rata-rata peningkatan produksi lele di Indonesia dapat mencapai di atas 25 % dari total produksi awal.

Kegiatan produksi atau budidaya ikan Lele Dumbobergantung pada beberapa faktor penting termasuk kuantitas dan kualitas benih. Menurut Shafrudin *et al*. (2006), untuk memenuhi permintaan atau kebutuhan masyarakat akan Lele Dumboyang terus meningkat, maka diperlukan peningkatan intensifikasi usaha budidaya yang didukung oleh adanya ketersediaan benih yang memadai. Benih lele yang baik dengan faktor lain dalam keadaan optimal memungkinkan hasil produksi yang maksimal.

Kuantitas dan kualitas benih Lele Dumboselain dipengaruhi oleh kondisi internal juga ditentukan oleh beberapa proses eksternal salah satunya perlakuan penyimpanan gamet atau kriopreservasi. Menurut Sunarma *et al*. (2007), teknologi kriopreservasi bertujuan untuk memperpanjang kemampuan hidup gamet dengan teknik penyimpanan pada suhu rendah sehingga dapat mengurangi aktivitas metabolik gamet tersebut. Penyimpanan gamet Lele Dumboberdasarkan jenis gametnya dibagi menjadi dua yaitu penyimpanan sel telur dan sperma.

Sperma sebagai gamet jantan memiliki peran sangat penting dalam proses fertilisasi yaitu membuahi sel telur dan menyumbangkan materi genetik pada zigot. Berdasarkan peran penting tersebut maka proses penyimpanan atau kriopeservasi sperma perlu dilakukan dengan teknik dan bahan yang tepat agar peforma (Viabilitas dan motilitas) tetap terjaga sampai tahap fertilisasi. Menurut

Rahardianto *et al*. (2012), penyimpanan sperma bertujuan untuk mengoptimalkan jangka waktu penggunaan sperma induk jantan unggul untuk membuahi sel telur betina sejenis secara buatan serta memudahkan tranportasi semen untuk keperluan reproduksi lainnya.

Proses penyimpanan sperma memerlukan suatu bahan yang dapat berfungsi rangkap yaitu mengurangi aktifitas dan mempertahan kehidupan spermatozoa. Larutan yang sering digunakan untuk penyimpanan sperma yaitu larutan NaCl-Fisiologis. Menurut Rahardianto *et al.* (2012), larutan NaCl-Fisiologis memberi sifat *buffer*, mempertahankan pH semen dalam suhu kamar, bersifat isotonis dengan cairan sel, melindungi spermatozoa terhadap *coldshock* dan penyeimbangan elektron yang sesuai. Larutan NaCl-fisiologis sebagai pengencer semen masih memiliki kelemahan yaitu tidak dapat digunakan dalam waktu yang cukup lama karena kurang mengandung energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa. Berdasarkan permasalahan tersebut maka perlu digunakan bahan tambahan lain dalam media penyimpanan untuk memberikan nutrisi dan energi pada spermatozoa.

Kebutuhan energi spermatozoa untuk mempertahankan peforma (Viabilitas dan Motilitas) disediakan oleh gula sederhana (monosakarida) seperti glukosa dan fruktosa. Menurut Barozha (2015), penambahan fruktosa atau glukosa dalam pengencer berfungsi untuk mendukung daya hidup spermatozoa pasca pengenceran. Penambahan fruktosa atau glukosa untuk pembentukan Adenosin Trifosfat (ATP) dan Adenosin Difosfat (ADP) harus terus dilakukan agar viabilitas dan motilitas dapat terus berlangsung.

Salah satu bahan yang memenuhi kriteria sebagai bahan tambahan dalam larutan pengencer sperma adalah sari kurma. Menurut Retnowati dan Joni (2014), buah kurma mengandung komponen penyusun buah yang sebagian besar merupakan gula pereduksi, yaitu glukosa dan fruktosa 20-70 % (bobot

kering) sehingga buah kurma mudah dicerna dan cepat mengganti energi tubuh yang hilang. Selain mudah dicerna dan berenergi tinggi kurma mengandung antioksidan yang tinggi,bersifat antikanker dan antitumor sehingga dapat mencegah kerusakan spermatozoa akibat patogen maupun gangguan internal.

1.2 Rumusan Masalah

Peningkatan permintaan dan produksi Lele Dumbo (*Clarias* sp.) yang terus meningkat harus didukung dengan ketersediaan benih yang memadai dan berkelanjutan. Kualitas dan kuantitas benih Lele Dumbo dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya kualitas sperma induk jantan. Salah satu usaha yang dilakukan untuk memperpanjang waktu penggunaan, viabilitas dan motilitas sperma Lele Dumboyaitu melalui penyimpanan menggunakan larutan pengencer NaCl-Fisiologis.

Penyimpanan sperma ikan dengan menggunakan larutan pengencer NaCl-Fisiologis tanpa penambahan sumber energi hanya dapat mempertahankan kualitas sampai ± 60 menit. Hal tersebut dikarenakan NaCl-Fisiologis murni kurang mengandung energi yang dibutuhkan untuk mendukung kehidupan spermatozoa. Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa disediakan oleh gula sederhana (monosakarida) seperti fruktosa dan glukosa. Monosakarida tersebut dapat meningkatkan ketersediaan ATP dan ADP melalui respirasi sel. Ketersedian (monisakarida) untuk suplai ATP dan ADP didapatkan melalui penambahan bahan yang mengandung gula tinggi seperti sari buah kurma dengan kadar gula 20-70 %.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan sari buah kurma sebagai bahan tambahan yang memberikan nutrisi dalam pengencer NaCl-Fisiologis untuk meningkatkan performa spermatozoa (Viabilitas dan Motilitas).

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah untuk meningkatkan kualitas dan memperpanjang masa hidup sperma ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.) selamapenyimpanan dengan menggunakan pengencerNaCl-Fisiologis dan penambahan Sari Kurma serta mengetahui nilai konsentrasi terbaik sari kurma dalam NaCl-Fisiologis untuk mempertahankan kualitas sperma ikan Lele Dumboselama penyimpanan.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini yaitu diharapkan dapat memberikan informasi mengenai manfaat sari buah kurma pada konsentrasi terbaik dalam larutan pengencer NaCl-Fisiologis terhadap peforma (viabilitas dan motilitas) sperma ikan lele Dumbo (*Clarias*sp.) selama masa penyimpanan, sehingga dapat bermanfaat bagi bidang perikanan khususnya dalam usaha budidaya ikan Lele Dumbo.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga perbedaan konsentrasi sari buah kurma dalam larutan pengencer NaCl-fisiologis tidak memberikan pengaruh terhadap kualitas (viabilitas dan motilitas) sperma ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.).

H_1 : Diduga perbedaan konsentrasi sari buah kurma dalam larutan pengencer NaCl-fisiologis tidak memberikan pengaruh terhadap kualitas (viabilitas dan motilitas) sperma ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.).

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Reproduski Ikan (pengawetan sperma, pengamatan suhu dan parameter makrokopis) dan Keamanan Hasil Perikanan (pengamatan konsentrasi dan parameter mikrokopis), Fakultas

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 15 sampai dengan 30 Agustus 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Suprapto dan Legisan (2013), klasifikasi ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.) adalah sebagai berikut:

Filum : Chordata

Kelas : Pisces

Subkelas :Teleostei

Ordo : Ostariophysi

Subordo : Siluroidae

Famili : Clariidae

Genus : *Clarias*

Spesies : *Clarias* sp.

Nama Lokal : Lele Dumbo

Adapun gambar dari ikan lele Dumbodapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini :

Gambar 1. Ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)(Surya, 2013)

Lele Dumbo memiliki kulit yang licin, berlendir, dan sama sekali tidak memiliki sisik. Warnanya hitam keunguan atau kemerahan dengan loreng-loreng seperti

baju tentara. Warna kulit ini akan berubah menjadi mozaik hitam putih jika Lele sedang dalam kondisi stress, dan akan menjadi pucat jika terkena sinar matahari langsung (Bachtiar, 2006).

Ikan lele Dumbo dicirikan oleh jumlah sirip punggung D.68-79, sirip dada P.I.9-10, sirip perut V.5-6, sirip anal A. 50-60 dan jumlah sungut 4 pasang, 1 pasang di antaranya lebih besar dan panjang. Perbandingan antara tinggi badan terhadap panjang standar adalah 1:5-6 dan perbandingan antara panjang kepala terhadap panjang standar 1:3-4 (Suprapto dan Legisan, 2013).

2.1.2 Reproduksi dan Pemijahan Alami

Di alam lele memijah pada musim penghujan. Jika sudah matang gonad, ikan jantan dan betina berpasangan dalam memijah. Pasangan ini lalu mencari lokasi yang teduh dan aman untuk membuat sarang. Lubang sarang yang dibuat ikan lele kira-kira 20-30 cm di bawah permukaan air. Ikan lele tidak membuat sarang dari suatu bahan (jerami atau rumput-rumputan) seperti ikan gurami, melainkan hanya menggali lubang berdiameter sekitar 25 cm, dan telurnya diletakan di atas dasar lubang sarang tersebut (Kordi, 2010).

Pada perkawinannya, induk betina melepaskan telur bersamaan waktunya dengan jantan melepaskan mani (sperma) di dalam air. Setalah terjadi pembuahan di dalam air, telur dijaga oleh induk betina sampai menetas dan cukup kuat berenang. Sementara itu, induk jantan meninggalkan sarang dan tidak menghiraukan anak-anaknya setelah perkawinan (Suyanto, 2007).

2.1.3 Reproduksi dan Pemijahan Buatan

Menurut Sinjal (2014), keberhasilan suatu usaha pemijahan ikan dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti kematangan ikan yang akan dipijahkan, makanan yang diberikan selama pemeliharaan dan kondisi lingkungan. Untuk mengatasi masalah yang timbul dan untuk meningkatkan produksi khususnya pembudidaya

ikan lele Dumbo maka perlu ditingkatkan usaha budidaya yang lebih intensif. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan menambahkan atau menyuntikkan hormon ovaprim ke dalam tubuh ikan yang sudah matang gonad untuk mempercepat proses pemijahan sehingga dapat dihasilkan benih ikan lele Dumbo yang baik dimana jumlah, mutu dan waktu penyediaannya dapat diatur sesuai yang diinginkan.

Menurut Nugroho (2013), pemijahan buatan (*artificial breeding*) ikan lele dilakukan dengan metode *stripping*, yaitu pengurutan perut induk untuk diambil telur dan spermanya. Penggurutan dilakukan setelah induk lele disuntik, yaitu 8-10 jam setelah penyuntikan. Penggunaan hormone buatan lebih praktis dan efisien dalam segi waktu serta kegiatan produksi menjadi lebih terjadwal.

2.2 Ciri-ciri Induk Jantan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Matang Gonad

Menurut Nugroho (2013), induk yang digunakan untuk pemijahan harus siap memijah, yaitu sudah matang gonad. Induk jantan dan betina yang akan dipijahkan dapat dipelihara secara terpisah di kolam induk. Induk jantan lele matang gonad memiliki ciri-ciri sebagai berikut:

a. Tubuh ramping

b. Warna tubuh menjadi cokelat kemerahan

c. Gerakannya agresif dan lincah

d. Alat kelamin kemerahan

e. Alat kelamin tampak jelas dan lebih meruncing.

Menurut SNI (2000), gonad adalah bagian dari organ reproduksi pada ikan yang menghasilkan telur pada ikanbetina dan sperma pada ikan jantan. Cara menentukan kematangan gonad ikan jantan dilakukan dengan melihat urogenitalnya. Ikan jantan yang telah matang gonad ditandai dengan

urogenitalnya yang memerah dan meruncing serta panjangnya sudah melampaui pangkal sirip ekor.

2.3 Perkembangan Gonad Ikan Jantan (Testis)

MenurutSutisna dan Ratno (1995), teori Kesteven tentang fase perkembangan kematangan testis secara makroskopis ada sembilan tingkatan, yakni:

- Remaja: Testis sangat kecil berwarna transparan sampai kelabu
- Remaja berkembang: Testis terlihat jernih berwarna abu-abu sampai kemerah-merahan.
- Perkembangan I: Testis berbentuk bulat telur, berwarna kemerahan dan testis mengisi hampir setengah rongga perut bagian bawah.
- Pekembangan II: Testis berwarna kemerahan sampai putih, tidak keluar tetesan milt bila perut diurut.
- Dewasa: Testis berwarna putih dan keluar milt bila perut diurut.
- Mijah: Milt keluar (menetes) bila perut sedikit ditekan.
- Mijah atau salin: Testis sudah kosong sama sekali.
- Salin: Testis sudah kosong dan berwarna kemerahan.
- Pulih salin: Testis nampak jernih dan berwarna abu-abu sampai kemerahan.

Menurut Effendie (2002), teori Kaya dan Haster tentang tingkat kematangan Gonad jantan (testis) ikan *Green Sunfish*secara histologi sebagai berikut:

I. Testis Regresi (akhir musim panas sampai pertengahan musim dingin). Dinding gonad dilapisi oleh spermatogonia awal dan skunder. Sperma sisa mungkin masih terdapat.

II. Perkembangan Spermatogonia. Sama dengan tingkat I hanya proporsi spermatogonia sekunder bertambah. Sperma sisa kadang-kadang masih terlihat.

III. Awal Aktif Spermatogenesis. *Cyste spermatocyt* timbul dan kemudian semakin bertambah. *Cyste* spermatid dan spermatozoa juga mulai keluar.

IV. Aktif Spermatogenesis. Semua tingkat spermatogenesis ada dalam jumlah yang banyak. Spermatozoa bebas mulai terlihat dalam rongga seminiferous.

V. Testis Masak. Lumen penuh dengan spermatozoa. Pada dinding *lobule* penuh dengan *cyste* bermacam-macam

VI. Testis Regresi. Rongga *seminifreous* masih berisi spermatozoa. Dinding *lobule* penuh dengan spermatogonia yang tidak aktif. Ukuran testis mengkerut karena sperma dikeluarkan.

2.4 Teknik Pengawetan Sperma Ikan

Menurut Barozha (2015), penyimpanan sperma bertujuan dalam mengoptimalkan jangka waktu penggunaan spermatozoa induk jantan yang unggul untuk membuahi sel telur betina yang sejenis secara buatan. Pengawetan sperma membutuhkan bahan pengencer yang berfungsi untuk mengurangi aktifitas spermatozoa sehingga menghambat pemakaian energi dan dapat memperpanjang hidup spermatozoa. Bahan pengencer yang biasa digunakan dalam penyimpanan spermatozoa adalah NaCl-fisiologis yang hanya berfungsi untuk menambah volume semen.

Menurut Sunarma *et al.* (2007),teknik kriopreservasi sperma dilakukan dengan langkah sebagai berikut, sperma segar yang dikumpulkan dari dua induk jantan yang menunjukkan motilitas > 80% digunakan pada perlakuan. Sebanyak 2 ml sperma diambil dari setiap induk sehingga didapatkan 4 ml sperma gabungan. Pengenceran sperma dilakukan dengan menggunakan perbandingan sperma : ekstender yaitu 1 : 9. Sebanyak 2 ml sperma ditambahkan ke dalam 18 ml larutan ekstender madu (0,5% madu dalam larutan ringer). Krioprotektan (DMSO atau Methanol) ditambahkan dengan konsentrasi setiap bahan yaitu 5%

10% dan 15% pada konsentrasi akhir. Semua proses penyimanan dilakukan pada temeratur 4-5 ˚C.

Menurut Wijayanti dan Sorta (2006), prosedur peyimpanan sperma yaitu pertama yaitu sperma dari masing-masing induk dibagi menjadi 4 bagian masing-masing 0,3 ml. Bagian pertama disimpan tanpa pengenceran, sedangkan bagian 2,3, dan 4 diencerkan dengan larutan riger berturut-turut 10, 100 dan 1000 kali. Keempat kelompok sampel disimpan di dalam refrigator pada suhu 4˚C selama 9, 6, 3 dan 0 hari tanpa penambahan oksigen.

2.5 Jenis Teknik Penyimpanan Sperma

Menurut Kostaman dan Setioko (2011), teknik kriopreservasi dapat dibedakan atas teknik kriopreservasi konvensional (*conventional slowfreezing*) dan kriopreservasi secara cepat (*rapid freezing*). Teknik kriopreservasi konvensional adalahteknik kriopreservasi yang lebih menekankan padaproses pembekuan lambat. Pada teknik ini, suhuditurunkan secara bertahap dengan mesin pendinginyang dapat diprogram. Dengan teknik ini kristal esmasih terbentuk, baik ekstraseluler maupunintraseluler, sehingga dapat menyebabkan terjadinyakerusakan sel. Hal ini disebabkan oleh elektrolit yangmenumpuk akan merusak dinding sel sehingga padawaktu pencairan kembali permeabilitas membrane plasma akan menurun dan sel akan mati. Pembentukan kristal es kemungkinan berkaitan dengan perubahan tekanan osmotik dalam fraks. Sejumlah faktor yang mempengaruhi keberhasilan teknik kriopreservasi konvensional adalah (1) kecepatan pembekuan; (2) jenis dan konsentrasi krioprotektan; (3) suhu akhir pembekuan; dan (4) tipe dan keadaan fisiologis bahan yang akan disimpan. Teknik kriopreservasi cepat adalah proses pemadatan konsentrasi krioprotektan (ekstraseluler maupun intraseluler). Pada teknik ini, sebagian besar air di dalam sel dikeluarkan sebelum terjadi

pembekuan intraseluler dan digantikan dengan krioprotektan, sehingga pada saat pembekuan tidak terjadi kristal es.

Menurut Susilawati (2011), teknik penyimpanan sperma dilakukan melalui 3 cara yaitu pengenceran, pendinginan dan pembekuan semen. Berdasarkan jenis media pengencer, pengenceran sperma terbagi menjadi 4 macam yaitu menggunakan *Tris Aminomethan* kuning telur, AndroMed®, TCM 199 kuning telur dan Pengencer Alternatif yaitu menggunakan bahan-bahan yang ada di lingkungan sekitar. Proses pendingin sperma rata-rata dilakukan pada suhu 5˚c sedangkan pembekuan dilakukan dengan suhu sampai -70˚c dengan dilakukan penambahan krioprotektan seperti Gliserol, DMS dan *Ethilen glicol.*

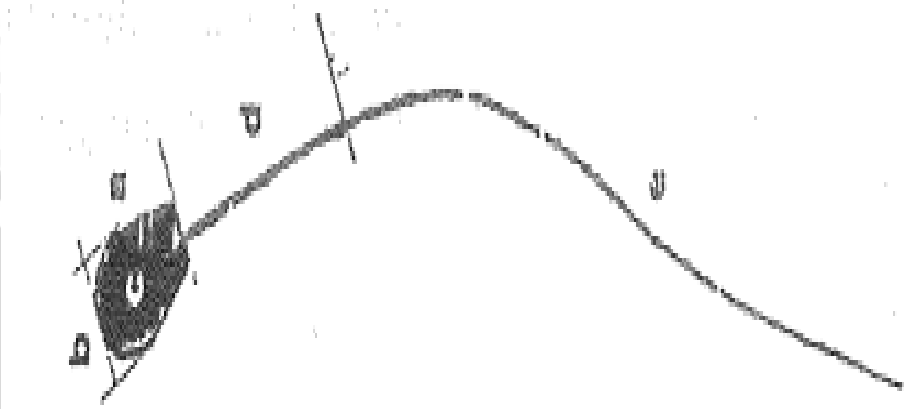
2.6 Morfologi Spermatozoa

Menurut Susilawati (2011), spermatozoa hewan pada masing-masing spesies mempunyai ukuran yang berbeda-beda akan tetapi bentuknya hampir sama. Bagian-bagian spermatozoa sebagai berikut:

- Kepala sperma: bentuk utama dari kepala spermatozoa adalah oval, tumpul mengandung nukleus dengan kromatin yang padat sekali.
- Akrosom: bagian akhir dari inti spermatozoa dibungkus oleh akrosom tipis, lapisan membran yang menutup ini terbentuk pada saat proses pembentukanspermatozoa.
- Ekor spermatozoa: dibagi menjadi leher, bagian tengah, pokok dan akhir. Leher menghubungkan potongan bagian basal *plate* bagian *posterior* dan bagian terbawah dari nukleus. Bagian basal *plate* pada bagian leher berlanjut sampai akhir, dengan Sembilan serabut kasar yang mengeras pada seluruh bagian ekor.

Menurut Asmarinah (2010), sperma merupakan sel yang mempunyai karakteristik sangat khusus, dengan struktur umum terdiri atas 2 bagian utama,

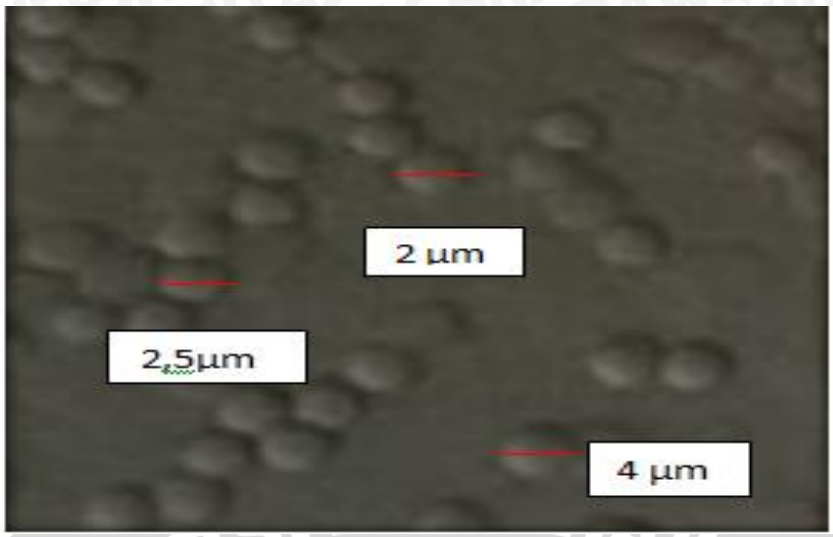
yaitu bagian kepala yang terlibat dalam interaksi sperma-sel telur dan bagian ekor (flagellum). Kepala sperma berisi inti yang mengandung DNA genom haploid, kantung akrosom yang mengandung enzim-enzim hidrolitik, dan sedikitsitoplasma sel. Flagellum terdiri atas bagian *midpiece* berisi mitokondria yang terutama berfungsi dalam pembentukan energi, dan bagian *principal piece* yang berfungsi dalam pergerakan (motilitas) sperma.



Gambar 2. Morfometri spermatozoa sapi Bali (*Bossondaicus*): **a.** panjang kepala, **b.** lebar kepala, **c.** areal kepala, **d.** ekor bagian tengah, **e.** ekor bagian utama(Arifiantini *et al*., 2006)

Secara morfologi spermatozoa terdiri dari dua bagian, yaitu bagian kepala dan bagian ekor, pada bagian kepala mengandung bahan genetik (inti sel) yang dilapisi oleh akrosom dan membrane plasma, bagian ekor terdiri dari bagian tegah yang mengandung mitokondria bagian utama dan bagian ujung dari fibril-fibril (Rustidja, 1999). Menurut Faqih (2011), ukuran kepala sperma ikan Nilem (*O. hasseltii*) (perbesaran 2400 x), hasil pengamatan di bawah mikroskop konvokal diperoleh rata-rata diameter kepala sperma ikan Nilem adalah 2,25 µm.

Ekor spermatozoa merupakan bagian yang befungsi sebagai alat gerak, karena dilengkapi generator yang dapat memberi tenaga bagi spermatozoa dan fibri-fibri halus yang merupakan bagian motoris (Rustidja, 2006 *dalam* Faqih, 2013). Pergerakan spermatozoa dapat dipakai sebagai indikator kualitas spermatozoa, walaupun belum dapat menjamin terjadinya pembuahan yang berhasil (Harvey dan Hoar, 1979 *dalam* Faqih, 2013).



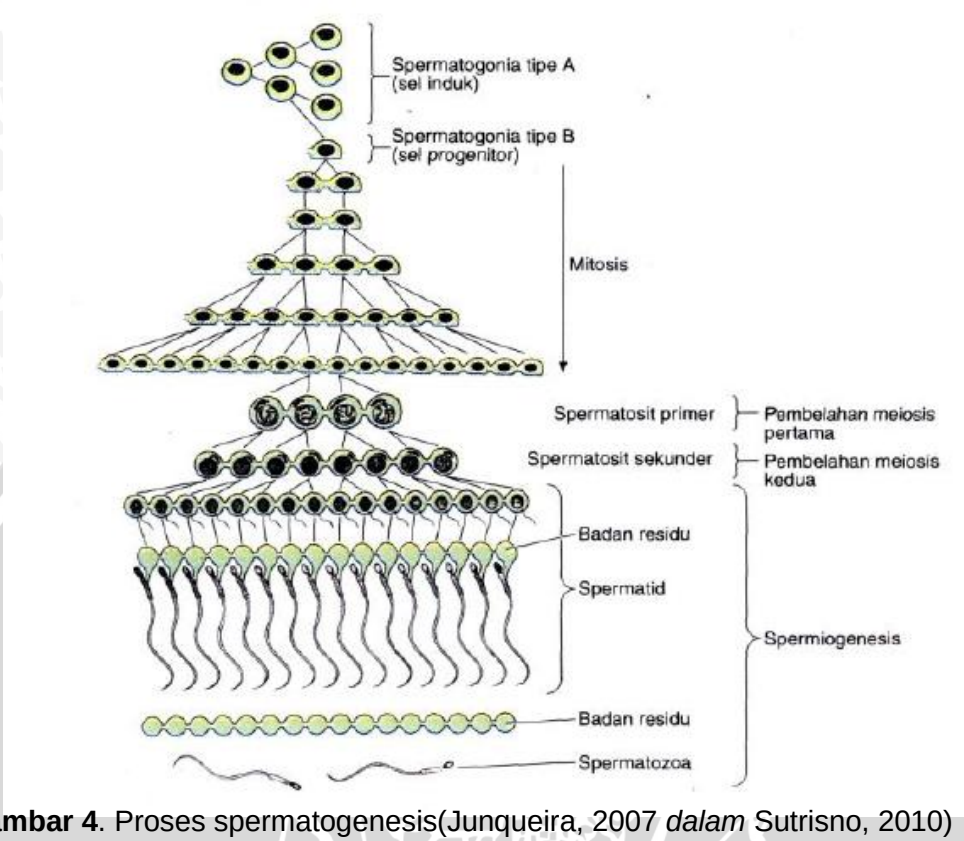
Gambar 3. Morfometri Spermatozoa Nilem (Faqih, 2011)

2.7 Spermatogenesis

Spermatogenesisadalah suatu proses perkembangan sel-sel spermatogenikyang membelah beberapa kali dan akhirnya berdiferensiasi menghasilkan spermatozoa. Sel-sel spermatogenik terdiri atas spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit sekunder, dan spermatid yang tersebar dalam empat sampai delapan lapisan yang menempati ruangan antara *lamina basalis* dan *lumen tubulus*. Spermatogenesis dibedakan menjadi tiga tahap yaitu tahap spermatositogenesis atau tahap proliferasi, tahap meiosis dan tahap spermiogenesis, waktu yang dibutuhkan untuk menyelesaikan setiap langkah perkembangan sel spermatogenik berbeda (Sukmaningsih, 2011)

Proses perkembangan sperma tidak sekompleks perkembangan telur. Spermatogenia *primitive* memperbanyak diri secara mitosis pada dinding tubuli dari testis. Dari spermatogonia, *speramatocytes* primer berkembang, setiap perkembangan *spermatocytes* menghasilkan 2 *spermatocytes* sekunder. Tiap *spermatocytes* sekunder menghasilkan 2 spermatozoa atau sperma.Sperma berkumpul dalam rongga tubulus dari testis dan tetap dalam stadia dorman

sampai kondisi lingkungan sesuai ketika diperintahkan oleh gonadotropin jantan siap untuk memijah (Rustidja, 2004).



Gambar 4. Proses spermatogenesis(Junqueira, 2007 *dalam* Sutrisno, 2010)

2.8 Karakteristik Dan Komposisi Kimia Sperma Lele

Menurut Faqih (2011), karakteristik sperma Lele Dumbo (*Clarias* sp.) tanpa perlakuan dengan rata-rata berat tubuh 1,15 kgyaitu volume rata-rata sebesar 1,5 ml, berat gonad rata-rata 6,6 gr. Warna sperma tersebut yaituputih susu dan cukup kental. Konsetrasi atau kepadatan sel yaitu 5,6x10^9 sel/ml sedangkan motilitas dan viabilitas masing-masing 60 % dan 85 %. Karakteristik sperma ikan Lele Dumbotersebut menunjukkan bahwa sperma dalam kondisi cukup baik.

Menurut Adipu *et al*. (2011), komposisi cairan sperma organik (seminal plasma) dari *catfish* dan *carp* mempunyai energi substrat seperti glukosa dan fruktosa, laktasa, piruvat, malat dan bahan yang lainnya dalam jumlah yang kecil pada spermatozoa. Berdasarkan tipe spermatozoa tersebut, beberapa perbedaan susunan kimia yang terkandung di dalamnya. Ikan *crap* dan *catfish* mempunyai

biokimia spermatozoa dan proses spermatogenesis yang berbeda yaitu pada semen carp dapat dengan mudah dikeluarkan dengan cara distripping.

2.9 Viabilitas Spermatozoa

Spermatozoa yang hidup dan mati dapat dibedakan reaksinya terhadap warna tertentu, sel spermatozoa yang tidak motil dan dianggap mati menghisap warna dan sel spermatozoa yang motil dan yang hidup tidak berwarna. Bahan perwarna yang biasa digunakan adalah eosin negrosin. Eosin dan negrosin adalah pewarna sel yang paling baik dipergunakan, untuk prosedur ini sehingga pengamatan sel spermatozoa yang berwarna dan tidak berwarna menjadi jelas dan spermatozoa yang berwarna sebagian juga dianggap mati (Susilawati, 2011).

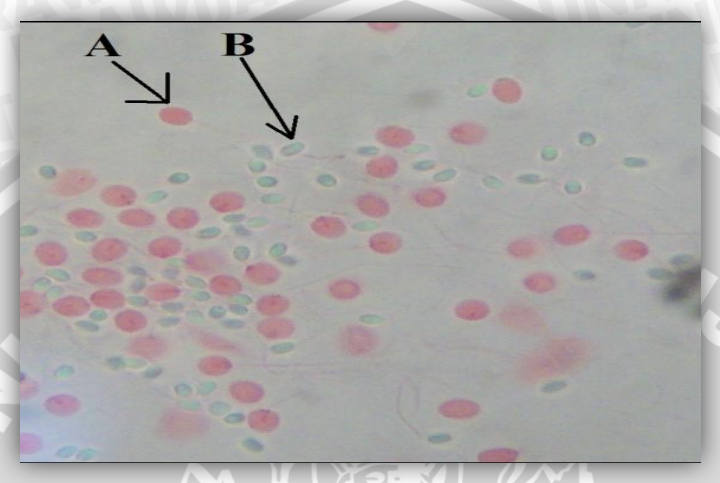
Pengamatan karakteristik hidup / mati spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan pewarnaan eosin B dan negrosin di atas kaca benda yang berisi spermatozoa. Spermatozoa mati berwarna merah keunguan, sedangkan spermatozoa yang hidup akan terlihat berwarna putih pada bagian kepala. Pengamatan hidup / mati spermatozoa dilakukan dengan cara menghitung jumlah spermatozoa hidup dari 100 spermatozoa yang diamati (Fitriani *et al.*, 2010).

Persentase hidup spermadilakukan dengan pewarnaan diferensial dengan menggunakan zat pewarna eosin. Dua tetes zat warna ditempatkan pada suatu gelas obyek yang bersih dan hangat (suhu 37˚C) yang kemudian satu tetes kecil semen ditambahkan dan dicampurkan lalu diulas dengan menggunakan gelas obyek lainnya. Perhitungannya berdasarkan perbandingan antara jumlah sperma hidup yang ditandai dengan kepala tidak berwarna dengan total sperma yang diamati dan dinyatakan dalam persen (%). Perlakuan preparat ulas untukmenghitung persentase sperma hidup dilakukan dalam waktu yang singkat

maksimal 15 detik. Perhitungan persentase hidup sperma adalah sebagai berikut:

Presentase Hidup = Sperma Hidup / Total Yang Diamati x 100 %

(Mumu, 2009)



Gambar 5.Pewarnaan spermatozoa menggunakan *eosin*. Tanda panah **(a)** adalahsperma mati dan tanda panah **(b)** adalah sperma hidup (Rahardianto*et al.,* 2012).

2.10 Motilitas Spermatozoa

2.10.1 Motilitas Massa Spermatozoa

Menurut Salmah (2014), spermatozoa dalam suatu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama ke satu arah yang menyerupai gelombang-gelombang yang tebal dan tipis, bergerak cepat atau lamban tergantung dari konsentrasi spermatozoa hidup di dalamnya. Gerakan massa spermatozoa dapat dilihat dengan jelas di bawah mikroskop dengan pembesaran kecil (10x10) dan cahaya yang dikurangi. Berdasarkan penilaian gerakan massa, kualitas semen dapat ditentukan sebagai berikut:

- Sangat baik (+++), terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif bagaikan gumpalan awan hitam saat akan turun hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat.

- Baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.
- Cukup (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif.
- Buruk (N, *necrospermia* atau 0), bila hanya sedikit atau tidak ada gerakan-gerakan individual.

Menurut Mumu (2009), gerakan massa dan motilitas semen segaryang dihitung dalam dua bagian yaitu pertama penentuan motilitas semen segar dan yang kedua adalah motilitas semen setelah *thawing*. Data diperoleh dengan cara meneteskan sampel semen pada gelas obyek kemudian ditutup dengan *coverglass* lalu diamati di bawah mikroskop, dengan perhitungan sebagai berikut:

- 5 (Sangat baik) ≥ 90%: Bergerak sangat aktif atau cepat, gelombang besar dan bergerak cepat
- 4 (Baik) = 70-85%: Bergerak aktif/cepat, ada gelombang besar dengan gerakan massa yang cepat.
- 3 (Lumayan) = 40-65%: Bergerak agak aktif/agak cepat, terlihat gelombang tipis dan jarang serta gerakan massa yang lambat.
- 2 (Kurang baik) = 20-30%: Bergerak kurang aktif/ kurang cepat, tidak terlihat gelombang, hanya gerakan individual sperma.
- 1 (Buruk) ≤ 0%: Gerakan individual sperma (sedikit sekali gerakan individual sperma atau tidak ada gerakan sama sekali (mati).

2.10.2 Motilitas Individu Spermatozoa

Menurut Susilawati *et al*. (2011), evaluasi motilitas semen segar penting dilakukan untuk mengamati fungsi kelenjar asesoris di dalam menghasilkan seminal plasma. Pada semen segar dengan konsentrasi yang tinggi sulit untuk diamati sehingga perlu diencerkan. Gerak individu spermatozoa diamati dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x pada suhu yang dijaga

konstan 37˚C dengan menggunakan*cover glass*, kemudian menentukan proporsi (persentase) spermatozoa yang bergerak progresif.

Menurut Mumu (2009), perhitungan motilitas individu sperma menggunakan *haemocytometer* dilakukan dengan langkah berikut, semen dicampur dengan NaCl-fisiologis. Perhitungan jumlah sperma motil progresif diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 20 kali. Jumlah sperma yang bergerak motil progresif dihitung dalam 5 kotak dan dilanjutkan menghitung jumlah sperma yang mati dalam kotak yang sama, kemudian jumlah sperma yang motil progresif dibandingkan jumlah seluruhsperma dalam kotak yang diamati.

2.11 Parameter Makrokopis sperma

Menurut Husin *et al*. (2007), uji makrokosik sperma meliputi beberapa parameter sebagai berikut:

1. Volume Semen, Volume semen diukur dari garis batas cairan semen setara dengan skala pada gelas ukur, biasanya semen yang baru ditampung masih terdapat buih maka perhitungan volume ditambahkan sebanyak separuh dari tebalnya buih.
2. Warna Semen, Warna semen dilihat langsung dari tabung sperma, semen segar dapat berwarna putih susu, crem, atau kekuningan.
3. pH Semen, Untuk mengukur pH semen dengan cara meletakkan semen pada kertas pH indikator dan dicocokkan pada warna standar yang tersedia.

Menurut Susilawati *et al*. (2011), teknik pemeriksaan kualitas sperma secaramakrokopis yaitu sebagai berikut:

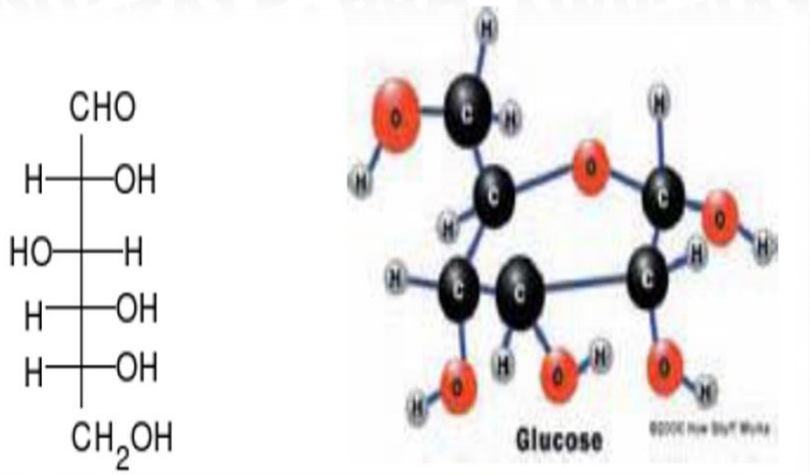
1. Volume, volume semen yang sudah ditampung pada 1 kali penampungan diukur dengan melihat langsung pada tabung berskala.

2. pH, diukur dengan cara mengambil sedikit semen segar dengan menggunakan *ose* dan diletakan pada kertas lakmus atau pH meter kemudian dilihat pH-nya pH semen diuji dengan menggunakan pH BTB paper.
3. Warna, dilihat pada tabung penampung (abnormal = mengandung air, darah, rambut preputium, nanah air kotor dan bau yang tidak normal). Semen normal putih kekuningan atau putih susu.
4. Konsistensi: konsistensi berkolerasi dengan konsentrasi spermatozoa penilainya bisa encer (<1000.10^6 spermatozoa/ml), sedang (1000.10^6-1500.10^6 spermatozoa/ml), dan pekat (>1500.10^6 spermatozoa/ml).

2.12 Struktur Kimia Glukosa

Menurut Mayes (2003), glukosa merupakan bahan bakar utama bagi jaringan mamalia (kecuali hewan pemamahbiak) dan bahan bakar universal bagi janin. Unsur ini diubah menjadi jenis karbohidrat lain yang mempunyai fungsi sangat spesifik, missal, glikogen untuk simpanan; ribosa dalam asam nukleat; galaktosa dalam laktosa susu, dalam senyawa lipid kompleks tertentu, dan dalam bentuk gabungan dengan protein, yaitu dalam glikoprotein serta proteoglikan. Glukosa dapat diubah menjadi glikogen yang sangat berguna untuk membantu kerja hati dalam menyaring racun-racun dari zat yang sering merugikan tubuh. Selain itu, glukosa merupakan sumber energi untuk seluruh sistem jaringan otot (Sarwono, 2001 *dalam* Ratnayani *et al*., 2008).

Glukosa ialah monomer dari karbohidrat. Glukosa dapat disintesis oleh tumbuhan hijau semasa proses fotosintesis. Glukosa termasuk monosakarida yang mempunyai rumus umum C6H12O6 yang disebut sebagai dekstrosa ataugula anggur. Tumbuh-tumbuhan menyimpan glukosa sebagai karbohidrat yang dinamai kanji dalam biji-bijian seperti beras, jagung, barli dan sebagainya (Endahwati, 2010).

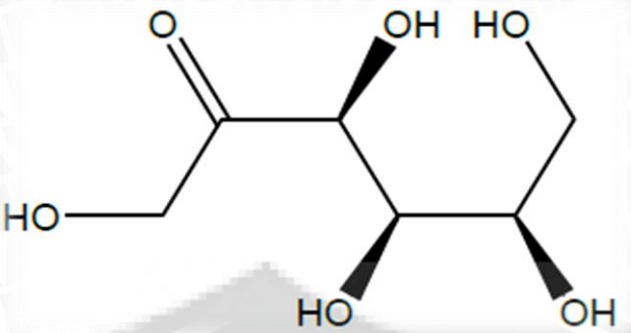


Gambar 6. Struktur Kimia Glukosa (Rahmayanti. 2010).

2.13 Struktur Kimia Fruktosa

Fruktosa merupakan monosakarida, terdiri atas 6 atom karbon (heksosa) yang merupakan isomer glukosa (C6H12O6) dan mengandung gugus karbonil sebagai keton. Fruktosa dikonsumsi dalam bentuk sukrosa dan jarang dalam bentuk bebas. Di dalam usus, sukrosa dihidrolisis oleh enzim sukrase menjadi fruktosa dan glukosa. Setelah diabsorpsi oleh usus, fruktosa diangkut melalui vena porta menuju hepar untuk dimetabolisme menjadi lipid (Prahastuti, 2011).

Fruktosa adalah gula yang terkandung dalam buah-buahan, madu serta beberapa jenis sayuran seperti jagung, wortel, dan bawang, yang banyak digunakan untuk proses campuran rasa manis pada makanan (biasanya kombinasi sukrosa dan glukosa). Fruktosa merupakan monosakarida dari golonganketoheksosa (polihidroksiketon). Senyawa monosakarida ini merupakan gula yang paling manis (diperkirakan dua kali lebih manis dari sukrosa), dan merupakan salah satu dari tiga gula darah penting bersama dengan glukosa dan galaktosa. Fruktosa juga dapat dibentuk dari hasil pemecahan sukrosa (disakarida yang tersusun atas glukosa dan fruktosa). Pada proses pemecahan sukrosa dipecah oleh enzim glikosida hidrolase (Fitrianti, 2008). Struktur kimia senyawa fruktosa dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur Kimia Fruktosa(Merck dan Co.,Inc., 2001 *dalam* Priyadi. 2012)

2.14 Kandungan Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*)

Buah kurma kaya akan zat besi yang meningkatkan kadar hemoglobin. Selain itu, kurma juga mengandung protein, serat, glukosa, vitamin, biotin, niasin, dan asam folat. Kurma juga mengandung mineral seperti, kalsium, sodium dan potasium. Kadar protein pada buah kurma sekitar 1,8-2 %, kadar glukosa sekitar 50-57 %, dan kadar serat 2-4% (Jahromi *et al.,* 2007 *dalam* Zen *et al.,* 2013).

Buah kurma mengandung komponen penyusun buah yang sebagian besar merupakan gula pereduksi, yaitu glukosa dan fruktosa sekitar 20-70% (bobot kering). Sehingga buah kurma mudah dicerna dan cepat mengganti energitubuh yang hilang. Mengandung 0.10-0.73% lemak, dan 2.12-5.60% protein. Jumlah asupan kalori rata-rata untuk satu buah kurma (8.32 g) adalah 23 kalori atau 1.33-1.78 kali lebih banyak dibandingkan gula tebu dengan bobot yang sama. Selain itu buah kurma juga mengandung serat pangan (*dietary fiber*), yaitu sebesar 2.49-12.31% (Retnowati dan Joni, 2013).

Menurut Marzuki (2012), kandungan kalium dan asam salisilat yang berfungsi sebagai antinyeri. Kurma juga mengandung karbohidrat, glukosa, fruktosa, sukrosa, magnesium, kalsium, fosfor, folat, protein, besi, dan beberapa vitamin antara lain vitamin A, tiamin (B1), riboflavin (B6), niasin dan vitamin E.

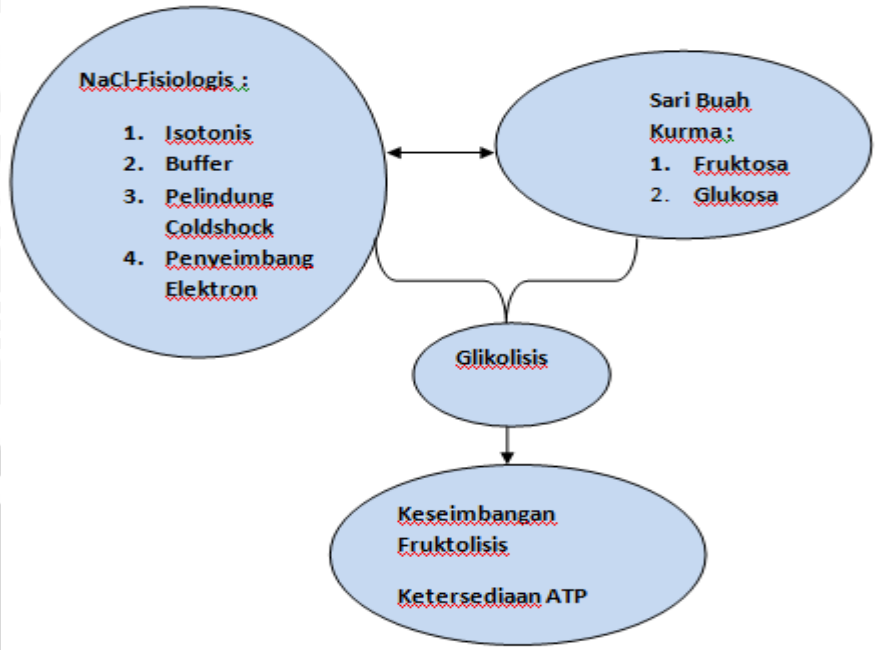
Karena banyaknya kandungan senyawa tersebut maka kurma memiliki banyak manfaat.

2.15 Mekanisme Pemanfaatan Glukosa dan Fruktosa Sebagai Sumber Energi Sperma

Menurut Rahardianto *et al*. (2012), nutrisi yang disumbangkan terutama berupa glukosa dan fruktosa yang dipakai sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa. Dalam keadaan normal energi yang dilepaskan dapat dipakai sebagai energi mekanik (pergerakan) atau sebagai energi kimiawi (biosintesa), jika tidak dipergunakan akan menghilang sebagai panas. Apabila persediaan energi habis, maka kontraksi fibril-fibril spermatozoa akan terhenti dan spermatozoa tidak bergerak. Untuk melangsungkan pergerakan kembali, ATP dan ADP harus dibangun kembali dengan penambahan gugusan *phosphoryl* yang membutukan sumber energi dari luar. Metabolisme gula sederhana ini melalui respirasi sel spermatozoa menghasilkan ATP.

Jalur metabolisme glikolisis dengan dua bahan baku yaitu fruktosa dan glukosa. Pertama, Fruktosa-1,6-difosfat diuraikan enzim aldolase menjadi dua molekul dari 3 karbon triofosfat, yaitu 3-*fosfo-glyserin aldehid* (G-3-P) dan *dygydroxyaceton fosfat*. Dalam proses oksidasi G-3-P dengan pemindahan unsur hydrogen yang diiukuti dengan persenyawaan fosfat anorganik, terbentuklah asam 1,3 *difosfoglycerin*. Dehidrogenase G-3-P membutuhkan suatu enzim (*di-fosforidin nucleotide,* DPN) yang akan bereaksi dengan ion hydrogen dan merubah aldehid menjadi asam dan mereduksi DPN menjadi DNH2. Penguraian dari asam difosfat glyserin menjadi asam monofosfat glyserin menghasilkan energi yang terpakai untuk membangun ADP dan ATP (Susilawati, 2011). Skema

proses pemanfaatan glukosa dan fruktosa dalam metabolisme spermatozoa dapat dilihat pada Gambar8.



Gambar 8. Skema Proses Pemanfaatan Glukosa dan Fruktosa dalam Metabolisme Spermatozoa

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat – alat penelitian

Adapun alat – alat yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

- Mikroskop Binokuler
- Gelas objek (*Objek glass*)
- Gelas penutup (*Cover glass*)
- Tabung *Eppendorf* 15 ml
- Thermometer Hg
- Erlenmeyer 250 ml
- Spuit1 ml dan 5ml
- Spuittanpa jarum 1 ml dan 5 ml
- *Handtally counter*
- Timbangan OZ
- Timbangan Digital Analitik
- Gelas ukur
- Pipet *Erytrocyt*
- Lap basah
- Kertas pH MN
- Pipet tetes
- *Haemocytometer*
- Alumunium foil
- Seser
- Kalkulator
- Bak Kolam
- Sikat gigi
- Akuarium 60 x 40 x30 cm^3
- Ember plastik
- Bak plastik
- Set Aerator
- Botol plastik 600 ml
- Botol kaca 120 ml
- Sikat cuci
- pH paper
- Pisau
- Nampan
- Telenan kayu
- *Sectiocet*
- *Heater*
- Kantong plastik
- Lemari pendingin (suhu 4 $^{\circ}$C)
- Jam
- *Cool box*
- Penggaris
- Rak tabung reaksi
- Meteran
- Mangkok
- Bulu ayam

3.1.2 Bahan-bahan penelitian

Adapun bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

- Induk jantan Lele Dumbomatang gonad
- NaCl-Fisiologis 500 ml
- Sari buah kurma 8 ml
- Larutan eosin
- Akuades
- Tisue
- Detergen
- Kertas saring
- Air
- Alkohol 70%
- Sperma ikan Lele Dumbo
- Kertas pH
- Kertas label
- Kapas
- Hormon reproduksi ikan merk Ovaprim

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yaitu dengan melakukan percobaan, perlakuan dan pengamatan terhadap objek penelitian untuk mengatahui hubungan antar *variable* yang diselidiki. Menurut Nazir (2005), metode eksperimen yaitu suatu metode yang mengadakan kegiatan percobaan untuk melihat suatu hasil atau hubungan klausal antara variable yang diselidiki. Tujuan eksperimen ini adalah untuk menemukan hubungan sebab akibat antar variabel. Penelitian eksprimen adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian dan selalu menggunakan kontrol.

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu rancangan yang digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

homogen. Pada umumnya percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dilakukan di laboratorium karena kehomogenan bisa dijamin, sebaliknya jika percobaan dilakukan di lapangan. Menurut Suhaemi (2011), bentuk umum dari model linier Rancangan Acak Lengkap adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu_{ij} + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

i = 1, 2, 3 ..... p (jumlah perlakuan)
j = 1, 2, 3 ..... p (jumlah ulangan)
Y_{ij} = nilai pengamatan pada satuan percobaan
α_i = efek perlakuan ke-i
ε_{ij} = galat percobaan pada satuan percobaan ulangan ke-j perlakuan ke-i

Penelitian ini mengacu pada beberapa penelitian sebelumnya yaitu tentang penambahan gula sederhana pada ekstender NaCl-Fisiologis selama masa penyimpanan sperma ikan. Penelitian utama yang diacu adalah penelitian Rahardianto *et al*. (2012) yaitu penambahan fruktosa dan glukosa dari madu pada ekstender (NaCl-Fisiologis) untuk meningkatkan peforma (viabilitas dan motilitas) spermatozoa ikan Patin (*Pangasius pangasius*). Penelitian tersebut menunjukkan hasil bahwa penambahan fruktosa dan glukosa dapat meningkatkan peforma (viabilitas dan motilitas) spermatozoa ikan dengan konsentrasi terbaik adalah 0,6% (sperma + 0,6 ml madu + 99,4 ml NaCl-Fisiologis). Pemilihan madu dan ikan Patin (*Pangasius pangasius*) pada penelitian tersebut dikarenakan madu memiliki kandungan gula sederhana yang tinggi yaitu sebesar 69%, sedangkan ikan Patin (*Pangasius pangasius*) merupakan salah satu ikan ekonomis penting yang memiliki nilai permitaan tinggi sehingga produksi ikan tersebut perlu dilakukan secara intensif.

Penelitian tersebut menjadi acuan dan pertimbangan dalam penelitian ini terutama dalam pemilihan jenis bahan penambah ekstender dan ikan. Pemilihan sari kurma sebagai bahan tambahan ekstender dikarenakan bahan tersebut

memiliki kandugan gula sederhana sebesar 50-70 % serta antioksidan tinggi sehingga bersifat antibakteri. Pemilihan ikan Lele Dumbo (*Clariass*p.) dikarenakan ikan tersebut merupakan jenis ikan dengan nilai permintaan yang tinggi dalam keperluan konsumsi maupun penelitian.

Penilitian ini dilakukan menggunakan 5 perlakuan konsentrasi, 1 kontrol dengan 3 ulangan. Penentuan perlakuan dan ulangan ini mengacu pada metode dan hasil Rahardianto *et al*. (2012) Pada perlakuan penambahan madu dalam NaCl-Fisiologis sebesar 0,2%, 0,4%, 0,6% dan 0,8% didapatkan hasil terbaik yaitu pada perlakuan 0,6%. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa dengan penggunaan sumber gula (glukosa dan fruktosa) tidak lebih 1 % didapatkan nilai konsentrasi optimal untuk kualitas spermatozoa ikan, sehingga batasan perlakuan konsentrasi sari kurma dalam penelitian ini ditetapkan dengan nilai tidak terlalu jauh dari batasan 1 % yaitu sebesar 2,5 %. Adapun perlakuan konsentrasi pada penelitian ini sebagai berikut :

Perlakuan A = 0,5% (sperma + 0,5 ml sari kurma dalam 99,5 ml NaCl-Fisiologis)

Perlakuan B = 1% (sperma + 1 ml sari kurma dalam 99 ml NaCl-Fisiologis)

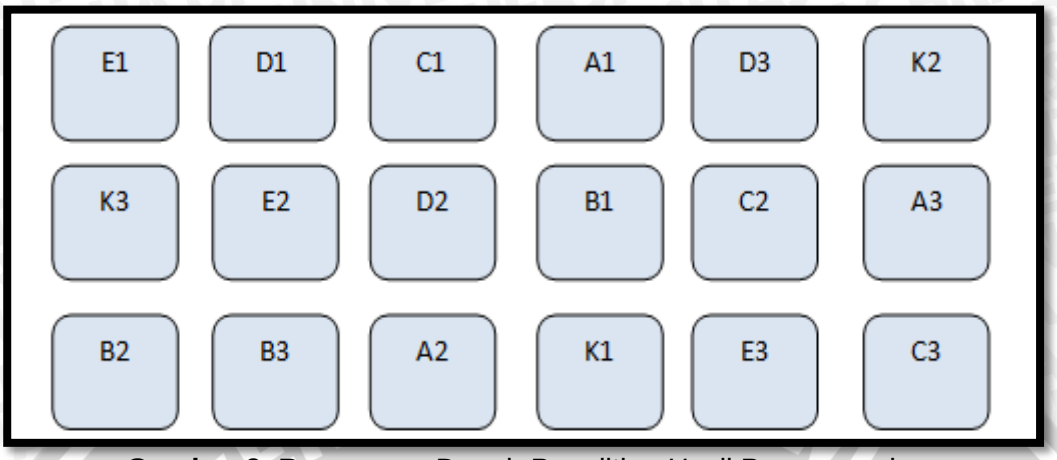
Perlakuan C = 1,5% (sperma + 1,5 ml sari kurma dalam 98,5 ml NaCl-Fisiologis)

Perlakuan D = 2% (sperma + 2 ml sari kurma murni dalam 98 ml NaCl-Fisiologis)

Perlakuan E = 2,5% (sperma + 2,5 ml sari kurma murni dalam 97,5 ml NaCl-Fisiologis).

Perlakuan K = Perlakuan Kontrol (tanpa dilakukan penambahan sari kurma dalam NaCl-Fisiologis).

Masing-masing perlakuan pada penelitian ini diulang sebanyak 3 kali dengan denah percobaan hasil dari pengacakan dapat dilihat pada Gambar 9:



Gambar 9. Rancangan Denah Penelitian Hasil Pengagacakan

Keterangan Gambar :

K = Kontrol
A, B, C, D, E = Perlakuan dengan konsentrasi penambahan sari kurma yang berbeda
1, 2, 3 = Pengulangan perlakuan

Media percobaan yang digunakan dalam penelitian ini berupa tabung *eppendorf* 15 ml dalam kondisi aseptis yang disusun pada rak tabung reaksi dan disimpan dalam lemari pendingin (suhu ± 4-5 ˚c) selama 48 jam atau 2 hari. Dasar penyimpanan sperma selama 48 jam adalah prosedur penelitian Rahardianto *et al*. (2009) Penyimanan spermatozoa ikan Patin (*Pangasius pangasius*) dengan menggunakan ekstender kombinatif NaCl-Fisiologis dan Madu dilakukan selama waktu penyimpanan yaitu selama 48 jam atau 2 hari. Selama penyimpanan peforma sperma (Motilitas dan Viabitas) diamati selama 2 kali yaitu pada hari ke-1 dan ke-2.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Induk

- Disiapkan akuarium pemeliharaan dan induk jantan Lele Dumbosesuai dengan kriteria dan jumlah yang dibutuhkan

- Akuarium pemeliharaan dibersihkan dari kotoran dengan cara disikat dan dicuci sampai bersih menggunakan sikat dan detergen kemudian dibilas dengan air bersih
- Akuarium pemeliharaan induk jantan Lele Dumbodiisi air sebanyak ¾ dari volume total serta ditambahkan *heater* dan 1 set-aerator
- Suhu air pada akuarium pemeliharaan diatur sebesar 28˚C, pengaturan tersebut disesuaikan dengan literatur suhu pemijahan Lele Dumbo. Menurut Nugroho (2013), suhu pemijahan Lele Dumboberkisar antara 24-28˚C. Pengaturan suhu pemijahan maksimal (28˚C) dimaksudkan untuk mendapatkan waktu *latency* lebih cepat
- Induk jantan Lele Dumbodiaklimatisasi dan ditampung pada akuarium pemeliharaan sebelum proses penyuntikan hormon dan pembedahan.

3.4.2 Persiapan dan Sterilisasi Wadah Percobaan (Tabung *Eppendorf* 5 ml)

- Disiapkan Tabung *eppendorf* 5 ml yang akan digunakan sebagai media percobaansesuai dengan jumlah dan kriteria yang dibutuhkan
- Tabung*eppendorf* 5 ml dicuci dan disikat menggunakan sikat dan detergen sampai debu dan kotoran yang melekat hilang, kemudian dibilas dengan air sampai bersih dan bau detergen hilang
- Tabung *eppendorf*5 ml dikeringkan dengan cara diangin-angikan sampai kering
- Tabung *eppendorf*5 ml diaseptiskan dengan cara disemprot alkohol 70% secara merata, kemudian diusap dengan tisue bersih sampai kondisi tabung setengah basah
- Tabung *eppendorf*5 ml disusun pada rak tabung reaksi berdasarkan denah percobaan yang telah ditentukan.

3.4.3 Penyuntikan Hormon Reproduksi Pada Induk Jantan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

- Induk jantan Lele Dumbodiambil dari akuarium pemeliharaan
- Induk jantan Lele Dumbodiukur panjang dan berattubuhnya
- Ditentukan dosis hormon reproduksi (Ovaprim) dan NaCl-Fisiologis dengan perbandingan 1 : 2 yaitu masing-masing sebanyak 0,3 ml dan 0,6 ml
- Spuit 1 ml yang akan digunakan saat injeksi disiapkan dan diaseptiskan Menggunakan alkohol 70%kemudian diisi larutan injeksi (hormon reroduksi + ovaprim)
- Menentukkan waktu *Latency*berdasarkan literature waktu *latency*Lele Dumbo. Menurut Sinjal (2014), waktu lantesi yang dibutuhkan untuk pemijahan ikan Lele Dumbo dengan dosis penyuntikan ovaprim 0,3 ml/kg yaitu sebesar 552 menit atau 9 jam. Bagian tubuh induk (Intramuscular) yang akan diinjeksi hormon reproduksi (merk ovaprim) diaseptiskan dengan kapas dan alkohol 70 %. Menurut Adipu *et al*. (2011), reproduksi buatan pada induk Lele Dumbodilakukan melalui injeksi Ovaprim sebanyak 2 kali pada bagian intramuscular, selanjutnya induk distripping untuk mendapatkan telur.
- Induk jantan Lele Dumbodiinjeksi hormon reproduksi(merk ovaprim) dan Na-fisiologis dengan dosis yang telah ditentukan
- Darah yang timbul akibat penyuntikan dibersihkan dengan kapas danalkohol 70 %
- Induk jantan Lele Dumbodikembalikan pada akuarium pemeliharaan dengan seser dan dikontrol sampai *latency time* habis.

3.4.4 Pengambilan GonadInduk Jantan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

- Setelah*latency time* habis, induk jantan Lele Dumbodiambil gonadnya (*testis*) dengan cara pembedahan
- Pembedahan dilakukan dengan langkah sebagai berikut:

  1. Perut dirobek secara vertikal ke atas melalui anus
  2. Pemotongan diteruskan searah mengikuti *Linea Lateralis* sampai *Post Operculum*
  3. Pemotongan secara vertikal ke bawah sampai bagian ventral
  4. Dibuka dengan hati-hati bagian pelapis tulang dan rongga organ dalam
  5. Daging dan tulang dipisahkan secara hati-hati hingga terpisah dengan isi perut, dipisahkan antara gonad dengan isi perut lainnya
  7. Dibersihkan darah dan lemak pada gonad menggunakan tisue.
  8. Disiapkan kertas saring sesuai ukuran gonad yang akan ditimbang
- Gonad (testis) diletakkan pada kertas saring kemudian ditimbang dengan menggunakan timbangan digital analitik.
- Gonad (testis) dicacah menggunakan gunting untuk mendapatkan semen, selanjutnya semen
- Diukur dan ditampung volumenya dengan *eppendorf* 15 ml
- Semen siap untuk diamati parameter makrokopisnya dan dibagi pada masing-masing wadah percobaan.

Menurut Nugroho (2013), pengambilan sperma pada induk jantan Lele Dumbo dilakukan dengan cara pembedahan setelah 8-10 jam setelah penyuntikan. Bagian-bagian gonad dipotong dengan pisaukemudian sperma ditampung pada mangkok yang sudah dibasahi larutan garam fisiologis. Gonad jantan (testis) kualitas baik berwarna putih susu.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

3.4.5 Pengamatan Parameter Makrokopis Spermatozoa Induk Lele Jantan (*Clarias* sp.)

Pengamatan makrokopis sperma dilakukan untuk menilai kualitas sperma. Pengamatan makrokopis, pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur dan mengamati beberapa parameter yaitu volume, warna dan pH sperma. Menurut Putra *et al*. (2014), pemeriksaansecara makroskopik merupakan pemeriksaan semen secara langsung tanpa memerlukan alat bantu yang rumit. Evaluasi makroskopik meliputi volume, warna, bau, kekentalan dan pH. Teknik pengukuran makrokopis (volume, warna dan pH) sebagai berikut:

- Volume sperma:

1. Gonad (testis) utuh dibedah untuk mendapatkan sperma total
2. Sperma total yang didapatkan diletakkan pada gelas ukur untuk menentukan volume total sperma tersebut
3. Dicatat data volume total sperma yang terlihat pada gelas ukur.

- Warna sperma:

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

- pH sperma:

1. Sperma segar diambil sedikit menggunakan spuit 1 ml
2. Sperma diletakkan pada pH paper atau pH meter
3. Nilai yang muncul pada pH meter atau nilai perbandingan yang cocok dengan tabel pH paper dicatat sebagai nilai pH sperma.

Menurut Susilawati (2011), teknik pemeriksaan makroskopis sperma sebagai berikut:

a. Volume, semen yang sudah ditampung pada 1 kali penampungan diukurdengan melihat langsung pada tabung berskala.

b. pH, diukur dengan cara mengambil sedikit semen segar dengan menggunakan ose dan diletakan pada kertas lakmus atau pH meter kemudian dilihat pH-nya.

c. Warna, dilihat pada tabung penampung (abnormal = mengandung air, darah, rambut preputium, nanah air kotor dan bau yang tidak normal). Semen normal putih kekuningan atau putih susu.

e. Kekentalan, dilihat dengan menuang sperma pada wadah satu ke wadah yang lain. Sperma normal memiliki kekentalan seperti santan.

3.4.6 Perlakuan Kontrol

- Tabung *eppendorf* 5 ml diisi dengan sperma sebanyak 0,1 ml dan 0,9 ml larutan control (NaCl-Fisiologis)
- Tabung *eppendorf*5 ml perlakuan kontrol disusun pada rak tabung reaksi sesuai RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang ditentukan.
- Perlakuan Kontrol siap disimpan pada lemari pendingin dengan suhu 4˚c.

3.4.7 Perlakuan Penambahan Sari Kurma

- NaCl-Fisiologis dan sari buah kurma disiapkan untuk membuat larutan kombinasi atau campuran
- Pembuatan larutan kombinasi disesuaikan dengan perlakuan yang telah ditentukan
- Adapun perlakuan yang ditetukan pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Perlakuan A = 0,5% (0,5 ml sari buah kurma murni dalam 99,5 ml NaCl-Fisiologis)
2. Perlakuan B = 1% (1 ml sari buah kurma murni dalam 99 ml NaCl-Fisiologis)

3. Perlakuan C = 1,5% (1,5 ml sari buah kurma murni dalam 98,5 ml NaCl-Fisiologis)

4 Perlakuan D = 2% (2 ml sari buah kurma murni dalam 98 ml NaCl-Fisiologis)

5. Perlakuan E = 2,5% (2,5 ml sari buah kurma murni dalam 97,5 ml NaCl-Fisiologis).

- Pemasukan sperma pada tabung *eppendorf*5 ml dilakukan dengan perbandingan 1 : 9 yaitu 0,1 ml sperma dicampur dengan 0,9 ml larutan kombinatif (NaCl-Fisiologis + sari buah kurma)
- Masing-masing tabung *eppedorf*5 ml disusun pada rak tabung reaksi sesuai dengan rancangan percobaan yang telah ditentukan.
- Perlakuan **A,B,C,D,E** siap disimpan pada lemari pendingin dengan suhu 4 °C

Menurut Rahardhianto *et al*. (2012), perlakuan penelitian penambahan monosakarida (glukosa dan fruktosa) pada ekstender dilakukan dengan dua cara yaitu perlakuan kontrol dan perlakuan penambahan. Pelakuan kontrol dibuat dengan komposisi

sebagai berikut:

D0 = Kontrol (sperma + 0 ml madu dalam NaCl-Fisiologis)

Sedangkan perlakuan penambahan monosakarida (fruktosa dan glukosa) dibuat dengan komposisi sebagai berikut:

D1 = 0,2 % Larutan (sperma + 0,2 ml madu dalam 99,8 ml NaCl-Fisiologis)

D2 = 0,4 % Larutan (sperma + 0,4 ml madu dalam 99,6 ml NaCl Fisiologis)

D3 = 0,6 % Larutan (sperma + 0,6 ml madu dalam 99,4 ml NaCl Fisiologis)

D4 = 0,8 % Larutan (sperma + 0,8 ml madu dalam 99,2 ml NaCl Fisiologis)

3.4.8 Penyimpanan Sampel Pada Lemari Pendingin

- Lemari pendingin dikondisikan pada suhu ± 4-5 °C

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

- Sampel pada rak tabung reaksi disimpan dalam lemari pendingin selama 48 jam atau 2 hari
- Pengamatan mikrokopis dilakukan setiap 12 jam sekali yaitu meliputi motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Menurut Rahardianto et al. (2012), penyimpanan sperma ikan Patin (*Pangasius pangasius*) menggunakan esktender kombinasi NaCl-Fisiologis dilakukan dengan masa Penyimpanan selama 2 hari. Selama penyimpanan sperma tersebut, dilakukan pengamatan mikrokopis untuk mengetahui perbedaan perlakuan konsentrasi ekstender kombinasi.

3.4.9 Perhitungan Konsentrasi Spermatozoa

- Pipet *erythrocyt* diisi semen murni sampai tanda 0,5
- Pipet *erythrocyt* ditambah larutan 3% NaCl sampai tanda 101 pada
- Larutan pada pipet dihomogenkan selama 2-3 menit
- Sebagian larutan tersebut dibuang kemudian dikocok lagi
- 1 tetes larutan deteteskan dan diamati pada *haemocytometer*
- Diamati sel pada 5 kotak*haemocytometer* untuk mendapatkan nilai N
- Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan rumus perhitungan sel darah

3.4.10 Pengamatan Motilitas Spermatozoa

- Diambil 0,045 ml atau 1 tetes sperma menggunakan spuit tanpa jarum 1 ml kemudian diletakkan pada obyek *glass*
- Obyek *glass* dengan 0,045 ml atau 1 tetes sperma diletakkan pada meja preparat mikroskop Binokuler
- Kemudian sperma pada *obyek glass* ditetesi 0,045 ml atau 1 tetes aquades
- Diamati motilitas spermatozoa dengan perbesaran 400X dengan kondisi tanpa ditutup *cover glass*

- Dihitung dan dinilaipersentase motilitas spermatozoa secara masa dan individu

3.4.11 Pengamtan Viabilitas Spermatozoa

- Diambil 0,1 ml sperma menggunakan spuit tanpa jarum 1 ml kemudian diletakkan pada obyek *glass*
- Obyek *glass* dengan 0,1 ml sperma ditetesi dan dihomogenkan dengan 0,1 ml eosin
- Dihomogenkan antara sperma dan eosin dengan cara mengaduk campuran keduanya
- Dibuat sampel tipis dengan cara menekan dan mendorong menggunakan *Cover glass* membentuk 45°
- Diletakan sampel pada meja preparat mikroskop Binokuler
- Diamati viabilitas dengan cara melihat dan menghitung spermatozoa hidup (berwarna transparan) kemudian dicatat hasilnya dalam bentuk persentase.

Menurut Rahardianto *et al*. (2012), Pengamatan motilitas dilakukan dengancara mengambil satu tetes sperma dengan menggunakan pipet (±0,01 ml) dandiletakkan pada obyek *glass* kemudian diteteskan dengan aquades diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran400X. Pengamatan viabilitas dilakukan denganpewarnaan eosin. Prosedur pengamatan dengan metode pewarnaanyaitu satu tetes sperma (± 0,01 ml) diletakkan pada obyek *glass* kemudian ditambah dan dihomogenkan dengan cairan pewarna, selanjutnya dibuat preparat dengan cara menekan dan mendorong menggunakan*cover glass* membentuk sudut 45° kemudian dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 400X. Motilitas sperma dinilai dengan menghitung jumlah sperma yang bergerak sedangkan viabilitas dinilai dengan menghitung jumlah spermatozoa yang berwarna terang (tidak menyerap pewarna eosin).

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diuji dalam penelitian ini adalah parameter mikrokopis sperma yang meliputi Konsentrasi, Motilitas dan Viabilitas sperma. Pengamatan mikrokopis penting dilakukan karena merupakan salah satu indikator dalam penilaian kualitas sperma. Berdasarkan pengamatan mikrokopis, sperma dengan kualitas baik memiliki persentase motilitas sebesar 70-90% serta didominasi sel terang saat pengamatan viabilitas. Penilainan persentaseMotilitas dan Viabilitas spermatozoa dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

A. Rumus Perhitungan Motilitas Spermatozoa

Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan dengan dua cara yaitu secara massa atau kelompok dan individu. Perhitungan motilitas spermatozoa secara massa dilakukan dengan mengacupada kategori penilaian Salmah (2014) sebagai berikut:

- Sangat baik (+++), terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif bagaikan gumpalan awan hitam saat akan turun hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat.
- Baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.
- Cukup (+), jika terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif.
- Buruk (N, *necrospermia* atau 0), bila hanya sedikit atau tidak ada gerakan-gerakan individual.

Menurut Fitriani *et al*. (2010), pengamatan motilitas spermatozoa dilakukandengan menghitung jumlah spermatozoa motil dari 100 spermatozoayangdiamati.

Rumus perhitungan motilitas individu spermatozoa dengan jumlah 100 sel yang diamati sebagai berikut:

$$\textbf{\% MOTILITAS} = \frac{\textbf{Total Spermatozoa Bergerak}}{\textbf{Total Spermatozoa Yang Diamati (100)}} \textbf{X } 100\%$$

B. Rumus Perhitungan Viabilitas Spermatozoa

Perhitungan presentase viabilitas spermatozoa dilakukan dengan cara menghitung dan membandingkan jumlah spermatozoa hidup (berwarna transparan atau hijau) dengan spermatozoa yang mati (berwarna merah atau merah hijau). Hasil perbandingan jumlah spermatozoa hidup dengan yang matidiubah nilainya dalam bentuk persentase dengan dikali 100%. Menurut Fitriani *et al*. (2010),Pengamatan hidup atau mati sperma dilakukan dengan cara meneteskan pewarnaan eosin B dan nigrosin pada sampel. Spermatozoa mati berwarna merah keunguan, sedangkan spermatozoa yang hidup akan terlihat berwarna putih pada bagian kepala. Pengamatan hidup atau mati spermatozoa dilakukan dengan cara menghitung jumlah spermatozoa hidup dari 100 spermatozoa yang diamati. Rumus perhitungan viabilitas spermatozoa dengan jumlah 100 sel yang diamati sebagai berikut:

$$\textbf{\% VIABILITAS} = \frac{\textbf{Total Spermatozoa Sel Terang}}{\textbf{Total Sperma Yang Diamati (100)}} \textbf{X } 100\%$$

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang merupakan parameter yang diamati untuk mendapatkan data penunjang sebagai data pendukung yang membantu analisis gejala-gejala yang timbul pada data utama. Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini adalah parameter makrokopis sperma yang meliputi Warna, pH dan Volume sperma dan konsentrasi sperma. Pengamatan makrokopis penting dilakukan sebab data makrokopis sperma merupakan salah satu indikator penilain kualitas sperma sebelum dilakukan pengecekkan lebih lanjut

(pemeriksaan mikrokopis). Berdasarkan standarisasi hasil data pengamatan makrokopis, sperma normal atau berkualitas baik memiliki pH cenderung netral (6-8) dan berwana putih susu atau kekuningan. Sedangkan sperma bervolume baik sebagian besar mengandung sperma murni atau sedikit mengandung air, darah dan lemak yang dapat meningkatkan volume sperma.

Perhitungan konsentrasi perlu dilakukan untuk mengetahui jumlah sel spermatozoa per ml-nya. Perhitungan konsentrasi spermatozoa dilakukan dengan menggunakan cara perhitungan sel darah merah dengan alat hitung pipet *erytrocit* dan *haemocytometer* dan penambahan larutan NaCl 3 %. Penambahan larutan tersebut dimaksudkan untuk mematikan spermatozoa sehingga mempermudah perhitungan. Menurut Feradis (2010) *dalam* Salmah (2014), metode perhitungan spermatozoa menggunakan *haemocytometer* dimulai dengan pipet *erythrocyt* diisi dengan semen yang belum diencerkan sampai tanda 0,5. Suatu larutan 3% NaCl dihisap sampai tanda 101 pada pipet, larutan tersebut mengecerkan sekaligus mematikan spermatozoa. Larutan dikocok hati-hati tetapi cukup cepat menurut angka 8 selama 2 sampai 3 menit. Beberapa tetes dibuang dan dikocok lagi kemudian satu tetes ditempatkan di bawah gelas penutup pada kamar hitung sel darah merah menurut Neubauer. Sel-sel spermatozoa di dalam 5 kamar dihitung menurut arah diagonal. Setiap kamar mempunyai 16 ruangan kecil, maka di dalam 5 kamar terdapat 80 ruangan kecil. Dengan volume setiap ruangan kecil adalah 0,1 mm^3dan pengenceran 200 kali, dan apabila di dalam 5 kamar atau 80 ruangan kecilterdapat X spermatozoa, maka konsentrasi spermatozoa yang diperiksa menggunakan *haemocytometer* sebagai berikut:

$$\textbf{Sel/mm}^3 = N\,\frac{400}{80}\,\mathbf{X\ 10\ X\ 20}$$

3.6 Analisis Data

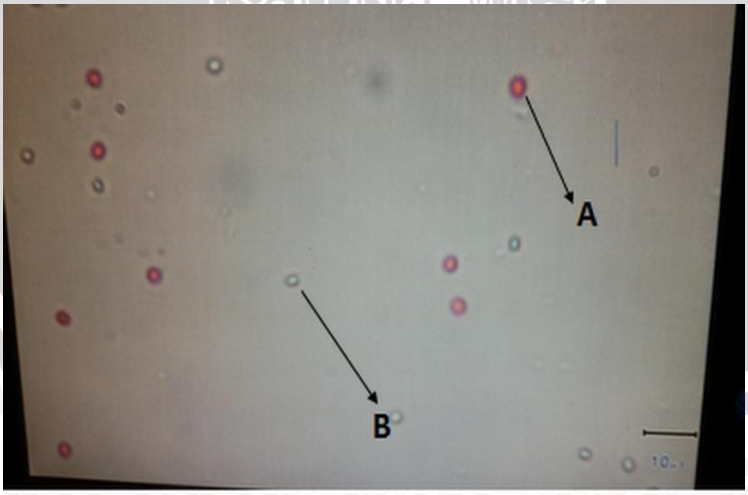
Analisa data yang digunakan pada penelitian ini sesuai dengan Rancangan Acak Lengkap yang digunakan yaitu dengan 3 kali ulangan pada 5 perlakuan. Pengaruh perlakuan yang timbul dianalisis dengan uji keragaman atau F. Apabila nilai F berbeda nyata atau sangat nyata, selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan yang memberi respon terbaik pada taraf atau derajat kepercayaan 5% dan 1%. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipengaruhi digunakan analisa regresi yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan yang terbaik pada respon.

4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian Parameter Utama

4.1.1 Viabilitas Spermatozoa

Persentase daya hidup atau viabilitas dihitung berdasarkan perbandingan jumlah spermatozoa hidup dari total spermatozoa yang diamati (100) dan dikalikan 100 %. Pengamatan viabilitas atau daya hidup dilakukan dengan menggunakan metode pewarnaan *eosin negrosin*. Berdasarkan hasil pewarnaan, spermatozoa hidup berwarna transparan atau tidak menyerap zat pewarna sedangkan spermatozoa mati berwana merah atau menyerap zat warna. Penyerapan eosin pada spermatozoa mati dikarenakan membran sel mengalami kerusakan sehingga menyebabkan menurunnya sifat permeabilitas atau tidak selektif. Menurut Winarto dan Isnaini (2008), membran pada spermatozoa yang mati tidak permeabel (tidak selektif) terhadap zat warna atau memiliki aftinitas yang rendah sehingga menyebabkan spermatozoa yang mati berwarna merah. Perbedaan sel spermatozoa hidup dan mati dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Hasil pengamatan viabilitas tanda panah **(a)** spermatozoa mati **(b)** spermatozoa hidup(Dokumentasi pribadi, 2015)

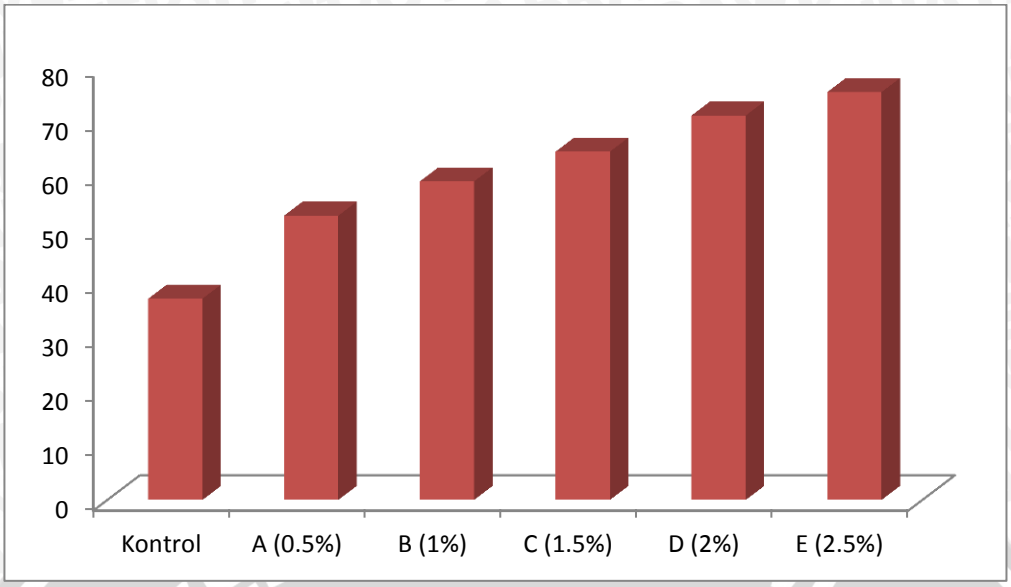
Data hasil pengamatan persentase viabilitas sperma ikan Lele Dumbo dapat dilihat pada Tabel1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Viabilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.) (%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	27.5	41	43	111.5	37.16667
A (0.5%)	56.5	52.5	48.5	157.5	52.5
B (1%)	54.5	63.5	58.5	176.5	58.83333
C (1.5%)	55	65.5	72.5	193	64.33333
D (2%)	72.5	76	64.5	213	71
E (2.5%)	77	79.5	69.5	226	75.33333
Total				1077.5	

Berdasarkan data pada tabal 1 diketahui bahwa perlakuan penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berbeda dalam NaCl-Fisiologis menghasilkan nilai viabilitas ikan lele Dumbo yang berbeda selama masa penyimpanan. Perlakuan E dengan konsentrasi sari buah kurma tertinggi yaitu 2,5% memberikan hasil viabilitas yang tertinggi yaitu 75,33%.Hal ini menunjukkan bahwa penambahan sumber fruktosa dan glukosa dengan kadar tinggi dapat menyediakan energi yang lebih banyak pada spermatozoa sehingga menghasilkan nilai viabilitas yang lebih tinggi juga. Menurut Rahardhianto, *et al*. (2012), energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa ini disediakan oleh gula sederhana (monosakarida) seperti fruktosa dan glukosa. Penambahan fruktosa atau glukosa dalam pengencer berguna untuk mendukung daya hidup spermatozoa pasca pengenceran. Karena proses pembentukan Adenosin Trifosfat (ATP) dan Adenosin Difosfat (ADP) harus terus dilakukan agar sperma terus dapat hidup (viabilitas).

Perbedaan data hasil pengamatan viabilitas pada masing-masing perlakuan dikarenakan setiap perlakuan menyediakan sumber energi yangberbeda dimana berdasarkan data tersebut nilai viabilitas berbanding lurus dengan nilai konsentrasi sari kurma yang diberikan. Perbedaan hasil data pengamatan viabilitas tersebut secara jelas juga dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik viabilitas sperma ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

Berdasarkan gambar grafik di atas didapatkan rincian hasil rata-rata viabilitas setiap perlakuan yaitu kontrol (tanpa penambahan sari buah kurma) viabilitas sebesar 37,16%, perlakuan A (penambahan 0,5 %) viabilitas sebesar 52,5%, perlakuan B (penambahan 1%) viabilitas sebesar 58,83%, perlakuan C (penambahan 1,5 %) viabilitas sebesar 64,33 %, perlakuan D (penambahan 2%) viabilitas sebesar 71% dan perlakuan E (penambahan 2,5%) viabilitas sebesar 75,33%. Pada data grafik tersebut menunjukkan perbandingan data hasil antara perlakuan A, B, C, D, dan E dengan Kontrol, dimana perlakuan kontrol menghasilkan data viabilitas lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan A,B,C,D dan E. Hal ini dikarenakan kandungan fruktosa dan glukosa sari buah kurma pada perlakuan A, B, C, D, E dapat menyediakan energi untuk mendukung kehidupan spermatozoa sehingga perlakuan K tanpa penambahan sari kurma, memiliki nilai viabilitas terendah. Menurut Rahmadi (2010), komponen penyusun buah kurma sebagian besar merupakan gula pereduksi glukosa dan fruktosa yang mencapai sekitar 20-70% (bobot kering) diikuti gula non-pereduksi sukrosa yang berkisar 0-40%. Secara umum, semakin matang buah kurma, kadar glukosa dan fruktosa akan semakin meningkat dan kadar

serat kasar cenderung menurun. Menurut Soehartojo (1995)*dalam*Kurniawan,*et al*. (2013), bahan utama yang dimanfaatkan spermatozoa sebagai sumber energi dari luar testis adalah fruktosa yang mampu mengurangi kecepatan rusaknya permeabilitas spermatozoa, sehinggakebutuhan akan nutrisi dan energi yang berupa ATPtidak terhambat sehingga spermatozoa dapat bertahan hidup.

Pengaruh penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berbeda pada NaCl-Fisiologis terhadap viabilitas spermatozoa ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) selama masa penyimpanan dapat diketahui dan dianalisa dengan analisis sidik ragam. Hasil sidik ragam viabilitas spermatozoa ikan Lele Dumbo terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil sidik ragam *presentase*viabilitas ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	
Perlakuan	5	2861.23	572.24	13.91	3.02	4.86	**
Galat	12	493.66	41.13				
Total	17	3354.90					

Kesimpulan (** = Berbeda sangat nyata) : F hitung > F tabel 5% dan 1 % menunjukkan pemberian konsentrasi sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis dengan konsentrasi berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap presentase viabilitas spermatozoa ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) selama masa penyimpanan

Hasil sidik ragam pada Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai F hitung lebih besar daripada nilai F 1% yaitu sebesar 13,91. Hal tersebut menunjukkanbahwa perlakuan penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berebeda pada NaCl-Fisiologis memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap viabilitas spermatozoa ikan Lele Dumboselama masa peyimpanan. Berdasarkan hasil sidik ragam tersebut maka data parsentase viabilitas ikan Lele Dumbo dapat dilakukan uji lanjut yaitu uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui respon terbaik dan mengetahuiperbedaan terkecil pada masing-

masing perlakuan. Hasil Uji BNT data parsentaseviabilitas ikan Lele Dumbo tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

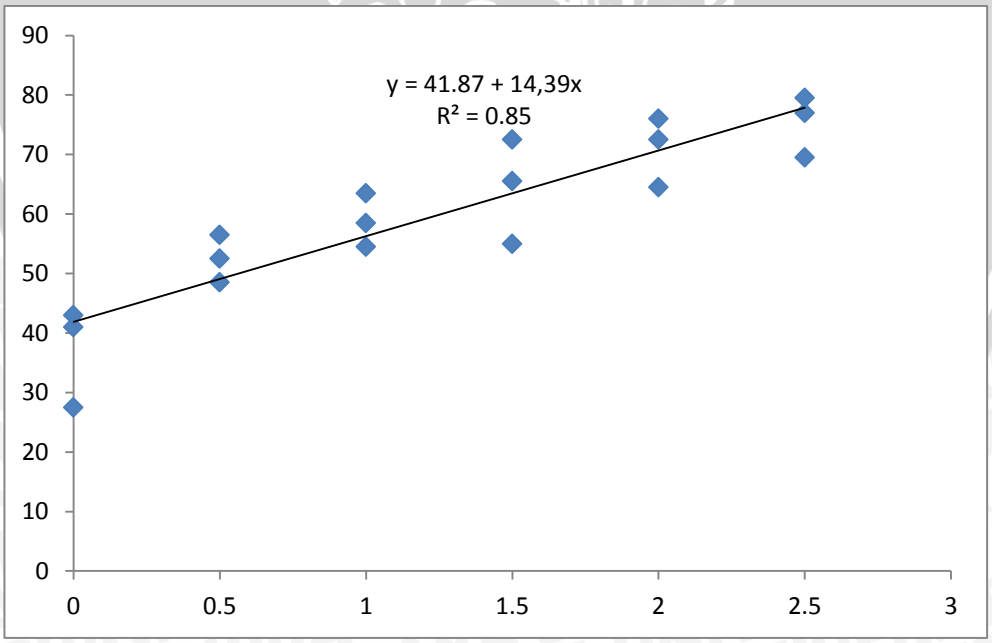
Tabel 3. Hasil uji BNT presentase viabilitas ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

Perlakuan Rata2	Kontrol 37,17	A 52,50	B 58,83	C 64,33	D 71	E 75,33	Notasi
37,17	-						**a**
52,50	15,33*	-					**b**
58,83	21,66**	6,33ns	-				**bc**
64,33	27,16**	11,83*	5,5ns	-			**cd**
71	33,83**	18,5**	12,17*	6,67ns	-		**d**
75,33	38,16**	22,83**	16,5**	11ns	4,33ns	-	**d**

Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan bahwa persentase viabilitas spermatozoa pada perlakuan C, D dan E dengan penambahan konsentrasi sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis masing-masing sebesar 1,5%, 2% dan 2,5% merupakan perlakuan terbaik selanjutnya diikuti perlakuan B, A dan K. Hal tersebut menunjukkan bahwa kadar sari buah kurma yang lebih tinggi dengan diiukuti konsentrasi fruktosa dan glukosa tinggi dapat menyediakan energi lebih ideal dibandingkan perlakuan penambahan konsentrasi sari buah kurma yang rendah. Suehartojo (1995) *dalam* Condro, *et al*. (2013) menyatakan bahan utama yang dipakai spermatozoa sebagai sumber energi dari luar testis adalah fruktosa yang diubah menjadi asam laktat dan energi dengan bantuan enzim fruktolisin dalam proses glikolisis. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui perbedaan antar perlakuan yaitu perlakuan dengan perbedaan nyata terdapat pada perlakuan K dengan perlakuan A, B, C, D, E, perlakuan A dengan C,D,E, perlakuan B dengan D, E. Perlakuan dengan perbedaan tidak nyata terdapat pada perlakuan A dengan B, perlakuan B dengan C, perlakuan C dengan D, perlakuan D dengan E.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Pola hubungan antara perlakuan penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi berbeda dalam NaCl-Fisiologisdengan persentase viabilitas spermatozoa ikan lele Dumbo (*Clarias* sp.) selama masa peyimpanan, diuji menggunakan uji *polynomial ortoghonal*(lampiran2). Berdasarkan uji tersebut didapatkan regresi linier dan nilai persamaanya yaitu y = 41,87 + 14,39x yang tertulis pada Gambar 10. Nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0.85 dengan titik tertinggi persentase viabilitas atau daya hidup spermatozoa ikan lele Dumbo sebesar 77,84% pada perlakuan E (penambahan sari buah kurma sebesar 2,5 %). Hal tersebut menunjukkan bahwa ketersedian sari buah kurma yang tinggi diikuti dengan kandungan fruktosa dan glukosa tinggi mampu menyediakan energi untuk spermatozoa sehingga mendukung daya hidupnya. Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa disediakan oleh gula sederhana seperti fruktosa. Penambahan fruktosa dalam pengencer berguna untuk mendukung daya hidup spermatozoa pasca pengenceran (Salisbury dan Demark, 1985 *dalam* Naiggolan, *et al*. 2015).



Gambar 12. Grafik hubungan antra penambahan konsentrasi berbeda sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis dengan viabilitas spermatozoa ikan lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) selama masa penyimpanan.

4.1.2 Motilitas Individu Spermatozoa

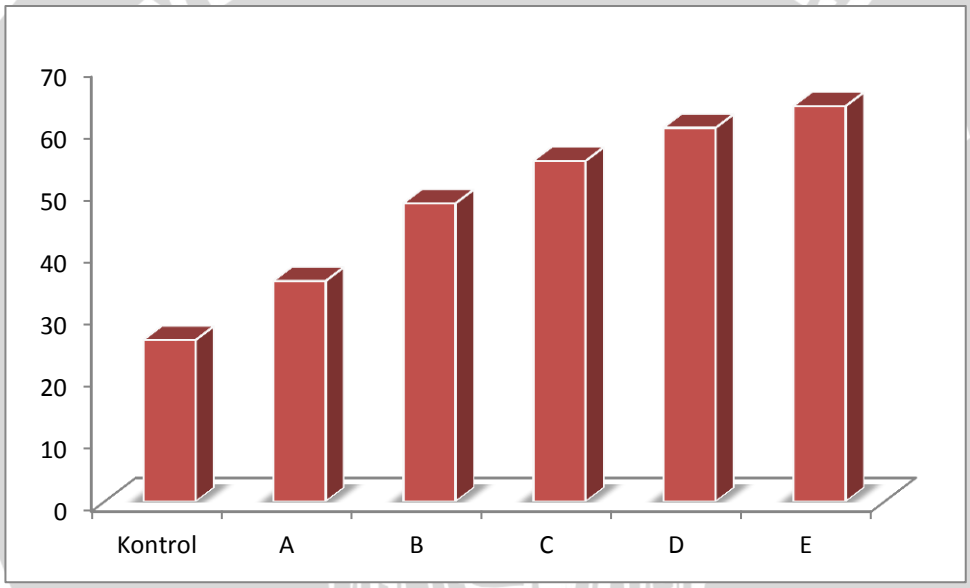
Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan salah satu faktor yang menentukkan dan menunjukkan kualitas sperma. Motilitas spermatozoa pada penelitian ini dihitung dengan cara membandingkan jumlah spermatozoa yang bergerak dengan total spermatozoa yang diamati yaitu sebanyak 100 sel kemudian diubah dalam bentuk persentase dengan dikalikan 100 %. Menurut Fitriani, *et al*. (2010), pengamatan motilitas spermatozoa dilakukandengan menghitung jumlah spermatozoa motil dari 100 spermatozoa yang diamati. Pengamatan pergerakan spermatozoa ditentukan dengan cara melihat spermatozoa yang bergerak dan mengabaikan jenis pergerakannya. Menurut Rahardhianto, *et al* (2012), motilitas spermatozoa ikan patin ditentukan dari banyaknya jumlah spermatozoa yang bergerak dari suatu lapang pandang. Dalam penelitian tersebut kategori pergerakan spermatozoa diabaikan, artinya semua jenis kategori pergerakan spermatozoa pada saat pengamatan dihitung dan dipersentasekan. Data hasil pengamatan parsentase motilitas spermatozoa ikan Lele Dumbopada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil persentase motilitas ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	23	26	29	78	26
A (0,5%)	35,5	41	30	106,5	35,5
B (1%)	36,5	54	53,5	144	48
C (1,5%)	54,5	54,5	55,5	164,5	54,83333
D (2%)	58	68	54,5	180,5	60,16667
E (2,5%)	65	68	58	191	63,66667
Total				864,5	

Berdasarkan data motilitas pada table 4 terlihat bahwa masing-masing perlakuan penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berbeda pada ekstender NaCl-Fisiologis selama masa penyimpanan menghasilkan nilai persentasemotilitas yang berbeda. Nilai persentase motilitas tertinggi didapatkan

pada perlakuan E dengan konsentrasi penambahan sari buah kurma yang paling tinggi yaitu sebesar 2,5%. Hal tersebut menunjukkan bahwa ketersedian sumber energi dalam bentuk fruktosa dan glukosa dengan konsentrasi tinggi dapat menghasilkan motilitas yang lebih tinggi. Menurut, Tumanung *et al*. (2015) pergerakan spermatozoa memerlukan energi seperti halnya pada sel-sel hidup lainnya. Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa diperoleh dari gula sederhana seperti fruktosa dan glukosa. Perbedaan dan perbandingan hasil pengamatan persentasemotilitas pada masing-masing perlakuan dapat dilihat juga pada Gambar 13.



Gambar 13. Grafik Motilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

Berdasarkan gambar grafik diatas didapatkan rincian hasil rata-rata motilitas setiap perlakuan yaitu kontrol (tanpa penambahan sari buah kurma) motilitas sebesar 26%, perlakuan A (penambahan 0,5%) sebesar 35,5%, perlakuan B (penambahan 1%) sebesar 48%, perlakuan C (penambahan 1,5%) sebesar 54,83%, perlakuan D (penambahan 2%) sebesar 60,17% dan perlakuan E (penambahan 2,5%) motilitas 63,67%. Pada data grafik tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sari buah kurma sebagai sumber energi dalam NaCl-Fisiologis maka motilitaspun semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan hasil

penelitian Tumanung,*et al*. (2015) tentang penambahan madu dalam pengenceran sperma untuk meningkatkan motilitas, fertilisasi dan daya tetas telur ikan mas (*Cyprinus carpio* L). Pada penelitian tersebut menunjukkan terjadi kenaikan motilitas seiring dengan penambahan madu dalam NaCl-fisiologis sampai 80% dan tingkat motilitas terendah pada perlakuan tanpa penambahan madu yaitu 56,67%. Ini berarti dengan penambahan madu yang lebih tinggi memberikan pengaruh yang nyata terhadap motilitas. Peran madu dalam penelitian tersebut adalah sebagai sumber energi bagi spermatozoa karena mengandung fruktosa dan glukosa yang cukup tinggi.Menurut Rahardhianto, *et al*. (2012), gula sederhana (monosakarida) yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk menjaga kelangsungan hidupnya terkandung dalam madu.

Sari buah kurma sebagai bahan tambahan yang memberi nutrisi pada NaCl-Fisiologis memiliki karakteristik yang sama dengan madu yaitu mengadung glukosa dan fruktosa yang cukup tinggi sehingga dapatmenyediakan energi pada pergerakan spermatozoa selama masa penyimpanan. Menurut Retnowati dan Joni (2014), buah kurma mengandung komponen penyusun buah yang sebagian besar merupakan gula pereduksi, yaitu glukosa dan fruktosa sekitar 20-70% (bobot kering). Karena banyaknya kandungan senyawa tersebut maka kurma memiliki banyak manfaat. Sehingga buah kurma mudah dicerna dan cepat mengganti energi tubuh yang hilang. Menurut Marzuki (2012), buah kurma juga mengandung beberapa vitamin antara lain vitamin A, tiamin (B1), riboflavin (B6), niasin, dan vitamin E.Kandungan multivitamin pada buah kurma tersebut berperan penting dalam proses metabolisme sel sperma. Pengaruh penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berbeda pada NaCl-Fisiologis terhadap motilitas spermatozoa ikan Lele Dumbo dapat diketahui dan dianalisa dengan analisis sidik ragam. Hasil sidik ragam persentasemotilitas spermatozoa ikan Lele Dumboterlihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil sidik ragam presentasemotilitas ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	
Perlakuan	5	3241.236	648.2472	18.15395	3.11	5.06	**
Galat	12	428.5	35.70833				
Total	17	3669.736					

Kesimpulan (** = Berbeda sangat nyata) : F hitung > F tabel 5% dan 1 % menunjukkan pemberian konsentrasi sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis dengan konsentrasi berpengaruh berbeda sangat nyata terhadap *presentase* motilitas spermatozoa ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Hasil sidik ragam pada Tabel 5 menunjukkan bahwa nilai F hitung lebih besar daripada nilai F tabel 1% yang berarti perlakuan penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berebeda pada NaCl-Fisiologis memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap persentase motilitas spermatozoa ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) selama masa peyimpanan. Berdasarkan hasil sidik ragam tersebut maka data persentase motilitas dapat dilakukan uji lanjut yaitu uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahuiperbedaan antar perlakuan dan respon terbaik pada masing-masing perlakuan. Hasil Uji BNT data persentasemotilitas atau daya gerak tersebut dapat dilihat pada Tabel 6.

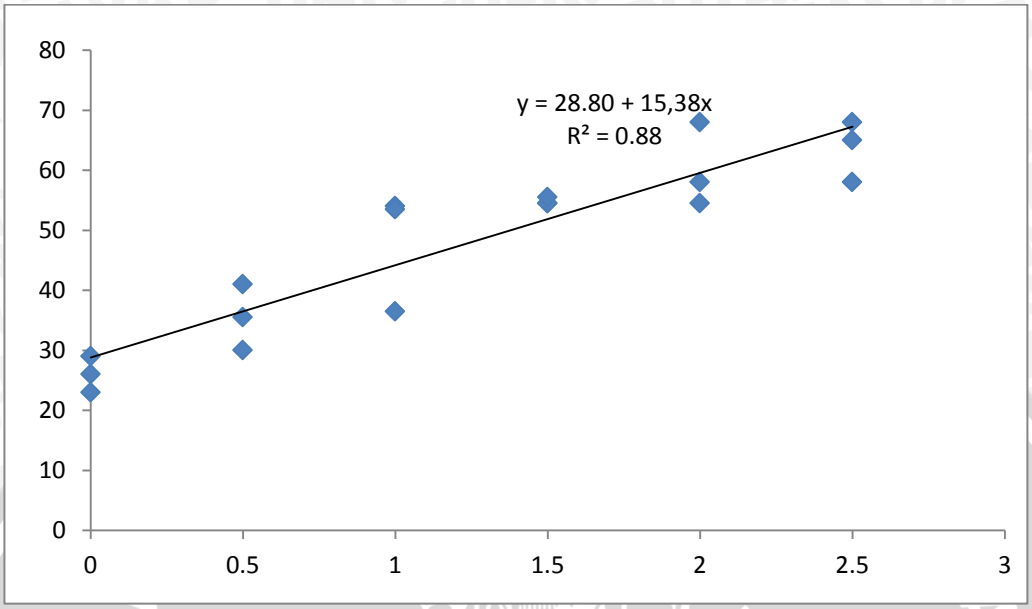
Tabel 6. Hasil uji BNT persentase motilitas ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

Perlakuan Rata2	Kontrol2 6	A 35,5	B 48	C 54,83	D 60,17	E 63,67	Notasi
26	-						**a**
35,5	$9,5^{ns}$	-					**a**
48	22^{**}	$12,5^{*}$	-				**b**
54,83	$28,83^{**}$	$19,33^{**}$	$6,83^{ns}$	-			**bc**
60,17	$34,17^{**}$	$24,67^{**}$	$12,17^{*}$	$5,34^{ns}$	-		**c**
63,37	$37,37^{**}$	$27,87^{**}$	$15,37^{**}$	$8,54^{ns}$	$3,2^{ns}$	-	**c**

Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa ikan Lele Dumbo pada perlakuan E dengan penambahan konsentrasi sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis sebesar 2,5% memberikan hasil persentasemotilitas terbaik kemudian diiukuti dengan perlakuan D,C,B,A dan K. Hal tersebutmenunjukkan bahwa kadar sari buah kurma yang lebih rendahmenghasilkan persentasemotilitas yang lebih rendah sebab NaCl-Fisiologis tanpa sumber fruktosa dan glukosa kurang menyediakan energi untuk pergerakan spermatozoa. Menurut Sulmarti, *et al*. (2011), terbatasnya kandungan monosakarida pada perlakuan yang menggunakan pengencer NaCl-fisiologis mengakibatkan rendahnya ketersediaan sumber energi untuk pergerakan spermatozoa. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui perbedaanantar perlakuan yaitu perlakuan dengan perbedaan nyata terdapat perlakuan K dengan B, C, D dan E, B dengan D, E sedangkan perlakuan dengan perbedaan tidak nyata terdapat pada perlakuan K dengan A, B dengan C , C dengan D dan E, D dengan E.

Pola hubungan antara perlakuan penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi berbeda dalam NaCl-Fisiologis terhadap parsentase motilitas ikan lele Dumbo (*Clarias*sp.) selama masa penyimpanan,diuji menggunakan uji *polynomial ortoghonal* (lampiran 4). Berdasarkan uji tersebutdidapatkan regresi linier dan nilai persamaan y = 28,80 + 15,38x yang tertulis pada Gambar 12. Nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0.88 dengan titik tertinggi parsentase motilitas spermatozoa ikan lele Dumbo sebesar 67,25% pada perlakuan E (penambahan sari buah kurma sebesar 2,5%). Hal tersebut menunjukkan bahwa ketersedian sari buah kurma yang tinggi diikuti dengan kandungan fruktosa dan glukosa tinggi mampu menyediakan energi untuk spermatozoa bergerak.Menurut Ponglowhapan (2004) *dalam* Payung (2015) menyatakan bahwa glukosa dan

fruktosa mempunyai pengaruh yang besar terhadap motilitas yaitu dapat mempertahankan pergerakan spermatozoa.



Gambar 14. Grafik hubungan penambahan konsentrasi berbeda sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis dengan motilitas spermatozoa ikan lele Dumbo (*Clarias* sp.) selama masa penyimpanan.

4.1.3 Data Motilitas Massa Spermatozoa

Motilitas massa spermatozoa adalah pergerakan sperma yang dilihat dan dinilai berdasarkan pergerakan secara massa dimana pengamatan atau penilaian dilakukan secara subjektif sehingga data yang didapatkan dalam bentuk kualitatif. Menurut Salmah (2014), spermatozoa dalam suatu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama ke satu arah yang menyerupai gelombang-gelombang yang tebal dan tipis, bergerak cepat atau lamban tergantung dari konsentrasi spermatozoa hidup di dalamnya. Nilai motilitas massa spermatozoaselain dipengaruhi oleh kualitas internal sperma, jenis pengencer dan lama penyimpanan juga dipengaruhi oleh kepadatan sel. Semakin padat sel sperma maka pergerkan individu sel sperma semakin terbatas dan memudahkan terbentuknya pergerakan massa sel

spermayangdikenal dengan gerakan gelombang sperma. Nilai motilitas massa sperma ikan Lele Dumbo selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil penilaian motilitas massa ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

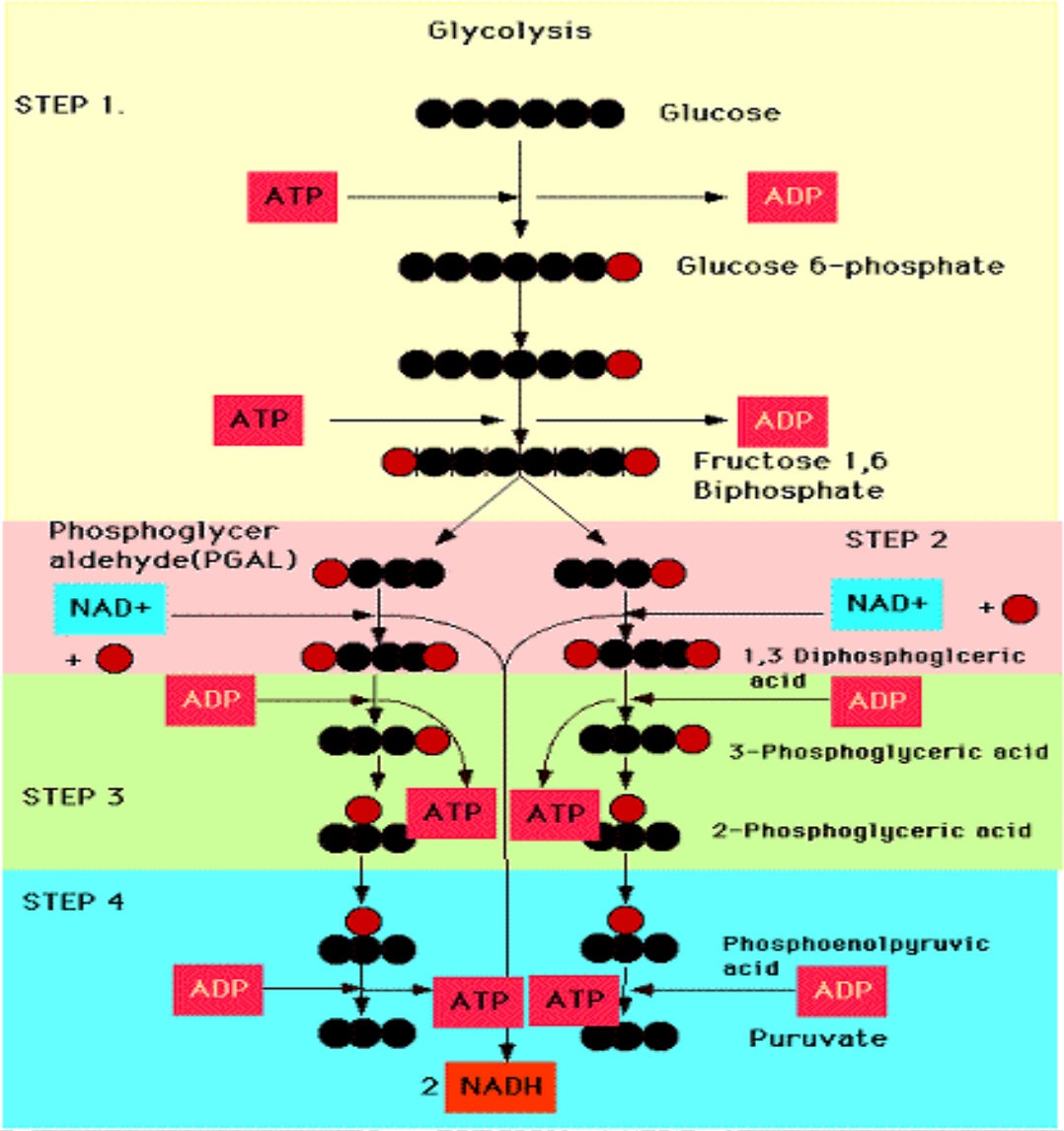
Perlakuan **Ulangan**	**Kontrol** **(0%)**	**A** **(0.5%)**	**B** **(1%)**	**C** **(1.5%)**	**D** **(2%)**	**E** **(2.5%)**
1	+	+	+	+	++	++
2	+	+	+	+	++	++
3	+	+	+	+	++	++
Hari Ke 1						
1	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
Hari Ke 2						

Nilai motilitas massa spermatozoa terus mengalami penurunan mengikuti nilai viabilitas dan lama penyimpanan spermatozoa tersebut. Berdasarkan data pada Tabel 7nilai motilitas pada sampel percobaan didapatkan 2 jenis kategori yaitu nilai + yang berarti pada sampel tersebut tidak ditemukan gerakan massa berupa gerakan gelombang melainkan gerakan per-sel yang sangat aktif dan nilai ++ menunjukkan pergerakkan sperma pada sampel sudah menunjukkan sedikit pergerakan gelombang dengan kecepatan gerakan bersifat lamban. Menurut Salmah (2014), 2 kategori penilain motilitas sperma yaitu baik (++) bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban. Cukup (+) jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif. Nilai motilitas + hari pertama terdapat pada perlakuan Kontrol, A, B dan C, hari kedua terdapat pada semua perlakuan. Nilai motilitas ++ hari pertama terdapat pada perlakuan D dan E, hari kedua tidak terdapat

pada semua perlakuan. Nilai ++ pada perlakuan D dan E disebabkan pada perlakuan tersebut konsentrasi sari buah kurma yang tinggi mampu menyediakan energi untuk pergerakan spermatozoa. Menurut Tumanung, *et al*. (2015), pergerakan spermatozoa memerlukan energi seperti halnya pada sel-sel hidup lainnya. Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa diperoleh dari gula sederhana seperti fruktosa dan glukosa.

4.1.4 Mekanisme Pembentukan Energi ATP Fruktosa dan GlukosaPadaSpermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)

Proses pembetukan energi dalam bentuk ATP berbahan dasar glukosa dan fruktosa dalam spermatozoa dilakukan secara aerob yaitu melalui prosesglikolisis termasuk fruktolisis. Keutamaan bahan glukosa dan fruktosa adalah monosakarida tersebut merupakan golongan gula heksosa yang memiliki energy lebih tinggi dibandingkan dengan monosakarida lainnya disamping itu monosakarida tersebut memeliki kemampuan untuk diubah menjadi gula sederhana lainnya seperti ribose untuk penyusun asam nukleat, lactose komposisi susu dan sukrosa membantu kerja hepar. Proses glikolisis pada dasarnya mengubah gula menjadi 2 Asam piruvat, 2 ATP, 2 NADH, 2H+ dan 2 H2O. Menurut Campbell dan Jane (2012), glikolisis dapat terbagi menjadi dua fase: investasi energi dan pembayaran energi. Selama fase investasi energi, sel sebenarnya menggunakan ATP. Investasi ini terbayar kembali disertai bunga pada fase pembayaran energi, ketika ATP dihasilkan oleh fosforilisasi tingkat-substrat dan NAD+ direduksi menjadi NADH oleh elektron yang dilepaskan dari oksidasi glukosa. Hasil netto dari glikolisis , permolekul glukosa , adalah 2 ATP plus 2 NADH. Pada akhirnya, semua karbon yang awalnya terdapat dalam glukosa menjadi berada dalam dua molekul piruvat: tidak ada CO2 yang dilepaskan selama glikolisis. Terjadinya glikolisis tidak bergantung dari ada atau tidaknya O2.Proses glikolisis dan fruktolisis dapat dilihat pada Gambar **9**.



Gambar 15. Proses glikolisis& Fruktolisi (pemecahan glukosa dan fruktosa).

4.2 Hasil Peneilitian Parameter Penunjang

4.2.1 Konsentrasi Sperma

Konsentrasi sperma menunjukkan banyaknya sel sperma (spermatozoa) dalam setiap ml-nya. Konsentrasi sperma juga menunjukkan kepadatan sel sperma (spermatozoa), dimana hubungan keduanya berbanding lurus. Pengukuran konsentrasi sperma dalam penelitian ini didapatkan hasil sebesar 5,32 x 10^9 sel/ml untuk konsentrasi sperma gabungan, sedangkan konsentrasi pada masing-masing induk yaitu induk 1 sebesar 5,14 x 10^9 sel/ml dan induk 2

sebesar 5,38 X 10^9sel/ml. Hasil konsentrasi sperma tersebut menunjukkan bahwa sperma induk 1 dan 2 masih dalam kondisi cukup baik. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Faqih (2011) tentang penurunan motilitas dan daya fertilitas sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) pasca perlakuan stress kejutan listrik.Pada penelitian tersebut hasil perhitungan konsentrasi sperma induk Lele Dumbo (*Clarias*sp.) dengan berat tubuh 1,15 kg dan gonad 6,6 gram didapatkan hasil konsentrasi sebesar 5,6 x 10^9 sel/ml, hasil pengukuran tersebut menunjukkan ikan dan spermanya dalam kondisi kualitas baik. Data Perhitungan sperma pada induk 1 dan 2 dapat dilihat pada lampiran 6.

4.2.2 Parameter Makrokopis Sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)

Pengamatan kualitas sperma ikan Lele Dumbo secara makrokopis meliputi pengukuran volume, pH , pengamatan warna dan bau serta penilaian kekentalan sperma. Parameter makrokopis merupakan parameter yang secara langsung dapat digunakan untuk menduga kualitas sperma sebelum dilakukan pengamatan dan penilaian lebih lanjut dan detail. Jumlah induk jantan Lele Dumbo yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 2 ekor dengan kondisi baik dan matang gonad. Adapun hasil pengamatan makrokopis sperma ikan Lele Dumbo induk 1 (1,2 kg) dan 2 (1,16 kg) secara makrokopis tercantum pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Pemeriksaan Makrokopis Sperma Segar Induk Ikan Lele Dumbo(*Clarias*sp.) 1 dan 2.

Parameter	Induk 1 (1,2 kg)	Induk 2 (1,16 kg)	Gabungan
Volume (ml)	7	5,5	12,5
pH	8	8	8
Warna	Putih susu	Putih susu	Putih susu
Kekentalan	Seperti santan	Seperti santan	Seperti Santan
Bau sperma	Amis	Amis	Amis
Berat Testis (gram)	30 gram	24 gram	54 gram

Berdasarkan hasil pemeriksaan makrokopis pada Tabel 8 dapat diketahui hasil masing-masing parameter pengamatan makrokopis sperma ikan Induk 1 dan 2. Adapun rincian hasil masing-masing parameter makrokopis tersebut sebagai berikut:

A. Volume sperma

Volume sperma adalah parameter makrokopis yang menunjukkan kadar total sperma dalam suatu testis, dimana hubungan volume sperma dengan testis berbanding lurus. Hasil volume total sperma yang diukur pada penelitian ini yaitu sebesar 12,5 ml dengan rincian yaitu induk 1 sebesar 7 ml dan induk 2 sebesar 5,5 ml. Hasil volume sperma pada masing-masing induk menunjukkan bahwa ikan dan spermanya dalam kondisi normal atau cukup baik. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Faqih (2011) tentang penurunan motilitas dan daya fertilitas sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) pasca perlakuan stress kejutan listrik. Pada penelitian tersebut hasil pengukuran volume sperma induk Lele Dumbo (*Clariassp.*) dengan berat tubuh 1,15 kg dan gonad 6,6 gram didapatkan volume sperma sebesar 1,5 ml, hasil pengukuran tersebut menunjukkan ikan dan kualitas sperma dalam kondisi baik.

B. pH Sperma

pH atau derajat keasaman merupakan parameter makrokopis sperma yang menunjukkan tingkat keasaman atau kebasaan suatu larutan sperma. Hubungan pH dengan kondisi fisiologis sel-sel sperma (spermatozoa) sangat erat. Nilai pH yang terlalu asam dan basa akan menganggu metabolism sel sperma (spermatozoa) sebab dalam kondisi terlalu asam maupun basa ion H^+ atau OH^+ di luar sel berkosentrasi tinggi. Hasil pengukuran pH pada penelitian ini yaitu sama baik pada pH induk 1, 2 maupun gabungan yaitu sebesar 8. Nilai pH 8 pada sperma menunjukkan bahwa sperma masih dalam kondisi cukup baik untuk

diproses lebih lanjut. Menurut Arfiantini (2012) *dalam* Tumanung, *et al*. (2015), pH sperma umumnya berkisar antara 7,5-8,5.

C. Warna Sperma

Warna sperma menunjukkan kondisi sperma dengan akumulasi cairan lain, warna sperma yang putih kemerahan menujukkan adanya akumulasi cairan darah pada sperma, untuk warna putih kecoklatan menunjukkan adanya akumulasi lemak sedangkan warna putih susu sampai sedikit kekuningan menunjukkan sperma dalam kondisi murni sampai sedikit terakumulasi cairan lainnya. Hasil pengamatan warna sperma menunjukkan hasil yang sama yaitu berwarna putih susu untuk sperma induk 1, 2 maupun gabungan. Hasil pengamatan warna tersebut menunjukkan sperma dalam kondisi cukup baik. Menurut Faqih (2011), beberapa karakteristik semen ikan antara lain berwarna putih susu, cukup kental, berbaukhas dan rata-rata motilitas sperma kontrol sebesar 60%.

D. Bau dan Kekentalan Sperma

Bau dan Kekentalan sperma merupakan parameter yang secara langsung dapat digunakan untuk menduga kondisi sperma, sperma dengan kondisi normal umumnya berbau khas (amis) dan kental seperti santan. Hasil pengamatan bau dan kekentalan sperma menunjukkan hasil yang sama yaitu berbau khas (amis) dan kental seperti santan untuk sperma induk 1, 2 maupun gabungan. Hasil pengamatan bau dan kekentalan tersebut menunjukkan sperma dalam kondisi cukup baik. Menurut Faqih (2011), beberapa karakteristik semen ikan antara lain berwarna putih susu, cukup kental, berbaukhas dan rata-rata motiltas sperma minimal sebesar 60%.

4.2.3 Suhu penyimpanan

Suhu penyimpanan sperma pada penilitianini dikondisikan dengan baik atau tetap stabil. Hal ini dikarenakan suhu berpengaruh penting dalam metabolisme

spermatozoadimana suhu panas atau tinggi akan memacu metabolisme lebih cepat jika dibandingkan suhu rendah. Suhu pada penelitian ini dikondisikan pada kisaran 4-5 ˚C. Hal ini sesuai dengan penelitian Rahardianto, *et al*. (2012) tentang penyimpanan sperma ikan Patin dengan pengecer kombinasi NaCl-Fisiologis dan Madu. Pada penelitian tersebut suhu penyimpanan sperma dikondisikan 4˚C.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang "Pengaruh Panambahan Sari Buah Kurma dengan Konsentrasi Berbeda dalam Pelarut NaCl-Fisiologis Terhadap Viabilitas Dan Motilitas Sperma Ikan Lele Dumbo (*Clariass*p.) Selama Masa Peyimpanan" dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Penambahan sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis berpengaruh sangat nyata terhadap nilaiviabilitas dan motilitas sperma ikan lele Dumbo selama masa penyimpanan.
2. Penambahan sari buah kurma degan konsentrasi 0,5-2,5%dalam NaCl-Fisiologis dapat meningkatkan nilai viabilitas dan motilitas sperma ikan Lele Dumbo selama masa penyimpanan.
3. Nilai konsentrasi sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis sebesar 2,5 % menghasilkan nilai viabilitas dan motilitas tertinggi yaitu masing-masing sebesar 75,33% dan 63,67%.
4. Pola hubungan antara penambahan sari buah kurma dalam NaCl-Fisiolgis dengan viabilitas dan motilitas sperma ikan lele Dumbo selama masa penyimpanan berbentuk regresi linier dengan masing-masing persamaan yaitu Viabilitas Y = 41,87 + 14,39x dengan nilai koefisien determinasi (R^2) = 0.85, titik terendah terdapat pada perlakuan kontrol yaitu sebesar 41,87% untuk titik tertinggi terdapat pada perlakuan E yaitu sebesar 77,84%. Persamaan regresi linier motilitas yaitu Y = 28,80 + 15,38x dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0.88 untuk titik terendah pada K yaitu sebesar 28,8%, titik tertinggi terdapat pada perlakuan E yaitu sebesar 67,25%.

5.2 Saran

Adapun beberapa saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Sebaiknya para pembudidaya ikan lele Dumbo (*Clarias*sp.) menambahkan sari buah kurma dengan konsentrasi 2,5% dalam pengencer NaCl-Fisiologis untuk penyimpanan sperma.
2. Diharapkan adanya penelitian lanjut dalam penelitian ini untuk mendapatkan konsentrasi optimal sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis sebagai pengencer sperma selama masa penyimpanan.
3. Perlu dilakukan penelitianlebih lanjut untuk mengetahui kemampuan spermatozoa dalam proses fertilisasi setelah masa penyimpanan.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR PUSTAKA

Adi, G, S. 2008. **Strategi Pengembangan Usahatani Lele Dumbo Di Kabupaten Boyolali**. *Skripsi*. FP. Universitas Sebelas Maret: Surakarta.17 hlm.

Adipu.Y., H, Sinjal dan J, Watung. 2011. **Ratio Pengenceran Sperma Terhadap Motilitas Spermatozoa Fertilitas dan Daya Tetas Ikan Lele (*Clarias* sp.)**. *Perikanan dan Kelautan Tropis*. **7** (1): 48-55.

Arfiantini, R., T, Wresdiyati dan E.F, Retnani. 2006. **Kajian Banding Morfometri Spermatozoa Sapi Bali (Bos Sondaicus) Menggunakan Pewarnaan Williams, Eosin Nigrosin dan Formol-Saline**. *Sains*. **24** (1): 65-71

Asmarinah. 2010. **Peran Molekul Kanal Ion pada Fungsi Spermatozoa**. *Kedokteran Indonesia*. **60** (8): 374-341.

Barozha, D, L. 2015. **The Effect Of Honey To Motility And Viability Catfish (Pangasius pangasius) Spermatozoa**. *Majority*. **4** (3): 41-46.

Condro, H, S., A. S. Mubarak dan L, Sulmartiwi. 2013. **Pengaruh Penambahan Madu Pada Media Pengencer Nacl Fisiologis Dalam Proses Penyimpanan Sperma Terhadap Kualitas Sperma Ikan Komet(*Carassius auratus auratus*)**. *Marine and Coastal Science*. **1**(1): 1-12.

Campbell, N, A dan J B. Reece. 2012. **Biologi Jilid 1**. Erlangga: Surabaya. 187 hlm.

Effendie,I. 2002. **Biologi Perikanan**. Yayasan Pustaka Nusantara: Bogor. Hal: 9

Endahwati, L. 2010. **Perpindahan Massa Karbohidrat Menjadi Glukosa Dari Buah Kersen Dengan Proses Hidrolisis**.*Jurnal Penelitian Ilmu Teknik*. **10** (1): 1-5 .

Faqih, A,R. 2011. **Penurunan Motilitas dan Daya Fertilitas Sperma Ikan Lele Dumbo (Clarias spp) Pasca Perlakuan Stress Kejutan Listrik**. *Life Sci*. **2** (1) : 56-110.

Fitriani., K, E dan W. Sari. 2010. **The Effect Of Cigarettes Smoke Exposured Causes Fertility Of Male Mice (Mus Musculus)**.*Natural*. **10** (2): 12-17.

Fitrianti, E. 2010. **Sintesis Ester Fruktovanilat Dari Fruktosa dan Asam Vanilat Menggunakan Metdode Gelombang Mikro Sejati Aktivitas Antioksidan**. *Skripsi*. FMIPA. Universitas Indonesia: Depok. 6 hlm.

Hendrawati, R. 2011. **Pemanfaatan Limbah Produksi Pangan Dan Keong Emas (*Pomacea canalicuta*) Sebagai Pakan Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)**. *Skripsi*. Biologi-FMIPA. Universitas Sebelas Maret: Surakarta. 27 hlm.

Husin.N., T, Suteky dan Kususiyah. 2007. **Uji Kualitas Semen Kambing Nubian dan Peranakannya (Kambing Nubian X PE) serta Kambing Boer Berdasarkan Lama Penyimpanan**. *ISSN.* **2** (2): 57-66.

Japet, N. 2011. **Karakteristik Semen Ikan Ekonomis Budidaya: Mas (*Cyprinus carpio*), dan Patin (*Pangasius hypothalamus*)**. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 20 hlm.

Kordi, M,G,H. 2010. **Budi Daya Ikan Lele di Kolam Terpal**. Liliy Publisher: Yogyakarta.20 hlm.

Kostaman,T dan A,R, Setioko. 2011. **Perkembangan Penelitian Teknik Kriopreservasi Untuk Penyimpanan Semen Unggas.** *Wartazoa***. 3** (21): 145-152.

Kurniawan. I. Y., F. Basuki dan T. Susilowati. **Penambahan Air Kelapa Dan Gliserol Pada Penyimpanan Sperma Terhadap Motilitas Dan Fertilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus Carpio L.*)**.*Aquaculture Management and Technology*.**2** (1): 51-65.

Mahyuddin, K. 2008. **Panduan Lengkap Agribisnis Lele**. Penebar Swadaya: Jakarta.21 hlm.

Marzuki, Asnah., N, Ibrahim dan Uslam. 2012. **Pengaruh Pemberian Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera* L) Terhadap Perubahan Jumlah Trombosit Pada Tikus (*Rattus norvegicus*).** *Farmasi dan Farmakologi*. **16** (2): 85-88

Mayes, P,A. 2003. **Biokimia Harper**. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta. 123 hlm.

Muchlisin Z,A., A. Damhoeri., R. Fauziyah., Muhammadar dan M. Musman. 2003. **Pengaruh Beberapa Jenis Pakan Alami Terhadap Pertumbuhan Dan Kelangsunganhidupan Larva Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*).** *Biologi.***3** (2): 105 -113.

Mumu, M,I. 2009. **Viabilitas Semen Sapi Simental Yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektan Gliserol.** *Agroland.***16** (2): 172-179.

Nainggolan.R., R. D. Monijung dan W. Mingkid. 2015. **Penambahan Madu Dalam Pengenceran Sperma Untuk Motilitas Spermatozoa, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)**.*Budidaya Perairan*. **3** (1): 131-140.

Nazir, M. 2005. **Metode Penelitian**. Ghalia Indonesia. Cetakan 6. Bogor. 544 hlm.

Nugroho, E. 2013. **Lele Peluang Bisnis dan Kisah Sukses**. Agriflo: Jakarta.23 hlm.

Payung, Ryan. 2015. **Pengaruh Perbedaan Komposisi Kuning Telur Itik Dan Air Kelapa Muda Sebagai Pengencer Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Pasca Thawing Di Unit Pelaksana Teknis Daerah Inseminasi Buatan Pucak Kabupaten Maros**.*Skripsi*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Hasanudin: Makasar. 9 hlm.

Prahastuti, S. 2011. **Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk Bagi Kesehatan Manusia**. *Kesehatan Manusia*. **10** (2): 173-189.

Putra. R. P., S. Wahyuningsih dan G. Ciptadi. 2014. **Uji Kualitas Spermatozoa Kambing Boer Yang Dibekukan Dengan Alat *Mr. Frosty* Menggunakan Pengencer Andromed Pada Suhu Penyimpanan -45˚c**.*Peternakan*: 1-13.

Rahardhianto, A., N. Abdulgani dan N. Trisyani. 2012. **Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu dalam NaCl Fisiologis terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (pangasius pangasius) selama Masa Penyimpanan**. *Sains Dan Seni ITS*. **1** (1): 58-63.

Rahmadi, Anton. 2010. **Kurma**. *Food Technologist, Neuro-biologist and Pharmacologist*: 2-11.

Ratnayani, K., N, M, A, Dwi Adhi., dan I, G, A, M, A, S, Gitadewi. 2008. **Penentuan Kadar Glukosa Dan Fruktosa Pada Madu Randu Dan Madu Kelengkeng Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**. *Kimia*. **2** (2): 77-86.

Retnowati, P, A dan J. Kusnadi. 2014. **Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Kurma *(Phoenix dactylifera)* Dengan Isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*.***Pangan dan Agroindustri*. **2** (2): 70-81.

Rustidja.1999. **Pemisahan Spermatozoa x dan y Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.)**. FakultasPerikanan. UniversitasBrawijaya: Malang.

_____.2000. **Prospek Pembekuan Sperma Ikan**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya: Malang. 16 hlm.

Salmah,N. 2014. **Motilitas, Persentase Hidup Dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali Pada Pengencer Andromed Dan Tris Kuning Telur**. *Skripsi*. FAPET. Universitas Hasanudin: Makasar.32 hlm.

Setiadi, R 2008. **Efektifitas Perendaman 24 Jam Benih Lele Dumbo *Clarias* sp Dalam Larutan Paci-Paci *Leucas lavandulaefolia* Terhadap Perkembangan Populasi *Trichodina* spp.***Skripsi*. FPIK. Institut Pertanian Bogor: 43 hlm.

Shafrudin, Y dan M. Setiawati .2006. **Pengaruh Kepadatan Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias* Sp.) Terhadap Produksi Pada Sistem Budidaya Dengan Pengendalian Nitrogen Melalui Penambahan Tepung Terigu**. *Akuakultur Indonesia*. **18** (1): 1-6.

Sinjal, H. 2014. **Efektifitas Ovaprim Terhadap Lama Waktu Memijah, Daya Tetas Telur dan Sintasan Larva Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Jurnal Budidaya Perairan**. *Akuakultur Indonesia*. **1** (2): 14 – 21.

SNI. 2000. **Induk Ikan Lele Dumbo (Clarias gariepinus x C. fuscus) Kelas Induk pokok (parent stock)**. *SNI*.**1**: 1-6.

Suhaemi, Z., 2011. **Metode Penelitian Dan Rancangan Percobaan**. Diktat. Program Studi Peternakan. Fakultas Pertanian. Universitas Taman Siswa: Padang

Sukmaningsih, A., I, G, A, M, Ermayanti, N,I, Wiratmini dan N, W, Sudatri. 2011. **Gangguan Spermatogenesis Setelah Pemberian Monosodium Glutamat Pada Mencit (*Mus musculus L.*)**. *Biologi.* **2** (15): 49 – 52.

Sumanto, D., J. Budi.W dan Sayono. 2008. **Paparan Telur Cacing Usus Pada Ikan Lele yang Dipelihara Pada Kolam Dengan Sumber Air Dari Sungai**. *Kesehatan Masyarakat Indonesia*. **4** (2): 83-86.

Sunarma.A., D.W. B Hastuti dan Y. Sistina. 2007. **Penggunaan Ekstender Madu Yang Dikombinasikan Dengan Krioprotektan Berbeda Pada Pengawetan Sperma Ikan Nilem (Indonesian Sharkminnow, *Osteochilus hasseltii Valeciennes*, 1842)**. *Akuakultur* : 2-9.

Surapto dan L, S,Samtafsir. 2013. **Biofloc-165**. Agro 165 : Depok.42 hlm.

Surya, Rahardian. 2013. http://www.bibitikan.net/tips-menghindari-penularan-penyakit-ikan-lele/ikan-lele-dumbo-sangkuriang-phyton/. Diakses tanggal 24 september 2015.

Susilawati, T. 2011. **Spermatology**. UB Press: Malang.92 hlm.

Sutisna, D, H dan R, sutarmanto.1995. **Pembenihan Air Tawar**. Kanisius: Yogyakarta.26 hlm.

Sutrisno, L,H. 2010. **Pengaruh Hormon Testosteron Undekanoat (Tu) Dan Medroksiprogesteron Asetat (Mpa) Terhadap Konsentrasi Spermatozoa Dan Spermatogenesis Tikus Jantan (Rattus Novergicus L.) Galur Sprague Dawley**. *Skripsi*. Farmasi-Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 25 hlm.

Tumanung.S., H. J. Sinjal dan J.Ch. Watung. 2015. **Penambahan Madu Dalam Pengenceran Sperma untuk Meningkatkan Motilitas, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L)**.*Budidaya Perairan*. **3** (1): 51-58.

Wijayanti, G.E., dan S, B, I, Simanjutak. 2006. **Viabilitas Sperma Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti* C.V) Setelah Penyimanan Jangka Pendek Dalam Larutan Riger**. *Perikanan*. **8** (2): 207-214

Winarto. A dan N.Isnaini. 2008. **Pengaruh Tingkat Pengenceran Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing PE Setelah Penyimpanan Pada Suhu Kamar**.*Ternak Tropika.***9** (2): 72-80.

Zen, A, T, H., D, Pertiwi dan Chodidjah. 2013. **Pengaruh Pemberian Sari Kurma *(Phoenix dactylifera)* Terhadap Kadar Hemoglobin.** *Sains Medika*. **1** (5): 17-19

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Viabilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

Hari Ke 1

Perlakuan	Mati	Hidup	Total	Presentase (%)	Total	Rata – rata (%)
Kontrol	63	37	100	37	170	56,66
	32	68	100	68		
	35	65	100	65		
A (0,5%)	26	74	100	74	202	67,33
	30	70	100	70		
	42	58	100	58		
B (1%)	34	66	100	66	220	73,33
	18	82	100	82		
	28	72	100	72		
C (1,5%)	37	63	100	63	231	77
	15	85	100	85		
	17	83	100	83		
D (2 %)	14	86	100	86	250	83,33
	11	89	100	89		
	25	75	100	75		
E (2,5%)	16	84	100	84	265	88,33
	7	93	100	93		
	12	88	100	88		

Hari Ke 2

Perlakuan	Mati	Hidup	Total	Presentase (%)	Total	Rata – rata (%)
Kontrol	82	18	100	18	53	17,66
	86	14	100	14		
	79	21	100	21		
A (0,5%)	61	39	100	39	113	37,66
	65	35	100	35		
	61	39	100	39		
B (1%)	57	43	100	43	133	44,33
	55	45	100	45		
	55	45	100	45		
C (1,5%)	53	47	100	47	155	51,66
	54	46	100	46		
	38	62	100	62		
D (2 %)	41	59	100	59	176	58,66
	37	63	100	63		
	46	54	100	54		
E (2,5%)	30	70	100	70	187	62,33
	34	66	100	66		
	49	51	100	51		

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 2. Data Perhitungan Viabilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.)

Data Perhitungan Jumlah dan Rata-rata Viabilitas Hari Ke 1-2

PERLAKUAN	ULANGAN			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	27.5	41	43	111.5	37.16667
A (0.5%)	56.5	52.5	48.5	157.5	52.5
B (1%)	54.5	63.5	58.5	176.5	58.83333
C (1.5%)	55	65.5	72.5	193	64.33333
D (2%)	72.5	76	64.5	213	71
E (2.5%)	77	79.5	69.5	226	75.33333
Total				1077.5	

Uji Normalitas Viabilitas One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol	A	B	C	D	E
N		3	3	3	3	3	3
Normal Parameters[a]	Mean	37.1667	52.5000	58.8333	64.3333	71.0000	75.3333
	Std. Deviation	8.43109	4.00000	4.50925	8.80814	5.89491	5.20416
Most Extreme Differences	Absolute	.342	.175	.196	.219	.267	.292
	Positive	.245	.175	.196	.189	.198	.212
	Negative	-.342	-.175	-.183	-.219	-.267	-.292
Kolmogorov-Smirnov Z		.592	.303	.340	.380	.463	.506
Asymp. Sig. (2-tailed)		.874	1.000	1.000	.999	.983	.960

a. Test distribution is Normal.

Perhitungan :

Faktor Koreksi (FK) $= \frac{G^2}{n}$

$= \frac{(1077,5)^2}{18}$

= 64500,35

Lampiran 2 (lanjutan)

JK Total $= K1^2 + K2^2 + K3^2 + \ldots\ldots\ldots\ldots,, + E3^2 - FK$

$= 27.5^2 + 41^2 + 43^2 + \ldots\ldots\ldots, + 69,5^2 - 64500,35$

$= 67855,25 - 64500,35$

$= 3354,9$

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

$= \frac{111,5^2 + \ldots. + 226^2}{3} - 64500.35$

$= \frac{202084,75}{3} - 64500.35$

$= 2861,23$

JK Acak = JK Total – JK Perlakuan

= 3354,9 – 2861,23

= 493,67

Analisis sidik ragam presentase viabilitas spermatozoa ikan lele Dumbo (*Clarias* sp.)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	
Perlakuan	5	2861.236	572.2472	13.91013	3.11	5.06	**
Galat	12	493.6667	41.13889				
Total	17	3354.903					

Kesimpulan : F hitung > F tabel 5% dan 1 % menunjukkan pemberian konsentrasi sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis berbeda berpengaruh beda sangat nyata terhadap presentase viabilitas spermatozoa ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.).

Berdasarkan hasil sidik ragam di atas F hitung > F 5% dan F 1%, dapat disimpulkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh berbeda sangat nyata (**) maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil),

Hasil Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

SED $= \sqrt{\frac{2 \text{ x KTAcak}}{\text{ulangan}}}$

Lampiran 2 (lajutan)

$$= \sqrt{\frac{2\,(41.14)}{3}}$$

= 5,24

BNT 5% = t tabel 5% x SED

= 2,179 x 5,24

= 11,42

BNT 1% = t tabel 1% x SED

= 3,005 x 5,24

= 16,01

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan /Rata - rata	Kontrol 37,17	A 52,50	B 58,83	C 64,33	D 71	E 75,33	Notasi
37,17	-						**a**
52,50	15,33*	-					**b**
58,83	21,66**	6,33^{ns}	-				**bc**
64,33	27,16**	11,83*	5,5^{ns}	-			**cd**
71	33,83**	18,5**	12,17*	6,67^{ns}	-		**d**
75,33	38,16**	22,83**	16,5**	11^{ns}	4,33^{ns}	-	**d**

Polinomial Orthogonal

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)				
		Linier	Kuadratik	Kubik	kuartil	kuintik
0.00	111.50	-5	5	-5	1	-1
0.50	157.50	-3	-1	7	-3	5
1.00	176.50	-1	-4	4	2	-1
1.50	193.00	1	-4	-4	2	1
2.00	213.00	3	-1	-7	-3	-5
2.50	226.00	5	5	5	1	1
Q = ∑ (CiTi)		755.50	-161.00	118.00	-35.00	2.00
KR =∑ (Ci^)*3		340.00	260.00	740.00	100.00	260.00
JK = Q^/KR		1,678.7654	99.6962	18.8162	12.2500	0.0154

Lampiran 2 (lanjutan)

Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	2,861.24	572.25			
Linier	1	2,718.00	2,178.00	65.58**	3.11	5.06
Kuadratik	1	102.86	102.86	2.5ns		
Kubik	1	25.78	25.78	0.62ns		
kuartil	1	14.58	14.58	0.35ns		
kuintik	1	0.00529	0.0053	0.00013ns		
Galat	12.00	493.67	41.14			
total	17.00	3,354.90	197.35			

Dari data perhitungan sidik ragamregresi diketahui regresi linier berbeda sangat nyata, sehingga regresi untuk kurva respon adalah regresi linier.

Rumus mencari persamaan linier : y = b0 + b1x

x	y	Xy	x2
0	27.5	0	0
0	41	0	0
0	43	0	0
0.5	56.5	28.25	0.25
0.5	52.5	26.25	0.25
0.5	48.5	24.25	0.25
1	54.5	54.5	1
1	63.5	63.5	1
1	58.5	58.5	1
1.5	55	82.5	2.25
1.5	65.5	98.25	2.25
1.5	72.5	108.75	2.25
2	72.5	145	4
2	76	152	4
2	64.5	129	1
2.5	77	192.5	6.25
2.5	79.5	198.75	6.25
2.5	69.5	173.75	6.25
ΣX = 22.5	ΣY = 1077.5	ΣXY = 1535.75	ΣX2 = 41.25
Rata-rata =1.25	Rata-rata = 59.81	Rata-rata = 85.31	Rata-rata = 2.29

Lampiran 2 (lanjutan)

Persamaan Linier Y = b0 + b1x

$$b1=\frac{\Sigma xy-\Sigma x.\frac{\Sigma y}{n}}{\Sigma x^2-\frac{(\Sigma x)^2}{n}}$$

$$b1=\frac{1535,75-22,5\ .\frac{1077.5}{18}}{41.25-\frac{(22,5)^2}{18}}$$

$$b1=\frac{1535,75-1346,88}{41,25-28,12}$$

$$b1=\frac{188,88}{13,12}$$

b1 = 14,39

b0 = $y_{rata\text{-}rata}$ -b1$x_{rata\text{-}rata}$

b0 = 59,86-14,39 (1,25)

b0 = 59,86-17,99

b0 = 41,87

Persamaan linier, y = b0 + b1x → y = 41,87 + 14,39x

x	y
0	41.87
0.5	49.065
1	56.26
1.5	63.455
2	70.65
2.5	77.845

$$R^2=\frac{\text{JK Regresi}}{\text{JK Regresi + JK Acak}}$$

$$R^2=\frac{2718.00}{2718.00+493.67}$$

R^2= 0,85

Lampiran 3. Data Motilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)

Hari Ke 1

Perlakuan	Diam	Bergerak	Total	Presentase (%)	Total	Rata – rata (%)
Kontrol	66	34	100	34	119	39,66
	62	38	100	38		
	53	47	100	47		
A (0,5%)	58	42	100	42	140	46,66
	33	67	100	67		
	69	31	100	41		
B (1%)	50	50	100	50	188	62,66
	27	73	100	73		
	35	65	100	65		
C (1,5%)	28	72	100	72	214	71,33
	27	73	100	73		
	31	69	100	69		
D (2 %)	43	57	100	57	215	71,66
	17	83	100	83		
	25	75	100	75		
E (2,5%)	20	80	100	80	235	78,33
	20	80	100	80		
	25	75	100	75		

Hari Ke 2

Perlakuan	Diam	Bergerak	Total	Presentase (%)	Total	Rata – rata (%)
Kontrol	88	12	100	12	37	12,33
	86	14	100	14		
	89	11	100	11		
A (0,5%)	71	29	100	29	73	24,33
	85	15	100	15		
	71	29	100	29		
B (1%)	77	23	100	23	100	33,33
	65	35	100	35		
	58	42	100	42		
C (1,5%)	63	37	100	37	115	38,33
	64	36	100	36		
	58	42	100	42		
D (2 %)	41	59	100	59	146	48.66
	47	53	100	53		
	66	34	100	34		
E (2,5%)	50	50	100	50	147	49
	44	56	100	66		
	59	41	100	51		

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 4. Data Perhitungan Motilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)

Data Perhitungan Jumlah dan Rata-rata Motilitas Hari Ke 1-2

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
Kontrol	23	26	29	78	26
A	35.5	41	30	106.5	35.5
B	36.5	54	53.5	144	48
C	54.5	54.5	55.5	164.5	54.833333
D	58	68	54.5	180.5	60.166667
E	65	68	58	191	63.666667
Total				864.5	

Uji Normalitas Motilitas One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol	A	B	C	D	E
N		3	3	3	3	3	3
Normal Parameters[a]	Mean	26.0000	35.5000	48.0000	54.8333	60.1667	63.6667
	Std. Deviation	3.00000	5.50000	9.96243	.57735	7.00595	5.13160
Most Extreme Differences	Absolute	.175	.175	.376	.385	.288	.269
	Positive	.175	.175	.273	.385	.288	.199
	Negative	-.175	-.175	-.376	-.282	-.209	-.269
Kolmogorov-Smirnov Z		.303	.303	.652	.667	.499	.466
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000	1.000	.789	.766	.965	.982

a. Test distribution is Normal.

Perhitungan :

Faktor Koreksi (FK) $= \frac{G^2}{n}$

$= \frac{864{,}5^2}{18}$

= 41520,01

Lampiran 4 (lanjutan)

JK Total $= K1^2 + K2^2 + K3^2 + \ldots\ldots\ldots\ldots,, + E3^2 - FK$

$= 23^2 + 26^2 + 29^2 + \ldots\ldots\ldots, + 58^2 - 41520{,}01$

$= 45189{,}75 - 41520{,}01$

$= 3669{,}74$

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

$= \frac{78^2 + \ldots + 191^2}{3} - 41520{,}01$

$= \frac{134283{,}74}{3} - 41520{,}01.$

$= 3241{,}24$

JK Acak = JK Total – JK Perlakuan

$= 3669{,}74 - 3241{,}24$

$= 428{,}50$

Analisis sidik ragam presentase viabilitas spermatozoa ikan lele Dumbo (*Clarias* sp.)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%	
Perlakuan	5	3241.2361	648.2472	18.15395	3.11	5.06	**
Galat	12	428.5	35.70833				
Total	17	3669.7361					

Kesimpulan : F hitung > F tabel 5% dan 1 % menunjukkan pemberian konsentrasi sari buah kurma dalam NaCl-Fisiologis berpengaruh beda sangat nyata terhadap presentase viabilitas spermatozoa ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.).

Berdasarkan hasil sidik ragam di atas F hitung > F 5% dan F 1%, dapat disimpulkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh berbeda sangat nyata (**) maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil),

Hasil Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

SED $= \frac{\overline{2 \text{ x KTAcak}}}{\text{ulangan}}$

Lampiran 4 (lajutan)

$$= \sqrt{\frac{2\,(35{,}7)}{3}}$$

= 4,88

BNT 5% = t tabel 5% x SED

= 2,179 x 4,88

= 10,63

BNT 1% = t tabel 1% x SED

= 3,005 x 4,88

= 14,91

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan Rata2	Kontrol 26	A 35,5	B 48	C 54,83	D 60,17	E 63,67	Notasi
26	-						**a**
35,5	9,6^{ns}	-					**a**
48	22**	12,5^{ns}	-				**b**
54,83	28,83**	19,33**	6,83^{ns}	-			**bc**
60,17	34,17**	24,67**	12,17*	5,34^{ns}	-		**c**
63,37	37,37**	27,87**	15,37**	8,54^{ns}	3,2^{ns}	-	**c**

Polinomial Orthogonal

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)				
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartil	kuintik
0.00	78.00	-5	5	-5	1	-1
0.50	106.50	-3	-1	7	-3	5
1.00	144.00	-1	-4	4	2	-1
1.50	164.50	1	-4	-4	2	1
2.00	180.50	3	-1	-7	-3	-5
2.50	191.00	5	5	5	1	1
Q = ∑ (CiTi)		807.50	-176.00	-35.00	25.00	-52.00
KR =∑ (Ci^)*3		204.00	156.00	444.00	60.00	156.00
JK = Q^/KR		3,196.3542	198.5641	2.7590	10.4167	17.3333

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 4 (lanjutan)

Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	3,241.24	648.25			
Linier	1	3,105.03	3,105.03	89.5128**	3.11	5.06
Kuadratik	1	122.92	122.92	3.44		
Kubik	1	2.27	2.27	0.064		
kuartil	1	7.44	7.44	0.21		
kuintik	1	3.58	3.58	0.1		
Galat	12.00	428.50	35.71			
Total	17.00	3,669.74	215.87			

Dari data perhitungan sidik ragamregresi diketahui regresi linier berbeda sangat nyata, sehingga regresi untuk kurva respon adalah regresi linier.

Rumus mencari persamaan linier : y = b0 + b1x

x	y	Xy	x2
0	23	0	0
0	26	0	0
0	29	0	0
0.5	35,5	17,75	0.25
0.5	41	20,5	0.25
0.5	30	15	0.25
1	36,5	36,5	1
1	54	54	1
1	53.5	53.5	1
1.5	54,5	81,75	2.25
1.5	54,5	81,75	2.25
1.5	55,5	83,25	2.25
2	58	116	4
2	68	136	4
2	54,5	109	1
2.5	65	162,5	6.25
2.5	68	170	6.25
2.5	58	145	6.25
ΣX = 22.5	ΣY = 864,5	ΣXY = 1282,5	ΣX2 = 41.25
Rata-rata =1.25	Rata-rata = 48,03	Rata-rata = 71,25	Rata-rata = 2.29

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 4 (lanjutan)

Persamaan Linier Y = b0 + b1x

$$b1 = \frac{\Sigma xy - \Sigma x.\frac{\Sigma y}{n}}{\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}}$$

$$b1 = \frac{1282,5 - 22,5 .\frac{864,5}{18}}{41.25 - \frac{(22,5)^2}{18}}$$

$$b1 = \frac{1282,5 - 1080,625}{41,25 - 28,12}$$

$$b1 = \frac{201,88}{13,12}$$

b1 = 15,38

b0 = $y_{rata\text{-}rata}$ - b1$x_{rata\text{-}rata}$

b0 = 48,03-15,38(1,25)

b0 = 48,03-19,22

b0 = 28,80

Persamaan linier, y = b0 + b1x ⟶ y = 28,80 + 15,38x

x	Y
0	28.8
0.5	36.49
1	44.18
1.5	51.87
2	59.56
2.5	67.25

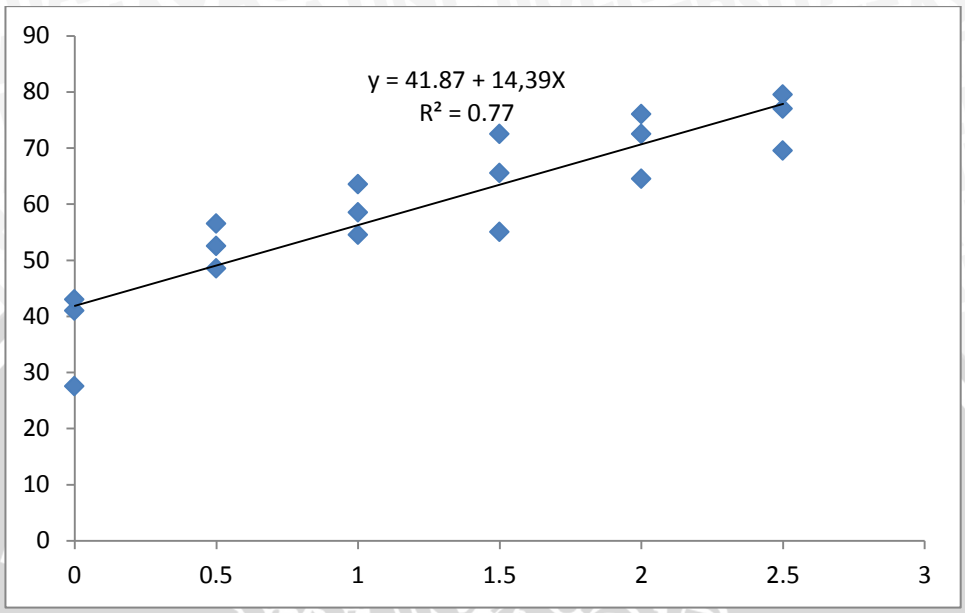
$$R^2 = \frac{\text{JK Regresi}}{\text{JK Regresi + JK Acak}}$$

$$R^2 = \frac{3,105.03}{3,105 + 428,50}$$

R^2= 0,88

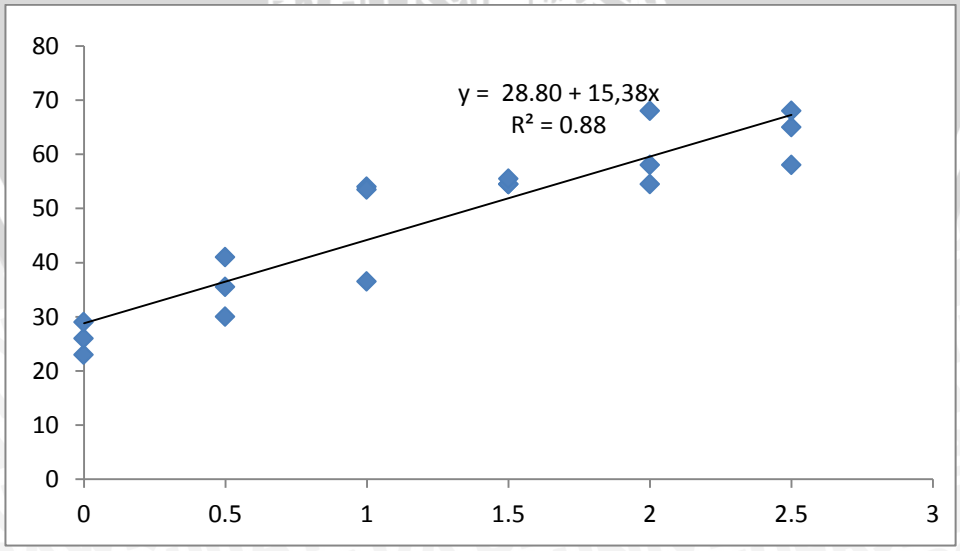
Lampiran 5. Grafik Regresi

- Grafik Pengaruh Konsentrasi Larutan Sari Kurma dalam NaCl-Fisiologis Terhadap Viabilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.) Selama Masa Penyimpanan



Grafik regresi berupa regresi linier dengan puncak tertinggi pada perlakuan E (2,5%) sebesar 77,84 %

- Grafik Pengaruh Konsentrasi Larutan Sari Kurma dalam NaCl-Fisiologis Terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias*sp.) Selama Masa Penyimpanan



Grafik regresi berupa regresi linier dengan puncak tertinggi padaperlakuan E (2,5%) sebesar 67,25 %

Lampiran 6. Perhitungan Kepadatan Sperma Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)

Bidang Lapang Pandang	Jumlah Sel Spermatozoa Induk 1	Bidang Lapang Pandang	Jumlah Sel Spermatozoa Induk 2
1	122	1	122
2	86	2	86
3	121	3	121
4	90	4	90
5	95	5	95
Total	514	Total	538

$$\frac{\text{Sel}}{\text{mm}^3} = \text{N}\ \frac{400}{80}\ \text{x}\ 10\ \text{x}\ 200 = \text{X x } 0{,}01\ \text{juta sel}\frac{\text{sperma}}{\text{mm}^3}$$

$$= \text{X x } 10^7 \text{ sel spermatozoa per ml}$$

Jadi perhitungankonsentrasi sel spermatozoa ikan lele Dumbo (*Clarias* sp.) induk 1 dan 2 adalah:

Induk 1 = X x 10^7 sel spermatozoa per ml= 514 x 10^7 sel spermatozoa per ml

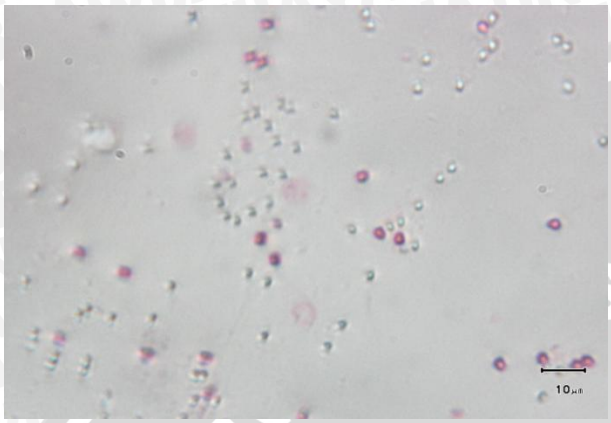
= 5,18 x 10^9Sel/ml

Induk 2 = X x 10^7 sel spermatozoa per ml= 538 x 10^7 sel spermatozoa per ml

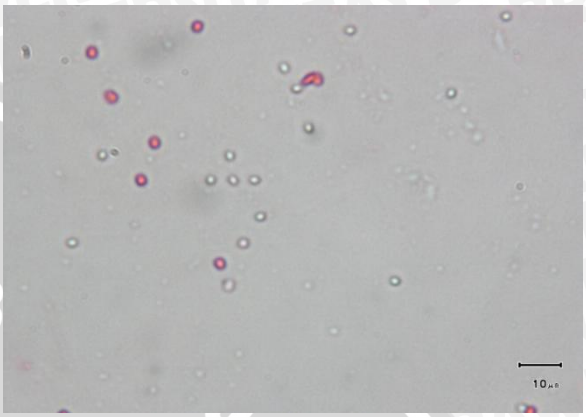
= 5,38 x 10^9Sel/ml

Lampiran 7. Hasil Pengamatan Viabilitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.)

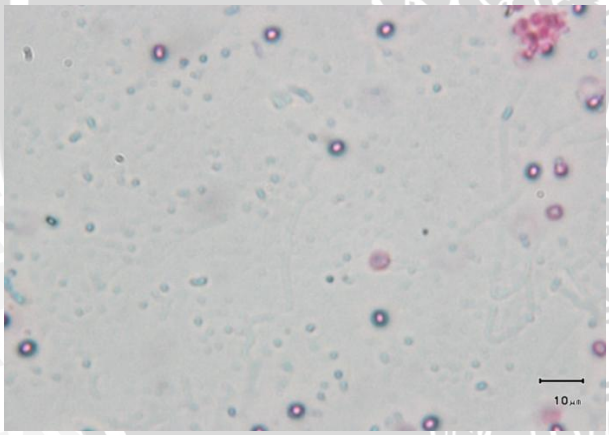
Perlakuan Kontrol



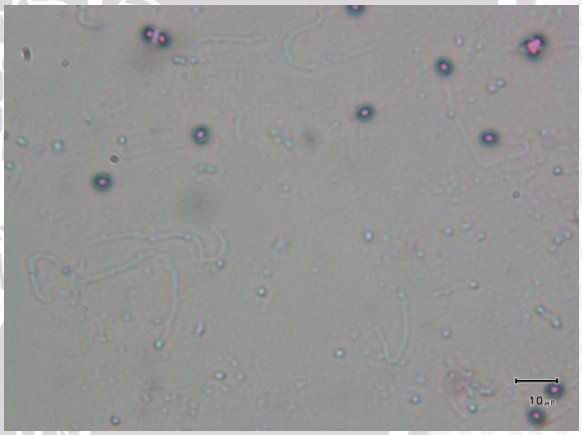
Perlakuan A (0.5%)



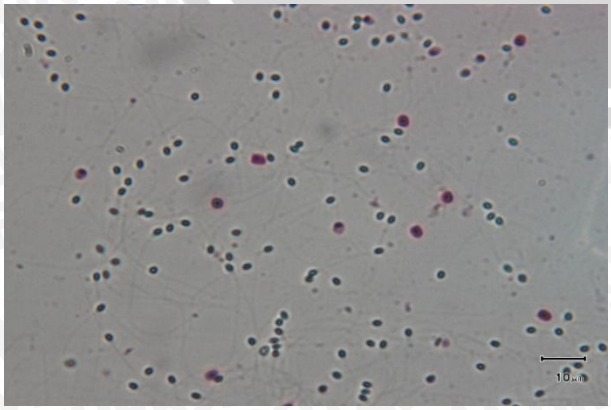
Perlakuan B (1,5%)



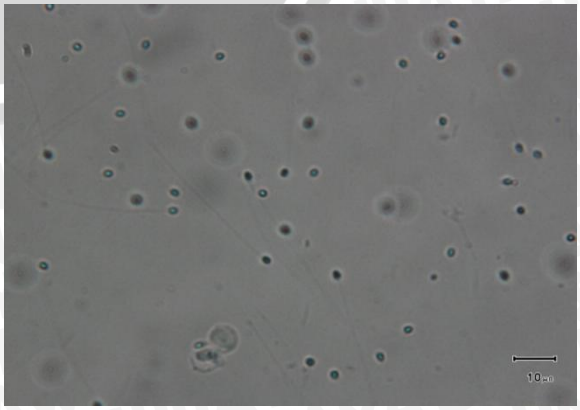
Perlakuan C (1,5%)



Perlakuan D (2%)



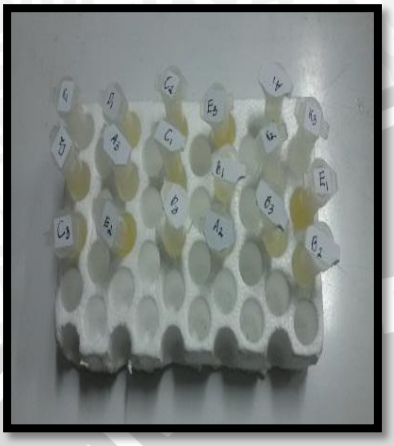
Perlakuan E (2,5%)



repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 8. Gambar Alat dan Bahan Penelitian

Alat – alat Penelitian



Tabung Eppendroft 5ml

Timbangan OZ

Gelas ukur

Handtallycounter

Pipet Tetes

Spuit

Botol Aquadest

Botol Spray

Nampan

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

AkuariumErlenmeyer 250 mlEmber

Timbangan Digital Haemocytometer Set Aerator

Mikroskop binokuler Thermometer Beaker glass

Cover glass

Seser

Cool box

Lap Basah

Pipet Thoma Eritrosit

pH paper

Heater

Pisau

Lemari ES

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Sectioset

Cover glass

Thermometer

Bahan – bahan penelitian

Ikan Lele

NaCl Fisiologi 0,9%

Alkohol 70%

Aquadest

Pewarna Eosin

Tissue

Alumunium Foil

Sari Kurma