

**PENGARUH KONSENTRASI LARUTAN SARI BUAH KURMA (*Phoenix sp.*)  
DALAM NaCI FISILOGIS TERHADAP VIABILITAS DAN MOTILITAS  
SPERMATOZOA IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) SELAMA 48 JAM  
MASA PENYIMPANAN**

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

Oleh:

**AFINA SAYYIDAH  
NIM. 115080501111040**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

**PENGARUH KONSENTRASI LARUTAN SARI BUAH KURMA (*Phoenix sp.*)  
DALAM NaCI FISILOGIS TERHADAP VIABILITAS DAN MOTILITAS  
SPERMATOZOA IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) SELAMA 48 JAM  
MASA PENYIMPANAN**

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

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

Oleh:  
**AFINA SAYYIDAH  
NIM. 115080501111040**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

**PENGARUH KONSENTRASI LARUTAN SARI BUAH KURMA (*Phoenix sp.*)  
DALAM NaCl FISIOLOGIS TERHADAP VIABILITAS DAN MOTILITAS  
SPERMATOZOA IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) SELAMA 48 JAM  
MASA PENYIMPANAN**

Oleh:  
**AFINA SAYYIDAH**  
NIM. 115080500111040

Telah dipertahankan di depan penguji  
Pada tanggal 28 September 2016  
dan dinyatakan memenuhi syarat

Dosen Penguji I



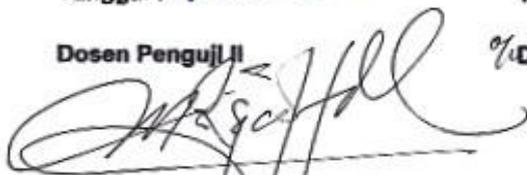
Dr. Ir. Maheno Sri Widodo, MS  
NIP. 19600425 198503 1 002  
Tanggal : 17 8 OCT 2016

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I



Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS  
NIP. 19590807 198601 1 001  
Tanggal : 17 8 OCT 2016

Dosen Penguji II



Ir. Muchammad Rasyid Fadholi, M.Si  
NIP. 19520713 198003 1 001  
Tanggal : 17 8 OCT 2016

Dosen Pembimbing II



Dr. Ir. Abdul Rahem Faqih, M.Si  
NIP. 19671010 199702 1 001  
Tanggal : 17 8 OCT 2016



MENGETAHUI,  
KETUA JURUSAN MSP

Dr. Ir. Arning Wilujang Ekawati, MS  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal : 17 8 OCT 2016



## PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, Oktober 2016

Mahasiswa

AFINA SAYYIDAH



## RINGKASAN

**AFINA SAYYIDAH.** Pengaruh Konsentrasi Larutan Sari Buah Kurma (*Phoniex* sp.) dalam NaCl Fisiologis Terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) selama Dua Hari Masa Penyimpanan. (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS** dan **Dr. Ir. Abdul Rahem Faqih, M.Si**)

---

Peningkatan permintaan dan produksi ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang terus meningkat harus didukung dengan ketersediaan benih yang memadai baik dari segi kualitas maupun kuantitas. Kematangan kelamin patin jantan yang lebih cepat dari patin betina dan penurunan kualitas sperma di luar tubuh menuntut adanya teknik penyimpanan sperma yang baik untuk memenuhi ketersediaan benih. Penyimpanan sperma ikan dengan menggunakan larutan pengencer NaCl fisiologis tanpa penambahan sumber energi hanya dapat digunakan tidak lebih dari 60 menit setelah penampungan karena kurang mengandung sumber energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa. Buah kurma mengandung zat-zat gula (campuran glukosa, sukrosa, dan fruktosa), protein, lemak, serat, vitamin A, B1, B2, B12, C, potasium, kalsium, besi, klorin, tembaga, magnesium, sulfur, fosfor, dan beberapa enzim yang cukup lengkap nutrisinya. Oleh sebab itu dibutuhkan penelitian mengenai pengaruh sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa dalam media penyimpanan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan larutan sari kurma dalam NaCl fisiologis terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) selama 48 jam masa penyimpanan dan untuk mengetahui konsentrasi larutan sari kurma yang tepat dalam proses penyimpanan spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ikan dan Laboratorium Keamanan Hasil Pangan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Mei sampai Juni 2015 dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian dilakukan dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan selama 48 jam yaitu dengan menggunakan konsentrasi 1,5% (perlakuan A), 1,75% (perlakuan B), 2% (perlakuan C), 2,25% (perlakuan D), dan 2,5% (perlakuan E). Parameter utama dalam penelitian ini adalah mengamati atau menghitung nilai viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). Parameter penunjang pada penelitian ini adalah hasil pengamatan kualitas sperma segar ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis sebagai bahan pengencer dalam penyimpanan sperma ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) berpengaruh terhadap ketahanan hidup (viabilitas) dan pergerakan (motilitas) spermatozoa ikan patin selama 48 jam masa penyimpanan. Uji statistika pada penelitian ini diperoleh model regresi yang sesuai yaitu model regresi kuadratik dengan persamaan  $y = -274,08 + 354,88x - 90,56x^2$  untuk nilai viabilitas spermatozoa dan persamaan  $y = -195,68 + 268,96x - 68,96x^2$  untuk nilai motilitas spermatozoa. Berdasarkan persamaan regresi tersebut diperoleh konsentrasi optimum larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap viabilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) adalah sebesar 1,96% dengan nilai viabilitas sebesar 73,59% dan konsentrasi optimum larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) adalah sebesar 1,95% dengan nilai motilitas sebesar 66,57%.

## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji dan syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyajikan Skripsi yang berjudul **“Pengaruh Konsentrasi Larutan Sari Buah Kurma (*Phoenix sp.*) dalam NaCl Fisiologis Terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) Selama Dua Hari Masa Penyimpanan”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan ada kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, September 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>RINGKASAN</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	ix
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	x
<b>1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Kegunaan Penelitian .....	4
1.5 Hipotesis .....	5
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian .....	5
<b>2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Ikan Patin ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> ) .....	6
2.1.1 Klasifikasi .....	6
2.1.2 Morfologi .....	6
2.1.3 Biologi Reproduksi .....	7
2.2 Spermatozoa .....	8
2.2.1 Morfologi Spermatozoa .....	8
2.2.2 Kandungan dalam Spermatozoa .....	9
2.2.3 Spermatogenesis .....	11
2.2.4 Metabolisme Spermatozoa .....	12
2.3 Parameter Kualitas Spermatozoa .....	13
2.3.1 Viabilitas .....	13
2.3.2 Motilitas .....	14
2.4 Sari Buah Kurma .....	15
2.5 Pengenceran Sperma .....	15
2.6 Interaksi Sperma dengan Larutan Pengencer .....	16
<b>3 METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Materi Penelitian .....	18
3.1.1 Peralatan Penelitian .....	18
3.1.2 Bahan Penelitian .....	18
3.2 Penelitian Pendahuluan .....	19
3.3 Penelitian Utama .....	20
3.3.1 Metode Penelitian .....	20
3.3.2 Rancangan Penelitian .....	20
3.4 Prosedur Penelitian .....	23
3.4.1 Persiapan Penelitian .....	23

a. Pengambilan Sperma Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ) .....	23
b. Pembuatan Larutan Pengencer .....	23
c. Pengenceran Sperma Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ) .....	24
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian .....	24
a. Pengamatan Makroskopis.....	24
b. Pengamatan Mikroskopis.....	25
▪ Konsentrasi Sperma .....	25
▪ Viabilitas Sperma.....	26
▪ Motilitas Sperma.....	26
3.5 Parameter Uji.....	27
3.5.1 Parameter Utama .....	27
3.5.2 Parameter Penunjang .....	27
3.6 Analisis Data.....	27
<b>4 HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Kualitas Sperma Segar Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ).....	28
4.2 Parameter Kualitas Sperma Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ) .....	29
4.2.1 Viabilitas Sperma Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ).....	29
4.2.2 Motilitas Sperma Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ).....	35
<b>5 PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan .....	42
5.2 Saran .....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	43
<b>LAMPIRAN</b> .....	46



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengamatan Sperma Segar Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> )	28
2. Hasil Pengamatan Rata-rata Persentase Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ) .....	30
3. Hasil Analisis Sidik Ragam Persentase Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ) .....	31
4. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ) .....	32
5. Hasil Pengamatan Rata-rata Persentase Motilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ) .....	36
6. Hasil Analisis Sidik Ragam Persentase Motilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ) .....	37
7. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Motilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> ) .....	38



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Patin ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> ) .....	6
2. Morfologi Spermatozoa Ikan.....	9
3. Proses Spermatogenesis.....	11
4. Metabolisme Spermatozoa .....	13
5. Efek Pemberian Ekstender dari larutan isotonik, hipertonik, dan hipotonik pada Spermatozoa .....	17
6. Denah Rancangan Penelitian.....	21
7. Perbedaan Sel Spermatozoa Hidup dan Mati.....	29
8. Grafik Hasil Pengamatan Persentase Viabilitas pada Masing-masing Perlakuan .....	30
9. Grafik Hubungan Pengaruh Konsentrasi Sari buah kurma Terhadap Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> )... ..	33
10. Grafik Hasil Pengamatan Persentase Viabilitas pada Masing-masing Perlakuan .....	37
11. Grafik Hubungan Pengaruh Konsentrasi Sari buah kurma Terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypophthalmus</i> )....	39

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Peralatan Penelitian .....	46
2. Bahan Penelitian .....	48
3. Hasil Pengamatan Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypopthalmus</i> ) .....	49
4. Data Penelitian Pendahuluan .....	50
5. Perhitungan Statistik Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypopthalmus</i> ) .....	51
6. Perhitungan Statistik Motilitas Spermatozoa Ikan Patin ( <i>P. hypopthalmus</i> ) .....	55



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ikan patin merupakan salah satu komoditas sektor perikanan air tawar bernilai ekonomis penting. Harga jualnya cukup menjanjikan, umumnya di atas harga jual rata-rata ikan konsumsi jenis lain. Penyebab mahalnya harga jual ikan patin terletak pada rasa dagingnya yang lezat. Nilai protein daging ikan patin juga tergolong tinggi yaitu mencapai 68,6%. Kandungan gizi lainnya adalah lemak 5,8%, abu 5%, dan air 59,3%. Berat ikan setelah disiangi sebesar 79,9% dari berat awalnya sedangkan *fillet* yang diperoleh dari bobot ikan seberat 1-2 kg mencapai 61,7% (Amri dan Khairuman, 2008).

Usaha peningkatan produksi benih ikan patin baik jumlah maupun kualitasnya perlu dijaga secara berkelanjutan. Hal ini perlu dilakukan mengingat beberapa hambatan saat pemijahan ikan patin secara alami yaitu pemijahan yang terjadi hanya satu kali dalam satu tahun, gonad jantan dan betina ikan patin juga tidak matang pada waktu yang sama di kolam budidaya, selain itu hambatan lain yang muncul menurut Rustidja (2000), adalah kualitas sperma (presentase hidup, motilitas, dan lama hidup) akan terus menurun setelah dikeluarkan dari tubuh ikan.

Menurut Kurniawan, *et al.* (2013), faktor utama dalam kegiatan peningkatan produksi dibutuhkan induk unggulan yang sudah matang gonad sehingga akan dihasilkan benih yang kualitas dan kuantitasnya baik. Salah satu upaya untuk menghasilkan induk unggul diperlukan waktu yang lama dan biaya yang mahal oleh karena itu keberadaan induk unggul harus dimanfaatkan seoptimal mungkin. Pada saat musim reproduksi, sperma induk unggul dapat disimpan sehingga pada saat diperlukan dapat langsung digunakan tanpa harus menggunakan induk jantan matang gonad kembali.

Menurut Toelihere (1981), penyimpanan sperma membutuhkan bahan pengencer yang dapat melindungi sperma dari suhu rendah dan memberikan sumber energi selama proses penyimpanan, karena tanpa adanya bahan pengencer sperma akan rusak dan mati selama penyimpanan. Pengencer yang dibutuhkan dapat menyediakan nutrisi dan bersifat isotonik yang dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai, sehingga sperma dapat bertahan hidup.

Proses penyimpanan sperma memerlukan suatu bahan yang dapat berfungsi ganda yaitu untuk mengurangi aktifitas sperma dan mempertahankan kehidupan spermatozoa. Menurut Nilna (2010), bahan yang sering digunakan untuk penyimpanan semen yaitu larutan NaCl. Larutan NaCl memberi sifat *buffer*, mempertahankan pH semen dalam suhu kamar, bersifat isotonis dengan cairan sel, melindungi spermatozoa terhadap *cold shock* dan penyeimbangan elektron yang sesuai.

Menurut Isnaini dan Suyadi (2000), penyimpanan semen dengan larutan pengencer NaCl fisiologis hanya dapat digunakan tidak lebih dari 60 menit setelah penampungan karena kurang mengandung sumber energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa. Tambahan bahan lain menjadi suatu keperluan untuk memperpanjang waktu spermatozoa untuk bertahan hidup dan mempertahankan pergerakan spermatozoa dalam media penyimpanan.

Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa disediakan oleh gula sederhana (monosakarida) seperti fruktosa dan glukosa. Penambahan fruktosa atau glukosa dalam pengencer berguna untuk mendukung daya hidup spermatozoa pasca pengenceran. Hal tersebut dapat mendukung proses pembentukan *Adenosine Triphosphate* (ATP) dan *Adenosine Diphosphate* (ADP) yang harus terus berlangsung (Salisbury dan Van Denmark, 1985).

Penambahan glukosa dan fruktosa dalam pengencer dapat dilakukan dengan penambahan sari kurma. 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%. Didukung dengan pernyataan Rahmawan (2006) bahwa buah kurma yang mengandung zat-zat gula (campuran glukosa, sukrosa, dan fruktosa), protein, lemak, serat, vitamin A, B1, B2, B12, C, potasium, kalsium, besi, klorin, tembaga, magnesium, sulfur, fosfor, dan beberapa enzim yang cukup lengkap nutrisinya. Berdasarkan informasi tersebut diketahui bahwa kandungan bahan yang ada pada kurma hampir sama dengan kandungan yang terdapat pada plasma semen maka penggunaan sari kurma dalam NaCl fisiologis diduga dapat mendukung daya hidup dan pergerakan spermatozoa selama masa penyimpanan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Peningkatan permintaan dan produksi ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang terus meningkat harus didukung dengan ketersediaan benih yang memadai baik dari segi kualitas maupun kuantitas. Kualitas dan kuantitas benih ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya adalah kualitas sperma induk jantan yang mengalami penurunan kualitas setelah dikeluarkan dari tubuh ikan.

Penyimpanan sperma ikan dengan menggunakan larutan pengencer NaCl fisiologis tanpa penambahan sumber energi hanya dapat digunakan tidak lebih dari 60 menit setelah penampungan karena kurang mengandung sumber energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa (Isnaini dan Suyadi, 2000). Penambahan bahan lain menjadi suatu kebutuhan untuk memperpanjang waktu spermatozoa

bertahan hidup dan mempertahankan pergerakan spermatozoa dalam media penyimpanan.

Buah kurma yang mengandung zat-zat gula (campuran glukosa, sukrosa, dan fruktosa), protein, lemak, serat, vitamin A, B1, B2, B12, C, potasium, kalsium, besi, klorin, tembaga, magnesium, sulfur, fosfor, dan beberapa enzim yang cukup lengkap nutrisinya (Rahmawan, 2006). Berdasarkan informasi tersebut diharapkan buah kurma yang diambil sarinya dapat memenuhi kebutuhan spermatozoa untuk bertahan hidup dan mempertahankan pergerakan spermatozoa selama masa penyimpanan. Berdasarkan uraian tersebut maka dibutuhkan penelitian mengenai penggunaan sari kurma sebagai bahan tambahan yang memberikan nutrisi dalam pengencer NaCl fisiologis untuk meningkatkan performa spermatozoa (viabilitas dan motilitas) selama masa penyimpanan.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan larutan sari kurma dalam NaCl fisiologis terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) selama 48 jam masa penyimpanan dan untuk mengetahui konsentrasi larutan sari kurma yang tepat dalam proses penyimpanan spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*).

### 1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna bagi usaha budidaya ikan air tawar dalam mendukung kemajuan dunia perikanan yang bersinergis dengan pemanfaatan potensi alam Indonesia dengan memanfaatkan sari kurma sebagai bahan tambahan pada NaCl fisiologis dengan konsentrasi terbaik dalam proses penyimpanan spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*).

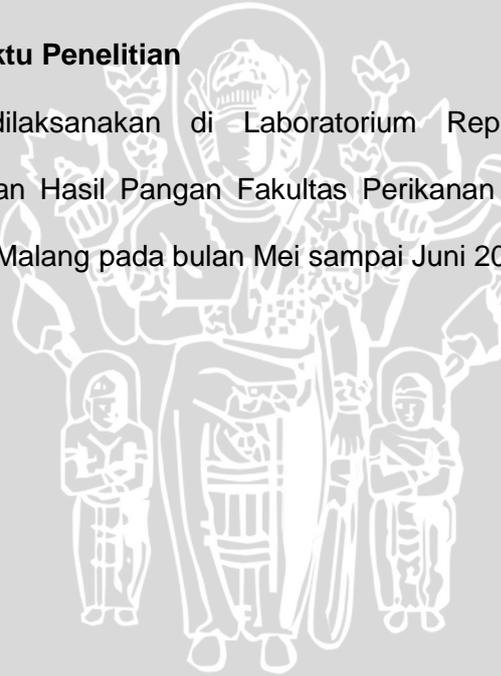
### 1.5 Hipotesis

H0 : Diduga pemberian konsentrasi larutan sari kurma yang berbeda dalam NaCl fisiologis tidak memberikan pengaruh terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) selama 48 jam masa penyimpanan.

H1 : Diduga pemberian konsentrasi larutan sari kurma yang berbeda dalam NaCl fisiologis memberikan pengaruh terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) selama 48 jam masa penyimpanan.

### 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ikan dan Laboratorium Keamanan Hasil Pangan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Mei sampai Juni 2015.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)

#### 2.1.1 Klasifikasi

Menurut Eschmeyer (1998), berdasarkan ilmu taksonomi klasifikasi ikan

patin adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Class : Actinopterygii

Ordo : Siluriformes

Familia : Pangasiidae

Genus : Pangasius

Spesies : *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878)

*Common Name* : *Pangasius sutchi* (Fowler, 1937)

Nama Lokal : Patin Bangkok, Lele Bangkok, Patin Siam



**Gambar 1.** Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) (Dokumentasi Pribadi, 2015)

#### 2.1.2 Morfologi

Menurut Djariah (2001), ikan patin memiliki warna tubuh putih keperak-perakan dan punggung kebiru-biruan. Bentuk tubuh memanjang, kepala relatif

kecil. Ujung kepala terdapat mulut yang dilengkapi dua pasang pendek yang berfungsi sebagai peraba.

Ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) dewasa memiliki panjang mencapai 120 cm. Ukuran tubuh ikan ini merupakan ukuran tubuh yang tergolong besar bagi ikan jenis lele-lelean. Sama seperti ikan lele-lelean lainnya, patin tidak memiliki sisik alias bertubuh licin. Bentuk kepalanya relatif kecil. Mulutnya terletak diujung kepala sebelah bawah. Di sudut mulutnya terdapat dua pasang kumis yang berfungsi sebagai alat pencari pakan dan alat peraba saat berenang. Di bagian punggungnya terdapat sirip dengan sebuah jari-jari keras yang dapat berubah menjadi patil, jari-jari lunaknya berjumlah 6-7 buah. Bentuk sirip ekornya simetris bercagak. Pada sirip dada terdapat 12-13 jari-jari lunak dan satu buah jari-jari keras yang berfungsi sebagai patil. Sirip duburnya panjang, terdiri dari 30-33 jari-jari lunak sementara itu di sirip perut terdapat 6 jari-jari lunak (Amri dan Khairuman, 2008).

### 2.1.3 Biologi Reproduksi

Menurut Rustidja (2000), tipe reproduksi ikan patin bersifat biseksual artinya perkembangan spermatozoa dan sel telur terjadi secara terpisah pada induk jantan dan betina. Pada ikan jantan terdapat sepasang gonad membesar pada masa perkawinan. Gonad ikan jantan berjumlah sepasang, memanjang dalam rongga badan di bawah gelembung renang dan di atas usus. Melalui vasa diferensia sperma dikeluarkan lewat papila urogenitalis.

Menurut Chew *et al.* (2010), pada habitat aslinya, ikan patin memijah pada musim penghujan sehingga benihnya banyak ditemukan pada bulan Maret-Mei ikan patin matang kelamin pada usia 2-3 tahun dengan berat di atas 1,5 kg. Induk patin yang berbobot 5-6 kg dapat menghasilkan telur 1,5 juta butir dan

menghasilkan semen 2 ml – 16 ml, dengan konsentrasi spermatozoanya  $9,4 \times 10^2$  sel/ml, motilitasnya 70% - 99% dengan pH 7,14 – 7,85.

Patin jantan mencapai dewasa lebih cepat dari patin betina karena proses kematangan kelamin relatif lama. Perkembangan gametnya dipengaruhi oleh suhu lingkungan. Patin yang hidup di daerah tropis perkembangan telur dan spermanya lebih cepat daripada patin yang hidup di daerah subtropis. Patin yang matang kelamin mudah memijah saat terjadi turbulensi akibat pengadukan air dari permukaan dasar yang bersamaan dengan banjir atau meluapnya air sungai, sebaliknya patin sulit memijah secara alami di kolam-kolam pemeliharaan. Patin hanya memijah setelah diberi rangsangan (*induced spawning*) (Kordi, 2010).

## 2.2 Spermatozoa

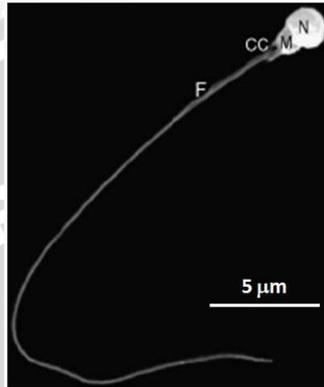
### 2.2.1 Morfologi Spermatozoa

Feradis (2010), menjelaskan bahwa spermatozoa merupakan suatu sel kecil, kompak dan sangat khas yang tidak bertumbuh atau membagi diri. Walaupun ukuran dan bentuk spermatozoa berbeda pada berbagai jenis hewan namun struktur morfologinya hampir sama. Sel spermatozoa mempunyai fungsi dalam pembuahan ovum hewan betina. Jumlah spermatozoa mempunyai korelasi dengan berat dan ukuran gonad.

Menurut Hoar *et al.*, (1983), morfologi spermatozoa ikan teleostei dapat dibagi menjadi kepala, leher, bagian leher, bagian tengah, dan ekor. Spermatozoa ikan tidak mempunyai akrosom yang terdapat pada semua kelompok vertebrata lain, hal ini mungkin berkaitan dengan adanya lubang mikrofil pada telur ikan teleostei. Karena spermatozoa pada ikan tidak perlu mendobrak lapisan telur untuk melakukan pembuahan.

Kepala spermatozoa secara umum berbentuk bulat atau oval. Pada ikan mas, tawes, dan nila, kepala spermatozoa berbentuk oval dan sedikit memanjang

di mana perbandingan panjang kepala sedikit lebih besar dibandingkan leher kepala. Bagian kepalanya dan bagian leher mengalami reduksi. Ekornya mempunyai panjang 10-20 kali panjang kepala. Spermatozoa pada ikan teleostei umumnya ukuran panjang kepala spermatozoa antara 2-3  $\mu\text{m}$  (Tang dan Affandi, 2001). Adapun gambar morfologi spermatozoa ikan dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Morfologi Spermatozoa Ikan skala 5 $\mu\text{m}$ : nucleus (N), midpiece (M), flagella (F), dan saluran sitoplasma (CC) (Islam dan Akhter, 2011)

Bentuk-bentuk spermatozoa teleostei berbeda-beda tergantung spesies. Bentuk tersebut, memungkinkan spermatozoa dapat bergerak. Di samping itu pergerakan spermatozoa diatur oleh aktivitas asetilkolin yang terdapat pada kepala spermatozoa. Selain itu panjang pendeknya ukuran ekor sperma dapat menentukan keaktifan bergerak. Semakin panjang ekor sperma maka semakin aktif sperma tersebut bergerak (Iromo, 2006).

### 2.2.2 Kandungan dalam Spermatozoa

Menurut Partodihardjo (1980), sel yang hidup dan bergerak disebut spermatozoa dan zat cair di dalam sel disebut seminal plasma. Baik spermatozoa maupun seminal plasma menurut analisa kimia terdiri atas rangkaian-rangkaian zat kimia organik tertentu. Secara rinci dijelaskan oleh Yatim (1994), bahwa zat-zat yang terkandung dalam spermatozoa ada berbagai macam dan masing-masing memiliki fungsi khusus, antara lain:

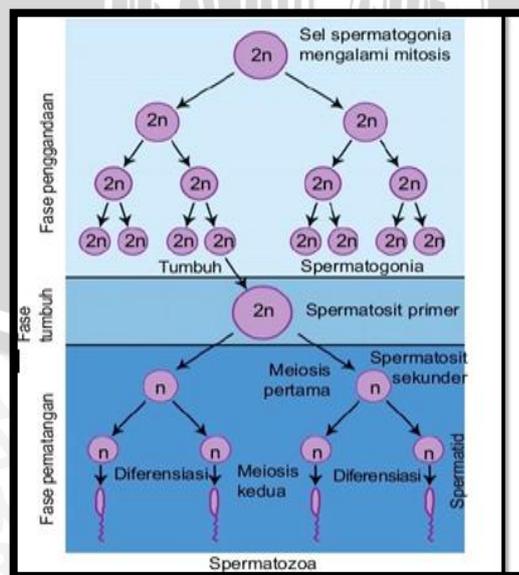
1. *Fruktosa*, dihasilkan oleh vesikula seminalis. Berada dalam plasma, sebagai sumber energi bagi spermatozoa untuk bergerak.
2. *Asam sitrat*, diduga berfungsi untuk mengumpulkan spermatozoa pasca ejakulasi.
3. *Spermin*, memberikan bau yang khas pada spermatozoa.
4. *Seminin*, untuk merombak (*melysis*) sehingga spermatozoa menjadi encer.
5. *Enzim fosfatase asam, glukorunidase, liozozim, dan amylase*, berperan dalam memelihara atau memberi nutrisi bagi spermatozoa pada saat di luar tubuh.
6. *Enzim pembuahan (hyaluronidase, neuronidase, protease mirip tripsin dan protease mirip kemotripsin)*, enzim ini sebagian ada di akrosom spermatozoa dan sebagian di plasma. Selama belum bereaksi dengan ovum enzim ini dalam keadaan non aktif karena adanya inhibitor.
7. *Inhibitor*, dihasilkan kelenjar-kelenjar kelamin jantan dan terkadang dalam plasma. Inhibitor ini bekerja atau berpengaruh terutama terhadap enzim-enzim pembuahan
8. *Prostaglandi*, dihasilkan oleh vesikula seminalis. Mempunyai peranan untuk melancarkan pengangkutan spermatozoa dalam saluran kelamin jantan pada waktu ejakulasi.
9. *Elektrolit*, terutama Na, K, Zn, dan Mg dihasilkan oleh vesikula seminalis yang berfungsi untuk memelihara plasma (sebagai *buffer* untuk menjaga keseimbangan pH plasma).
10. *Zat organik lain (asam amino, protein, dan lemak)*, asam amino yang menjadi ciri sperma adalah tirosin dan asam glutamat. Sedangkan protein yang utama adalah karnitin. Zat organik ini berasal dari testis pada saluran kelenjar.

Bagian terbesar semen adalah seminal plasma, yaitu sebesar 90 persen berupa sekresi dari kelenjar asesoris. Fungsi utama seminal plasma adalah

sebagai suatu medium pembawa spermatozoa dari saluran reproduksi hewan jantan ke dalam saluran reproduksi hewan betina. Fungsi ini dapat dijalankan oleh seminal plasma yang mengandung bahan penyangga dan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Toelihere, 1981).

### 2.2.3 Spermatogenesis

Menurut Fujaya (2004), perkembangan gamet jantan dari spermatogonium menjadi spermatozoa melalui dua tahap, yakni spermatogenesis dan spermiogenesis. Spermatogenesis adalah tahap perkembangan spermatogonium menjadi spermatid, sedangkan spermiogenesis adalah metamorfosa spermatid menjadi spermatozoa. Awal spermatogenesis ditandai dengan berkembang biaknya spermatogonia beberapa kali melalui pembelahan mitosis, untuk memasuki tahap spermatosit primer. Selanjutnya terjadi pembelahan meiosis prosesnya dimulai dengan kromosom berpasangan yang diikuti dengan duplikasi membentuk tetraploid (4n). Satu spermatosit primer tetraploid membentuk dua spermatosit sekunder yang diploid (2n). Satu spermatosit sekunder diploid membelah menjadi dua spermatid haploid (n). Proses spermatogenesis dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Proses Spermatogenesis (Toole et al., 1999)

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

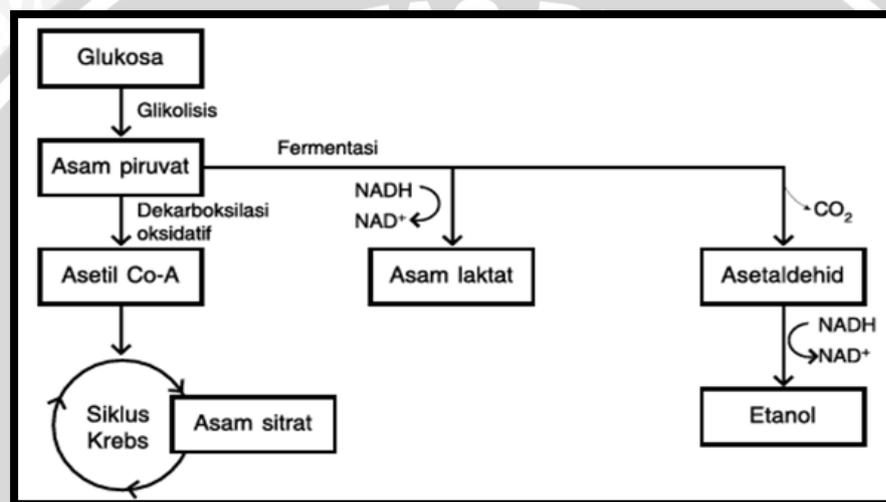
Spermatid ini akan bermetamorfose menjadi gamet yang akan bergerak aktif, disebut dengan spermatozoa atau sel sperma yang akan disimpan dalam testes. Spermatozoa yang disimpan di testes berada dalam keadaan istirahat (dorman) sampai induk jantan siap memijah. Proses metamorfose dari spermatid inilah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

#### **2.2.4 Metabolisme Spermatozoa**

Metabolisme spermatozoa dapat berlangsung secara aerob maupun anaerob. Ketika terdapat oksigen, metabolisme fruktosa 9 kali lebih efisien dalam menghasilkan energi dan dimetabolisir secara sempurna menjadi  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ . Sebaliknya jika ketersediaan oksigen tidak mencukupi maka metabolisme spermatozoa akan berjalan secara anaerob. Metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerob menghasilkan asam laktat yang mengakibatkan racun bagi sperma. Pada kondisi lingkungan yang asam, daya gerak spermatozoa akan menurun dan dapat menyebabkan kematian sperma (Hidayaturrahmah, 2007).

Glikolisis adalah suatu reaksi penguraian 6-karbon monosakarida sederhana menjadi asam laktat. Spermatozoa menggunakan bahan terbentuk dari susunan 6-karbon gula sederhana atau heksosa secara langsung hanya dalam bentuk glukosa, fruktosa ataupun manosa. Gula sederhana ini akan terurai

menjadi menjadi 3-karbon dengan kandungan asam piruvat, kemudian dihidrolisa atau direduksi menjadi asam laktat (Salisbury dan Van Denmark, 1985). Menurut Toelihere (1993), metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerob menghasilkan asam laktat yang semakin lama akan semakin tertimbun dan mempertinggi derajat keasaman atau menurunkan pH larutan sehingga diperlukan bahan penyangga (*buffer*) untuk memperthankan pH sperma. Proses metabolisme spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Metabolisme Spermatozoa (Fujaya, 2002)

## 2.3 Parameter Kualitas Spermatozoa

### 2.3.1 Viabilitas

Menurut Hidayaturrahman (2007), persentase viabilitas spermatozoa menentukan kualitas sperma. Persentase viabilitas yang tinggi dapat meningkatkan keberhasilan dalam pembuahan. Semakin besar jumlah viabilitas sperma maka kemampuan menembus lubang mokropil akan semakin tinggi.

Persentase spermatozoa hidup dan mati dapat ditentukan melalui cara pewarnaan. Perbedaan penyerapan zat warna antara sel-sel spermatozoa mati dan hidup dapat digunakan menghitung secara obyektif jumlah spermatozoa hidup atau mati. Sewaktu semen dicampur dengan zat warna maka spermatozoa

hidup (viabil) tidak akan menyerap warna karena membrannya masih bagus (Rahardhianto *et al.* 2012).

Sel spermatozoa yang tidak motil dan dianggap mati menghisap zat warna dan sel spermatozoa yang motil dan yang hidup tidak berwarna. Bahan pewarna yang biasa digunakan adalah eosin negrosin. Eosin negrosin adalah pewarna sel yang baik dipergunakan untuk prosedur ini sehingga pengamatan spermatozoa yang berwarna dan tidak berwarna menjadi jelas. Spermatozoa yang berwarna sebagian juga dianggap mati. Sperma yang hidup membrannya masih baik sehingga pewarna tidak dapat masuk sedangkan spermatozoa yang mati membrannya tidak berfungsi sehingga pewarna dapat masuk ke dalam membran spermatozoa (Susilawati, 2011).

### 2.3.2 Motilitas

Motilitas umumnya digunakan sebagai parameter kesanggupan spermatozoa membuahi (Toelihere, 1981). Penilaian secara visual terhadap motilitas merupakan penilaian yang subjektif (Partodiharjo, 1980). Motilitas spermatozoa ditentukan dari pemeriksaan gerakan massa atau individu (Hardijanto *et al.*, 2009).

Motilitas spermatozoa dibedakan menjadi dua golongan, yaitu motilitas massa dan motilitas individu. Motilitas individu dapat dinilai dari gerak sperma yaitu bila bergerak progresif atau gerak aktif ke depan merupakan gerak terbaik dan dinilai lebih besar dari 70%, gerak lambat atau gerak memutar di tempat menunjukkan semen dari pejantan yang tua, sedangkan gerak mundur atau melingkar merupakan tanda spermatozoa mengalami kejutan dingin dan bila tidak bergerak sperma dianggap mati. Persentase motilitas spermatozoa di bawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik dan berhubungan dengan infertilitas (Toelihere, 1981).

## 2.4 Sari Buah Kurma

Kurma (*Phoenix sp.*) pohonnya semacam palem yang tumbuh dan berbuah di negeri arab, irak dan sekitarnya. Banyak ditemukan di padang pasir (kering) dan bisa mencapai tinggi 30-35 meter, mulai berbunga setelah umur 6-16 tahun, ada dua jenis jantan dan betina dengan bentuk bunga lebih besar untuk yang berjenis jantan. Buah kurma berbentuk lonjong dengan ukuran 2-7.5 cm dengan warna yang bermacam-macam antara coklat gelap, kemerahan, kuning muda dan berbiji. Buah kurma memiliki beberapa zat berikut gula (campuran glukosa, sukrosa, dan fruktosa), protein, lemak, serat, vitamin A, B1, B2, B12, C, potasium, kalsium, besi, klorin, tembaga, magnesium, sulfur, fosfor, dan beberapa enzim yang dapat berperan dalam penyembuhan berbagai penyakit (Rahmawan, 2006).

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 energi tubuh 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% (Rock *et al.*, 2009).

## 2.5 Pengenceran Sperma

Pengenceran semen adalah upaya untuk memperbanyak volume semen, mengurangi kepadatan spermatozoa serta menjaga kelangsungan hidup spermatozoa sampai waktu tertentu pada kondisi penyimpanan di bawah atau di atas titik beku. Pengenceran dan penyimpanan semen merupakan usaha

mempertahankan fertilitas spermatozoa dalam periode yang lebih lama yakni untuk memperpanjang daya hidup spermatozoa, motilitas, dan daya fertilitasnya (Rusdin dan Jum'at, 2000).

Menurut Feradis (2010), spermatozoa tidak dapat tahan hidup untuk waktu yang lama kecuali bila ditambahkan berbagai unsur ke dalam semen. Unsur-unsur ini yang membentuk suatu pengencer yang baik. Syarat penting yang harus dimiliki oleh setiap pengencer adalah:

1. Murah, sederhana, praktis dibuat tapi daya preservasi yang tinggi.
2. Mengandung unsur yang sifat fisik dan kimiawinya hampir sama dengan semen dan tidak mengandung zat yang bersifat racun bagi spermatozoa.
3. Tetap dapat mempertahankan daya fertilitasi spermatozoa dan tidak terlalu kental sehingga tidak menghambat fertilitasi.
4. Pengencer harus memberi kemungkinan penilaian sperma sesudah pengenceran agar dapat ditentukan nilai semen tersebut.

Fungsi pengencer menurut Partodiharjo (1980), adalah sebagai berikut;

1. Memperbanyak volume semen sehingga dapat dipakai untuk inseminasi (pembuahan buatan) lebih banyak.
2. Melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) selama pembekuan.
3. Menyediakan zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa.
4. Menyediakan *buffer* untuk mencegah perubahan pH dan dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit.

## 2.6 Interaksi Sperma dengan Larutan Pengencer

Media pengencer harus isotonik terhadap sperma. Larutan pengencer yang bersifat hipotonik ataupun hipertonik akan mempengaruhi metabolisme spermatozoa yang khususnya pada membran sel yang bersifat semipermeabel

sehingga larutan pengencer akan mempengaruhi transfer air melalui membran sel dan menyebabkan rusaknya integritas sel (Sutoyo, 2000).

Larutan pengencer yang hipertonik mengakibatkan air akan keluar dan terjadi hidrolisa yang akan menyebabkan sel-sel mengkerut. Sebaliknya bila ditempatkan dalam larutan yang tekanan osmosanya lebih rendah (hipotonik) maka air akan masuk ke dalam sel sehingga sel akan menggelembung. Bila perbedaan tekanan osmosa lebih besar maka dinding sel akan pecah. Oleh karena itu dalam penggunaan larutan pengencer harus memiliki tekanan osmosa yang sama (isotonis) dengan kondisi kebutuhan spermatozoa agar tidak terjadi penurunan motilitas (Wahyuni, 1994). Adapun efek dari pemberian ekstender dari larutan isotonik, hipotonik, dan hipertonik pada spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Efek Pemberian Ekstender dari larutan isotonik, hipertonik, dan hipotonik pada Spermatozoa (Savitri, 2009)

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Peralatan Penelitian

Peralatan dalam suatu penelitian sangat dibutuhkan agar dapat mempermudah dalam melakukan setiap perlakuan. Daftar kegunaan dan beberapa gambar peralatan yang digunakan dalam penelitian disajikan pada Lampiran 1. Daftar peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- ❖ **Akuarium 60 X 40 X 30 cm<sup>3</sup>**
- ❖ ***Aerator Set***
- ❖ ***Heater Akuarium***
- ❖ **Mikroskop Binokuler**
- ❖ **Lemari Pendingin**
- ❖ **Timbangan Analitik**
- ❖ **Cuvet 10 ml**
- ❖ ***Eppendorf***
- ❖ ***Spuit 1 ml dan 5 ml***
- ❖ ***Spuit tanpa jarum 1 ml dan 5 ml***
- ❖ **Pipet Thoma**
- ❖ **Pipet Tetes**
- ❖ **Erlemeyer 500 ml**
- ❖ **Beaker Glass 1000 ml**
- ❖ **Gelas Ukur 100 ml**
- ❖ ***Object Glass***
- ❖ ***Cover Glass***
- ❖ ***Haemocytometer***
- ❖ ***Handtally Counter***
- ❖ **Nampan**
- ❖ ***Washing Bottle***
- ❖ ***Sprayer***
- ❖ **Sendok Bahan**
- ❖ **Kertas pH**

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan – bahan dalam suatu penelitian sangat dibutuhkan agar dapat mempermudah dalam melakukan setiap perlakuan. Daftar kegunaan dan beberapa gambar bahan – bahan yang digunakan disajikan pada Lampiran 1. Daftar bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- ❖ Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) Jantan yang Matang Gonad
- ❖ Sari Buah Kurma
- ❖ NaCl Fisiologis
- ❖ Larutan *Eosin Negrosin*
- ❖ Alkohol 70%
- ❖ Aquades
- ❖ Hormon Reproduksi
- ❖ Aluminium Foil
- ❖ Tisu
- ❖ Kertas Label

### 3.2 Penelitian Pendahuluan

Penelitian mengenai pencarian bahan terbaik untuk menjaga kondisi sperma selama masa penyimpanan masih terus dilakukan untuk mendapatkan hasil yang optimal. Penelitian yang menggunakan sari buah kurma sebagai bahan tambahan pada ekstender untuk penyimpanan sperma ikan merupakan penelitian yang masih baru di bidang perikanan sehingga masih belum ada literatur pendukung yang digunakan sebagai bahan rujukan pada penelitian ini. Berdasarkan hal tersebut maka dibutuhkan penelitian pendahuluan untuk mengetahui konsentrasi larutan sari buah kurma dan lama waktu perlakuan yang akan digunakan pada penelitian utama.

Penelitian ini mengacu pada beberapa penelitian sebelumnya yaitu tentang penambahan gula sederhana pada ekstender NaCl-Fisiologis selama masa penyimpanan sperma ikan. Salah satu penelitian yang menjadi acuan adalah penelitian Rahardianto *et al.* (2012) yaitu penambahan fruktosa dan glukosa dari madu pada ekstender (NaCl fisiologis) untuk meningkatkan performa (viabilitas dan motilitas) spermatozoa ikan patin (*Pangasius pangasius*). Penelitian tersebut menunjukkan hasil bahwa penambahan fruktosa dan glukosa dapat meningkatkan performa (viabilitas dan motilitas) spermatozoa ikan dengan konsentrasi terbaik adalah 0,6% (sperma + 0,6 ml madu + 99,4 ml NaCl fisiologis). Berdasarkan hasil penelitian tersebut digunakan pada penelitian

pendahuluan rentang 0,5% untuk 5 perlakuan konsentrasi yaitu 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, dan 2,5% tanpa ulangan.

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kualitas performa spermatozoa ikan dipengaruhi oleh konsentrasi larutan dan lama waktu penyimpanan. Berdasarkan penelitian pendahuluan diperoleh hasil terbaik pada konsentrasi 2 % dan penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa penyimpanan setelah 48 jam mengalami penurunan kualitas sperma sehingga motilitas dan viabilitas sperma ikan berada dibawah nilai 40%. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan tersebut dilakukan penelitian tahap berikutnya pada penelitian utama untuk mengetahui lebih rinci konsentrasi larutan terbaik selama 48 jam proses penyimpanan sperma ikan.

### **3.3 Penelitian Utama**

#### **3.3.1 Metode Penelitian**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yaitu dengan melakukan percobaan, perlakuan dan pengamatan terhadap objek penelitian untuk mengetahui hubungan antar variabel yang diselidiki. Menurut Jaedun (2011), penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses manipulasi melalui pemberian perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati atau diukur dampaknya (data yang akan datang).

#### **3.3.2 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian merupakan gambaran umum penelitian yang akan dilaksanakan oleh peneliti untuk mencapai tujuan tertentu. Rancangan penelitian disajikan dalam satu kesatuan naskah yang ringkas dan utuh. Rancangan penelitian menunjukkan adanya format penulisan yang disusun secara sistematis dan operasional yang meliputi langkah-langkah dan tahapan yang harus dijalani

oleh peneliti. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Menurut Hanafiah (2013), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana jika dibandingkan dengan rancangan-rancangan lainnya. Rancangan ini tidak terdapat lokal kontrol, sehingga sumber keragaman yang diamati hanya perlakuan dengan galat. Kondisi ini hanya dicapai di ruangan-ruangan terkontrol seperti di laboratorium. Adapun model rancangan acak lengkap yang secara umum dinyatakan dalam model matematika adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

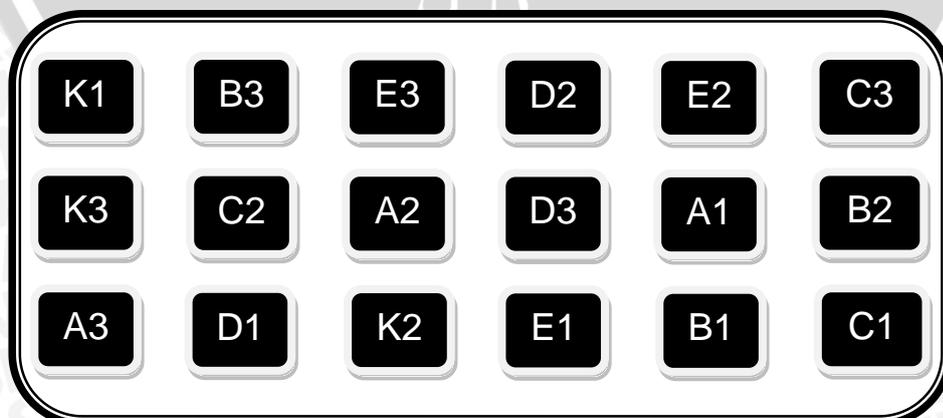
$Y_{ij}$  = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$\mu$  = Nilai tengah umum

$T_i$  = Pengaruh perlakuan ke-i

$\varepsilon_{ij}$  = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang digunakan terdiri dari 5 perlakuan dan 1 kontrol yang masing-masing dilakukan 3 kali ulangan. Adapun denah penelitian yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Denah Rancangan Penelitian

Keterangan:

- K : Kontrol  
A, B, C, D dan, E : Perlakuan  
1,2 dan 3 : Ulangan

Penelitian ini mengacu pada hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan untuk penentuan konsentrasi larutan sari buah kurma yang tepat sebagai bahan yang digunakan sebagai sumber energi spermatozoa untuk bertahan hidup dalam jangka waktu yang lebih lama. Berdasarkan penelitian pendahuluan diperoleh hasil terbaik pada konsentrasi 2% dan penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa penyimpanan setelah 48 jam mengalami penurunan kualitas sperma sehingga motilitas dan viabilitas sperma ikan berada dibawah nilai 40%. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan tersebut maka dilakukan penelitian utama untuk mengetahui konsentrasi larutan terbaik yang dilakukan selama 48 jam proses penyimpanan sperma ikan. Adapun perlakuan konsentrasi pada penelitian ini sebagai berikut

- Kontrol : sperma ikan + 0 ml larutan sari buah kurma dalam 100 ml NaCl fisiologis
- Perlakuan A : konsentrasi larutan sari buah kurma 1,5 % (sperma ikan + 1,5 ml larutan sari buah kurma + 98,5 ml NaCl fisiologis)
- Perlakuan B : konsentrasi larutan sari buah kurma 1,75 % (sperma ikan + 1,75 ml larutan sari buah kurma + 98,25 ml NaCl fisiologis)
- Perlakuan C : konsentrasi larutan sari buah kurma 2 % (sperma ikan + 2 ml larutan sari buah kurma + 98 ml NaCl fisiologis)
- Perlakuan D : konsentrasi larutan sari buah kurma 2,25 % (sperma ikan + 2,25 ml larutan sari buah kurma + 97,75 ml NaCl fisiologis)
- Perlakuan E : konsentrasi larutan sari buah kurma 2,5 % (sperma ikan + 2,5 ml larutan sari buah kurma + 97,5 ml NaCl fisiologis)

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan Penelitian

##### a. Pengambilan Sperma Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Ikan uji yang digunakan adalah ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) jantan yang matang gonad. Pemilihan ikan uji dilakukan satu minggu sebelum *stripping*. Kriteria ikan yang diambil spermanya adalah ikan yang mempunyai tingkat kematangan gonad dewasa atau TKG IV. Ikan yang matang gonad (TKG IV) berusia 2 – 3 tahun dengan berat di atas 1,5 kg dan jika diurut secara halus di bagian lubang urogenitalnya mengeluarkan cairan sperma berwarna putih susu (Kordi, 2010).

Langkah-langkah pengambilan sperma ikan adalah sebagai berikut:

1. Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang matang gonad diukur panjang dan berat badannya.
2. Bagian lubang urogenital dan sekitarnya dikeringkan dengan lap halus.
3. Proses *stripping* dilakukan dengan mengurut bagian abdomen dari anterior ke arah posterior menuju lubang urogenital.
4. Pengambilan sperma dilakukan menggunakan spuit tanpa jarum.
5. Sperma yang telah diambil ditampung pada cuvet 10 ml.

##### b. Pembuatan Larutan Pengencer

Larutan pengencer digunakan sebagai bahan pengencer sperma selama proses penyimpanan. Adapun proses pembuatan larutan pengencer adalah sebagai berikut:

1. Buah kurma sebanyak 1,65 g dipisahkan antara biji dan dagingnya.
2. Daging buah kurma yang sudah terpisah dihaluskan menggunakan *blender* dan ditambahkan air hangat sebanyak 100 ml dengan pemberian sedikit demi sedikit.

3. Daging buah kurma yang telah dihaluskan disaring.
4. Hasil filtrasi diuapkan sampai air menguap selama 12 jam pada suhu 70-80 °C
5. Sari buah kurma yang didapatkan didinginkan selama 30 menit.
6. Larutan sari buah kurma dengan 5 konsentrasi yang berbeda dicampur dengan NaCl fisiologis ke dalam erlenmeyer 500 ml dan erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil. Konsentrasi larutan sari buah kurma dinyatakan dalam satuan % yang setara dengan ml/100 ml. Adapun konsentrasi larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis sesuai dengan perlakuan yang dilakukan.
7. NaCl fisiologis dituangkan sebanyak 100 ml ke dalam erlenmeyer 500 ml dan erlenmeyer ditutup dengan kapas. NaCl fisiologis tanpa larutan sari buah kurma ini digunakan sebagai kontrol.

#### **c. Pengenceran Sperma Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)**

Pengenceran sperma ikan uji dilakukan dengan menggunakan perbandingan 1:9. Berarti sperma ikan uji diambil sebanyak 0,1 ml dan diencerkan ke dalam 0,9 ml larutan pengencer. Pengenceran sperma ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. 6 *ependorf* yang telah diaseptiskan menggunakan alkohol 70 % disiapkan terlebih dahulu.
2. Larutan pengencer sebanyak 0,9 ml dimasukkan pada masing-masing *ependorf*.
3. Setiap *ependorf* diberi sperma ikan uji sebanyak 0,1 ml dan dihomogenkan.
4. Sample uji disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4° C.

#### **3.4.2 Pelaksanaan Penelitian**

##### **a. Pengamatan Makroskopis**

Pengamatan makroskopis terdiri dari pengamatan volume, warna, dan pH sperma. Pengamatan volume sperma dilakukan dengan melihat volume sperma

yang keluar dari lubang urogenital ikan pada tabung berskala. Pengamatan warna dilakukan dengan cara melihat warna sperma pada saat sperma dikeluarkan dari lubang urogenital ikan dan pada saat pengamatan sperma selama masa penyimpanan. Pengukuran pH sperma dengan menggunakan kertas pH khusus pH basa yaitu 6,8 – 8,0. Perubahan warna pada kertas pH diamati dan disesuaikan dengan warna standar. Pengukuran pH dilakukan setelah sperma dikeluarkan dari lubang urogenital ikan dan pada saat pengamatan sperma selama masa penyimpanan.

**a. Pengamatan Mikroskopis**

• **Konsentrasi Sperma**

Penentuan konsentrasi spermatozoa dilakukan dengan cara thoma dan dinyatakan dalam satuan angka. Adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

1. Disiapkan larutan eosin yang berfungsi sebagai pemberi warna agar dapat menghitung spermatozoa dengan mudah.
2. Apabila pada saat dilihat setiap lapangan pandang dijumpai spermatozoa lebih dari 100/lp, maka sperma dihisap sampai dengan tanda 0,5 dan larutan eosin dihisap sampai dengan tanda 11 (berarti sperma diencerkan 20x).
3. Apabila pada saat dilihat setiap lapangan pandang dijumpai spermatozoa kurang dari 100/lp, maka spermatozoa dihisap sampai dengan tanda 1 dan larutan eosin dihisap sampai dengan tanda 11 (berarti sperma diencerkan 10x).
4. Pipet thoma dikocok secara vertikal hingga sperma dan larutan pengencer homogen.
5. Cairan dibuang sebanyak tiga tetes dari pipet thoma.
6. Ujung pipet thoma dibersihkan dengan tissue.
7. Meneteskan cairan pada tepian gelas penutup kamar penghitung.

8. Dibiarkan selama  $\pm 2$  menit agar semua spermatozoa mengendap rata di dalam kamar hitung.
9. Diamati dengan mikroskop perbesaran 400x.
10. Dihitung konsentrasi spermatozoa dengan rumus berikut:

$$\Sigma S = \frac{n \cdot p}{V}$$

Keterangan:

$\Sigma S$  = Konsentrasi spermatozoa (sel/ml)

$n$  = jumlah sel yang terhitung pada kamar hitung

$p$  = pengenceran

$V$  = volume kamar hitung (panjang: 1mm, lebar: 1 mm, tebal: 0,1 mm, Jadi volume kamar hitung yaitu  $1 \times 1 \times 0,1 = 0,1 \text{ mm}^3 = 10^{-4} \text{ ml}$ )

- **Viabilitas Sperma**

Penentuan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan langkah-langkahnya sebagai berikut:

1. Diambil sperma dengan *micropipet* sebanyak 0,01 ml dan diteteskan pada *object glass*
2. Ditambahkan 0,01 ml cairan *eosin negrosin* dan dihomogenkan.
3. Dibuat preparat dengan cara menekar dan mendorong menggunakan *cover glass* membentuk sudut  $45^\circ$ .
4. Diamati viabilitas spermatozoa menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x.
5. Dihitung prosentase viabilitas spermatozoa dengan rumus berikut:

$$\% \text{ viabilitas spermatozoa} = \frac{\Sigma \text{spermatozoa hidup}}{\Sigma \text{spermatozoa}} \times 100 \%$$

- **Motilitas Sperma**

Penentuan motilitas spermatozoa dilakukan dengan langkah-langkahnya sebagai berikut:

1. Diambil sperma dengan *micropipet* sebanyak 0,01 ml.
2. Diteteskan pada *object glass* dan ditambahkan 0,01 ml aquades.
3. Diamati motilitas spermatozoa menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x.
4. Dihitung prosentase motilitas spermatozoa dengan rumus berikut:

$$\% \text{ motilitas spermatozoa} = \frac{\sum \text{spermatozoa} - \sum \text{spermatozoa immotil}}{\sum \text{spermatozoa}} \times 100 \%$$

### 3.5 Parameter Uji

#### 3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian ini adalah hasil pengamatan mikroskopis yaitu viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*).

#### 3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang pada penelitian ini adalah hasil pengamatan kualitas sperma segar ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*).

### 3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan pengujian statistik sesuai dengan metode yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL). 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.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Kualitas Spema Segar Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

Pemeriksaan kualitas sperma segar dilakukan dengan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis terhadap sperma segar ikan patin (*P. hypophthalmus*) yang bertujuan untuk menentukan kelayakan sperma sebagai stok sperma yang akan disimpan. Hasil pemeriksaan kualitas sperma segar ikan patin (*P. hypophthalmus*) yang digunakan dalam penelitian ditunjukkan pada Tabel 1 di bawah ni.

**Tabel 1.** Hasil Pengamatan Sperma Segar Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

Kriteria Pengamatan	Hasil
Volume sperma	7,8 ml
Warna sperma	Putih susu
pH sperma	7,6
Konsentrasi sperma	$11,2 \times 10^9$ sel/ml
Viabilitas	98%
Motilitas	97%

Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis sperma segar ikan patin (*P. hypophthalmus*) menunjukkan bahwa sperma tersebut layak dijadikan sampel penyimpanan sperma. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Chew *et al* (2010) tentang aplikasi bioteknologi inovatif untuk penerapan kriopreservasi sperma dengan menggunakan sperma ikan patin dihasilkan data volume sperma 2 – 16 ml, konsentrasi sperma sebesar  $9,4 \times 10^9$  sel/ml, motilitas 70% - 99%. Pada hasil pemeriksaan konsentrasi sperma didapatkan data sebesar  $11,2 \times 10^9$  sel/ml data ini sejalan dengan pernyataan Rustidja (2000), bahwa konsentrasi sperma ikan berkisar  $\pm 3,7 - 11,9 \times 10^9$  spermatozoa ml<sup>-1</sup> cairan.

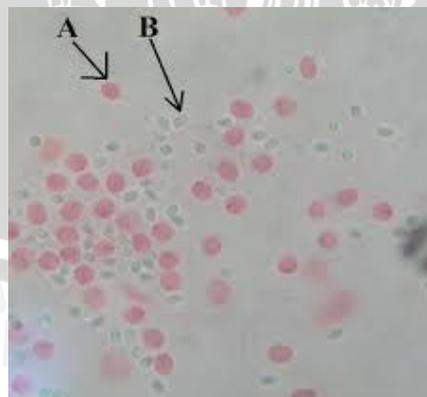
Kelayakan sperma untuk penelitian ini diperkuat dengan pernyataan Fujaya (2004), bahwa warna cairan sperma ikan keputih-putihan, berbau khas sperma

dengan kekentalan yang tinggi dan ditambahkan pula oleh pernyataan Fujaya (2002), bahwa sperma yang dapat digunakan untuk penyimpanan adalah sperma yang memiliki pH 7,14 – 7,85 dan persentase hidup (viabilitas) spermatozoa lebih dari 70%.

## 4.2 Parameter Kualitas Sperma Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

### 4.2.1 Viabilitas Sperma Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

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 yang hidup berwarna transparan atau tidak menyerap zat pewarna sedangkan spermatozoa yang mati berwarna 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 afinitas yang rendah sehingga menyebabkan spermatozoa yang mati berwarna merah. Perbedaan sel spermatozoa hidup dan mati dapat dilihat pada Gambar 7.



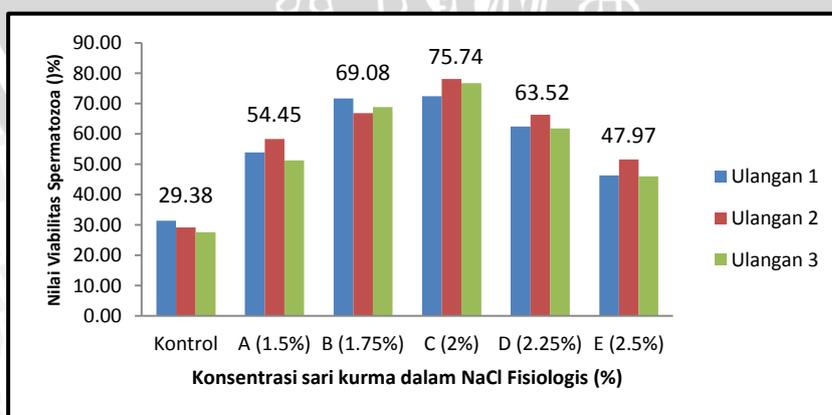
**Gambar 7.** Perbedaan Sel Spermatozoa Hidup dan Mati (a) spermatozoa mati (b) spermatozoa hidup (Dokumentasi pribadi, 2015)

Adapun hasil pengamatan rata – rata persentase viabilitas sperma ikan patin (*P. hypophthalmus*) dapat dilihat pada Tabel 2. Perbedaan dan perbandingan hasil pengamatan persentase viabilitas pada masing-masing perlakuan dapat dilihat juga pada Gambar 8.

**Tabel 2.** Hasil Pengamatan Rata-rata Persentase Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A (1.5%)	53.83	58.26	51.25	163.34	54.45
B (1.75%)	71.63	66.85	68.77	207.25	69.08
C (2%)	72.42	78.12	76.67	227.21	75.74
D (2.25%)	62.45	66.34	61.78	190.57	63.52
E (2.5%)	46.31	51.59	46.02	143.92	47.97
<b>Total</b>				1020.44	340.15

Berdasarkan data pada Tabel 2, diketahui bahwa data nilai viabilitas tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu sebesar 75,74% dan nilai viabilitas terendah yaitu pada perlakuan E dengan nilai viabilitas sebesar 47,97%. Kemudian pengaruh penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berbeda pada NaCl fisiologis terhadap viabilitas spermatozoa ikan patin (*P. hypophthalmus*) selama masa penyimpanan dapat diketahui dan dianalisa dengan analisis sidik ragam.



**Gambar 8.** Grafik Hasil Pengamatan Persentase Viabilitas pada Masing-masing Perlakuan

Berdasarkan Gambar 8, grafik di atas menunjukkan rincian hasil rata-rata viabilitas setiap perlakuan yaitu kontrol (tanpa penambahan sari buah kurma) motilitas sebesar 29,38%, perlakuan A (penambahan 1,5% sari buah kurma) sebesar 54,45%, perlakuan B (penambahan 1,75% sari buah kurma) sebesar 69,08%, perlakuan C (penambahan 2% sari buah kurma) sebesar 75,74%, perlakuan D (penambahan 2,25% sari buah kurma) sebesar 63,52% dan perlakuan E (penambahan 2,5% sari buah kurma) sebesar 47,97%. Hasil analisa sidik ragam viabilitas spermatozoa patin (*P. hypophthalmus*) selama masa penyimpanan disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Analisis Sidik Ragam Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*) Selama Masa Penyimpanan

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	1484,62	371,16	43,13**	3,48	5,99
Galat	10	86.05	8,61			
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>1570,67</b>				

Keterangan:

\*\* : Berbeda sangat nyata

Tabel sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berbeda dalam NaCl fisiologis memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap nilai viabilitas ikan patin (*P. hypophthalmus*) yang berbeda selama masa penyimpanan. Perlakuan penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berbeda dalam NaCl fisiologis menghasilkan nilai viabilitas yang berbeda selama masa penyimpanan. Perbedaan masing-masing perlakuan terhadap nilai viabilitas ikan patin didukung dengan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf  $p > 5\%$  (kepercayaan 95 %) maupun taraf nyata 1% (kepercayaan 99%). Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) didapatkan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan sebagaimana yang disajikan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

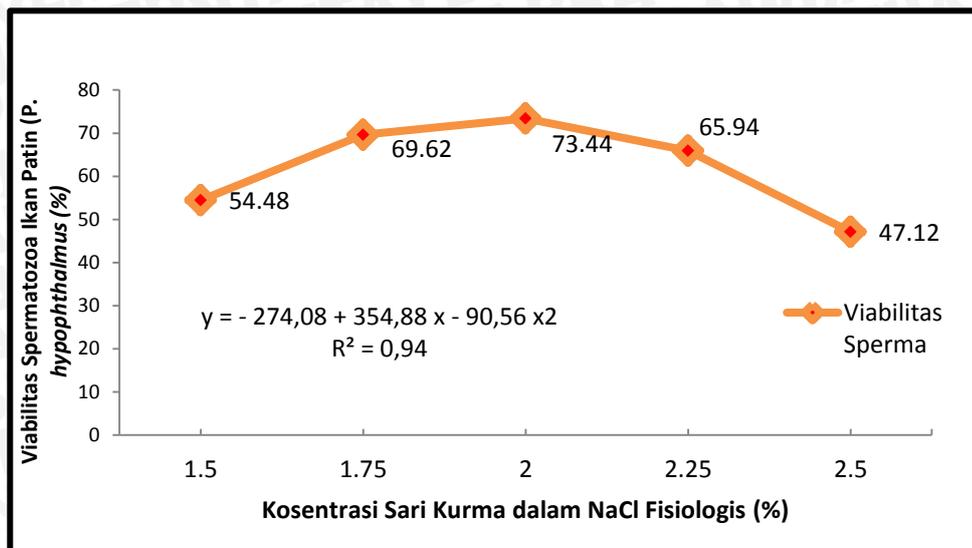
Perlakuan	Rerata	E	D	A	B	C	Notasi
		(2,5%)	(2,25%)	(1,5%)	(1,75%)	(2%)	
		47,97	54,45	63,52	69,08	75,74	
E (2,5%)	47,97	-					a
D (2,25%)	54,45	6,48*	-				b
A (1,5%)	63,52	15,55**	9,07**	-			c
B (1,75%)	69,08	21,11**	14,63**	5,56*	-		d
C (2%)	75,74	27,77**	21,29**	12,22**	6,66*	-	e

Keterangan:

\* : Berbeda nyata

\*\* : Berbeda sangat nyata

Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan E yaitu penambahan 2,5% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis tidak memberikan nilai viabilitas spermatozoa yang signifikan antar perlakuan dan diberi notasi a. Perlakuan D yaitu penambahan 2,25% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap perlakuan E memberikan pengaruh berbeda nyata nilai viabilitasnya sehingga diberi notasi b. Perlakuan A yaitu penambahan 1,5% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis memberi pengaruh berbeda sangat nyata nilai viabilitasnya terhadap perlakuan E dan perlakuan D sehingga diberi notasi c. Pada perlakuan B yaitu penambahan 1,75% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan E perlakuan D dan memberikan pengaruh berbeda nyata pada perlakuan A sehingga diberi notasi d. Pada perlakuan C yaitu penambahan 2% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan E, perlakuan D, perlakuan A dan memberikan pengaruh berbeda nyata pada perlakuan B sehingga diberi notasi e. Kemudian berdasarkan hasil penelitian didapatkan grafik regresi nilai viabilitas spermatozoa ikan patin yang dihasilkan dengan perlakuan yang berbeda seperti pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Grafik Hubungan Pengaruh Konsentrasi Sari buah kurma Terhadap Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

Berdasarkan Gambar 9 terlihat hubungan antara penambahan konsentrasi larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap viabilitas spermatozoa ikan patin (*P. hypophthalmus*) menunjukkan pola kuadratik dengan persamaan  $y = -274,08 + 354,88x - 90,56x^2$  dan koefisien  $R^2 = 0,94$ . Hubungan antara penambahan konsentrasi larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap viabilitas spermatozoa ikan patin (*P. hypophthalmus*) menunjukkan respon yang meningkat sampai pada konsentrasi 2%, kemudian mengalami penurunan nilai viabilitas spermatozoa sebagaimana kurva pada Gambar 8.

Hasil perhitungan secara matematis dari model regresi kuadratik, menunjukkan nilai maksimum viabilitas spermatozoa sebesar 73,59% yang diperoleh pada konsentrasi larutan sari kurma sebesar 1,96%. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi larutan sari kurma sebesar 1,96% telah mampu mencukupi kebutuhan energi spermatozoa untuk mempertahankan daya hidupnya (viabilitas) selama 48 jam masa penyimpanan. Hasil perhitungan uji statistik nilai viabilitas secara rinci dapat dilihat pada Lampiran 5.

Rata-rata nilai viabilitas tertinggi spermatozoa ditunjukkan pada perlakuan C yaitu penambahan sari buah kurma sebesar 2% dalam NaCl fisiologis yaitu sebesar 75,74%. Nilai viabilitas spermatozoa selama masa penyimpanan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah penambahan sumber energi pada spermatozoa selama masa penyimpanan. Salah satu sumber energi yang dapat meningkatkan nilai viabilitas spermatozoa pasca pengenceran adalah penambahan sumber fruktosa dan glukosa dengan kadar yang tepat. Penggunaan sari buah kurma sebagai sumber energi tambahan pada pengenceran sperma dikarenakan kandungan fruktosa dan glukosa yang mencapai 50 – 70%. Hal ini sesuai dengan pernyataan 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 *Adenosine Triphosphate* (ATP) dan *Adenosine Diphosphate* (ADP) harus terus dilakukan agar sperma dapat bertahan hidup (viabilitas).

Rata-rata nilai viabilitas spermatozoa mengalami penurunan setelah mencapai nilai 75,74% pada perlakuan C yaitu penambahan sari buah kurma sebesar 2% dalam NaCl fisiologis. Pada perlakuan D dan E konsentrasi larutan sari buah kurma yang diberikan pada NaCl fisiologis terlalu tinggi. Konsentrasi sari buah kurma yang tinggi dalam NaCl fisiologis sebagai larutan pengencer mempengaruhi viskositas (kekentalan) media penyimpanan. Viskositas yang tinggi menyebabkan tekanan osmosis media penyimpanan meningkat (hipertonik) sehingga mempengaruhi sifat semipermeabel sel spermatozoa dalam menyeleksi keluar masuknya zat. Gangguan pada permeabilitas membran sel spermatozoa ini yang mengakibatkan penurunan nilai viabilitas spermatozoa. Hal ini didukung oleh pernyataan Sutoyo (2000), larutan pengencer yang bersifat

hipotonik ataupun hipertonik akan mempengaruhi metabolisme spermatozoa yang khususnya pada membran sel yang bersifat semipermeabel sehingga larutan pengencer akan mempengaruhi transfer air melalui membran sel dan menyebabkan rusaknya integritas sel. Solihati *et al.* (2008), menambahkan bahwa semakin berkurangnya cadangan makanan dan ketidakseimbangan cairan elektrolit akibat metabolisme spermatozoa dapat menyebabkan kerusakan membran sel spermatozoa. Kerusakan ini sebagai akibat adanya pertukaran larutan intraseluler dan ekstraseluler antara bahan pengencer dengan spermatozoa karena perbedaan konsentrasi. Selain itu penurunan persentase viabilitas menurut Campbell, (2000), dapat terjadi karena kadar air dalam sitoplasma yang tidak seimbang akan mengganggu metabolisme dan mempengaruhi ketahanan hidup sel karena ketahanan hidup tergantung dari keseimbangan penyerapan dan pelepasan air.

#### **4.2.2 Motilitas Sperma Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)**

Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan salah satu faktor yang menentukan 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%. Pada penelitian ini kategori pergerakan spermatozoa diabaikan, artinya semua jenis kategori pergerakan spermatozoa pada saat pengamatan dihitung dan dipersentasakan. Menurut Fitriani dan Sari (2010), pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan dengan 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. Adapun data hasil pengamatan rata – rata persentase motilitas sperma ikan patin (*P. hypophthalmus*) dapat dilihat pada Tabel 5. Perbedaan dan perbandingan hasil pengamatan persentase viabilitas pada masing-masing perlakuan dapat dilihat juga pada Gambar 10.

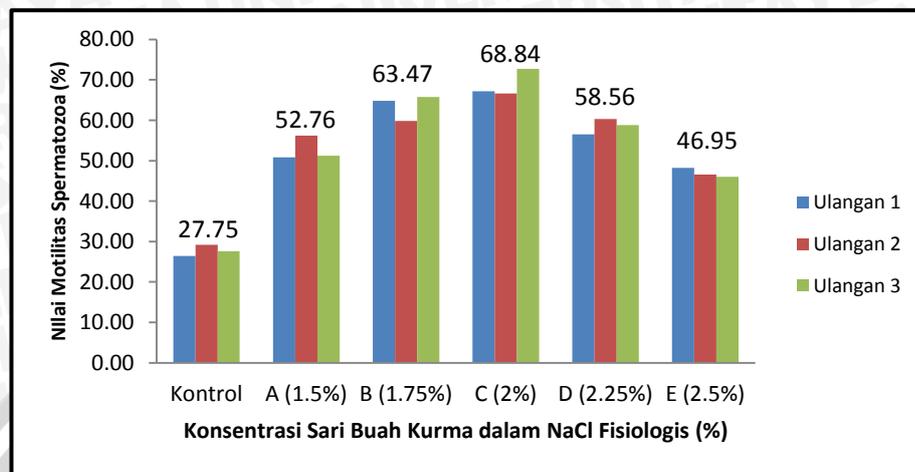
**Tabel 5.** Hasil Pengamatan Rata-rata Persentase Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A (1.5%)	50.81	56.23	51.25	158.29	52.76
B (1.75%)	64.78	59.85	65.77	190.40	63.47
C (2%)	67.21	66.65	72.67	206.53	68.84
D (2.25%)	56.51	60.34	58.82	175.67	58.56
E (2.5%)	48.25	46.59	46.02	140.86	46.95
	<b>Total</b>			871.75	290.58

Berdasarkan data pada Tabel 5, diketahui bahwa data nilai motilitas tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu sebesar 68.84% dan nilai viabilitas terendah yaitu pada perlakuan E dengan nilai viabilitas sebesar 46,95%. Kemudian pengaruh penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berbeda pada NaCl fisiologis terhadap motilitas spermatozoa ikan patin (*P. hypophthalmus*) selama masa penyimpanan dapat diketahui dan dianalisa dengan analisis sidik ragam.

Berdasarkan Gambar 10, grafik di atas menunjukkan rincian hasil rata-rata motilitas setiap perlakuan yaitu kontrol (tanpa penambahan sari buah kurma) motilitas sebesar 27,75%, perlakuan A (penambahan 1,5% sari buah kurma) sebesar 52,76%, perlakuan B (penambahan 1,75% sari buah kurma) sebesar 63,47%, perlakuan C (penambahan 2% sari buah kurma) sebesar 68,84%,

perlakuan D (penambahan 2,25% sari buah kurma) sebesar 58,56% dan perlakuan E (penambahan 2,5% sari buah kurma) sebesar 46,95%.



**Gambar 10.** Hasil Pengamatan Persentase Motilitas pada Masing-Masing Perlakuan

Hasil analisa sidik ragam motilitas spermatozoa patin (*P. hypophthalmus*) selama masa penyimpanan disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Hasil Analisis Sidik Ragam Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*) Selama Masa Penyimpanan

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	891,47	222,87	31,62**	3,48	5,99
Galat	10	70,48	7,05			
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>961,95</b>				

Keterangan:

\*\* : Berbeda sangat nyata

Tabel sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berbeda dalam NaCl fisiologis memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap nilai motilitas ikan patin (*P. hypophthalmus*) yang berbeda selama masa penyimpanan. Perlakuan penambahan sari buah kurma dengan konsentrasi yang berbeda dalam NaCl fisiologis menghasilkan nilai motilitas yang berbeda selama masa penyimpanan. Perbedaan masing-masing perlakuan terhadap nilai motilitas ikan patin didukung

dengan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf  $p > 5\%$  (kepercayaan 95 %) maupun taraf nyata 1% (kepercayaan 99%). Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) didapatkan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan sebagaimana yang disajikan pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

Perlakuan	Rerata	E (2,5%) 46,95	D (2,25%) 52,76	A (1,5%) 58,56	B (1,75%) 63,47	C (2%) 68,84	Notasi
E (2,5%)	46.95	-	-	-	-	-	a
D (2,25%)	52.76	5.81*	-	-	-	-	b
A (1,5%)	58.56	11.618**	5.80*	-	-	-	c
B (1,75%)	63.47	16.52**	10.71**	4.91*	-	-	d
C (2%)	68.84	21.89**	16.08**	10.28**	5.37*	-	e

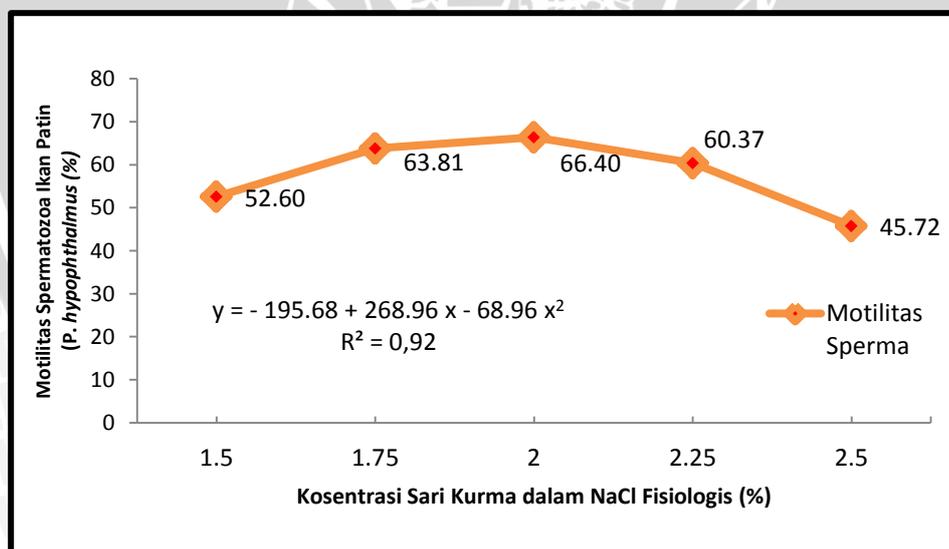
Keterangan:

\* : Berbeda nyata

\*\* : Berbeda sangat nyata

Pada Tabel 7 menunjukkan bahwa perlakuan E yaitu penambahan 2,5% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis tidak memberikan nilai motilitas spermatozoa yang signifikan antar perlakuan dan diberi notasi a. Perlakuan D yaitu penambahan 2,25% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap perlakuan E (penambahan 2,5% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis) memberikan pengaruh berbeda nyata nilai motilitasnya sehingga diberi notasi b. Perlakuan A yaitu penambahan 1,5% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis memberi pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan E (penambahan 2,5% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis) dan memberikan pengaruh berbeda nyata dengan perlakuan D (penambahan 2,25% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis) sehingga diberi notasi c. Pada perlakuan B yaitu penambahan 1,75% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan E

(penambahan 2,5% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis) dan perlakuan D (penambahan 2,25% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis) serta memberikan pengaruh berbeda nyata pada perlakuan A (penambahan 1,5% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis) sehingga diberi notasi d. Pada perlakuan C yaitu penambahan 2% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan E (penambahan 2,5% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis), perlakuan D (penambahan 2,25% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis) dan perlakuan A (penambahan 1,5% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis) serta memberikan pengaruh berbeda nyata pada perlakuan B (penambahan 1,75% larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis) sehingga diberi notasi e. Kemudian berdasarkan hasil penelitian didapatkan grafik regresi nilai motilitas spermatozoa ikan patin yang dihasilkan dengan perlakuan yang berbeda seperti pada Gambar 11.



**Gambar 11.** Grafik Hubungan Pengaruh Konsentrasi Sari buah kurma Terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

Berdasarkan Gambar 11 terlihat hubungan antara penambahan konsentrasi larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap motilitas spermatozoa ikan patin (*P. hypophthalmus*) menunjukkan pola kuadrat dengan

persamaan  $y = -195,68 + 268,96x - 68,96x^2$  dan koefisien  $R^2 = 0,92$ . Hubungan antara penambahan konsentrasi larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap motilitas spermatozoa ikan patin (*P. hypophthalmus*) menunjukkan respon yang meningkat sampai pada konsentrasi 2%, kemudian mengalami penurunan nilai motilitas spermatozoa sebagaimana kurva pada Gambar 11.

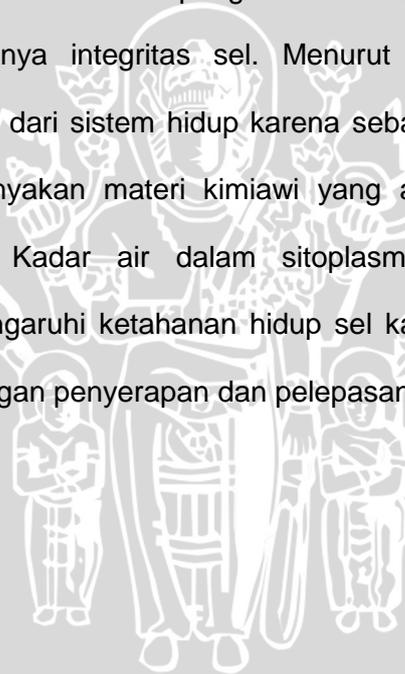
Hasil perhitungan secara matematis dari model regresi kuadratik, menunjukkan nilai maksimum motilitas spermatozoa sebesar 66,57% yang diperoleh pada konsentrasi larutan sari buah kurma sebesar 1,95%. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi larutan sari buah kurma sebesar 1,95% telah mampu mencukupi kebutuhan energi spermatozoa untuk mempertahankan daya geraknya (motilitas) selama 48 jam masa penyimpanan. Hasil perhitungan uji statistik nilai motilitas secara rinci dapat dilihat pada Lampiran 6.

Penggunaan sari buah kurma sebagai sumber energi pada spermatozoa dikarenakan kandungan nutrisi pada sari buah kurma terutama yang berupa fruktosa dan glukosa. Fruktosa dan glukosa pada sari buah kurma dipakai sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa. Sumber energi ini sangat dibutuhkan oleh spermatozoa ikan patin karena menurut Biliard (1978) dalam Adipu et al. (2011), komposisi cairan sperma organik (seminal plasma) dari *cattfish* dan *carp* mempunyai energi substrat seperti glukosa dan fruktosa, piruvat, malat, dan bahan lainnya dalam jumlah yang kecil pada spermatozoanya.

Energi yang dilepaskan pada kondisi normal dapat dipakai sebagai energi mekanik (pergerakan) atau sebagai energi kimiawi (biosintesa), jika tidak dipergunakan maka akan menghilang sebagai panas. Apabila persediaan energi habis maka kontraksi fibril – fibril spermatozoa akan terhenti dan spermatozoa tidak bergerak. ATP dan ADP harus dibangun kembali agar bisa melakukan pergerakan kembali. Sumber energi dari luar dapat menambah gugus *phosphoryl*

yang dibutuhkan dalam membentuk kembali ATP dan ADP (Hidayaturrahmah, 2007). Metabolisme gula sederhana melalui respirasi sel spermatozoa menghasilkan ATP. Penguraian ATP menjadi ADP dalam membran mitokondria menghasilkan energi untuk motilitas spermatozoa (Labetubun dan Siwa, 2007).

Pemberian sari buah kurma dengan konsentrasi yang lebih tinggi mempengaruhi keseimbangan penyerapan dan pelepasan air sehingga akan mengganggu proses metabolisme. Proses metabolisme dapat dilakukan secara maksimal bila pengencer bersifat isotonic. Menurut Souhoka *et al.* (2009), membran sel bersifat semi permeabel sehingga baik pengencer yang bersifat hipotonik ataupun hipertonic akan mempengaruhi transfer air melalui membran dan menyebabkan rusaknya integritas sel. Menurut Campbell (2000), air mempunyai fungsi penting dari sistem hidup karena sebagian terbesar dari tiap sel adalah air dan kebanyakan materi kimiawi yang ada larut di dalamnya sehingga terjadi reaksi. Kadar air dalam sitoplasma akan mengganggu metabolisme dan mempengaruhi ketahanan hidup sel karena ketahanan hidup tergantung dari keseimbangan penyerapan dan pelepasan air.



## V. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Penambahan larutan sari kurma dalam NaCl fisiologis dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh terhadap viabilitas dan motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) selama 48 jam masa penyimpanan. Berdasarkan uji statistika pada penelitian ini diperoleh model regresi yang sesuai yaitu model regresi kuadratik dengan persamaan  $y = -274,08 + 354,88x - 90,56x^2$  untuk nilai viabilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) dan persamaan  $y = -195,68 + 268,96x - 68,96x^2$  untuk nilai motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). Berdasarkan persamaan regresi tersebut diperoleh konsentrasi maksimum larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap viabilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) adalah sebesar 1,96% dengan nilai viabilitas sebesar 73,59% dan konsentrasi maksimum larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis terhadap motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) adalah sebesar 1,95% dengan nilai motilitas sebesar 66,57%. Sehingga konsentrasi larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis yang tepat terhadap viabilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) adalah sebesar 1,96% dan Sehingga konsentrasi larutan sari buah kurma dalam NaCl fisiologis yang tepat terhadap motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) adalah sebesar 1,95%.

### 5.2 Saran

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sari buah kurma dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan pada larutan pengencer untuk penyimpanan spermatozoa ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) dengan konsentrasi yang

tepat pada kisaran 2% namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas sari buah kurma terhadap kemampuan spermatozoa dalam fertilisasi setelah masa penyimpanan dan perlunya penelitian yang lebih spesifik tentang jenis buah kurma yang dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan sari buah kurma untuk larutan tambahan dalam pembuatan ekstender.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adipu.Y., Sinjal H. dan Watung J. 2011. Ratio Pengenceran Sperma Terhadap Motilitas Spermatozoa Fertilitas dan Daya Tetas Ikan Lele (*Clarias* sp.). *Perikanan dan Kelautan Tropis*. **7** (1): 48-55
- Amri, K. dan S.P. Khairuman. 2008. Budidaya Perikanan pada Tiap Jenis Ikan. Agro Media Pustaka: Jakarta.
- Campbell, J. B. 2000. *Biologi. Edisi kelima Jilid 3*. Erlangga: Jakarta
- Chew, P. C., Z. A. Rashid, dan R. Hassan. 2010. Application Of innovative Biotechnologies Regarding Aquaculture And fisheries Sector In Malaysia: Cryopreservation Programme. *Freshwater Fisheries Research center*.
- Djariah, A. S. 2001. Budidaya Ikan Patin. Kanisius: Yogyakarta. 87 hlm
- Eschmeyer, William N., ed. 1998. Catalog of Fishes. *Special Publication of the Center for Biodiversity Research and Information*. **1**(1): 2905
- Feradis, Y. 2010. Reproduksi Ternak. Alfabeta. Bandung. 262 hlm
- Fitriani., K, E dan W. Sari. 2010. The Effect Of Cigarettes Smoke Exposed Causes Fertility Of Male Mice (*Mus Musculus*). *Natural*. **10** (2): 12-17
- Fujaya, Y. 2002. Fisiologi Ikan. Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta
- \_\_\_\_\_. 2004. Fisiologi Ikan. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hlm
- Hanafiah, K. A. 2013. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi Edisi 3. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 259 hlm.
- Hardijanto, T., Sardjito, T. Hermawati, S. Susilowati dan T. W. Suprayogi. 2009. Petunjuk Praktikum Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya
- Hidayatullahman. 2007. Waktu Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) Pada Beberapa Konsentrasi Larutan Fruktosa. *Jurnal Bioscientiae*. **4** (1): 9-18
- Hoar, W. S., D. J. Randal dan E. M. Donalson. 1983. Fish Physiology: Volume IX. Reproduction Part B, Behavior and Fertility Control. Academi Press. 477 hlm
- Iromo, H. 2006. Efektifitas Pengencer Laktat Ringer, Modifikasi Ringer dan Larutan Fisiologis NaCl terhadap viabilitas Spermatozoa Ikan Baung (*Hemibagrus nemurus*). Tesis. Pascasarjana. IPB. Bogor. 57 hlm
- Islam, M. Sadiqul and T. Akhter. 2011. Tale of Fish Sperm and Factors Affecting Sperm Motility: A Riview. *Advance In Life Sciences*. **1** (1): 11-19

- Isnaini, N. dan Suyadi. 2000. Kualitas Semen Ayam Kedu pada Suhu Kamar dalam Pengencer Larutan NaCl Fisiologis dan Ringer's. *J. Ternak Tropika* 1 (2) hal.55-6.
- Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. Artikel. Fakultas Teknik UNY. Yogyakarta. Tidak dipublikasikan.
- Kordi, M. G. H. 2010. Budidaya Ikan Patin di Kolam Terpal. Lily Publisher. Yogyakarta
- Kurniawan, Isnaini Y., F. Basuki, T. Susilowati. 2013. Penambahan air kelapa dan gliserol pada penyimpanan sperma terhadap motilitas dan fertilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2 (1): 51 – 65
- Labetubun, J. dan I. P. Siwa. 2007. Kualitas Spermatozoa Kauda Epididimis Sapi Bali dengan Penambahan Laktosa atau Maltosa yang Dipreservasi pada suhu 3-5°C. *Jurnal Veteriner*. 12 (3): 200-207
- Nilna, 2010. Standar Operasional Pekerjaan Prosesing Semen. Dinas Peternakan Propinsi: Sumatera Barat
- Partodihardjo, S. 1980. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara: Jakarta. 586 hlm
- Rahardhianto. A., N. Abdulgani, dan N. Trisyani. 2012. Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu dalam NaCl Fisiologis terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*pangasius pangasius*) selama Masa Penyimpanan. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 1 (1): 58-63
- Rahmadi, Anton. 2010. Food Technologist, Neuro biologist and Pharmacologist. Artikel. University of Mulawarman. Samarinda. Tidak dipublikasikan
- Rahmawan Z. 2006. Kupas Tuntas Kurma Berdasarkan Al-Quran, As-Sunah Ash-Shahihah dan Tinjauan Medis Modern. Media Tarbiyah. Bogor
- Rusdin dan K. Jum'at. 2000. Motilitas dan Recovery Sperma Domba dalam Berbagai Pengencer Selama Penyimpanan pada Suhu 5° C. Fakultas Pertanian Universitas Tabulako, Palu. 62 hlm
- Rustidja. 2000. *Prospek Pembekuan Sperma Ikan*. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya: Malang. 68 hlm
- \_\_\_\_\_. 2004. Pemijahan Buatan Ikan-ikan Daerah tropis. Bahtera Press. Malang.
- Rock, W., M. Rosenblat, H. Borochoy-Neori, N. Volkova, S. Judeinstein, M. Elias and M. Aviram. 2009. Effects of Date (*Phoenix dactylifera* L., Medjool or Hallawi Variety) Consumption by Healthy Subjects on Serum Glucose and Lipid Levels and on Serum Oxidative Status: A Pilot Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(17): 8010-8017

- Salisbury, C.W. dan Van Demark, N.L. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 869 hlm
- Susilawati, T. 2011. Spermatologi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang. 176 hlm
- Sutoyo, A. 2000. Peranan Bahan Pengencer terhadap Penyimpanan Spermatozoa sampai Penetasan pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Surabaya. 85 hlm
- Solihati, N. 2008. Studi Terhadap Kualitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Cauda Epididimidis Domba Garut Menggunakan Berbagai Jenis Pengencer. *In Proc. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Puslitbang Peternakan*: Bandung. 401-408
- Souhoka, D.F., Mataluta, M.J., Nalley, W.M.M., Rizal, M. 2009. Laktosa Mempertahankan Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah yang Dipreservasi dengan Plasma Semen Domba Priangan. *Jurnal Veteriner*. **10** (3): 135-142.
- Tang, M. U. dan R. Afandi. 2001. Biologi Reproduksi Ikan. P2KP2 Unri. Riau. 165 hlm
- Toelihere, M. R. 1981. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung. 292 hlm
- \_\_\_\_\_. 1993. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa. Bandung. 327 hlm
- Tooel, G. and Tooel, S. 1999. New Understanding Biology for Advanced Level. Nelson Thornes: United Kingdom. 698 pages
- Wahyuni. 1994. Lama Hidup Spermatozoa Ayan Buras pada Kadar Glukosa dalam Pengencer Ringer's Lucke, Tyroid dan Kombinasinya dengan Kuning Telur. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 58 hlm
- 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.
- Yatim, W. 1994. Embriologi untuk Mahasiswa Biologi dan Kedokteran. Tarsito. Bandung

## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Peralatan Penelitian

No	Alat	Kegunaan
1	Akuarium 60 X 40 X 30 cm <sup>3</sup>	Sebagai tempat pemeliharaan induk ikan.
2	<i>Aerator Set</i>	Sebagai sumber aerasi pada akuarium.
3	<i>Heater</i> Akuarium	Sebagai stabilitor suhu air pada akuarium.
4	Mikroskop Binokuler	Sebagai alat untuk mengamati motilitas, viabilitas dan konsentrasi sperma.
5	Lemari Pendingin	Sebagai tempat penyimpanan sperma pada suhu rendah.
6	Timbangan Analitik	Sebagai alat untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10 <sup>-3</sup> .
7	Cuvet 10 ml	Sebagai tempat penampungan sperma setelah <i>stripping</i> .
8	<i>Eppendorf</i>	Sebagai tempat sperma yang telah diberi perlakuan.
9	<i>Spuil</i> 1 ml dan 5 ml	Sebagai alat untuk menyuntikkan hormone pada induk ikan.
10	<i>Spuil</i> tanpa jarum 1 ml dan 5 ml	Sebagai alat untuk mengambil sperma yang diamati.
11	Pipet Thoma	Sebagai alat untuk pengambilan sperma dan larutan pada pengamatan konsentrasi sperma.
12	Pipet Tetes	Sebagai alat untuk mengambil larutan <i>eosin negrosin</i> saat pengamatan viabilitas sperma.
13	Erlemeyer 500 ml	Sebagai tempat pembuatan larutan pengencer sperma.
14	Beaker Glass 1000 ml	Sebagai tempat NaCl Fisiologis.
15	Gelas Ukur 100 ml	Sebagai alat untuk mengukur larutan.
16	<i>Object Glass</i>	Sebagai preparat untuk mengamati motilitas dan viabilitas sperma.
17	<i>Cover Glass</i>	Sebagai penutup <i>object glass</i> saat mengamati motilitas dan viabilitas sperma.
18	<i>Haemocytometer</i>	Sebagai alat untuk menghitung sel sperma pada pengamatan konsentrasi sperma.
19	<i>Handtally Counter</i>	Sebagai alat untuk menghitung spermatozoa yang hidup.
20	Nampan	Sebagai tempat menyimpan alat.
21	<i>Washing Bottle</i>	Sebagai tempat menyimpan akuades.
22	<i>Sprayer</i>	Sebagai tempat menyimpan alkohol 70%.
23	Sendok Bahan	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan pengencer sperma.
24	Kertas pH	Sebagai pengukur pH sperma



Timbangan Digital



Mokroskop



Lemari Pendingin



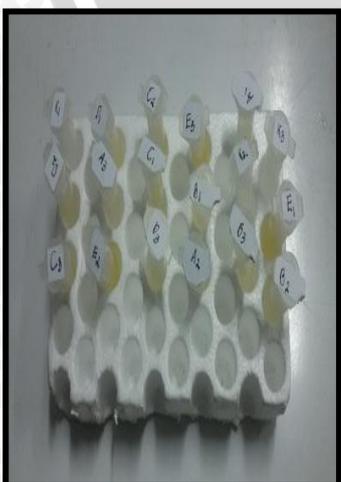
Timbangan OZ



Object Glass



Cover Glass



Tabung Eppendorf 5ml



Pipet Thoma



Haemocytometer

## Lampiran 2. Bahan Penelitian

No	Bahan	Kegunaan
1	Ikan Patin ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> ) Jantan yang Matang Gonad	Sebagai bahan yang akan diambil spermanya.
2	Sari Kurma	Sebagai salah satu bahan yang akan digunakan dalam pembuatan larutan ekstender.
3	NaCl Fisiologis	Sebagai salah satu bahan yang akan digunakan dalam pembuatan larutan ekstender.
4	Larutan <i>Eosin Negrosin</i>	Sebagai pewarna sperma yang akan diamati
5	Alkohol 70%	Sebagai bahan sterilisasi
6	Aquades	Sebagai bahan pembersih alat penelitian
7	Hormon Reproduksi	Sebagai bahan pemicu kecepatan kematangan gonad ikan
8	Aluminium Foil	Sebagai bahan pembungkus dan pelindung <i>sprit</i> dan <i>ependorf</i> untuk menjaga stabilitas bahan yang disimpan pada proses penyimpanan
9	Tisu	Sebagai bahan pengering dan pembersih alat-alat penelitian
10	Kertas Label	Sebagai bahan pemberi tanda



Sari Buah Kurma



NaCl Fisiologi 0,9%



Alkohol 70%



Aquades



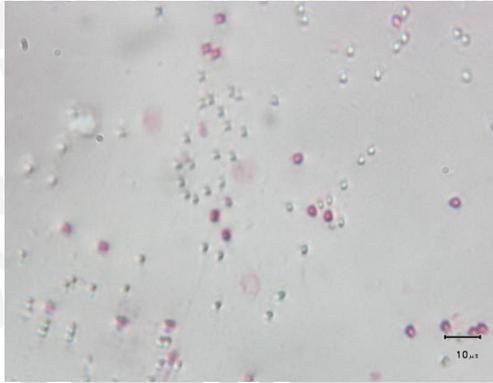
Pewarna Eosin



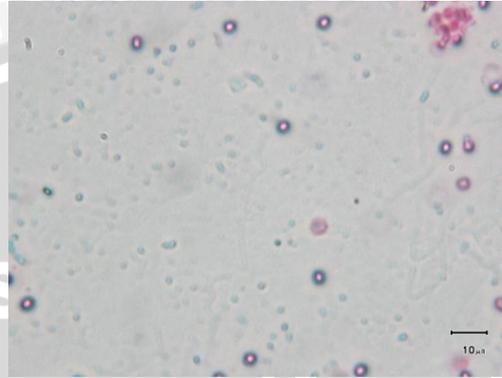
Aluminium Foil

**Lampiran 3.** Hasil Pengamatan Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

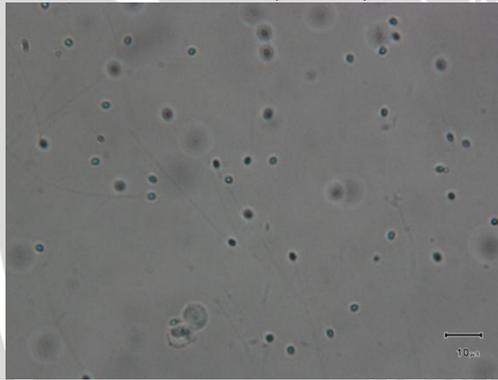
Perlakuan Kontrol



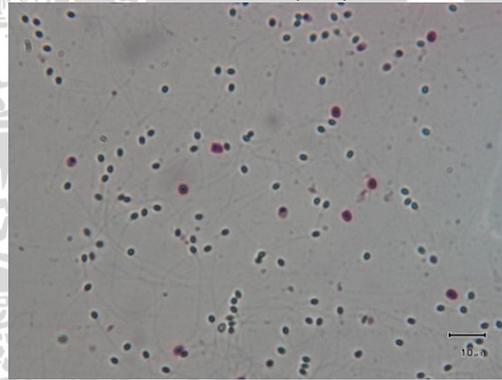
Perlakuan A (1.5%)



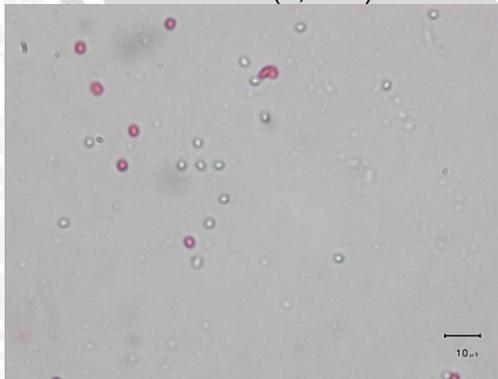
Perlakuan B (1,75%)



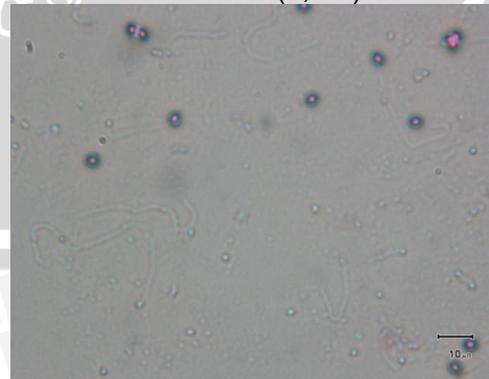
Perlakuan C (2%)



Perlakuan D (2,25%)



Perlakuan E (2,5%)



#### Lampiran 4. Data Penelitian Pendahuluan

##### A. Nilai Viabilitas Spermatozoa

Perlakuan	Pengamatan Harian			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A (1.5%)	60.94	53.34	39.23	153.51	51.17
B (1.75%)	64.70	56.82	40.85	162.37	54.12
C (2%)	69.47	66.97	41.26	177.70	59.23
D (2.25%)	52.91	61.13	38.14	152.18	50.73
E (2.5%)	44.52	42.91	36.59	124.02	41.34
	<b>Total</b>			<b>769.78</b>	<b>256.59</b>

##### B. Nilai Motilitas Spermatozoa

Perlakuan	Pengamatan Harian			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A (1.5%)	63.83	54.26	38.20	156.29	52.10
B (1.75%)	71.63	56.85	36.71	165.19	55.06
C (2%)	72.42	58.12	42.74	173.28	57.76
D (2.25%)	62.45	46.34	37.24	146.03	48.68
E (2.5%)	56.91	51.53	39.23	147.67	49.22
	<b>Total</b>			<b>788.46</b>	<b>262.82</b>

**Lampiran 5.** Perhitungan Statistik Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata ± StandartDeviasi
	1	2	3		
A (1.5%)	53.83	58.26	51.25	163.34	54.45± 3.55
B (1.75%)	71.63	66.85	68.77	207.25	69.08± 2,41
C (2%)	72.42	78.12	76.67	227.21	75.74 ± 2,96
D (2.25%)	62.45	66.34	61.78	190.57	63.52± 2,46
E (2.5%)	46.31	51.59	46.02	143.92	47.97± 3,14
<b>Total</b>				<b>1020.44</b>	<b>340.15 ± 14,51</b>

**Perhitungan:**

<b>FK</b>	$\frac{1020.44^2}{5 \times 3}$	<b>57944.31</b>
<b>JK Total</b>	$(A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + E3^2) - FK$	<b>1570.67</b>
<b>JK Perlakuan</b>	$\frac{[(\sum K^2) + (\sum A^2) + (\sum B^2) + (\sum C^2) + (\sum D^2) + (\sum E^2)]}{r} - FK$	<b>1484.62</b>
<b>JK Acak</b>	JK Total – JK Perlakuan	<b>86.05</b>
<b>KT</b>	JK/db	<b>4.72</b>

**Analisis sidik ragam presentase viabilitas spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)**

SumberKeragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
<b>Perlakuan</b>	4	1484.62	371.16	43.13**	3.48	5.99
<b>Acak</b>	10	86.05	8.61			
<b>Total</b>	14	1570.67				

F 5% <F.hitung> F 1% = berbeda sangat nyata

Keterangan:

\*\* : berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil sidik ragam di atas dapat disimpulkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh berbeda sangat nyata (\*\*) maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil),

**Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

<b>SED</b>	$\sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{ulangan}}}$	<b>2.40</b>
<b>BNT 5%</b>	T tabel 5% (dbacak) x SED	<b>5.34</b>
<b>BNT 1%</b>	t tabel 1% (dbacak) x SED	<b>7.59</b>

## Lampiran 5. (lanjutan)

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Bobot Pemeliharaan

Perlakuan	Rerata	E (2,5%)	D (2,25%)	A (1,5%)	B (1,75%)	C (2%)	Notasi
		47,97	54,45	63,52	69,08	75,74	
E (2,5%)	47,97	-					a
D (2,25%)	54,45	6,48*	-				b
A (1,5%)	63,52	15,55**	9,07**	-			c
B (1,75%)	69,08	21,11**	14,63**	5,56*	-		d
C (2%)	75,74	27,77**	21,29**	12,22**	6,66*	-	e

Keterangan:

\* : Berbedanyata

\*\* : Berbedasangatnyata

## Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	kuartik
1.5	163.34	-2.00	2.00	-1.00	1.00
1.75	207.25	-1.00	-1.00	2.00	-4.00
2	227.21	0.00	-2.00	0.00	6.00
2.25	190.57	1.00	-1.00	-2.00	-4.00
2.5	143.92	2.00	2.00	1.00	1.00
$Q = \sum (CiTi)$		<b>-55.52</b>	<b>-237.72</b>	<b>13.94</b>	<b>79.24</b>
$KR = \sum (Ci^2) \cdot 3$		<b>30.00</b>	<b>42.00</b>	<b>30.00</b>	<b>210.00</b>
$JK = Q^2 / KR$		<b>102.75</b>	<b>1345.50</b>	<b>6.48</b>	<b>29.90</b>
Total JK Regresi		<b>1484.62</b>			

## Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	1484.62	-	-	3.48	5.99
Linier	1	102.75	102.75	11.94**	4.96	10.04
Kuadratik	1	1345.50	1345.50	156.36**		
Kubik	1	6.48	6.48	0.75 <sup>ns</sup>		
kuartik	1	29.90	29.90	3.47 <sup>ns</sup>		
Acak	10	<b>86.05</b>	<b>8.61</b>			
Total	14					

**Lampiran 5.** (lanjutan)

$$R^2 \text{ Linier} = \text{JK Linier} / (\text{JK Linier} + \text{JK Acak}) = 0,54$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \text{JK Kuadratik} / (\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}) = 0,94$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \text{JK Kubik} / (\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}) = 0,07$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \text{JK Kuartik} / (\text{JK Kuartik} + \text{JK Acak}) = 0,26$$

Dari data perhitungan sidik ragam regresi diketahui regresi kuadratik memiliki nilai yang mendekati angka 1, sehingga regresi untuk kurva respon yang digunakan adalah regresi kuadratik.

Rumus mencari persamaan regresi kuadratik :  $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$

Melalui Persamaan:

$$\sum U_j Y_j = (b_1)(r) \times \sum U_j^2$$

$$\sum Y_j = (n)(b_0) + (b_2)(r)(\sum U_j^2)$$

$$\sum U_j^2 Y_j = (b_0)(r)(\sum U_j^2) + (b_2)(r)(\sum U_j^4)$$

	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	Total
<b>X<sub>j</sub></b>	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50	10
<b>U<sub>j</sub></b>	-2.00	-1.00	0.00	1.00	2.00	0
<b>U<sub>j</sub><sup>2</sup></b>	4.00	1.00	0.00	1.00	4.00	10
<b>U<sub>j</sub><sup>4</sup></b>	16.00	1.00	0.00	1.00	16.00	34
<b>Y<sub>j</sub></b>	163.34	207.25	227.21	190.57	143.92	932.29
<b>U<sub>j</sub>Y<sub>j</sub></b>	-326.68	-207.25	0.00	190.57	287.84	-55.52
<b>U<sub>j</sub><sup>2</sup>Y<sub>j</sub></b>	653.36	207.25	0.00	190.57	575.68	1626.86

Diperoleh persamaan:

$$Y = b_0 + b_1x + b_2x^2$$

$$Y = 73,47 - 1,85x - 5,66x^2$$

$$X = \frac{x-2}{0,25}$$

$$Y = -274,08 + 354,88x - 90,56x^2$$

Lampiran 5. (lanjutan)

Membuat kurva respon

b0	b1	X	b1 x X	b2	X <sup>2</sup>	b2 x X <sup>2</sup>	Y
-274.08	354.88	1.50	532.32	-90.56	2.25	-203.76	54.48
		1.75	621.04		3.06	-277.34	69.62
		2.00	709.76		4.00	-362.24	73.44
		2.25	798.48		5.06	-458.46	65.94
		2.50	887.20		6.25	-566.00	47.12

Mencari Titik Puncak

$$X = \frac{-b_1}{2 \times b_2}$$

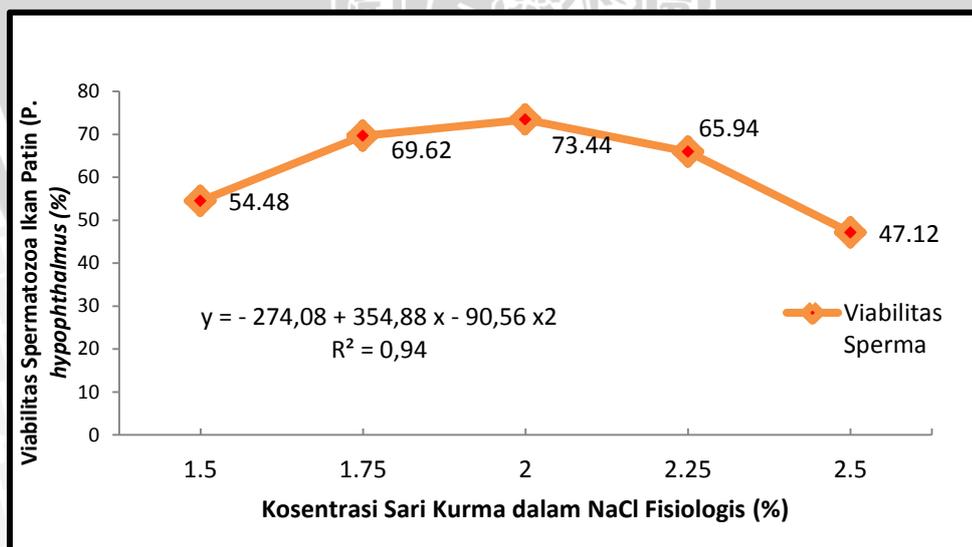
$$= \frac{-354,88}{2 \times (-90,56)}$$

$$= 1,96$$

$$Y = b_0 + b_1x + b_2x^2$$

$$= -274,08 + 354,88(1,96) - 90,56(1,96)^2$$

$$Y = 73,59$$



**Lampiran 6.** Perhitungan Statistik Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata ± Standart Deviasi
	1	2	3		
A (1.5%)	50.81	56.23	51.25	158.29	52.76 ± 3.01
B (1.75%)	64.78	59.85	65.77	190.40	63.47 ± 3.17
C (2%)	67.21	66.65	72.67	206.53	68.84 ± 3.33
D (2.25%)	56.51	60.34	58.82	175.67	58.56 ± 1.93
E (2.5%)	48.25	46.59	46.02	140.86	46.95 ± 1.16
<b>Total</b>				<b>871.75</b>	<b>290.58 ± 12.59</b>

**Perhitungan:**

<b>FK</b>	$\frac{1020.44^2}{5 \times 3}$	<b>50663.20</b>
<b>JK Total</b>	$(A^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + E^2) - FK$	<b>961.95</b>
<b>JK Perlakuan</b>	$\frac{[(\sum K^2) + (\sum A^2) + (\sum B^2 + (\sum C^2) + (\sum D^2) + (\sum E^2))]}{r} - FK$	<b>891.47</b>
<b>JK Acak</b>	JK Total – JK Perlakuan	<b>70.48</b>
<b>KT</b>	JK/db	<b>7.05</b>

**Analisis sidik ragam presentase viabilitas spermatozoa Ikan Patin (*P. hypophthalmus*)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F <sub>hit</sub>	F <sub>5%</sub>	F <sub>1%</sub>
Perlakuan	4	891.47	222.87	31.62**	3.48	5.99
Acak	10	70.48	7.05			
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>961.95</b>				

F 5% <F<sub>hitung</sub>> F 1% = berbeda sangat nyata

Keterangan:

\*\* : berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil sidik ragam di atas dapat disimpulkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh berbeda sangat nyata (\*\*) maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

**Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

<b>SED</b>	$\sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{ulangan}}}$	<b>2.17</b>
<b>BNT 5%</b>	t tabel 5% (dbacak) x SED	<b>4.83</b>
<b>BNT 1%</b>	t tabel 1% (dbacak) x SED	<b>6.87</b>

## Lampiran 6. (Lanjutan)

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Bobot Pemeliharaan

Perlakuan	Rerata	E (2,5%)	D (2,25%)	A (1,5%)	B (1,75%)	C (2%)	Notasi
		46,95	52,76	58,56	63,47	68,84	
E (2,5%)	46.95	-	-	-	-	-	a
D (2,25%)	52.76	5.81*	-	-	-	-	b
A (1,5%)	58.56	11.618**	5.80*	-	-	-	c
B (1,75%)	63.47	16.52**	10.71**	4.91*	-	-	d
C (2%)	68.84	21.89**	16.08**	10.28**	5.37*	-	e

Keterangan:

\* : Berbedanyata

\*\* : Berbedasangatnyata

## Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	kuartik
0.50	158.29	-2.00	2.00	-1.00	1.00
1.00	190.40	-1.00	-1.00	2.00	-4.00
1.50	206.53	0.00	-2.00	0.00	6.00
2.00	175.67	1.00	-1.00	-2.00	-4.00
2.50	140.86	2.00	2.00	1.00	1.00
<b>Q = <math>\sum (CiTi)</math></b>		<b>-49.59</b>	<b>-180.83</b>	<b>12.03</b>	<b>74.05</b>
<b>KR = <math>\sum (Ci^2)^3</math></b>		<b>30.00</b>	<b>42.00</b>	<b>30.00</b>	<b>210.00</b>
<b>JK = Q<sup>2</sup>/KR</b>		<b>81.97</b>	<b>778.56</b>	<b>4.82</b>	<b>26.11</b>
<b>Total JK Regresi</b>		<b>891.47</b>			

## Analisa Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	891.47	-	-	3.48	5.99
Linier	1	81.97	81.97	11.63**	4.96	10.04
Kuadratik	1	778.56	778.56	110.47**		
Kubik	1	4.82	4.82	0.68 <sup>ns</sup>		
kuartik	1	26.11	26.11	3.70 <sup>ns</sup>		
Galat	10	70.48	7.05			
Total	14					

**Lampiran 6.** (lanjutan)

$$R^2 \text{ Linier} = \text{JK Linier} / (\text{JK Linier} + \text{JK Acak}) = 0,54$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \text{JK Kuadratik} / (\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}) = 0,92$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \text{JK Kubik} / (\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}) = 0,06$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \text{JK Kuartik} / (\text{JK Kuartik} + \text{JK Acak}) = 0,27$$

Dari data perhitungan sidik ragam regresi diketahui regresi kuadratik memiliki nilai yang mendekati angka 1, sehingga regresi untuk kurva respon yang digunakan adalah regresi kuadratik.

Rumus mencari persamaan regresi kuadratik :  $y = b_0 + b_1x + b_2x^2$

Melalui Persamaan:

$$\sum U_j Y_j = (b_1)(r) \times \sum U_j^2$$

$$\sum Y_j = (n)(b_0) + (b_2)(r)(\sum U_j^2)$$

$$\sum U_j^2 Y_j = (b_0)(r)(\sum U_j^2) + (b_2)(r)(\sum U_j^4)$$

	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	Total
<b>X<sub>j</sub></b>	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50	10
<b>U<sub>j</sub></b>	-2.00	-1.00	0.00	1.00	2.00	0
<b>U<sub>j</sub><sup>2</sup></b>	4.00	1.00	0.00	1.00	4.00	10
<b>U<sub>j</sub><sup>4</sup></b>	16.00	1.00	0.00	1.00	16.00	34
<b>Y<sub>j</sub></b>	158.29	190.40	206.53	175.67	140.86	871.75
<b>U<sub>j</sub>Y<sub>j</sub></b>	-316.58	-190.40	0.00	175.67	281.72	-49.59
<b>U<sub>j</sub><sup>2</sup>Y<sub>j</sub></b>	633.16	190.40	0.00	175.67	563.44	1562.67

Diperoleh persamaan:

$$Y = b_0 + b_1x + b_2x^2$$

$$Y = 66,73 - 1,64x - 4,31x^2$$

$$X = \frac{x-2}{0,25}$$

$$Y = -195.68 + 268.96x - 68,96x^2$$

## Lampiran 6. (lanjutan)

## Membuat kurva respon

b0	b1	X	b1 x X	b2	X <sup>2</sup>	b2 x X <sup>2</sup>	Y
-195.68	268.96	1.50	403.44	-68.96	2.25	-155.16	52.60
		1.75	470.68		3.06	-211.19	63.81
		2.00	537.92		4.00	-275.84	66.40
		2.25	605.16		5.06	-349.11	60.37
		2.50	672.40		6.25	-431.00	45.72

## Mencari Titik Puncak

$$X = \frac{-b_1}{2 \times b_2}$$

$$= \frac{-268.96}{2 \times (-68.96)}$$

$$= 1,95$$

$$Y = b_0 + b_1x + b_2x^2$$

$$= -195.68 + 268.96(1.95) - 68.96(1.95)^2$$

$$Y = 66.57$$

