ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

PENGARUH BEBERAPA MACAM SUSU SEBAGAI BAHAN PENGENCER TERHADAP MOTILITAS DAN DAYA HIDUP SPERMATOZOA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*, L.)

SKRIPSI

PROGRAM STUDI S-1 BUDIDAYA PERAIRAN

KH SP 16/06
Dewi
p

OLEH :

BEDA PUSPITA DEWI

SIDOARJO - JAWA TIMUR

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PENGARUH BEBERAPA MACAM SUSU SEBAGAI BAHAN PENGENCER TERHADAP MOTILITAS DAN DAYA HIDUP SPERMATOZOA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*, L.)

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh:

BEDA PUSPITA DEWI

NIM. 060110008 P

Menyetujui,

Komisi Pembimbing

Ir. Agustono, M. Kes
Pembimbing I

Drh. Jola Rahmahani, M. Kes
Pembimbing II

Mengetahui,

Ketua Program Studi S-1
Budidaya Perairan

Prof. Dr. Drh. Hj. Sri Subekti B. S., DEA.
NIP. 130 687 296

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh – sungguh, kami berpendapat bahwa Sksipsi ini, baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan.

Menyetujui,

Panitia Penguji,

Drh. Tri Wahyu Suprayogi, M. Si.
Ketua

A. Shofy Mubarak, S. Pi., M. Si.
Sekretaris

Ir. Sudarno, M. Kes.
Anggota

Ir. Agustono, M. Kes.
Anggota

Drh. Jola Rahmahani, M. Kes.
Anggota

Surabaya,

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,

Prof. Dr. Ismudiono, MS., Drh.
NIP. 130 687 297

RINGKASAN

BEDA PUSPITA DEWI. Pengaruh Beberapa Macam Susu sebagai Bahan Pengencer terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L.). Dosen Pembimbing Ir. AGUSTONO, M.Kes. dan Drh. JOLA RAHMAHANI, M.Kes.

Ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) merupakan salah satu jenis ikan konsumsi yang bernilai ekonomis tinggi, sehingga banyak dipelihara oleh pembudidaya ikan. Ketersediaan benih ikan merupakan salah satu ukuran keberhasilan budidaya ikan mas. Kematangan gonad yang tidak bersamaan menyebabkan kesulitan dalam pemijahan sehingga berpengaruh pada penyediaan benih ikan mas.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi berbagai macam susu sebagai bahan pengencer terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ikan mas.

Hewan coba yang digunakan adalah ikan mas. Sperma diambil dengan cara melakukan *stripping*. Sperma diperiksa secara makroskopis dan mikrokopis, kemudian diencerkan dengan pengencer susu segar, susu skim dan susu full cream. Sperma yang telah diencerkan disimpan dalam tabung eppendorf pada suhu 5°C. Pengamatan motilitas dan presentase hidup spermatozoa dilakukan setiap 6 jam sekali sampai spermatozoa mati.

Penelitian ini merupakan percobaan faktorial dengan 2 faktor yang disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 ulangan. Faktor I adalah jenis bahan pengencer yang meliputi pengencer NaCl fisiologis (kontrol / P0), pengencer susu segar (P1), pengencer susu bubuk full cream (P2) dan pengencer susu bubuk skim (P3). Faktor II adalah waktu pengamatan yang meliputi pengamatan 6 jam (T1), 12 jam (T2) sampai dengan pengamatan 42 jam (T7).

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisa statistik sesuai dengan rancangan yang digunakan. Apabila dari hasil analisis tersebut diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka untuk membandingkan nilai dilakukan uji lanjutan yaitu uji Jarak Berganda Duncan (Duncan's Multiple Range Test).

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara bahan pengencer susu yang berbeda dan waktu pengamatan terhadap motilitas spermatozoa ikan mas. Motilitas terbaik diperoleh sperma dengan bahan pengencer susu bubuk skim (P3) pada pengamatan 12 jam dan motilitas terendah terdapat pada sperma dengan bahan pengencer NaCl fisiologis (kontrol / P0) pada pengamatan 42 jam. Daya hidup spermatozoa tidak menunjukkan adanya interaksi antara bahan pengencer susu berbeda dan waktu pengamatan. Perlakuan dengan bahan pengencer susu bubuk skim (P3) pada pengamatan 6 jam memberikan daya hidup tertinggi sedangkan daya hidup terendah terdapat pada perlakuan bahan pengencer NaCl fisiologis (P0) pada pengamatan 42 jam.

SUMMARY

BEDA PUSPITA DEWI. The Effect of Different Milk Diluter to Motility and Viability of Commnon Carp (*Cyprinus carpio*, L.) Spermatozoa. Academic Advisor Ir. AGUSTONO, M. Kes. and Drh. JOLA RAHMAHANI, M. Kes.

Common carp (*Cyprinus carpio*, L.) is one of the high economic fisheries commodities and more preferred by farmed to be cultured. The larvae availability determines the success of carp culture effort. The gonad maturity in different time is one of the spawning problems and is disturbing the larvae supply.

The objective of the study was to find out the interaction of different milk diluter and observation to motility and viability of carp fish (*Cyprinus carpio*, L.) spermatozoa.

Common carp was used as experimental animal. Sperm was collected by stripping. Sperm was observed macoscopically and microscopically and was diluted with NaCl fisiologis, fresh milk, skim powder milk and full cream powder milk. Diluted sperm then was kept in eppendorf tube at temperature 5°C. observation of motility and presentage of live of sperm was done in every 6 hours until the spermatozoa were death.

The experimental design was used factorial 2 factors of Completely Randomized Design with 5 replications. The first factor was diluter material that were NaCl fisiologis (control / P0), fresh milk (P1), skim powder milk (P2) and full cream powder milk (P3). The second factor was observation time that was 6 hour observation (T1), 12 hour (T2) until 42 hour observation.

The data was analyzed with Completely Randomized Design and continued with Duncan's Multiple Range Test if there any significant result between treatment to find out the best treatment.

The result showed significant different between different diluter to the motility and viability of carp fish spermatozoa. The highest motility was gained by sperm with skim powder milk (P3) at 12 hours observation and the lowest was gained by sperm with NaCl fisiologis diluter (control / P0) at 42 hours observation. The viability of spermatozoa there was no interaction between

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

different diluter and observation. Skim milk powder diluter (P3) produced highest viability of spermatozoa at 6 hours observation and the lowest gained by sperm with NaCl fisiologis (P0) at 42 hours observation.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rakhmat dan hidayah – Nya, serta sholawat dan salam kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, sehingga Laporan Skripsi tentang **Pengaruh Beberapa Macam Pengencer Susu terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L.)** ini dapat terselesaikan. Laporan ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan di Laboratorium Inseminasi Buatan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya pada tanggal 10 Desember 2005 sampai dengan 31 Januari 2006.

Pada kesempatan ini, tidak lupa pula penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ismudiono, MS., Drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Ibu Prof. Dr. Drh. Hj. Sri Subekti B. S., DEA. selaku Ketua Program Studi S1 Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
3. Bapak Ir. Agustono, M.Kes. dan Drh. Jola Rahmahani, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan arahan dan masukan sejak penyusunan usulan hingga selesainya penyusunan laporan skripsi ini.
4. Bapak Abdul Rochman, Ibu Sukarsih dan kakak – kakak (Li'ana, Mamiek dan Yudianto) tercinta atas kasih sayang, doa, perhatian dan dukungan baik moril maupun materil yang sangat berarti hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

5. Kepala dan staf Laboratorium Inseminasi Buatan FKH Unair yang telah membantu dalam menyediakan peralatan dan bahan selama penulis melakukan penelitian.
6. Teman satu team "Sperma" (Toyem, Dee, Peni), Zaki, k Gun, Khoi dan Arip atas nasehat, bantuan dan kerjasamanya.
7. Rekan – rekan seperjuangan BP '01, atas kerjasama, persahabatan dan bantuannya.

Akhirnya penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan, semoga makalah skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Surabaya, Mei 2006

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN iv

SUMMARY vi

KATA PENGANTAR viii

DAFTAR TABEL xii

DAFTAR GAMBAR xiii

DAFTAR LAMPIRAN xiv

BAB I PENDAHULUAN 1

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Rumusan Masalah 2

1.3 Tujuan 3

1.4 Manfaat 3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4

2.1 Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L.) 4

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi 4
2.1.2 Sifat – Sifat Biologi 5
2.1.3 Perkembangbiakan 6
2.1.4 Biologi Reproduksi 7

2.2 Fisiologi Reproduksi Jantan 8

2.2.1 Spermatogenesis 8
2.2.2 Spermatozoa 9
2.2.3 Metabolisme 10

2.3 Motilitas 11

2.4 Daya Hidup 13

2.5 Faktor yang Mempengaruhi Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa 13

2.6 Pengencer Sperma 15

2.7 Pengencer Susu 16

BAB III KERANGKA KENSEPTUAL DAN HIPOTESIS 18

3.1 Kerangka Konseptual 18

3.2 Hipotesis 19

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN 21

4.1 Tempat dan Waktu 21

4.2 Materi Penelitian 21

4.2.1 Bahan Penelitian 21
4.2.2 Alat Penelitian 21

4.3 Metode Penelitian 21

4.3.1 Rancangan Penelitian 22
4.3.2 Prosedur Penelitian 22
A. Persiapan Penelitian 22
B. Pelaksanaan Penelitian 22
4.3.3 Parameter 27
4.3.4 Analisis Data 27

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN 29

5.1 Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis 29

5.2 Motilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L.) 31

5.3 Daya Hidup Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L.) 36

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN 42

6.1 Kesimpulan 42

6.2 Saran 42

DAFTAR PUSTAKA 43

LAMPIRAN 46

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Pemeriksaan sperma ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) secara makroskopis dan mikroskopis 29

2. Hasil rata – rata pengamatan pengaruh bahan pengencer susu berbeda terhadap motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) 31

3. Hasil sidik ragam pengaruh bahan pengencer susu berbeda terhadap motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) 32

4. Perbedaan notasi pada interaksi bahan pengencer susu berbeda dan waktu pengamatan terhadap motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) 32

5. Hasil rata – rata pengamatan pengaruh bahan pengencer susu berbeda terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) 36

6. Hasil sidik ragam pengaruh bahan pengencer susu berbeda terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) 37

7. Perbedaan notasi pada perlakuan bahan pengencer susu berbeda terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) 37

8. Perbedaan notasi pada waktu pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) 38

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) 5
2. Pola umum perkembangan spermatozoa 9
3. Skema kerangka konseptual penelitian 20
4. Bagan pelaksanaan penelitian 28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Komposisi bahan – bahan yang terdapat dalam air susu sapi 46

2. Komposisi bahan – bahan yang terdapat dalam susu bubuk full cream (Dancow®) 47

3. Komposisi bahan – bahan yang terdapat dalam susu bubuk skim (Tropicana Slim®) 48

4. Motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) dalam persen 49

5. Motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) setelah ditransformasi ke $\sqrt{x + ½}$ 50

6. Perhitungan motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*,L.) 51

7. Daya hidup spermatozoa ikan mas (Cyprinus carpio, L.) dalam persen 56

8. Daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) setelah ditransformasikan ke arc sin $\sqrt{\text{persentase}}$ 57

9. Perhitungan daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) 58

10. Gambar spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) yang hidup dan mati pada perbesaran 400x 63

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertambahan jumlah penduduk menyebabkan bertambah pula jumlah kebutuhan pangan. Salah satu kebutuhan pangan yang meningkat adalah kebutuhan protein hewani. Protein hewani tidak hanya diperoleh dari hewan ternak tetapi juga dapat diperoleh dari ikan baik ikan air laut maupun ikan air tawar. Ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) adalah salah satu jenis ikan air tawar yang paling banyak dibudidayakan dan mempunyai produksi diatas rata – rata ikan konsumsi yang lain (Santoso, 1995).

Ikan mas disukai petani karena sudah lama dikenal dan dikonsumsi oleh masyarakat sehingga mudah pemasarannya. Ikan mas juga memiliki keunggulan sebagai ikan budidaya antara lain dapat ditebar dengan padat penebaran yang tinggi, memiliki toleransi terhadap kualitas air yang keruh, pertumbuhannya cepat dan memiliki daya adaptasi yang tinggi (Susanto dan Rochdianto, 1997).

Permintaan yang cukup tinggi dewasa ini menyebabkan budidaya ikan mas mempunyai prospek yang cerah. Intensifikasi ini tidak akan berhasil apabila tidak didukung dengan sarana yang memadai baik dari segi lokasi budidaya maupun penyediaan benih ikan dalam jumlah banyak dan berkualitas. Benih ikan yang berkualitas hanya didapat dari induk yang berkualitas pula. Akan tetapi masa pematangan gonad antara ikan jantan dan ikan betina yang tidak bersamaan menyebabkan kesulitan dalam pemijahan sehingga berpengaruh pada penyediaan benih ikan mas. Salah satu cara untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan

MILIK PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

penyimpanan spermatozoa induk jantan sehingga dapat digunakan dalam jangka waktu lebih lama. Penyimpanan spermatozoa ini telah berhasil dilakukan pada Atlantic herring (*Clupea*), Chinook salmon (*Ibeirbegys tsgavtsia*) dan Salmon (*Oncorhynchus*) (Lagler *et. al.*, 1977).

Spermatozoa yang disimpan diluar tubuh memerlukan bahan pengencer yang dapat menunjang kehidupan spermatozoa sehingga dapat bertahan dalam jangka waktu tertentu (Sutoyo, 2000). Salah satu bahan yang digunakan sebagai bahan pengencer adalah susu. Air susu ini mengandung sejumlah glukosa tertentu sebagai sumber karbohidrat, substansi pelindung lecitin dan substansi untuk proses oksidasi metabolisme termasuk penguraian komponen lemak seperti gliserol dan asam organik. Spermatozoa tidak menghidrolisis laktosa tetapi menggunakan glukosa dan beberapa derivat karbohidrat didalam susu (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Atas dasar pemikiran tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang penyimpanan spermatozoa dengan bahan pengencer susu baik susu segar, susu bubuk skim maupun susu bubuk full cream.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan suatu masalah :

1. Apakah terdapat interaksi dari berbagai macam susu sebagai bahan pengencer dengan waktu pengamatan terhadap motilitas spermatozoa ikan mas ?
2. Apakah terdapat interaksi dari berbagai macam susu sebagai bahan pengencer dengan waktu pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui interaksi berbagai macam susu sebagai bahan pengencer dengan waktu pengamatan terhadap motilitas spermatozoa ikan mas
2. Untuk mengetahui interaksi berbagai macam susu sebagai bahan pengencer dengan waktu pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang penggunaan pengencer susu untuk mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa ikan, karena hal tersebut akan mempengaruhi penyediaan benih ikan yang berkualitas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L)

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi

Menurut Susanto dan Rochdianto (1997) ikan mas dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

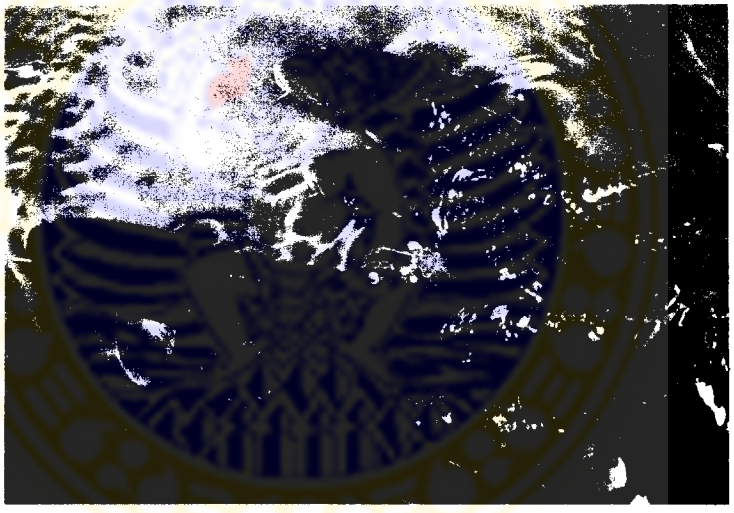
Kelas	: Pisces
Subkelas	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysi
Sub-ordo	: Cyprinoidea
Famili	: Cyprinidae
Sub famili	: Cyprininae
Genus	: Cyprinus
Spesies	: *Cyprinus carpio*, L

Ikan mas (*Cyprinus carpio*, L) menurut sejarahnya berasal dari daratan Cina dan Rusia. Ikan mas mempunyai bentuk badan agak memanjang dan sedikit pipih ke samping (*compressed*). Mulutnya terletak di ujung tengah (*terminal*), dapat disembulkan dan lunak. Di bagian mulut ini terdapat dua pasang sungut, kadang-kadang mempunyai sungut satu pasang (*rudimentir*).

Sirip punggung berbentuk memanjang yang letak bagian permukaannya berseberangan dengan permukaan sirip perut. Di bagian belakang sirip punggung ini berjari – jari keras, sedangkan di bagian akhir bergerigi. Seperti juga dengan sirip punggung, bagian belakang sirip dubur ikan mas ini pun juga berjari –jari

keras dan bagian terakhirnya bergigi. Sirip ekornya membentuk cagak, berukuran simetris dan memanjang hingga ke belakang tutup insang (*operculum*).

Sisik ikan mas berukuran cukup besar dengan tipe sisik lingkaran (*cycloid*) dan terletak beraturan. Garis rusuk yang dimilikinya lengkap dan berada di pertengahan tubuh. Usus umumnya tidak terlalu panjang jika dibandingkan dengan hewan pemakan tumbuh – tumbuhan asli. Ikan mas tidak mempunyai lambung, juga tidak bergigi, sehingga bila mencerna makanan sebagai pengganti penggerusnya adalah dengan pharing mengeras (Santoso, 1995). Morfologi ikan mas ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L.)

2.1.2 Sifat – Sifat Biologi

Di alam, ikan mas sering ditemui di pinggiran sungai, danau atau peraian tawar lainnya yang airnya tidak terlalu dalam dan aliran airnya tidak terlalu deras. Lingkungan perairan ideal yang diinginkan jenis ikan ini adalah daerah yang berketinggian 150 – 1000 m diatas permukaaan laut dengan suhu air berkisar

antara 25 – 30°C, pH air berkisar antara 7 – 8 dan oksigen terlarut berkisar antara 5 – 7 ppm (Santoso, 1995; Rochdianto, 1995; Lesmana, 2001).

Ikan mas termasuk ikan air tawar, namun tidak jarang ikan ini ditemui dan hidup di daerah muara sungai yang berair payau. Dari pengalaman ini, masyarakat di beberapa daerah mencoba membudidayakannya di dalam tambak yang berair payau dengan salinitas mencapai 20 – 30 ppt (Susanto dan Rochdianto, 1997).

Periode perkembangbiakan di alam, ikan mas ini memijah pada awal musim hujan. Habitat pemijahan ikan mas biasanya di bawah tumbuhan air serta dasar perairan yang lapang dan mempunyai air yang segar (Richter dan Rustidja, 1985). Telur yang dihasilkan akan menempel di rerumputan atau benda lainnya yang ada di dalam air. Berbeda dengan ikan lele lokal (*Clarias batracus*), ikan jantan yang mempunyai sifat mengasuh anak – anaknya. Ikan mas justru sebaliknya, ia tidak mau merawat keturunannya (Santoso, 1995).

2.1.3 Perkembangbiakan

Kualitas benih ikan mas sangat tergantung pada kualitas induk, oleh karena itu pemilihan induk harus dilakukan dengan baik. Untuk mendapatkan benih berkualitas tinggi, perlu dilakukan seleksi induk. Seleksi terhadap calon induk ikan mas meliputi lima kriteria (Santoso, 1995) yaitu : (1) Umur : Umur induk ikan mas betina yang pantas untuk dikawinkan berkisar antara 1,5 – 2 tahun dan mencapai berat 2 kg lebih/ekor. Induk ikan mas jantan mencapai matang gonad relatif lebih muda daripada betina yaitu 8 bulan dengan berat 0,5 kg/ekor; (2) Bentuk badan : Kondisi badan secara keseluruhan sehat dan tidak mengalami cacat baik bentuk badan maupun bagian sirip – siripnya. Apabila salah satu bagian badan mengalami cacat sebaiknya dihindarkan karena dapat diturunkan pada

keturunannya, selain itu *linea lateralis* kedua sisi tubuh posisinya sama, tidak ada lekukan atau patahan; (3) Kepala : Bagian kepala induk ikan mas relatif lebih kecil daripada bagian badannya. Tutup insang normal, tidak terlalu tebal hingga terkesan menggembung dan apabila dibuka tidak terdapat bercak putih. Perlu dihindari apabila panjang badan tidak sampai tiga kali dari panjang kepala, terjadi pelengkungan atau pemendekan tulang punggung. Yang perlu diperhatikan lagi adalah bagian mata, apabila induk ikan mas diletakkan terlentang atau dimiringkan, biasanya matanya digerakkan atau berputar – putar dan lensa mata tampak jernih; (4) Sisik : Sisik induk yang baik tersusun secara teratur dan ukurannya relatif lebih besar. Sisik yang terlihat kusam atau tidak cerah menandakan induk tersebut kurang baik atau terlalu tua; (5) Pangkal ekor : Pangkal ekor yang baik harus normal dan kuat, tidak memendek atau melengkung. Perbandingan panjang pangkal ekor (*caudal peduncle*) dengan lebar atau tingginya harus lebih panjang. Induk ikan mas yang pangkal ekornya kurang normal (tinggi melebihi panjangnya) sebaiknya dihindari sebagai calon induk.

Pemilihan calon induk harus mempertimbangkan ras atau varietas ikan yang akan dipelihara, karena ciri – ciri calon induk yang baik berbeda – beda untuk setiap ras atau varietas (Khairuman *dkk*, 2002).

2.1.4 Biologi Reproduksi

Siklus reproduksi ikan meliputi pematangan gonad, perkawinan dan pemijahan, pembuahan dan awal perkembangan serta penetasan (Fujaya, 2002). Tipe reproduksi ikan mas bersifat biseksual, perkembangan spermatozoa dan sel telur terjadi secara terpisah pada induk jantan dan betina. Telur ikan mas itu

sendiri bersifat *adhesif*, aktivitasnya dimulai ketika bersentuhan dengan air sehingga memerlukan tempat untuk menempel (Woynarovich dan Horvath, 1980).

Sistem reproduksi teleostei jantan pada umumnya merupakan sepasang testes yang memanjang sepanjang rongga badan di bawah gelembung renang dan di atas usus serta dilengkapi dengan saluran testikuler. Testes ikan ditopang secara memanjang oleh jaringan pengikat yang disebut mesenterium (*mesorchium*) (Sumantadinata, 1981 *dalam* Rustidja, 2000). Testes terdiri dari banyak sekali rongga – rongga yang tidak beraturan, terdiri atas *tubula longitudinalis* dimana di dalamnya terdapat *cyste seminiferus* (Richter dan Rustidja, 1985).

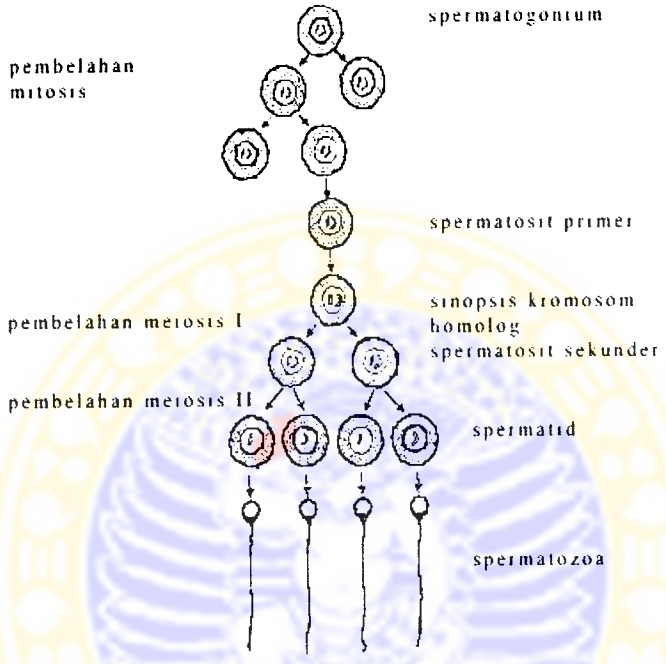
Spermatozoa dihasilkan dalam *cyste seminiferus*. *Cyste seminiferus* ini dikelilingi oleh *sel – sel sertoli* yang mempunyai fungsi *nutritif*, sedangkan pada bagian luar terdapat *sel leydig* ynag mempunyai fungsi endokrin yaitu menghasilkan testoteron (Fujaya, 2002).

2.2 Fisiologi Reproduksi Jantan

2.2.1 Spermatogenesis

Proses pembentukan spermatozoa terjadi di dalam testis yang dibagi dalam dua tahap yaitu *spermatositogenesis* dan *spermiogenesis*. Spermatositogenesis adalah proses perkembangan spermatogonium menjadi spermatid sedangkan spermiogenesis adalah proses metamorfosa spermatid menjadi spermatozoa (Fujaya, 2002). Perkembangan spermatozoa ikan mas secara umum hampir sama dengan jenis ikan teleost lainnya. *Spermatogonia* membelah secara mitosis menjadi *spermatosit primer*, kemudian membelah lagi terbentuk *spermatosit sekunder*. Hasil dari pembelahan spermatosit sekunder adalah *spermatid*. Spermatid ini akan menjadi spermatozoa / sel sperma yang bergerak aktif

(Sumantadinata, 1981 *dalam* Rustidja, 2000). Proses spermatogenesis pada ikan mas bersifat *subcontinous* dan spermiasi terjadi hampir sepanjang tahun jika kondisi lingkungan memungkinkan (Billiard, *et. al.*, 1995). Pola umum perkembangan spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pola umum perkembangan spermatozoa (Fujaya, 2002)

2.2.2 Spermatozoa

Bentuk spermatozoa teleost berbeda – beda tergantung spesies. Secara umum, spermatozoa terdiri dari dua bagian utama yaitu kepala dan ekor. Bentuk tersebut memungkinkan spermatozoa dapat bergerak (Fujaya, 2002). Menurut Stoss dan Donaldson (1982), bagian kepala berbentuk membulat (*spherical*) dan bagian leher mengalami reduksi, ekornya memanjang 10 sampai 20 kali panjang kepalanya. Panjang rata – rata total spermatozoa ikan teleostei adalah 40 – 60 mikron (μ) dengan panjang kepala hanya 2 – 3 μ (Fujaya, 2002).

Produksi sperma ikan mas cukup tinggi mencapai 1,9 $\pm$ 0,2 x 10^{12} spermatozoa per kg berat badan, sedangkan pada beberapa ikan rainbow trout jumlah spermatozoa bervariasi dari 3,5 – 4,5 x 10^{12} per kg berat badan (Billiard, *et. al.,* 1995). Konsentrasi spermatozoa ikan mas dalam setiap cm kubik bisa mencapai 10 – 20 milyar (Woynarovich and Hovarth, 1980). Spermatozoa bersifat *immotile* di dalam testes dan tidak mempunyai kemampuan untuk melakukan fertilisasi, demikian juga di dalam seminal plasma (Yaron, 1995). Induksi pergerakan spermatozoa sangat dipengaruhi olehkondisi lingkungan selam musim pemijahan. Aktivasi pada ikan air tawar terjadi apabila peraiaran bersifat hipotonis (Stoss dan Donaldson, 1982).

Plouidy dan Billiard (1982) mengatakan bahwa pengetahuan mengenai komposisi seminal plasma sangat penting untuk memahami fisiologi gamet ikan terutama kegunaan praktis, seperti menetukan komposisi bahan pengancer dalam inseminasi buatan atau untuk pembekuan sperma. Pada ikan mas, plasma semen berwarna keputih – putihan dengan kekentalan yang tinggi. Komposisi cairan seminal plasma ikan mas adalah glukosa 9 – 100 mg/l, fruktosa 58 – 63 mg/l, lactose 39 – 50 mg/l, kolesterol 0 – 4 mg/l, lipid 98 – 1316 mg / l, phospolipid 5,6 mg/l, protein 0,4 – 3,8 mg/l dan asam amino 98 – 136 mg/l (Kruger *et, al.,* dan Gosh *dalam* Billiard, *et. al.,* 1995). Billiard, *et. al.* (1995) menambahkan bahwa plasma semen juga mengandung ion K^+, Na^+, Ca^+ dan Mg^+.

2.2.3 Metabolisme

Energi yang langsung terpakai untuk pergerakan spermatozoa dihasilkan oleh serabut ekor yang berasal dari uraian adenosine trifosfat (ATP) dan adenosine difosfat (ADP), dimana energi banyak didapatkan pada ikatan fosfat

(P - P). apabila persediaan P – P dalam ATP dan ADP telah habis, kontraksi fibril spermatozoa berhenti dan gerakan juga berhenti, sehingga untuk menjaga motilitas ATP dan ADP harus dibangun kembali dan untuk membangun kembali ATP dan ATP diperlukan sumber energi dari luar. Kebanyakan aktivitas faali disertai dengan pelepasan energi uraian reaksi dari bahan organik seperti karbohidrat dan lemak. Pembentukan kembali ATP dapat terjadi tanpa oksigen bila disertai glikolisis dan respirasi (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Glikolisis adalah suatu reaksi penguraian 6 – karbon monosakarida sederhana manjadi 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 3 – karbon dengan kandungan asam piruvat, kemudian dihidrolisa atau direduksi menjadi asam laktat (Salisbury dan VanDemark, 1985).

Metabolisme spermatozoa dalam keadaan *anaerob* mengahasilkan asam laktat yang semakin lama akan semakin tertimbun dan mempertinggi derajat keasaman atau menurunkan pH larutan, sehingga diperlukan bahan penyangga (*buffer*) untuk mempertahankan pH sperma (Toelihere, 1993).

2.3 Motilitas

Motilitas atau daya gerak merupakan ciri utama spermatozoa yang dijadikan sebagai patokan atau cara paling sederhana dalam penilaian sperma untuk inseminasi buatan. Penilaian mikroskopis terhadap motilitas spermatozoa bersifat subjektif (Toelihere, 1993). Motilitas ini digunakan sebagai indikator terjadinya fertilisasi pada pembuahan buatan (Hafez, 2000). Adanya pergerakan tidak menjamin terjadinya pembuahan, tetapi spermatozoa yang tidak bergerak tidak

mampu membuahi sel telur (Harvey dan Hoar, 1979). Motilitas spermatozoa ada dua macam yaitu :

a. Gerakan Massa

Gerakan massa adalah gerakan dari sel – sel spermatozoa yang secara bersama – sama sehingga membentuk gelombang. Penilaian terhadap motilitas spermatozoa dapat digolongkan dalam beberapa istilah yaitu : pada keadaan gelombang kecil sampai besar dan tebal (+++) menggambarkan bahwa sperma tersebut mengandung sel – sel spermatozoa hidup dalam jumlah banyak dan bergerak cepat. Pada keadaan gelombang tipis dan gerakan lamban (++), kemungkinan persentase sel spermatozoa yang hidup tinggi, tetapi banyak diantaranya yang lemah atau mati atau juga dapat disebabkan jumlah spermatozoa yang hidup sedikit. Pada keadaan (+) atau hampir tidak terlihat gerakan dapat diartikan bahwa dalam sperma tersebut tidak mengandung banyak sel – sel spermatozoa atau dapat juga mengandung sel – sel spermatozoa dalam jumlah cukup banyak, tetapi sebagian besar banyak yang mati (Hardijanto, *dkk.*, 2004).

b. Gerakan Individu

Gerakan individu dari setiap sel spermatozoa sangat penting, karena bila tidak terdapat gerakan dari sel spermatozoa maka tidak mungkin sel spermatozoa dapat mencapai sel telur. Pergerakan yang baik memungkinkan sel spermatozoa dapat mencapai sel telur dalam waktu yang relatif singkat sehingga memungkinkan terjadinya pembuahan yang sempurna (Hardijanto, *dkk.*, 2004).

Macam gerakan sel spermatozoa dibedakan dalam 5 tipe yaitu gerakan aktif maju kedepan (*progresif*), gerakan berputar dan lamban (*oscillatoris* atau *vibratoris*), gerakan melingkar (*circular*), gerakan mundur (*reverse*) dan sel

spermatozoa yang tidak mempunyai gerakan (*Necrospermia*) (Hardijanto, *dkk.*, 2004).

2.4 Daya Hidup

Penentuan persentase sperma hidup perlu dilakukan dalam pengolahan sperma karena dalam fertilisasi dibutuhkan spermatozoa yang motil dan hidup untuk dapat melakukan pembuahan (Poernomo, *dkk.*, 2004). Penentuan persentase hidup spermatozoa menggunakan pewarnaan eosin negrosin. Spermatozoa yang mati permeabilitas membran meningkat sehingga sel spermatozoa yang mati akan menyerap warna dari zat warna yang dipakai sedangkan sel spermatozoa yang hidup tetap jernih (Hardijanto, *dkk.*, 2004).

2.5 Faktor yang Mempengaruhi Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa

Di dalam testes dan seminal plasma, spermatozoa bersifat *immotile* sehingga tidak mampu melakukan fertilisasi (Stoss and Donaldson, 1982). Gerak progesif secara berkesinambungan hanya terjadi satu menit setelah bersentuhan dengan air dan hanya 50% yang masih dapat bergerak setelah 3 menit. Sebagian besar spermatozoa ikan air tawar dapat bergerak tidak lebih dari 3 menit setelah bersentuhan dengan air, sedangkan spermatozoa ikan air laut dapat bergerak lebih lama (Fujaya, 2002).

Stimulasi dan lama pergerakan spermatozoa dipengaruhi oleh umur, kematangan spermatozoa, suhu dan faktor – faktor lingkungan lain seperti ion – ion, pH dan osmolaritas. Spermatozoa yang belum matang memiliki masa pergerakan yang lebih singkat dibanding spermatozoa matang (Fujaya, 2002).

Kecepatan bergerak spermatozoa tergantung spesies dan kondisi lingkungan (Lagler *et. al.*, 1977). Spermatozoa dapat bertahan hidup lebih lama apabila lingkungan bersifat isotonik. Aktivasi spermatozoa dapat terjadi apabila kondisi lingkungan bersifat hipotonik untuk ikan air tawar dan media hipertonik untuk ikan air laut. Penurunan daya gerak yang cepat berhubungan dengan pengurangan teratur dari kandungan ATP intraseluler. 50 – 80% dari ATP dihidrolisis pada akhir fase pergerakan. Pemulihan potensi bergerak dapat dimunculkan kembali setelah spermatozoa diinkubasi dalam larutan 150/200 mM KCL, dalam media tersebut spermatozoa tidak bergerak, namun meskipun tidak teraktivasi secara progresif tetap menunjukkan penurunan dalam konsentrasi ATP mereka. ATP dihasilkan dari mitokondria (Billard *et. al.*, 1995).

Daya hidup spermatozoa juga dipengaruhi oleh suhu, umumnya spermatozoa akan hidup lebih lama pada suhu rendah daripada suhu tinggi (Lagler *et. al.*, 1977). Richter dan Rustidja (1985) menambahkan bahwa kecepatan pergerakan spermatozoa juga tergantung pada suhu dan media pengencer. Sperma ikan yang dikumpulkan dalam botol kecil dengan larutan fisiologis 5 ml pada suhu 4°C masih bisa aktif selama tidak lebih dari 2 hari.

Proses masuknya spermatozoa ke dalam sel telur melalui *microphyl* hanya berlangsung antara 45 sampai 60 detik, kemudian *microphyl* tertutup sehingga selain adanya keterbatasan waktu spermatozoa untuk masuk dalam sel telur, waktu hidup spermatozoa itu sendiri sangat singkat. Pergerakan aktif spermatozoa ikan mas yang berada di dalam air tawar hanya 30 sampai 60 detik, dan pergerakannya akan menghilang setelah 5 menit (Waynarovich and Horvath, 1980). Harvey dan Hoar (1979) *dalam* Rustidja (2000) mengatakan bahwa

sesungguhnya pergerakan spermatozoa tidak menjamin terjadinya pembuahan, tetapi spermatozoa yang tidak bergerak tidak akan mampu membuahi sel telur. Menurut Richter dan Rustidja (1985), aktivitas spermatozoa ikan mas dalam air dapat berlangsung selama satu sampai dua menit, sedang dalam larutan penyubur aktivitasnya dapat berlangsung selama 20 sampai 25 menit.

2.6 Pengencer Sperma

Penyimpanan spermatozoa diluar tubuh ikan perlu ditambahkan bahan – bahan pengencer yang dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa sehingga dapat bertahan dalam jangka waktu tertentu (Sutoyo, 2000). Pemakaian bahan pengencer dimaksudkan untuk mengurangi aktivitas spermatozoa sehingga menghambat pemakaian energi dan dapat memperpanjang hidup spermatozoa tersebut. Berkurangnya aktivitas spermatozoa menyebabkan produksi asam laktat menurun sehingga penurunan pH menjadi terhambat, akibatnya mengurangi pengaruh negatif terhadap kehidupan spermatozoa (Hardjopranjoto, 1995). Penggunaan bahan pengencer ini dimaksudkan untuk memperpanjang hidup spermatozoa tanpa mengurangi tingkat kesuburannya (Evans and Maxwell, 1987).

Bahan pengencer sperma menurut Harvey dan Hoar (1979) *dalam* Rustidja (2000) harus mempunyai sifat (1) dapat memelihara kehidupan spermatozoa tetapi tidak menyebabkan spermatozoa aktif, (2) bersifat isotonis dengan cairan sperma dan (3) mampu bertindak sebagai larutan penyangga sehingga terjadi keseimbangan antara keasaman dan kebasaan dalam cairan sperma. Menurut Salisbury dan VanDemark (1985) bahan pengencer harus (4) mengandung *lipoprotein* atau *lechitin* yang akan bekerja sebagai lapisan pelindung terhadap spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*), (5) merupakan sumber bahan

reduksi untuk melindungi enzim seluler yang mengandung *sulfhidril*. Toelihere (1993) menambahkan bahwa bahan pengencer (6) hendaknya murah, sederhana dan praktis dibuat, tetapi mempunyai daya mengawetkan yang tinggi, (7) menyediakan zat zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (8) dapat mencegah pertumbuhan kuman sehingga perlu ditambahkan antibiotika dan (9) mampu memperbanyak volume sperma sehingga lebih banyak sel telur dapat dibuahi. Bahan pengencer yang selama ini dapat digunakan antara lain : larutan NaCl fisiologis, kuning telur ayam, air kelapa dan susu baik susu sapi murni maupun susu *skim*.

2.7 Pengencer Susu

Air susu merupakan campuran yang sangat kompleks dimana zat – zat makanan yang terkandung dalam susu dalam tiga keadaan yang berbeda yaitu sebagai larutan sejati antara lain karbohidrat, garam – garam anorganik; sebagai larutan koloidal antara lain protein, enzim, garam – garam missel; sebagai emulsi antara lain lemak, gliserida – gliserida (Buckle *dkk.*, 1987).

Karbohidrat yang utama dalam susu adalah laktosa. Laktosa merupakan suatu disakarida (glukose 4-β galaktosidase) yang terdiri dari glukose dan galaktose (Buckle, *dkk.*, 1987; Frandson, 1986). Dalam susu sapi jumlah protein relatif besar. Protein ini meliputi empat bentuk yang berbeda yaitu kasein, albumin plasma darah, imunoglubulin dan suatu fraksi pepton-protease. Di dalam susu juga terdapat senyawa nonprotein (NPN), urea, asam urat, kreatinin, ammonia dan khususnya pada sapi asam oratat (orotic acid) (Frandson, 1987). Lemak susu terdapat kira – kira 1000 x 10^6 butiran lamak dalam setiap ml susu. Dalam lemak susu sekurang – kurangnya terdapat 50 macam asam lemak yang

berbeda dimana 60 – 75% bersifat jenuh, 25 – 30% tidak jenuh dan sekitar 4% merupakan asam lemak *polyunsaturated* (Buckle, *dkk.,* 1987).

Dipandang dari sudut gizi, susu merupakan sumber gizi yang cukup baik karena di dalam susu mengandung zat yang sangat kompleks karena selain zat – zat yang telah disebutkan diatas, dalam susu juga mengandung vitamin baik vitamin yang larut dalam air : vitamin B dan C maupun vitamin yang larut dalam lemak : vitamin A, D dan E. Sebagian besar vitamin C dapat dirusak oleh proses pasteurisasi.

Susu juga mengandung enzim – enzim fosfatase, lipase, katalase, peroksidase, protease, diatase, amilase dan dan lactase. Enzim yang menyebabkan kerusakan adalah lipase (Buckle, *dkk.,* 1987). Bahan pengencer yang digunakan dalam penelirian ini berupa susu segar, susu bubuk full cream (Dancow®) dan susu bubuk skim (Tropicana Slim®). Komposisi bahan – bahan yang terkandung dalam bahan – bahan pengencer tersebut dapat dilihat pada Lampiran 1, 2 dan 3.

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual

Ikan mas banyak disukai petani karena sudah lama dikenal dan dikonsumsi oleh masyarakat. Ikan mas merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang paling banyak dibudidayakan dan mempunyai produksi diatas rata – rata ikan konsumsi lain (Suseno, 1995). Adanya permintaan pasar yang cukup tinggi ini menyebabkan ikan mas mempunyai prospek yang cerah dan perlu adanya budidaya secara intensif. Intensifikasi ini tidak akan berhasil apabila tidak didukung dengan sarana yang memadai baik dari segi lokasi budidaya maupun penyediaan benih dalam jumlah banyak dan berkualitas.

Benih yang berkualitas hanya didapat dari induk yang berkualitas pula. Masa pematangan gonad antara ikan jantan dan ikan betina yang tidak bersamaan menyebabkan kesulitan pemijahan sehingga akan berpengaruh pada penyediaan benih ikan mas. Salah satu cara untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan penyimpanan spermatozoa induk jantan sehingga dapat digunakan dalam jangka waktu tertentu.

Spermatozoa yang disimpan diluar tubuh memerlukan bahan pengencer yang dapat menunjang kehidupan spermatozoa sehingga dapat bertahan dalam jangka waktu tertentu (Sutoyo, 2000). Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai bahan pengencer adalah susu karena susu mengandung sejumlah glukosa tertentu yang menyediakan zat karbohidrat, substansi pelindung lecitin dan substansi untuk proses oksidasi metabolisme termasuk penguraian komponen

lemak seperti gliserol dan asam organik. Spermatozoa tidak menghidrolisis laktosa tetapi menggunakan glukosa dan beberapa derivat karbohidrat didalam susu (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Penyimpanan spermatozoa dengan pengencer susu telah berhasil dilakukan dan menunjukkan adanya pengaruh yang positif dalam mempengaruhi motilitas dan lama hidup spermatozoa (Rustidja, 2000). Ikan mas mempunyai prospek yang cerah sehingga perlu dilakukan penelitian tentang penyimpanan spermatozoa dengan menggunakan pengencer susu yang berbeda. Keberhasilan penelitian ini akan mendukung budidaya ikan mas sehingga penyediaan benih yang berkualitas dapat terpenuhi secara berkesinambungan. Secara skematis kerangka konseptual penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.

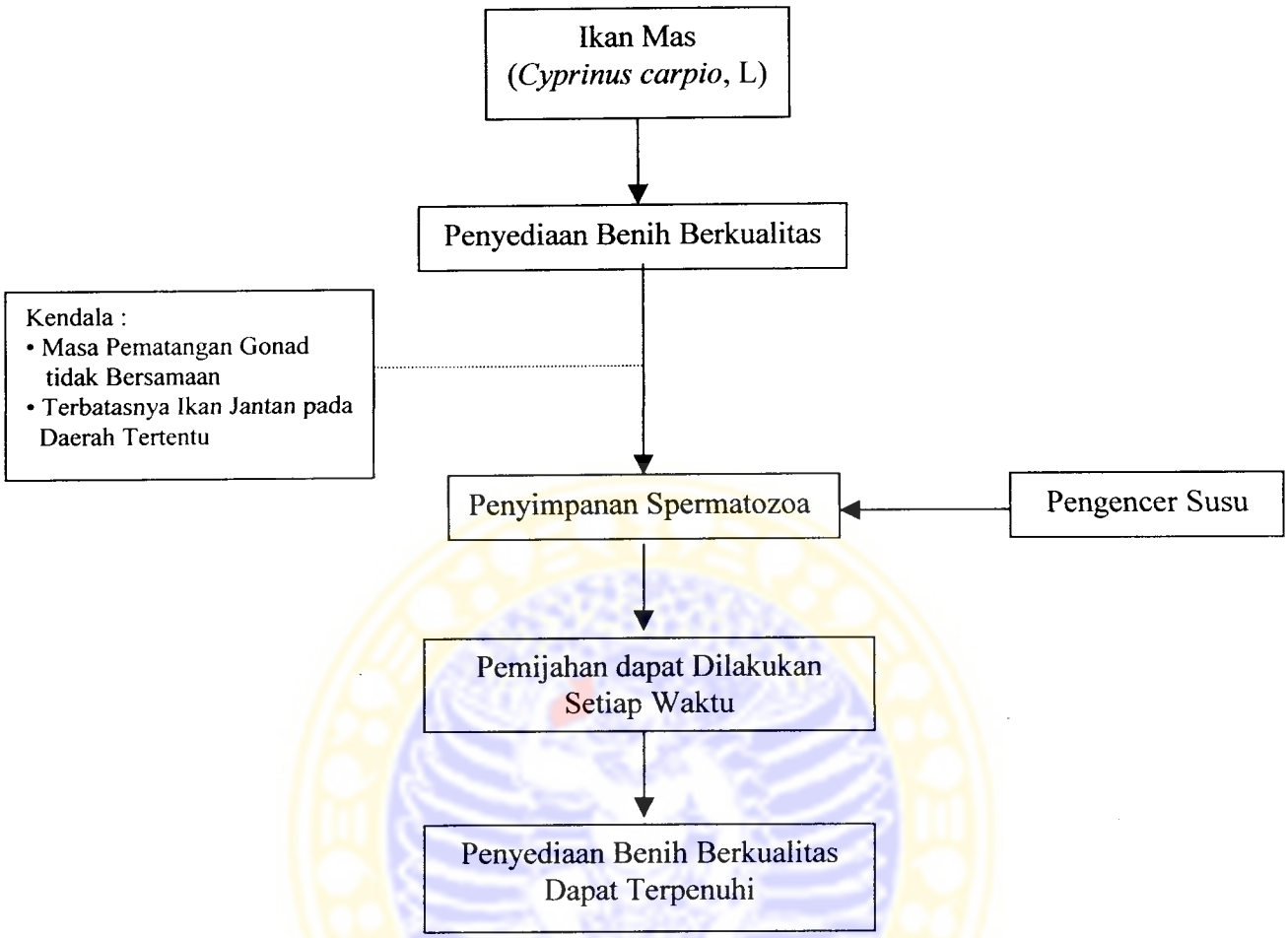
3.2 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

Ho : Tidak terdapat pengaruh penggunaan bahan pengencer susu yang berbeda terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ikan mas

H1 : Terdapat pengaruh penggunaan bahan pengencer susu yang berbeda terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ikan mas

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga



Gambar 3. Skema Kerangka Konseptual Penelitian

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Inseminasi Buatan dan Laboratorium Pendidikan Perikanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya mulai tanggal 1 Desember sampai dengan 30 Januari 2005.

4.2 Materi Penelitian

4.2.1 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sperma dari satu sampai dua ekor ikan mas jantan matang gonad, larutan NaCl fisiologis 0,9%, susu bubuk full cream (Dancow®), susu bubuk skim (Tropicana Slim®), susu segar, penicillin (Meiji®), streptomysin sulfate (Meiji®), larutan eosin dalam NaCl 3%, eosin negrosin, Natrium sitrat, gliserol, pH paper dan aquadest.

4.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi kain halus, tabung Eppendorf, *beaker glass*, tabung reaksi, *objec glass*, *cover glass*, pipet pasteur, spuit, thermometer, haemositometer, *counter*, mikroskop, aluminium foil, sterofom, timbangan analitik, nampan, tissue, bunsen dan lemari pendingin.

4.3 Metode penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksprimental yaitu suatu metode penelitian dengan kondisi yang terkendali,

dimana satu atau lebih variabel dapat dimanipulasi untuk melakukan uji hipotesis (Kuncoro, 2003). Perlakuan pada penelitian ini menggunakan pengencer NaCl fisiologis, susu segar, susu bubuk full cream dan susu bubuk skim.

4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan percobaan faktorial dengan 2 faktor yang disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 ulangan.

Faktor I adalah jenis bahan pengencer yang terdiri dari 4 taraf yaitu :

- P0 : Kontrol, bahan pengencer NaCl fisiologis
- P1 : Bahan pengencer susu segar
- P2 : Bahan pengencer susu bubuk full cream
- P3 : Bahan pengencer susu bubuk skim

Faktor II adalah waktu pengamatan (T) yang terdiri dari 7 taraf yaitu :

- T1 : pengamatan 6 jam
- T2 : pengamatan 12 jam
- T3 : pengamatan 18 jam
- T4 : pengamatan 24 jam
- T5 : pengamatan 30 jam
- T6 : pengamatan 36 jam
- T7 : pengamatan 42 jam

Parameter yang diukur adalah motilitas dan daya hidup spermatozoa setelah penyimpanan. Pemeriksaan dilakukan setiap 6 jam sekali.

4.3.2 Prosedur Penelitian

A Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian ini meliputi persiapan peralatan dan bahan – bahan yang diperlukan serta menyiapkan induk ikan mas matang gonad yang akan di *stripping*.

B. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan larutan pengencer

Menentukan formula

Penentuan formula yang akan digunakan dalam campuran, disesuaikan dengan hasil penelitian Widodo (1990) dalam Sutoyo (2000), mendapatkan formula yang memberikan daya hidup dan fertilitas tertinggi pada penyimpanan spermatozoa ikan nila merah (*Oreochromis* sp.), adalah sebagai berikut :

- Ekstender (susu) = 7/22 bagian (0.32 ml)
- Gliserol = 1/22 bagian (0.045 ml)
- NaCl fisiologis = 1/22 bagian (0.045 ml)
- Natrium sitrat = 9/22 bagian (0.41 ml)
- Aquadest = 2/22 bagian (0.09 ml)
- Spermatozoa = 2/22 bagian (0.09 ml)

Persiapan larutan selain ekstender

Mengambil larutan yang terdiri dari Natrium sitrat, gliserol, NaCl fisiologis dan aquadest sesuai dengan volume dalam perbandingan. Larutan tersebut dicampur dalam tabung reaksi dan digoyang perlahan – lahan (seperti membentuk angka 8) hingga homogen.

Pembuatan larutan pengencer susu

Media pengenceran sperma menggunakan larutan pengencer susu segar, susu bubuk full cream (Dancow®) dan susu bubuk skim (Tropicana Slim®). Air susu sapi dipanaskan secara tidak langsung hingga mencapai suhu 92° – 95°C. Untuk pemakaian susu bubuk full cream dan susu bubuk skim mencapai 10% dari jumlah pelarutnya (Hardijanto *dkk*, 2004). Setelah termometer menunjukkan suhu 92°C, nyala api diatur dan dipertahankan suhu tersebut selama 10 menit. Larutan susu yang sudah dimasak, didnginkan secara perlahan – lahan hingga mencapai suhu 20° – 32°C, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Larutan susu tersebut ditambahkan dengan antibiotika penicilin 1000 IU dan steptomycin 1 mg ke dalam satu mililiter air susu yang telah didinginkan kemudian diaduk rata. Air susu dapat dipanaskan sehari sebelum pemakaian dan disimpan dalam lemari pendingin (Toelihere, 1993).

2. Pengambilan Sperma

Dilakukan *stripping* pada induk ikan mas matang gonad. Prosedur *stripping* adalah sebagai berikut : Induk ikan jantan uji matang gonad diambil dari bak induk secara hati – hati kemudian dibungkus dengan kain halus pada bagian punggung, dipegang secara terlentang dengan lubang genital menghadap ke atas. Semen dikeluarkan dengan cara memberikan tekanan halus pada bagian perut ikan, yaitu dimulai dari bawah *linea lateralis* (di atas sirip perut) ke arah lubang genital. Semen yang keluar dihisap dengan spuit 2,5 ml kemudian ditutup dengan aluminium foil untuk menghindarkan semen dari sinar UV.

3. Pengenceran Sperma

Larutan natrium sitrat, gliserol, NaCl fisiologis dan aquadest yang sudah dicampur, dimasukkan dalam tabung Eppendorf kemudian ditambahkan dengan ekstender susu segar pada perlakuan P1, ekstender susu full cream pada perlakuan P2, ekstender susu skim pada perlakuan P3 dan pengencer NaCl pada perlakuan P0. Larutan tersebut ditambahkan spermatozoa dengan volume yang sama pada masing – masing perlakuan. Volume pada tabung Eppndorf masing – masing 1 ml. Setelah itu disiapkan nampan yang berisi air, kemudian tabung Eppendorf diletakkan vertikal dengan bantuan sterofom. Nampan beserta isinya dimasukkan ke dalam lemari pendingin dengan suhu penyimpanan 5°C.

4. Pemeriksaan Sperma

Sperma yang akan diencerkan dan disimpan diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, warna dan pH, sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi konsentrasi sperma, persentase spermatozoa yang hidup dan mati, motilitas dan lama hidup sperma segar.

Penentuan konsentrasi semen dilakukan menggunakan cara thoma. Cara ini menggunakan pengencer berupa larutan eosin di dalam NaCl 3%. NaCl 3% berfungsi untuk mematikan sel sperma, sedang eosin berfungsi memberikan warna larutan yang melatar belakangi pandangan menjadi kontras agar dapat menghitung sel spermatozoa dengan mudah (Hadijanto *dkk*, 2004). Prosedur pemeriksaan dengan thoma adalah sebagai berikut : sperma dihisap dengan pipet pasteur sampai tanda 0.5, kemudian pipet diangkat dari cairan sperma, dihisap sedikit udara ke pipet, lalu ujung pipet dibersihkan dengan tissue. Selanjutnya

dihisap larutan NaCl 3% yang mengandung eosin sampai angka 101. Ujung karet penghisap ditekuk kemudian pipet dikocok dengan gerakan membentuk angka delapan beberapa kali sampai larutan didalamnya homogen. Beberapa tetes (± 5 tetes) cairan dibuang dari pipet tersebut, lalu ujung pipet dibersihkan lagi dengan tissue. Setelah itu larutan sperma dari pipet tersebut diteteskan pada papan hitung Thoma melalui salah satu sisi gelas penutup. Spermatozoa yang terdapat dalam 5 kotak yaitu 4 kotak di sudut dan 1 kotak di tengah dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Jika jumlah spermatozoa dalam 5 kotak adalah A, maka konsentrasi dalam cairan tersebut adalah A x 10^6 sel/ml (Rustidja, 2000).

Pemeriksaan untuk menentukan persentase spermatozoa yang hidup dilakukan dengan menggunakan zat warna eosin – negrosin. Cara pemeriksaannya adalah sebagai berikut: satu tetes zat warna dan satu tetes sperma diletakkan di atas *objec glass* yang bersih, secepat mungkin kedua larutan tersebut dicampurkan hingga homogen kemudian dibuat preparat ulas setipis mungkin (maksimal dilakukan dalam 15 detik) dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x (Hardijanto, *dkk.*, 2004).

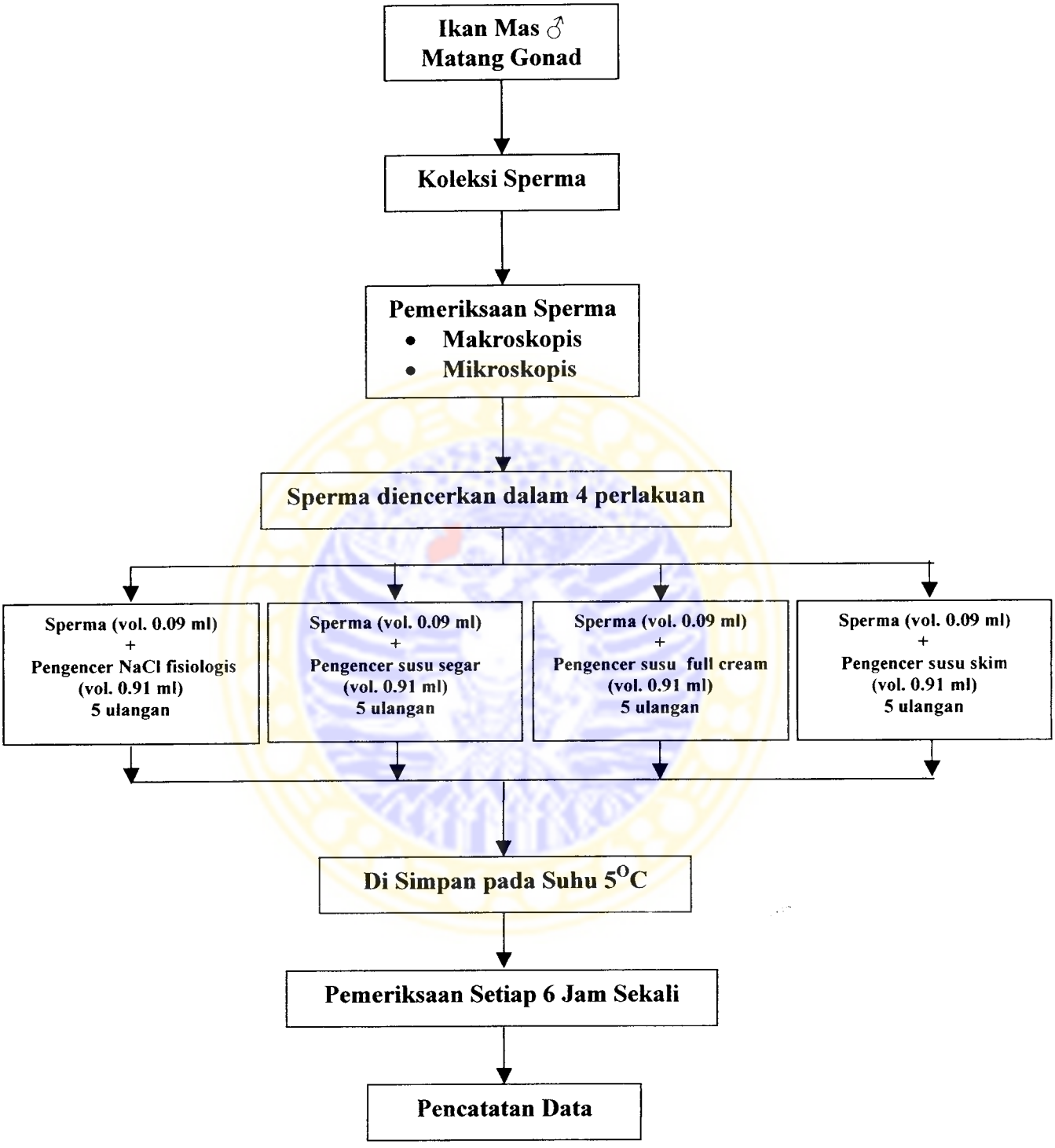
Pemeriksaan motilitas dilakukan dengan perkiraan secara visual dan dinyatakan dalam persen. Cara pemeriksaannya adalah sebagai berikut : satu tetes sperma diletakkan di atas *objec glass* kemudian ditambahkan satu tetes aquadest steril dan ditutup dengan *cover glass* serta diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Pemeriksaan motilitas dilakukan sampai semua sel spermatozoa tidak bergerak lagi atau dengan angka kematian 95 – 100% (Hardijanto, *dkk.*, 2004).

4.3.3 Parameter

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah motilitas dan daya hidup spermatozoa ikan mas dalam pengencer susu segar, susu full cream dan susu skim. Parameter penunjang yang juga diamati adalah konsentrasi, pH motilitas dan lama hidup spermatozoa dari sperma segar.

4.3.4 Analisis Data

Data dari hasil penelitian akan dianalisis menggunakan Uji F, sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial. Apabila dari hasil analisis tersebut diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka untuk membandingkan nilai dilakukan uji lanjutan yaitu uji Jarak Berganda Duncan (Duncan's Multiple Range Test) (Kusriningrum, 1990).



Gambar 4. Bagan Pelaksanaan Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis

Kondisi awal dan kualitas sperma sangatlah penting untuk diketahui guna menentukan kelayakan sperma untuk diproses lebih lanjut menjadi sperma beku. Pemeriksaaan awal dilakukan melalui pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Adapun pemeriksaan makroskopis meliputi uji volume, warna, pH dan kekentalan sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi uji konsentrasi spermatozoa, motilitas dan lama hidup spermatozoa.

Hasil pemeriksaan awal sperma ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) dalam penelitian ini dapat dilihat Tabel 1.

Tabel 1. Pemeriksaan sperma ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) secara makroskopis dan mikroskopis

No.	Volume (ml)	Warna	Kekentalan	pH	Konsentrasi (sel/ml)	Motilitas (%)	Lama Hidup (menit)
1.	2. 20	Putih susu	Sedang	7	1284×10^6	98	1.50
2.	2	Putih susu	Kental	7 - 8	1981×10^6	97	1.16

Kondisi awal dan kualitas sperma sangatlah penting untuk diketahui guna menentukan kelayakan sperma untuk diproses lebih lanjut menjadi sperma beku. Ciri utama spermatozoa adalah motilitas atau daya geraknya yang dijadikan patokan atau cara yang paling sederhana dalam penilaian sperma untuk inseminasi buatan (Toelihere, 1993). Penilaian mikroskopis terhadap motilitas sperma merupakan perkiraan subyektif dari *viabilitas* spermatozoa dan kualitas motilitas itu sendiri (Hafez, 2000). Berdasarkan hasil pemeriksaan secara makroskopis dan

mikroskopis terhadap sperma segar hasil *stripping* dari induk ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) yang digunakan untuk penyimpanan memiliki kualitas yang baik dan motilitas yang tinggi, yaitu 90 – 98%. Hal ini sesuai dengan yang dipersyaratkan oleh Stoss dan Donaldson (1982) bahwa sperma segar yang akan digunakan untuk penyimpanan dan pembekuan harus mempunyai motilitas minimal 70%. Konsentrasi spermatozoa yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1284 x 10^6 dan 1981 x 10^6 sel / ml. Hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Waynarovich dan Horvarth (1980) bahwa konsentrasi spermatozoa ikan mas dalam setiap sentimeter kubik bisa mencapai 10 – 20 milyar. Konsentrasi spermatozoa masing – masing spesies dipengaruhi oleh asupan nitrisi (Kilawati, 2004).

Pergerakan spermatozoa ikan mas yang digunakan dalam penelitian adalah 1.50 menit dan 1.16 menit. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rustidja (2000) bahwa aktivitas spermatozoa ikan mas dalam air dapat berlangsung selama satu sampai dua menit. Waynarovich dan Horvart (1980) menambahkan proses masuknya spermatozoa ke dalam sel telur melalui *microphyl* hanya berlangsung selama 45 sampai 60 detik, kemudian *microphyl* tertutup. Pergerakan aktif spermatozoa ikan mas yang berada dalam air tawar berlangsung hanya 30 sampai 60 detik dan pergerakannya menghilang setelah 5 menit.

Berdasarkan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis pada Tabel 1., sperma hasil *stripping* dari induk ikan mas tersebut layak untuk diproses lebih lanjut untuk keperluan pengenceran dan penyimpanan yang pada akhirnya untuk kepentingan inseminasi buatan.

5.2 Motilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L.)

Hasil rata – rata tentang motilitas spermatozoa ikan mas setelah diberi perlakuan pengencer susu yang berbeda pada pengamatan 6 jam sampai 42 jam tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil rata – rata pengamatan pengaruh bahan pengencer susu berbeda terhadap motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.)

Perlakuan P	Waktu Pengamatan (jam)	Rata – rata	SD
P0	6	8.96	0.44
	12	5.85	0.54
	18	2.54	1.42
	24	1.57	0.23
	30	1.36	0.20
	36	1.12	0.23
	42	0.71	0.00
P1	6	8.84	0.67
	12	9.09	0.50
	18	8.62	0.38
	24	7.78	1.15
	30	5.30	1.02
	36	1.79	0.33
	42	1.36	0.20
P2	6	7.61	2.17
	12	7.36	0.40
	18	5.95	0.28
	24	3.20	1.36
	30	1.57	0.23
	36	1..57	0.23
	42	1.26	0.00
P3	6	9.19	0.30
	12	9.35	0.40
	18	8.69	0.28
	24	7.21	1.36
	30	3.14	0.58
	36	1.49	0.28
	42	0.71	0.36

Keterangan :
P0 : Bahan pengencer NaCl fisiologis
P1 : Bahan pengencer susu segar
P2 : Bahan pengencer susu bubuk full cream
P3 : Bahan pengencer susu bubuk skim

Hasil rata – rata dari tabel diatas menunjukkan bahwa pada pemeriksaan 6 jam, perlakuan dengan bahan pengencer NaCl fisiologis, bahan pengencer susu

segar, bahan pengencer susu bubuk full cream dan bahan pengencer susu bubuk skim memiliki motilitas yang tinggi kemudian menurun seiring dengan lama penyimpanan. Untuk mengetahui adanya perbedaan dari hasil rata – rata tersebut ditunjukkan dengan sidik ragam seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Sidik Ragam Pengaruh Bahan Pengencer Susu Berbeda terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio,* L.)

Parameter	F Hitung	Signifikan	
		0.05	0.01
Waktu pengamatan	182.922**	2.694	3.968
Jenis pengencer	64.871**	2.184	2.978
Waktu*jenis pengencer	8,902**		

Tanda ** menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata dari perlakuan

Tabel 3. menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara waktu pengamatan dan jenis bahan pengencer tersebut. Hasil analisis diatas dilanjutkan dengan analisis uji Jarak Berganda Duncan untuk melihat kombinasi mana yang menghasilkan motilitas terbaik seperti yang tercantum pada Tabel 4.

Tabel 4. Perbedaan notasi pada interaksi bahan pengencer susu berbeda dan waktu pengamatan terhadap motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.)

Perlakuan	Waktu Pengamatan (jam)						
P	6	12	18	24	30	36	42
P0	8.96^{abc}	5.85^{g}	2.54^{hi}	1.57^{ij}	1.36^{ij}	1.12^{ij}	0.71^{j}
P1	8.84^{abc}	9.09^{ab}	8.62^{abcde}	7.78^{bcde}	5.30^{g}	1.79^{j}	1.36^{j}
P2	7.61^{cde}	7.36^{de}	5.95^{fg}	3.20^{h}	1.57^{ij}	1.57^{ij}	1.26^{j}
P3	9.19^{ab}	9.35^{a}	8.69^{abcd}	7.21^{ef}	3.14^{h}	1.49^{ij}	0.71^{j}

Keterangan :
P0 : Bahan pengencer NaCl fisiologis
P1 : Bahan pengencer susu segar
P2 : Bahan pengencer susu bubuk full cream
P3 : Bahan pengencer susu bubuk skim

Berdasarkan Tabel 4. diperoleh perlakuan kombinasi waktu pengamatan dan jenis bahan pengencer yang menghasilkan motilitas terbaik adalah perlakuan P3 pada pengamatan 12 jam dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan P3 pada pengamatan 6 jam dan perlakuan P1 pada perlakuan 12 jam. Perlakuan kombinasi yang menghasilkan motilitas terendah adalah perlakuan P0 pada pengamatan 42 jam.

Motilitas atau daya gerak merupakan ciri utama spermatozoa yang dijadikan sebagai patokan atau cara paling sederhana dalam penilaian sperma untuk inseminasi buatan. Penilaian mikroskopis terhadap motilitas bersifat subyektif (Toelihere, 1993). Motilitas ini digunakan sebagai indikator terjadinya fertilisasi pada pembuahan buatan (Hafez, 2000). Adanya pergerakan spermatozoa tidak menjamin terjadinya pembuahan, tetapi spermatozoa yang tidak bergerak tidak akan mampu membuahi sel telur (Harvey dan Hoar, 1979). Pemeriksaan motilitas dengan menggunakan perkiraan secara visual dan hasilnya biasanya dinyatakan secara perrbandingan daripada secara mutlak (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Lama penyimpanan sperma berpengaruh terhadap motilitas, lama hidup dan daya hidup spermatozoa pasca penyimpanan. Dilihat dari lama penyimpanan terjadi penurunan motilitas spermatozoa secara bertahap pada masing – masing pengamatan dari empat perlakuan dengan bahan pengencer yang berbeda. Motilitas sperma sangat dipengaruhi oleh persediaan energi dalam sel (Kilawati, 2004). Wulandari (2004) menambahkan temperatur berpengaruh terhadap metabolisme dan lama hidup spermatozoa. Sel spermatozoa akan kehilangan motilitasnya bila suhu meningkat sampai di atas 5°C. Sel spermatozoa bila berada pada suhu kamar akan bertahan beberapa jam saja karena berkurangnya sumber

energi, pH yang turun sehingga terjadi penimbunan asam laktat, atau kombinasi dari kedua faktor ini. Tujuan menempatkan sampel dalam suhu 5°C antara lain untuk mengurangi fungsi dan aktivitas metabolik sehingga daya hidupnya dapat dipertahankan. Sel spermatozoa semua species peka terhadap *chold shock* jika didinginkan terlalu cepat. Persyaratan bahan pengencer yang akan digunakan untuk menyimpan sperma adalah harus mampu menjamin kebutuhan hidup spermatozoa namun tidak menyebabkan spermatozoa aktif bergerak, bersifat isotonis serta mampu berfungsi sebagai penyangga untuk meniadakan keasaman (Harvey dan Hoar, 1979).

Pengamatan 6 jam, P0 memiliki rata – rata motilitas tertinggi yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Rendahnya motilitas spermatozoa dengan bahan pengencer susu (P1, P2 dan P3) pada pengamatan 6 jam disebabkan spermatozoa harus menyesuaikan diri dengan bahan pengencer susu tersebut. Pengamatan 12 jam, motilitas tertinggi terdapat pada perlakuan perlakuan P3 pada pengamatan 12 jam dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan P3 pada pengamatan 6 jam dan perlakuan P1 pada perlakuan 12 jam. Hal ini disebabkan spermatozoa dengan penambahan bahan pengencer susu sudah dapat menyesuaikan diri dan memanfaatkan energi yang ada dalam proses metabolisme, sehingga motilitasnya mulai meningkat. Spermatozoa yang memiliki motilitas terendah diperoleh perlakuan P0 pada pengamatan 42 jam, rendahnya motilitas ini disebabkan pada perlakuan P0 cadangan energinya telah habis.

Pengaruh masing – masing bahan pengencer susu terhadap spermatozoa berkaitan erat dengan komposisi substrat dalam masing – masing pengencer yang dapat dimanfaatkan spermatozoa untuk memenuhi kebutuhan fisik dan kimianya.

Pengencer susu skim (P3) mengandung karbohidrat sebesar 48,89 gram / 100 gram (Lampiran 3), kandungan karbohidrat ini lebih tinggi dibandingkan dengan pengencer lainnya (Lampiran 1 dan 2). Karbohidrat merupakan salah satu sumber energi yang dapat dimanfaatkan oleh spermatozoa untuk kelangsungan hidupnya (Sutoyo, 2000). Tersedianya karbohirat pada pengencer susu menyebabkan spermatozoa dapat bergerak dalam waktu relatif lama. Karbohidrat digunakan sebagai sumber energi yang dapat menunjang pergerakan spermatozoa tersebut. Selain memanfaatkan zat yang terdapat dalam pengencer, spermatozoa juga memanfaatkan gliserol sebagai sumber energi. Toelihere (1993) mengatakan bahwa dalam suasana aerob, gliserol akan berfungsi sebagai penghasil fruktosa.

Air susu mentah sebelum digunakan sebagai bahan pengencer harus dipanaskan terlebih dahulu pada suhu sekitar 92° – 98°C atau 95°C selama 10 menit. Pemanasan ini berfungsi melepaskan gugusan *sulfhidril* (SH) sebagai zat reduktif yang dapat menetralisir pengaruh toksik laktenin dari susu. Pemanasan ini juga berfungsi untuk mematikan mikroorganisme, mengikat ion – ion kalsium menjadi kalsium kaseinat yang mudah mengendap dan dapat menguraikan laktosa menjadi bentuk sakarida lain, yaitu fruktosa dan galaktosa yang dapat digunakan sebagai energi bagi sel spermatozoa (Hardijanto, *dkk.*, 2004). Pada bahan pengencer susu bubuk skim (P3) mempunyai kandungan kalsium sebesar 1920 mg / 100 gram (Lampiran 3), kandungan kalsium ini lebih tinggi dibandingkan dengan pengencer lainnya (Lampiran 1 dan 2). Perlakuan dengan bahan pengencer NaCl fisiologis (P0) menunjukkan hasil terendah, karena dalam bahan pengencer tersebut tidak tersedianya tambahan substrat yang digunakan sebagai sumber energi sehingga motilitasnya rendah.

5.3 Daya Hidup Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L.)

Data rata – rata daya hidup spermatozoa ikan mas setelah diberi perlakuan dengan bahan pengencer susu yang berbeda pada pengamatan 6 jam sampai 42 jam tercantum dalam Tabel 5.

Tabel 5. Hasil rata – rata pengamatan pengaruh bahan pengencer susu berbeda terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.)

Perlakuan P	Waktu Pengamatan (jam)	Rata – rata	SD
P0	6	75.76	5.96
	12	58.42	2.64
	18	39.63	9.45
	24	31.33	7.59
	30	21.74	4.08
	36	14.75	2.35
	42	12.62	2.39
P1	6	68.05	13.73
	12	59.57	14.76
	18	48.22	16.15
	24	36.40	11.76
	30	24.74	5.66
	36	21.16	4.45
	42	16.87	2.30
P2	6	67.83	13.44
	12	59.57	5.73
	18	48.22	16.15
	24	36.40	11.76
	30	24.74	5.66
	36	21.16	4.45
	42	16.87	2.30
P3	6	81.09	2.13
	12	73.02	5.73
	18	64.67	2.54
	24	55.34	9.05
	30	30.50	4.11
	36	21.39	5.16
	42	14.08	1.93

Keterangan :
P0 : Bahan pengencer NaCl fisiologis
P1 : Bahan pengencer susu segar
P2 : Bahan pengencer susu bubuk full cream
P3 : Bahan pengencer susu bubuk skim

Hasil rata – rata dari Tabel 5. menunjukkan bahwa pada pemeriksaan 6 jam, perlakuan dengan bahan pengencer NaCl fisiologis, bahan pengencer susu

segar, bahan pengencer susu bubuk full cream dan bahan pengencer susu bubuk skim memiliki daya hidup yang tinggi kemudian menurun seiring dengan lama penyimpanan. Untuk mengetahui adanya perbedaan dari hasil rata – rata tersebut ditunjukkan dengan sidik ragam seperti pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil sidik ragam pengaruh bahan pengencer susu berbeda terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.)

Parameter	F Hitung	Signifikan	
		0.05	0.01
Waktu pengamatan	130.575**	2.694	3.968
Jenis pengencer	13.176**	2.184	2.978
Waktu*jenis pengencer	1.552		

Tanda ** menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata dari perlakuan

Tabel 6. menunjukkan bahwa pemberian bahan pengencer susu yang berbeda dan waktu pengamatan memberikan perbedaan sangat nyata terhadap motilitas spermatozoa ikan mas tetapi tidak terdapat interaksi antara waktu pengamatan dan jenis bahan pengencer tersebut. Hasil analisis diatas dilanjutkan dengan analisis uji Jarak Berganda Duncan untuk melihat kombinasi mana yang menghasilkan motilitas terbaik seperti yang tercantum pada Tabel 7. dan 8.

Tabel 7. Perbedaan notasi pada perlakuan bahan pengencer susu berbeda terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.)

Jenis Pengencer	Rata – rata	Notasi
P0	36.3237	b
P1	39.2860	b
P2	39.2549	b
P3	48.4866	a

Tabel 7. menunjukkan perbedaan notasi pada perlakuan bahan pengencer yang berbeda terhadap motilitas spermatozoa. Pada perlakuan pemberian bahan

pengencer susu yang berbeda diketahui bahwa bahan pengencer susu skim (P3) memberikan daya hidup yang tinggi, diikuti oleh perlakuan P1 (pengencer susu segar), P2 (pengencer susu full cream) dan P0 (pengencer NaCl fisiologis).

Tabel 8. Perbedaan notasi pada waktu pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.)

Waktu Pengamatan (jam)	Rata – rata	Notasi
6	73.1840	a
12	62.6435	b
18	50.1860	c
24	39.8670	d
30	24.4320	e
36	19.6175	f
42	15.1095	f

Tabel 8. menunjukkan perbedaan notasi pada waktu pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa. Pada perlakuan waktu pengamatan menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata dan diketahui bahwa pengamatan 6 jam memberikan motilitas tertinggi sedangkan motilitas terendah ditunjukkan pada pengamatan 42 jam dan tidak berbeda dengan pengamatan 36 jam.

Hasil yang diperoleh dari analisis uji Jarak Berganda Duncan (Lampiran 9.) perlakuan kombinasi waktu pengamatan dan jenis bahan pengencer yang menghasilkan daya hidup terbaik adalah perlakuan P3 pada pengamatan 6 jam dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan P0 pada pengamatan 6 jam dan perlakuan P3 pada perlakuan 12 jam.

Daya hidup (viabilitas) sperma sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan jenis ikan (Kilawati, 2004). Lagler *et. al.* (1977) menambahkan bahwa

viabilitas (kemampuan hidup) sperma sangat dipengaruhi oleh suhu dan secara umum sperma akan hidup lama pada suhu rendah. Daya hidup biasanya diamati sebagai parameter yang seiring dengan motilitas dan morfologi spermatozoa. Persentase daya hidup yang sangat tinggi berarti semakin banyak jumlah spermatozoa yang hidup. Dalam fertilisasi dibutuhkan spermatozoa yang hidup dan normal, sehingga semakin tinggi persentase daya hidup, tingkat fertilisasi semakin baik (Evans dan Maxwell, 1987).

Metode kerja uji daya hidup didasarkan adanya zat warna yang masuk ke dalam sel spermatozoa yang mati melalui bagian sel yang rusak. Sel spermatozoa yang mati permiabilitas membran selnya meningkat sehingga akan menyerap warna menjadi merah keunguan, sedangkan sel spermatozoa yang hidup karena membran selnya masih utuh dan tidak dapat menyerap warna sehingga warnanya putih jernih (Hardijanto, *dkk.*, 2004).

Hasil penelitian angka persentase daya hidup lebih tinggi dari persentase motilitasnya dalam waktu pemeriksaan yang hampir sama. Hal tersebut karena dari sekian banyak sel spermatozoa yang diamati terdapat sel spermatozoa yang sudah berkurang motilitasnya, pergerakannya terlalu lamban bahkan dapat berhenti tetapi masih dalam kondisi hidup sehingga pada waktu dilakukan pewarnaan sel spermatozoa tersebut tidak menyerap warna.

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa sperma pada perlakuan dengan bahan pengencer susu bubuk skim (P3) mempunyai daya hidup tertinggi. Daya hidup terendah ditunjukkan oleh sperma pada perlakuan dengan bahan pengencer NaCl fisiologis (P0). Hal ini disebabkan pada bahan pengencer susu baik susu segar, susu bubuk full cream maupun susu bubuk skim terdapat

substansi yang dapat digunakan dalam metabolisme sehingga menghasilkan energi yang dapat digunakan untuk bertahan hidup. Air susu yang digunakan sebagai bahan pengencer mengandung sejumlah glukosa tertentu yang menyediakan zat karbohidrat yang tidak jelas identifikasinya dan substansi pelindung lecitin. Spermatozoa tidak menghidrolisis laktosa tetapi menggunakan glukosa dan beberapa derivat karbohidrat didalam susu (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Air susu mentah tidak baik sebagai bahan pengencer semen karena mengandung enzim laktenin, yaitu suatu enzim yang sangat beracun bagi sel spermatozoa. Air susu mentah juga mengandung ion – ion kalsium dan mikroorganisme yang keduanya dapat membunuh spermatozoa. Umumnya untuk digunakan sebagai bahan pengencer, air susu sapi dipanaskan lebih dahulu pada suhu sekitar 92° – $98^{o}C$ atau $95^{o}C$ selama 10 menit. Pemanasan ini akan melepaskan gugusan *sulfhidril* (SH) sebagai zat reduktif yang dapat menetralisir pengaruh toksik laktenin dari susu. Pemanasan ini juga berfungsi untuk mematikan mikroorganisme, mengikat ion – ion kalsium menjadi kalsium kaseinat yang mudah mengendap dan dapat menguraikan laktosa menjadi bentuk sakarida lain, yaitu fruktosa dan galaktosa yang dapat digunakan sebagai energi bagi sel spermatozoa (Hardijanto, *dkk.*, 2004).

Perlakuan dengan bahan pengencer NaCl fisiologis (P0) yang tidak mengandung gliserol, sperma memiliki daya hidup yang rendah dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Proses penyimpanan menyebabkan kerusakan spermatozoa akibat perubahan tekanan osmotik dan terjadi pembentukan kristal es yang berbahaya dan dapat mematikan (Soeparno, 2004). Penambahan gliserol

dalam bahan pengencer berfungsi untuk mencegah terjadinya kristal – kristal es dan menghindari tertimbunnya elektrolit intraseluler di dalam sel spermatozoa. Gliserol mampu menggantikan cairan intraseluler yang keluar dari sel spermatozoa pada saat suhu media semakin rendah hingga konsentrasi elektrolit dalam sel memiliki kemamouan untuk memodifikasi bentuk kristal es sehingga spermatozoa terhindar dari kerusakan fisik (Bearden dan Fuquay, 1984 *dalam* Soeparno, 2004). Salisbury dan Van Demark (1985) menambahkan bahwa gliserol mampu mengikat dan menurunkan titik beku larutan sehingga kristal es tidak terbentuk. Pada kondisi aerob, gliserol dapat berdifusi ke dalam sel dan dimetabolisme oleh spermatozoa.

Spermatozoa yang hidup belum tentu motil sedangkan spermatozoa yang motil pasti hidup. Motilitas sangat diperlukan spermatozoa sampai akhir masa penyimpanan kemungkinan disebabkan oleh kondisi pengencer yang tidak sesuai lagi bagi kelangsungan hidup spermatozoa. Penyebab kematian sel spermatozoa yang lain adalah persediaan energi yang telah habis. Glukosa dan fruktosa merupakan sumber energi bagi sel spermatozoa, dimana fruktosa dan glukosa ini akan diubah menjadi ATP. Apabila glukosa ataupun fruktosa yang akan diubah menjadi ATP oleh sel spermatozoa telah habis maka sel spermatozoa tidak akan dapat bertahan hidup karena kekurangan energi.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Terdapat interaksi antara berbagai macam susu sebagai bahan pengencer dengan waktu pengamatan terhadap motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.). Motilitas terbaik diperoleh sperma dengan bahan pengencer susu bubuk skim pada pengamatan 12 jam.
2. Tidak terdapat interaksi antara berbagai macam susu sebagai bahan pengencer dengan waktu pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) Daya hidup tertinggi sperma diperoleh dengan bahan pengencer susu skim dan waktu pengamatan yang memberikan daya hidup tertinggi adalah pengamatan 6 jam.

6.2 Saran

1. Bahan pengencer susu perlu dipertimbangkan untuk dapat digunakan sebagai bahan pengencer bagi spermatozoa ikan tawar lainnya sebagai upaya meningkatkan motilitas dan daya hidup spematozoa.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang berbagai macam susu sebagai bahan pengencer untuk pembekuan spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

Bearden, H. J. and J. W. Fuquay. 1984. Applied Animal Reproduction. 2nd Ed. Prentice Hal Company. Reston. Virginia *dalam* Soeparno. 2004. Pengaruh Krioprotektan dan Metode Pembekuan terhadap Kualitas Semen Beku Domba Priangan. Media Kedokteran Hewan 20. Fakultas Kedokteran Hewan. Unversitas Airlangga. Surabaya : 31 – 37.

Billard, R., J. Cosson, G. Perchee and O. Linhart. 1995. Biology of Sperm and Artificial Reproduction in Carp. Aquaculture 129. p. 95 – 112.

Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet dan M. Wooton. 1987. Ilmu Pangan. Alih Bahasa : H. Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta. Hal 269 – 305.

Evans, G. and W. M. C. Maxwell.1987. Salomon Artificial Insemination of Sheep and Goat. Departement of Animal Husbandry. Sidney. p. 85 – 141.

Fujaya, Y. 2002. Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan. Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional. Hal 160 –163.

Frandson, R. D. 1993. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Alih Bahasa : Soedarsono. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 772 – 825.

Hardijanto, T. Sardjito, T. Hernawati, S. Susilowati dan T. W. Suprayogi. 2004. Petunjuk Praktikum Teknik Reproduksi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 25 hal.

Hafez, E. Z. E. 2000. Reproduction Information, 7th edition. Lea and Febinger, Philadelphia. United State America. p. 82 – 109.

Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya. 65 hal.

Harvey, B. J. and W.S. Hoar. 1979. Theory and Practice of Induced Breeding in Fish. – 2le. *dalam* Rustidja. 2000. Prospek Pembekuan Sperma Ikan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 68 hal.

Khairuman, D. Sudenda dan B. Gunadi. 2002. Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis Budidaya Ikan Mas Secara Intensif. AgroMedia Pustaka. Jakarta.

Kilawati, Y. 2004. Kualitas Sperma Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L.) pada Umur yang Berbeda. Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Brawijaya. Malang. 65 hal.

Kuncoro, M. 2003. Metode Riset untuk Bisnis dan Ekonomi. Bagaimana Meneliti dan Menulis Tesis?. Penerbit Erlangga. Jakarta.

Kusriningrum, R. 1990. Perancangan Percobaan : Rancangan Acak Lengkap, Rancangan Bujursangkar Latin, Percobaan Faktorial Universitas Airlangga. Surabaya. 187 hal.

Lagler, K. F., J. E. Bardach, R. R. Miller and D. R. M. Passino. 1977. Ichthyology. Second Edition. John Wiley and Sons. New York. 545 hal.

Lesmana, D. S. 2001. Kualitas Air untuk Ikan Hias Air Tawar. Penebar Swadaya. Jakarta.

Manulang, I. S. 2004. Perbandingan Pengaruh Penambahan Antibiotika dalam Pengencer Semen terhadap Motilitas dan Persentase Hidup Spermatozoa Domba pada Penyimpanan 5°C. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 43 hal.

Plouidy, M. G. and Billiard, R. 1982. The Chemical Composition of Companion Fluids of the Gametes in the Common Carp (*Cyprinus carpio*, L.). Proceeding of International Symposium on Reproduction Physiology of Fish. Centre for Agriculture Publishing and Documentation. Wageningen. p. 134.

Richter, C. J. J. dan Rustidja. 1985. Pengantar Ilmu Reproduksi Ikan. Fisheries Project Nuffic Universitas Brawijaya. Malang. hal 1 – 74.

Rochdianto, A. 1995. Budidaya Ikan Mas di Saluran Irigasi. Kanisius. Yogyakarta.

Rustidja. 2000. Prospek Pembekuan Sperma Ikan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 68 hal.

Salisbury, C. W. dan Van Demark, N. L. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 869 hal.

Santoso, B., 1995. Petunjuk Prraktis Budidaya Ikan Mas. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

Sediaoetama, A. D. 1999. Ilmu Gizi untuk Mahasiswa dan Profesi. Jilid II. Dian Rakyat. Jakarta. Hal 132 – 137.

Soeparno. 2004. Pengaruh Krioprotektan dan Metode Pembekuan terhadap Kualitas Semen Beku Domba Priangan. Media Kedokteran Hewan 20. Fakultas Kedokteran Hewan. Unversitas Airlangga. Surabaya : 31 – 37.

Stoss, J. and Donaldson, E. M. 1982. Preservation of Fish Gametes. Proceeding of International Symposium on Reproduction Physiology of Fish. Centre for Agriculture Publishing and Documentation. Wageningen. p. 114 – 120.

Sumantadinata, K. 1981. Pengembangan Ikan – Ikan Peliharaan di Indonesia. *dalam* : Rustidja. Prospek Pembekuan Sperma Ikan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 68 hal.

Susanto, H. dan Rochdianto, A. 1997. Kiat Budidaya Ikan Mas di Lahan Kritis. Penebar Swadaya. Jakarta. 132 hal.

Sutoyo, A. 2000. Peranan Bahan Pengencer terhadap Penyimpanan Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L). Tesis. Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya. 85 hal.

Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung. 292 hal.

Widodo, M. S. 1990. Pengaruh Kombinasi Jenis dan Kadar Ekstender yang Berbeda terhadap Daya Awet Spermatozoa Ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp.) *dalam* Sutoyo, A. 2000. Peranan Bahan Pengencer terhadap Penyimpanan Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L). Tesis. Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya. 85 hal.

Woynarovich, E and L. Horvart. 1980. The Artificial Propagation of Warm Water Fin Fishes. A Manual for Extention. FAO. Technical Paper 21. p. 1 – 183.

Wulandari, W. 2004. Lama Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Ettawa pada Beberapa Kadar Glukosa dalam Pengencer Larutan Ringer – Kuning Telur yang Disimpan pada Suhu 5°C. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 54 hal.

Yaron, Z. 1995. Endocrine Control of Gametogenesis and Spawning Induction in Carp. Aquaculture 129. p. 49 – 73.

Lampiran 1. Komposisi bahan – bahan yang terdapat dalam air susu sapi

No.	Bahan – bahan yang dikandung	gram / 100 gram
1.	Protein	3.2
2.	Lemak	3.5
3.	Karbohidrat	4.3
4.	Vitamin A	130 IU
5.	Thiamin	0.03 mg
6.	Kalsium	143 mg
7.	Besi	1.7 mg
8.	Energi	61 kal

Sumber : Sediaoetama, 1999.

Lampiran 2. Komposisi bahan – bahan yang terdapat dalam susu bubuk full cream (Dancow®)

No.	Bahan – bahan yang terkandung	gram / 100 gram
1.	Protein	24.4
2.	Lemak	26.3
3.	Karbohidrat	38.89
4.	Vitamin A	1800 IU
5.	Vitamin B1	0.41 mg
6.	Vitamin B2	1.41 mg
7.	Niacin	6.67 mg
8.	Vitamin B6	0.67 mg
9.	Vitamin B12	1.85 mg
10.	Vitamin C	51.85 mg
11.	Vitamin D	230 IU
12.	Vitamin E	5 IU
13.	Vitamin K	41.48 mcg
14.	Biotin	51.85 mcg
15.	Asam folat	200 mcg
16.	Asam pantotenat	1.85 mg
17.	Inositol	22.2 mg
18.	Koline	37 mg
19.	Kalium	1200 mg
20.	Natrium	351.85 mg
21.	Kalsium	1300 mg
22.	Fosfor	751.85 mg
23.	Besi	10 mg
24.	Magnesium	8.52 mg
25.	Zink	4.4 mg
26.	Yodium	51.85 mcg
27.	Energi	496.3 kkal
28.	Energi dari lemak	237 kkal

Lampiran 3. Komposisi bahan – bahan yang terdapat dalam susu bubuk skim (Tropicana Slim®)

No.	Bahan – bahan yang terkandung	gram / 100 gram
1.	Protein	35.5
2.	Lemak	0
3.	Karbohidrat	48.89
4.	Vitamin A	5556 IU
5.	Vitamin B1 (Thiamin)	1,78 mg
6.	Vitamin B2 (Riboflavin)	2 mg
7.	Niacin	22.2 mg
8.	Vitamin B6	2.2 mg
9.	Vitamin B12	6.67 mcg
10.	Vitamin C	511,11 mg
11.	Vitamin D	444 IU
12.	Vitamin E	22.2 mg
13.	Kalsium	1920 mg
14.	Fosfor	596.4 mg
15.	Zat Besi	8 mg
16.	Phytosterol	893.3 mg
17.	Energi	355.5 kal
18.	Energi dari lemak	0

Lampiran 4. Motilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L.) dalam persen

P	T	Ulangan					Total	Rata – rata
		1	2	3	4	5		
P0	T1	85	70	90	75	80	400	80
	T2	45	35	30	30	30	170	34
	T3	25	3	2	5	3	38	7.6
	T4	2	2	1	1	3	9	1.8
	T5	1	2	1	1	2	7	1.4
	T6	1	1	1	0	1	4	0.8
	T7	0	0	0	0	0	0	0
P1	T1	85	95	75	65	70	390	78
	T2	95	85	85	75	72	412	82.4
	T3	75	80	80	70	65	370	74
	T4	45	70	80	70	40	305	61
	T5	40	32	35	20	15	142	28.4
	T6	5	2	2	2	3	14	2.8
	T7	2	1	1	1	2	7	1.4
P2	T1	80	25	75	96	30	390	61.2
	T2	95	35	45	85	25	412	57
	T3	80	5	30	80	15	370	42
	T4	30	2	8	7	10	305	11.4
	T5	15	2	3	3	5	142	5.6
	T6	2	1	3	2	2	14	2
	T7	1	1	2	0	2	7	1.2
P3	T1	85	85	90	85	75	420	84
	T2	95	95	80	80	85	435	87
	T3	80	80	70	70	75	375	49.65
	T4	25	65	45	60	70	265	53
	T5	5	45	10	8	10	78	15.6
	T6	2	1	1	2	3	9	1.8
	T7	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan :

P : Jenis Bahan Pengencer Susu

P1 : Bahan pengencer NaCl fisiologis (kontrol)

P2 : Bahan pengencer susu segar

P3 : Bahan pengencer susu bubuk full cream

P4 : Bahan pengencer susu bubuk skim

T : Waktu Pengamatan

T1 : Pengamatan 6 jam

T2 : Pengamatan 12 jam

T3 : Pengamatan 18 jam

T4 : Pengamatan 24 jam

T5 : Pengamatan 30 jam

T6 : Pengamatan 36 jam

T7 : Pengamatan 42 jam

Lampiran 5. Motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) setelah ditransformasi ke $\sqrt{x + ½}$

P	T	Ulangan					Total	Rata – rata
		1	2	3	4	5		
P0	T1	9.25	8.40	9.51	8.69	8.97	44.82	8.96
	T2	6.75	5.96	5.52	5.52	5.52	29.27	5.85
	T3	5.05	1.87	1.58	2.34	1.87	12.71	2.54
	T4	1.58	1.58	1.58	1.22	1.87	7.83	1.57
	T5	1.22	1.58	1.22	1.22	1.58	6.82	1.36
	T6	1.22	1.22	1.22	0.70	1.22	5.59	1.12
	T7	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	3.55	0.71
P1	T1	9.25	9.77	8.69	8.09	8.40	44.2	8.84
	T2	9.77	9.25	9.25	8.69	8.51	45.47	9.09
	T3	8.69	8.97	8.97	8.40	8.09	43.12	8.62
	T4	6.75	8.40	8.97	8.40	6.36	38.88	7.78
	T5	6.36	5.70	5.96	4.53	3.94	26.49	5.3
	T6	2.34	1.58	1.58	158	1.87	8.95	1.79
	T7	1.58	1.22	1.22	1.22	1.58	6.82	1.36
P2	T1	8.97	5.05	8.69	9.82	5.52	38.05	7.61
	T2	9.77	5.96	6.75	9.25	5.05	36.78	7.36
	T3	8.97	2.34	5.52	8.97	3.94	29.74	5.95
	T4	5.52	1.58	2.92	2.74	3.24	16	3.2
	T5	3.94	1.58	1.87	1.87	2.34	7.83	1.57
	T6	1.58	1.22	1.87	1.58	1.58	7.83	1.57
	T7	1.22	1.22	1.58	0.71	1.58	6.31	1.26
P3	T1	9.25	9.25	9.51	9.25	8.69	45.95	9.19
	T2	9.77	9.77	8.97	8.97	9.25	46.73	9.35
	T3	8.97	8.97	8.40	8.40	8.69	43.43	8.69
	T4	5.05	8.09	6.75	7.78	8.40	36.07	7.21
	T5	2.34	3.94	3.24	2.92	3.24	15.68	3.14
	T6	1.58	1.22	1.22	1.58	1.87	7.47	1.49
	T7	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71

Keterangan :

P : Jenis Bahan Pengencer Susu

P1 : Bahan pengencer NaCl fisiologis (kontrol)

P2 : Bahan pengencer susu segar

P3 : Bahan pengencer susu bubuk full cream

P4 : Bahan pengencer susu bubuk skim

T : Waktu Pengamatan

T1 : Pengamatan 6 jam

T2 : Pengamatan 12 jam

T3 : Pengamatan 18 jam

T4 : Pengamatan 24 jam

T5 : Pengamatan 30 jam

T6 : Pengamatan 36 jam

T7 : Pengamatan 42 jam

Lampiran 6. Perhitungan motilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.)

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects

		Value	N
Waktu Pengamata	1	6 jam	20
	2	12 jam	20
	3	18 jam	20
	4	24 jam	20
	5	30 jam	20
	6	36 jam	20
	7	42 jam	20
Jenis Pengence	1	NaCl	35
	2	Susu	35
	3	Full	35
	4	Skim	35

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Transformasi

Waktu	Jenis	Mean	Std.	N
6 jam	NaCl	8,9640	,43964	5
	Susu	8,8400	,67298	5
	Full	7,6100	2,16920	5
	Skim	9,1900	,30133	5
	Total	8,6510	1,24201	20
12 jam	NaCl	5,8540	,53589	5
	Susu	9,0940	,50247	5
	Full	7,3560	2,06448	5
	Skim	9,3460	,40358	5
	Total	7,9125	1,77480	20
18 jam	NaCl	2,5420	1,42824	5
	Susu	8,6240	,38050	5
	Full	5,9480	2,97900	5
	Skim	8,6860	,28501	5
	Total	6,4500	2,99836	20
24 jam	NaCl	1,5660	,23061	5
	Susu	7,7760	1,14697	5
	Full	3,2000	1,44035	5
	Skim	7,2140	1,35946	5
	Total	4,9390	2,89549	20
30 jam	NaCl	1,3640	,19718	5
	Susu	5,2980	1,02001	5
	Full	1,5660	,23061	5
	Skim	3,1360	,58059	5
	Total	2,8410	1,70962	20
36 jam	NaCl	1,1180	,22808	5
	Susu	1,7900	,33211	5
	Full	1,5660	,23061	5
	Skim	1,4940	,27673	5
	Total	1,4920	,35087	20
42 jam	NaCl	,7100	,00000	5
	Susu	1,3640	,19718	5
	Full	1,2620	,35724	5
	Skim	,7100	,00000	5
	Total	1,0115	,36347	20
Total	NaCl	3,1597	2,95546	35
	Susu	6,1123	3,20806	35
	Full	4,0726	3,07166	35
	Skim	5,6823	3,59578	35
	Total	4,7567	3,40043	140

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Transformasi Vy+1/2

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1492,176[a]	27	55,266	53,792	,000
Intercept	3167,686	1	3167,686	3083,230	,000
Waktu	1127,597	6	187,933	182,922	,000
J_Pengencer	199,945	3	66,648	64,871	,000
Waktu * J_Pengencer	164,634	18	9,146	8,902	,000
Error	115,068	112	1,027		
Total	4774,930	140			
Corrected Total	1607,243	139			

a. R Squared = ,928 (Adjusted R Squared = ,911)

Post Hoc Tests

Waktu Pengamatan

Transformasi

Duncan[a,b]

Waktu Pengamatan	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
42 jam	20	1,0115					
36 jam	20	1,4920					
30 jam	20		2,8410				
24 jam	20			4,9390			
18 jam	20				6,4500		
12 jam	20					7,9125	
6 jam	20						8,6510
Sig.		,137	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are
Based on Type III Sum of
The error term is Mean Square(Error) =

a. Uses Harmonic Mean Sample Size =

b. Alpha =

Jenis Pengencer

Transformasi Vy+1/2

Duncan[a,b]

Jenis Pengencer	N	Subset		
		1	2	3
NaCl fis	35	3,1597		
Full Cream	35		4,0726	
Skim Milk	35			5,6823
Susu Segar	35			6,1123
Sig.		1,000	1,000	,079

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 1,027.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 35,000.

b. Alpha = ,05.

Interaksi Waktu*J_Pengencer

Transformasi

Dunca[a]

Perlakuan	N	Subset for alpha									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
42 jam*NaCl	5	,710									
42 jam*Skim	5	,710									
36 jam*NaCl	5	1,118	1,118								
42 jam*Full	5	1,262	1,262								
30 jam*NaCl	5	1,364	1,364								
42 jam*Susu	5	1,364	1,364								
36 jam*Skim	5	1,494	1,494								
24 jam*NaCl	5	1,566	1,566								
30 jam*Full	5	1,566	1,566								
36 jam*Full	5	1,566	1,566								
36 jam*Susu	5	1,790	1,790								
18 jam*NaCl	5		2,542	2,542							
30 jam*Skim	5			3,136							
24 jam*Full	5			3,200							
30 jam*Susu	5				5,298						
12 jam*NaCl	5				5,854						
18 jam*Full	5				5,948	5,948					
24 jam*Skim	5					7,214	7,214				
12 jam*Full	5						7,356	7,356			
6 jam*Full	5						7,610	7,610	7,610		
24 jam*Susu	5						7,776	7,776	7,776	7,776	
18 jam*Susu	5						8,624	8,624	8,624	8,624	8,624
18 jam*Skim	5							8,686	8,686	8,686	8,686
6 jam*Susu	5								8,840	8,840	8,840
6 jam*NaCl fis	5								8,964	8,964	8,964
12 jam*Susu	5									9,094	9,094
6 jam*Skim Milk	5									9,190	9,190
12 jam*Skim	5										9,346
Sig.		,16	,06	,33	,34	,05	,05	,06	,06	,05	,34

Means for groups in homogeneous subsets

a. Uses Harmonic Mean Sample

Lampiran 7. Daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) dalam persen

P	T	Ulangan					Total	Rata – rata
		1	2	3	4	5		
P0	T1	85	91	97	95	98	466	93.2
	T2	75	77.5	70	73	67	362.5	72.5
	T3	29	61	31	28	56	205	41
	T4	21	47	20	18	32	138	27.6
	T5	12	23	11	10	14	70	14
	T6	8	8	5	4	8	33	6.6
	T7	3	8	5	4	4.5	24.5	4.9
P1	T1	98.5	98.5	90	87.5	92.5	487.5	97.5
	T2	98.5	97	90	86.5	90	454	90.8
	T3	80	90	87	80	75	408	81.6
	T4	71	80	85	75	62	335	67
	T5	55	45	44	35	35	130	26
	T6	30	20	22.5	15	15	69	69
	T7	15	10	6	7.5	8	30	4.9
P2	T1	98	74	80	98	63	413	82.6
	T2	96	60.5	68	89	45	358.5	71.7
	T3	84	32	43	82	32	273	54.6
	T4	52	21	21	62	24	180	36
	T5	21	12	16	30	11	90	18
	T6	17	7	16	18	9	67	13.4
	T7	11	7	8	12	5	43	8.6
P3	T1	98.5	97.5	95.5	98.5	97.5	467	93.4
	T2	96	97	86	88	87	462	92.4
	T3	85	84	81	76	82	412	82.4
	T4	48	79	56	70	82	373	74.6
	T5	32	28	21	18	31	214	42.8
	T6	12	19	5	16	17	102.5	20.5
	T7	8	4	5	7	6	46.5	9.3

Keterangan :

P : Jenis Bahan Pengencer Susu

P1 : Bahan pengencer NaCl fisiologis (kontrol)

P2 : Bahan pengencer susu segar

P3 : Bahan pengencer susu bubuk full cream

P4 : Bahan pengencer susu bubuk skim

T : Waktu Pengamatan

T1 : Pengamatan 6 jam

T2 : Pengamatan 12 jam

T3 : Pengamatan 18 jam

T4 : Pengamatan 24 jam

T5 : Pengamatan 30 jam

T6 : Pengamatan 36 jam

T7 : Pengamatan 42 jam

Lampiran 8. Daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) setelah ditransformasi ke arc sin √ persentase

P	T	Ulangan					Total	Rata – rata
		1	2	3	4	5		
P0	T1	67.21	72.54	80.02	77.08	81.97	378.82	75.76
	T2	60.00	61.68	56.79	58.69	54.94	292.1	58.42
	T3	32.58	51.35	33.83	31.95	48.45	198.16	39.63
	T4	27.28	43.28	26.56	25.10	34.45	156.67	31.33
	T5	20.27	28.66	19.37	18.44	21.97	108.67	21.74
	T6	16.43	16.43	12.92	11.54	16.43	73.75	14.75
	T7	9.98	16.43	12.92	11.54	12.25	63.12	12.62
P1	T1	82.96	82.96	71.56	69.30	74.11	405.47	81.09
	T2	82.96	80.02	71.56	68.44	71.56	365.11	73.02
	T3	63.44	71.56	68.87	63.44	60.00	323.36	64.67
	T4	57.42	63.44	67.21	60.00	51.94	276.71	55.34
	T5	47.87	42.13	41.55	36.27	36.27	152.51	30.5
	T6	33.21	26.56	28.32	22.79	22.79	106.96	21.39
	T7	22.79	18.44	14.18	15.89	16.43	70.41	14.08
P2	T1	81.87	59.34	63.44	81.97	52.53	339.15	67.83
	T2	78.46	51.06	55.55	70.636	42.13	297.83	59.57
	T3	66.42	34.55	40.98	64.90	34.45	241.1	48.22
	T4	46.15	27.28	27.28	51.94	29.33	181.98	36.4
	T5	27.28	20.27	23.58	33.21	19.37	123.71	24.74
	T6	24.35	15.34	23.58	25.10	17.45	105.82	21.16
	T7	19.37	15.34	16.34	20.27	12.92	84.33	16.87
P3	T1	82.96	80.90	77.75	82.96	80.90	340.24	68.05
	T2	78.46	80.02	68.03	69.73	68.87	297.83	59.57
	T3	67.21	66.42	64.16	60.67	64.90	241.1	48.22
	T4	43.85	62.72	48.45	56.79	64.90	181.98	36.4
	T5	34.35	31.95	27.28	25.10	33.83	123.71	24.74
	T6	20.27	25.84	12.92	23.58	24.35	392.35	21.16
	T7	16.43	11.54	12.92	15.34	14.18	84.33	16.87

Keterangan :

P : Jenis Bahan Pengencer Susu

P1 : Bahan pengencer NaCl fisiologis (kontrol)

P2 : Bahan pengencer susu segar

P3 : Bahan pengencer susu bubuk full cream

P4 : Bahan pengencer susu bubuk skim

T : Waktu Pengamatan

T1 : Pengamatan 6 jam

T2 : Pengamatan 12 jam

T3 : Pengamatan 18 jam

T4 : Pengamatan 24 jam

T5 : Pengamatan 30 jam

T6 : Pengamatan 36 jam

T7 : Pengamatan 42 jam

Lampiran 9. Perhitungan daya hidup spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.)

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects

		Value	N
Waktu Pengamata	1	6 jam	20
	2	12 jam	20
	3	18 jam	20
	4	24 jam	20
	5	30 jam	20
	6	36 jam	20
	7	42 jam	20
Jenis Pengence	1	NaCl	35
	2	Susu	35
	3	Full	35
	4	Skim	35

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Trans

Waktu	Jenis	Mean	Std.	N
6 jam	NaCl	75,7640	5,95661	5
	Susu	68,0480	13,7300	5
	Full	67,8300	13,43971	5
	Skim	81,0940	2,13433	5
	Total	73,1840	10,90160	20
12 jam	NaCl	58,4200	2,64406	5
	Susu	59,5660	14,7638	5
	Full	59,5660	14,76389	5
	Skim	73,0220	5,73455	5
	Total	62,6435	11,75574	20
18 jam	NaCl	39,6320	9,45351	5
	Susu	48,2200	16,1544	5
	Full	48,2200	16,15449	5
	Skim	64,6720	2,54102	5
	Total	50,1860	14,71814	20
24 jam	NaCl	31,3340	7,59120	5
	Susu	36,3960	11,7567	5
	Full	36,3960	11,75678	5
	Skim	55,342	9,04783	5
	Total	39,8670	13,26977	20
30 jam	NaCl	21,7420	4,08066	5
	Susu	24,7420	5,66471	5
	Full	24,7420	5,66471	5
	Skim	30,5020	4,10921	5
	Total	25,4320	5,58300	20
36 jam	NaCl	14,7500	2,35161	5
	Susu	21,1640	4,44951	5
	Full	21,1640	4,44951	5
	Skim	21,3920	5,15644	5
	Total	19,6175	4,83945	20
42 jam	NaCl	12,6240	2,39160	5
	Susu	16,8660	2,99779	5
	Full	16,8660	2,99779	5
	Skim	14,0820	1,93114	5
	Total	15,1095	3,04968	20
Total	NaCl	36,3237	22,66523	35
	Susu	39,2860	21,22198	35
	Full	39,2549	21,15670	35
	Skim	48,5828	25,30326	35
	Total	40,8628	22,87796	140

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Trans arc.sinVy%

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	64290,589[a]	27	2381,133	31,515	,000
Intercept	233767,416	1	233767,416	3093,995	,000
Waktu	59193,547	6	9865,591	130,575	,000
J_Pengencer	2986,610	3	995,537	13,176	,000
Waktu * J_Pengencer	2110,431	18	117,246	1,552	,086
Error	8462,182	112	75,555		
Total	306520,187	140			
Corrected Total	72752,771	139			

a. R Squared = ,884 (Adjusted R Squared = ,856)

Post Hoc Tests

Waktu Pengamatan

Trans

Duncan[a,b]

Waktu	N	Subse					
		1	2	3	4	5	6
42 jam	20	15,1095					
36 jam	20	19,6175					
30 jam	20		25,4320				
24 jam	20			39,8670			
18 jam	20				50,1860		
12 jam	20					62,6435	
6 jam	20						73,1840
Sig.		,104	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are
Based on Type III Sum of
The error term is Mean Square(Error) =

a. Uses Harmonic Mean Sample Size =

b. Alpha =

Jenis Pengencer

Trans

Dunca [a,b]

Jenis	N	Subse	
		1	2
NaCl	35	36,3237	
Full	35	39,2549	
Susu	35	39,2860	
Skim	35		48,5866
Sig.		,182	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are
Based on Type III Sum of
The error term is Mean Square(Error) =

a. Uses Harmonic Mean Sample Size =

b. Alpha =

Interaksi Waktu*J_Pengencer

Trans

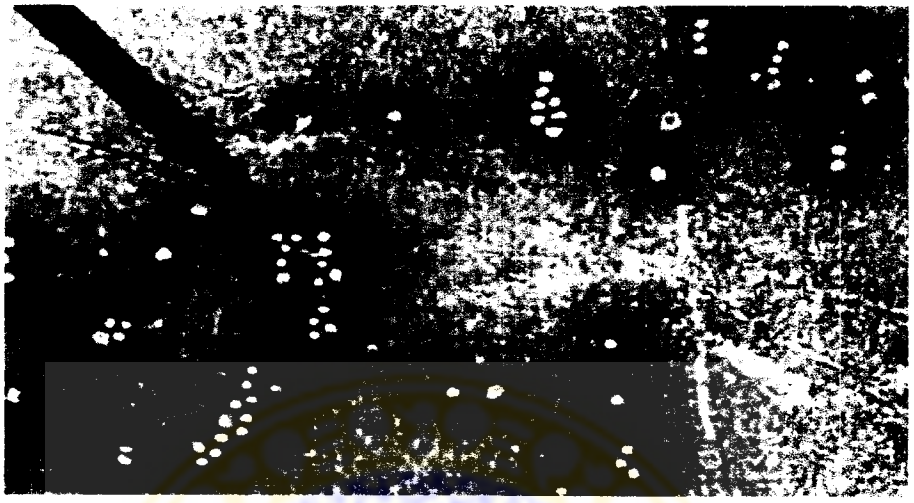
Dunc [a]

Perlakuan	N	Subset for alpha									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
42 jam*NaCl	5	12,62									
42 jam*Skim	5	14,08									
36 jam*NaCl	5	14,75									
42 jam*Full	5	16,86									
42*Susu Segar	5	16,86									
36 jam*Full	5	21,16	21,16								
36 jam*Susu	5	21,16	21,16								
36 jam*Skim	5	21,39	21,39								
30 jam*NaCl	5	21,74	21,74								
30 jam*Full	5	24,74	24,74	24,74							
30 jam*Susu	5	24,74	24,74	24,74							
30 jam*Skim	5		30,50	30,50	30,50						
24 jam*NaCl	5		31,33	31,33	31,33						
24 jam*Full	5			36,39	36,39	36,39					
24 jam*Susu	5			36,39	36,39	36,39					
18 jam*NaCl	5				39,63	39,63					
18 jam*Full	5					48,22	48,22				
18 jam*Susu	5					48,22	48,22				
24 jam*Skim	5						55,34	55,34			
12 jam*NaCl	5						58,42	58,42	58,42		
12 jam*Full	5						59,56	59,56	59,56		
12 jam*Susu	5						59,56	59,56	59,56		
18 jam*Skim	5							64,67	64,67	64,67	
6 jam*Full	5								67,83	67,83	
6 jam*Susu	5								68,04	68,04	
12 jam*Skim	5									73,02	73,02
6 jam*NaCl	5									75,76	75,76
6 jam*Skim	5										81,09
Sig.		,06	,11	,06	,14	,05	,07	,13	,13	,07	,16

Means for groups in homogeneous subsets

a. Uses Harmonic Mean Sample

Lampiran 10. Gambar spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) yang hidup dan mati pada perbesaran 400x



Spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) yang hidup

Spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*, L.) yang mati