

PENGARUH KONSENTRASI LARUTAN MADU DALAM NaCl FISIOLOGIS TERHADAP MOTILITAS DAN VIABILITAS SPERMATOZOA IKAN KOI (*Cyprinus carpio* L.)

The effect of Honey solution concentration in physiological NaCl on motility and viability of spermatozoa of koi fish (Cyprinus carpio L.)

Nurfitrih^{1*)}, Jusri Nilawati¹⁾, Musayyadah Tis'in¹⁾

¹⁾Program Studi Akuakultur
Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Tadulako
Kampus Bumi Tadulako Tondo Jl. Soekarno Hatta Km.9 Palu, Sulawesi Tengah
*Email: nurfitrihg@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian madu dalam NaCl fisiologis sebagai bahan pengencer terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan koi (*Cyprinus carpio* L.). Penambahan madu dalam NaCl fisiologis sebagai pengencer diharapkan mampu mempertahankan motilitas dan viabilitas selama penyimpanan spermatozoa ikan koi (*Cyprinus carpio* L.). Desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perbedaan dari pengencer madu dalam NaCl fisiologis antara lain Perlakuan A (0%), B (0,8%), C (0,6%), D (0,4%), dan E (0,2%). Perlakuan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4°C dan selanjutnya diamati dengan interval waktu 6 jam sekali sampai spermatozoa semua mati. Data dianalisis secara deskriptif dan uji *analysis of variance* (ANOVA) pada Minitab versi 16. Hasil yang diperoleh menunjukkan pemberian madu dalam NaCl fisiologis tidak berpengaruh terhadap motilitas dan viabilitas sperma ikan mas koi (*Cyprinus carpio* L.). Perlakuan dengan 0,6% madu menghasilkan motilitas dan viabilitas tertinggi.

Kata kunci: Motilitas, viabilitas, madu, NaCl fisiologis, ikan koi *Cyprinus carpio* L.

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of giving honey in physiological NaCl as a diluent on the motility and viability of koi fish spermatozoa (Cyprinus carpio L.). The addition of honey in physiological NaCl as a diluent is expected to be able to maintain motility and viability during storage of koi fish spermatozoa (Cyprinus carpio L.). The research design used a completely randomized design. The differences from the honey diluent in physiological NaCl include Treatment A (0%), B (0.8%), C (0.6%), D (0.4%), and E (0.2%). The treatments were stored in a refrigerator at 4°C and then observed at intervals of 6 hours until all spermatozoa died. Data were analyzed descriptively and test analysis of variance (ANOVA) on Minitab version 16. The results showed that giving honey in physiological NaCl did not affect sperm motility and viability of koi carp (Cyprinus carpio L.). Treatment with 0,6% honey produced the highest motility and viability.

Keywords: Motility, viability, honey, physiological NaCl, koi fish Cyprinus carpio L.

PENDAHULUAN

Ikan koi (*Cyprinus carpio* L.) atau *nishikigoi* merupakan salah satu primadona ikan hias. Selain itu, ikan koi juga merupakan ikan hias yang berpotensi untuk dikembangkan, karena ikan koi memiliki harga jual yang tinggi (Jayamurti, 2014; Kusri et al., 2015). Produksi ikan koi di Indonesia pada tahun 2017 mencapai 476,345 ribu ekor (Sawitri, 2009). Tahun 2018 mencapai 560,819 dan merupakan produksi ikan hias terbesar dibandingkan komoditas lainnya (KKP, 2015). Diana et al, (2015) menyatakan bahwa tingginya permintaan terhadap ikan koi, mendorong kegiatan

usaha budidaya ikan koi (*Cyprinus carpio* L.). Salah satu faktor yang sangat penting dalam kegiatan budidaya adalah teknologi pembenihan, terutama dalam pengadaan benih ikan secara terus-menerus.

Hal ini disebabkan karena sering kali timbul masalah dalam pengadaan benih yang dikarenakan masa pematangan gamet induk ikan jantan dan betina terkadang tidak terjadi secara bersamaan, salah satu cara untuk memberikan alternatif pemecahan dalam masalah tersebut yaitu melalui penyimpanan sperma (Rahardja et al., 2010). Penyimpanan sperma bertujuan untuk

mengoptimalkan penggunaan spermatozoa induk jantan yang unggul untuk membuahi sel telur betina yang sejenis secara buatan (Rahardhianto *et al.*, 2012; Julianuari, 2014). Penyimpanan spermatozoa juga diperlukan karena secara alamiah masa hidup spermatozoa ikan air tawar di alam sangat singkat setelah keluar dari testis yaitu sekitar 1-2 menit saja (Kurniawan *et al.*, 2013). Condro *et al.* (2012) menyatakan penyimpanan spermatozoa di luar tubuh memerlukan bahan pengencer yang sesuai kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa sehingga dapat bertahan dalam jangka waktu tertentu.

Rahardhianto *et al.* (2012) menyatakan salah satu bahan yang sering digunakan sebagai pengencer adalah NaCl fisiologis. Larutan NaCl fisiologis memberi sifat buffer, mempertahankan pH semen, bersifat isotonik dengan cairan sel, melindungi spermatozoa terhadap kejutan suhu dan penyeimbangan elektron yang sesuai. Menurut Arfah *et al.* (2015), semen yang disimpan dalam larutan pengencer NaCl fisiologis hanya bisa digunakan tidak lebih dari 60 menit setelah penampungan, karena kurang mengandung sumber energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa. Sehingga dibutuhkan penambahan bahan lain yang dapat memberikan energi atau nutrisi untuk mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa disediakan oleh gula sederhana (monosakarida) seperti fruktosa dan glukosa (Rahardhianto *et al.*, 2012; Julianuari, 2014). Penambahan fruktosa dalam pengencer berguna untuk mendukung daya hidup spermatozoa pasca pengenceran, karena proses pembentukan *Adenosin Trifosfat* (ATP) dan *Adenosin Difosfat* (ADP) harus dilakukan secara terus-menerus agar motilitas terus berlangsung (Nainggolan *et al.*, 2015). Alternatif yang dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan monosakarida oleh spermatozoa terkandung dalam madu. Penambahan madu dalam pengenceran sperma diharapkan dapat mendukung motilitas dan viabilitas sperma ikan koi.

Mengingat kebutuhan produksi benih ikan koi, dan potensi yang dimiliki oleh NaCl fisiologis dan madu sebagai pengencer dalam penyimpanan spermatozoa ikan, maka perlu dilakukan penelitian konsentrasi larutan madu sebagai penambah energi/nutrisi pada pengencer NaCl fisiologis dalam penyimpanan spermatozoa ikan koi (*Cyprinus carpio* L.). Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian madu dalam NaCl fisiologis sebagai bahan pengencer terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan koi (*Cyprinus carpio* L.).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2019. Penelitian bertempat di Balai Benih Ikan (BBI) Tatanga, Palu, Sulawesi Tengah.

Alat dan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah cawan petri, lemari pendingin, *haemocytometer*, alat tulis menulis, mikroskop, pH meter, *sputit*, *autoclave*, erlenmeyer, kaca preparat, *cover glass*, pipet tetes, timbangan, handphone, kertas label, pipet thoma, pengaduk, tabung reaksi, *stop watch*, aluminium foil dan kain. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah NaCl fisiologis 0,9%, madu asli, akuades, zat warna *eosin*, tisu, hormon ovaprim, dan induk jantan ikan koi sebanyak 4 ekor yang telah matang gonad.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan yaitu:

1. Perlakuan A: Madu 0 mL + NaCl fisiologis 100 mL
2. Perlakuan B: Madu 0,2 mL + NaCl fisiologis 99,8 mL
3. Perlakuan C: Madu 0,4 mL + NaCl fisiologis 99,6 mL
4. Perlakuan D: Madu 0,6 mL + NaCl fisiologis 99,4 mL
5. Perlakuan E: Madu 0,8 mL + NaCl fisiologis 99,2 mL.

Prosedur Penelitian

1. Tahap persiapan

Tahap persiapan meliputi persiapan alat yang akan digunakan. Peralatan yang akan digunakan seperti tabung reaksi, gelas erlenmeyer, batang pengaduk, pipet tetes dan cawan petri terlebih dahulu dicuci dengan detergen lalu dikeringkan dan disterilisasi di dalam autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit, kemudian mempersiapkan bahan-bahan sesuai kebutuhan.

2. Seleksi induk dan perawatan ikan

Induk yang digunakan dalam penelitian, diseleksi terlebih dahulu untuk melihat kelayakannya. Tahap seleksi ini dilakukan dua minggu sebelum perlakuan *stripping*. Induk yang dipilih adalah induk jantan yang telah matang gonad dengan ciri mengeluarkan cairan putih (sperma) jika dilakukan pengurutan pada bagian perut ke arah urogenitalnya. Setelah diseleksi kemudian induk ditampung dalam satu kolam, lalu dilakukan perawatan induk. Kolam yang digunakan selama perawatan adalah kolam dengan sistem air mengalir. Selama perawatan, ikan diberi pakan pellet 2 kali sehari, pukul 08.00 pagi dan 15.00 sore.

4. Penyuntikan induk

Induk yang sudah diseleksi ditimbang menggunakan timbangan digital. Setelah itu, ikan disuntik dengan larutan ovaprim dosis 0,3 mL/kg. Penyuntikan dilakukan 8 jam sebelum kegiatan *stripping*. Setelah penyuntikan, ikan dimasukkan kembali di dalam kolam.

5. Pembuatan bahan pengencer

Pengencer yang digunakan yaitu madu yang dilarutkan dalam NaCl fisiologis 0,9%. Madu dimasukkan ke dalam larutan NaCl fisiologis lalu diaduk menggunakan batang pengaduk. Pengencer dibuat masing-masing 100 mL untuk setiap perlakuan.

6. Pengambilan sperma ikan (*stripping*)

Pengambilan sperma ikan koi dilakukan dengan cara *stripping*. Proses *stripping* dilakukan dengan mengurut secara perlahan bagian perut ikan ke arah anal sampai ikan mengeluarkan cairan sperma yang berwarna putih dan kemudian ditampung dalam wadah (Novianto *et al.*, 2014). Sperma yang keluar diambil dengan menggunakan *sprit* dan diamati kelayakannya untuk proses penyimpanan sperma.

7. Pemeriksaan sperma segar

a. Pemeriksaan makroskopis

1) Pemeriksaan volume

Pemeriksaan volume sperma ikan koi dilakukan dengan cara mengambil sperma yang tertampung di dalam wadah menggunakan *sprit*, lalu mengamati volume sperma yang ada pada *sprit* tersebut.

2) Pemeriksaan bau

Pemeriksaan bau dilakukan untuk mengetahui kualitas bau sperma. Caranya yaitu mengipas sperma dengan tangan ke arah hidung. Kriteria bau yang baik untuk penelitian adalah berbau amis, disertai dengan bau dari hewan tersebut.

3) Warna

Warna sperma diamati secara visual dengan latar belakang warna putih dengan menggunakan tisu. Pengamatan dilakukan dengan cara meletakkan tisu dibawah cawan petri, kemudian mengamati warna sperma yang diperoleh. Penentuan warna sperma ikan yang dipakai adalah putih keruh, putih susu, krem, krem kekuning-kuningan sampai putih keabuan.

Tabel 1. Kriteria guest (tingkat pergerakan sperma)

KRITERIA	Nilai (%)
Gerakkan sangat progresif, gelombang sangat besar dan cepat menunjukkan 100% motil	100
Gerakkan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% sperma motil	90
Antara 50-80% sperma bergerak progresif dan menghasilkan gerakkan masa	80
Gerakkan melingkar, kurang dari 50% bergerak dan tidak ada gelombang	70
Gerakkan sperma berputar di tempat	60
Gerakkan spermatozoa imotil atau tidak bergerak	50

Sumber : Nainggolan *et al.* (2015)

4) Derajat keasaman (pH).

Nilai pH diukur untuk mengetahui derajat keasaman sperma ikan koi. Pengamatan nilai pH menggunakan kertas lakmus. Cara pengamatanya dengan mencelupkan kertas lakmus ke dalam sampel sperma.

b. Pemeriksaan mikroskopis

Pemeriksaan sperma secara mikroskopis yaitu pemeriksaan dengan menggunakan mikroskop. Pemeriksaan mikroskopis yang dilakukan meliputi:

1) Penentuan konsentrasi spermatozoa ikan

Pengamatan konsentrasi spermatozoa ikan dengan cara thoma dan menggunakan pewarna berupa larutan *eosin* 2%. Sperma segar diambil dengan pipet thoma sebanyak 0,5 mL, kemudian ujung pipet diangkat dan dibersihkan dengan kertas tisu, selanjutnya mengambil larutan *eosin* sampai volume 1,01 mL. Ujung karet penghisap ditekuk, kemudian pipet dikocok dengan gerakan membentuk angka 8 hingga larutan homogen. Penghitungan pada *haemochytometer* dilakukan dengan cara menghitung spermatozoa yang terdapat pada 5 kotak besar, yaitu 4 kotak pada bagian sudut dan 1 kotak pada bagian tengah. Perhitungan dilakukan di bawah mikroskop pada pembesaran 400x. Jika jumlah spermatozoa dalam 5 kotak adalah X, dan rata-rata adalah Y maka konsentrasi tersebut adalah $Y \times 10^6$ sel/mL (Condro *et al.*, 2012).

2) Penentuan lama gerak spermatozoa

Pengamatan motilitas sperma dilakukan dengan cara mengambil 0,05 mL sperma menggunakan pipet dari yang telah tertampung dan diletakkan pada *obyek glass* kemudian ditetaskan dengan akuades sebanyak 0,1 mL. Selanjutnya dilakukan pengamatan mikroskop dengan perbesaran 100x. Persentase pergerakan sperma dianalisis berdasarkan kriteria Guest (tingkat pergerakan sperma). Penilaian tersebut dimaksudkan untuk melihat kelayakan sperma untuk proses selanjutnya (Nainggolan *et al.*, 2015). Kriteria Guest (tingkat pergerakan sperma) tertera pada Tabel 1.

3) Penentuan Persentase Spermatozoa

Persentase hidup diamati dengan teknik sediaan ulas menggunakan zat warna *eosin*. Satu tetes sperma 0,01 mL dan satu tetes larutan *eosin* 0,1 mL diletakkan pada *object glass*, kemudian zat warna dan sperma dicampur hingga homogen, selanjutnya preparat difiksasi di atas nyala api, proses tersebut dilakukan selama 15 detik. Pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x (Novianto *et al.*, 2014). Viabilitas sperma diamati dengan menghitung minimal 100 spermatozoa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Sperma yang mati akan menyerap zat warna *eosin* sehingga tampak warna merah terutama pada bagian ujung kepala spermatozoa, dan spermatozoa yang hidup akan tetap transparan (Sulmartiwi, 2011).

8. Penyimpanan Sperma

Sperma yang tertampung diambil sebanyak 0,1 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi pengencer sesuai perlakuan yang telah ditentukan 0,1 mL sperma dan 0,9 mL pengencer, sehingga diperoleh 1 mL dalam setiap tabung reaksi. Agar sperma dan bahan pengencer homogen, tabung reaksi dikocok perlahan sekitar 2 menit kemudian dilakukan penyimpanan sperma di dalam lemari pendingin dengan suhu rendah 4°C. Pengamatan dilakukan dengan interval waktu 6 jam selama penyimpanan. Lama waktu penyimpanan sampai semua spermatozoa mati. Sperma yang telah disimpan di dalam lemari pendingin diamati di bawah mikroskop untuk mengetahui kualitas sperma setelah dilakukan penyimpanan. Pengamatan dilakukan dengan cara mengeluarkan tabung reaksi dari lemari pendingin dan mengamati sampel sperma dengan menggunakan pipet dan diteteskan pada *object glass* untuk dilakukan pengamatan motilitas dan viabilitas sperma di bawah mikroskop.

9. Pemeriksaan Motilitas dan Viabilitas Sperma

Pemeriksaan motilitas yaitu dengan cara mengambil sperma 0,01 mL dan diletakkan pada *obyek glass* kemudian diteteskan dengan aquades sebanyak 0,1 mL, selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x, perhitungan dilakukan pada saat sperma mulai bergerak hingga berhenti bergerak.

Variabel Penelitian

1. Penentuan Kualitas Sperma

Penentuan kualitas sperma diamati melalui mikroskop untuk mengetahui kualitas sperma setelah dilakukan penyimpanan.

2. Penentuan Persentase Spermatozoa

Penentuan Persentase Spermatozoa dapat dihitung dengan menggunakan rumus menurut Novianto *et al.*, (2014)

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Jumlah spermatozoa yang mati}} \times 100\%$$

3. Pemeriksaan Motilitas dan Viabilitas Sperma

Penentuan pemeriksaan Motilitas dan Viabilitas Sperma dapat dihitung dengan menggunakan rumus menurut Novianto *et al.*, (2014):

$$\text{Motilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang motil progresif}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data mikroskopis (volume, bau, warna dan pH) serta konsentrasi dianalisis secara deskriptif. Data hasil pengamatan motilitas dan viabilitas dianalisis menggunakan uji *Analysis of variance* (ANOVA), jika hasil ANOVA berpengaruh, maka diuji lanjut menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada Minitab versi 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Sperma Segar Ikan Koi (*Cyprinus carpio* L.)

Hasil pemeriksaan makroskopis meliputi volume, bau, warna dan pH serta pemeriksaan mikroskopis meliputi konsentrasi, motilitas dan viabilitas sperma segar ikan koi (*Cyprinus carpio* L.) yang diambil dengan cara stripping dapat dilihat pada Tabel

Tabel 2. Hasil pengamatan sperma segar ikan koi (*Cyprinus carpio* L.)

No	Parameter Yang Diamati	Hasil
1.	Makroskopis	
a.	Volume sperma	4,5 mL
b.	Bau	Amis
c.	Warna Sperma	Putih susu
d.	pH Sperma	7
e.	Berat Ikan	0,49 kg
2.	Mikroskopis	
a.	Konsentrasi spermatozoa	12,2x10 ⁹ sel/mL
b.	Motilitas	90%
c.	Viabilitas	98%

Sumber: Hasil Penelitian 2020.

Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis menunjukkan kualitas sperma segar ikan koi layak dilakukan penyimpanan. Hasil evaluasi makroskopis pada penelitian ini menunjukkan sperma ikan koi yang diperoleh memiliki volume 4,5 mL dari 4 ekor ikan, berbau amis, berwarna putih susu, pH yang diperoleh adalah 7 dan berat rata-rata 0,49 kg (Tabel 4-1). Berbeda dengan sperma yang diperoleh Setyono dan Suswahyuningtyas (2007) bahwa volume spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*) sebanyak 3 mL. Menurut Kurniawan *et al.* (2013),

faktor yang mempengaruhi perbedaan volume sperma adalah umur, ukuran tubuh, manajemen pemberian pakan dan frekuensi pengeluaran sperma.

Warna sperma ikan koi yang diperoleh dalam penelitian adalah putih susu dan sedikit tercampur dengan darah, namun tidak seluruhnya tercampur, dan sperma yang digunakan dalam penelitian diambil dari sperma yang tidak tercampur darah. Menurut (Faizal 2016), warna semen adalah putih susu dan apabila ditemukan warna kemerahan merupakan tanda bahwa sperma terkontaminasi oleh darah. Hal ini didukung oleh Faqih (2011); Kurniawan *et al.* (2013); Arifiantini *et al.* (2006) bahwa sperma normal umumnya berwarna putih susu, krem, krem kekuning-kuningan sampai putih keabu-abuan.

Bau sperma ikan koi yang diperoleh dalam penelitian adalah amis. Bau ini merupakan bau normal. Hal ini didukung dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Linayati *et al.* (2015), dimana sperma segar ikan mas koi berbau amis. Faizal (2016) menambahkan bahwa semen normal pada umumnya memiliki bau amis khas disertai dengan bau dari hewan tersebut. Nilai pH sperma yang diperoleh adalah 7. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Tumanung *et al.* (2015) dan Sulmartiwi *et al.* (2011), dimana pH sperma ikan mas dan ikan patin yaitu 7. Nilai pH tersebut baik untuk motilitas dan viabilitas sperma. Hal ini disebabkan karena apabila sperma memiliki nilai pH yang sangat asam ataupun basa akan mempengaruhi metabolisme sperma, yang menyebabkan metabolisme menurun dan mengakibatkan motilitas dan viabilitas juga menurun.

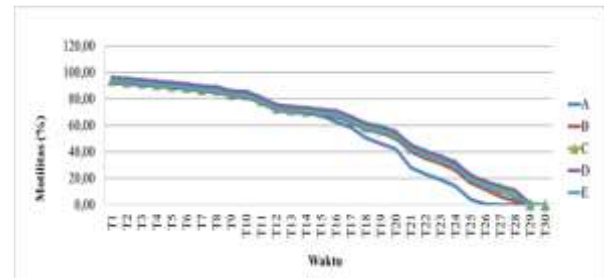
Konsentrasi sperma segar yang diamati diperoleh $12,2 \times 10^9$ sel/mL, kondisi ini dinyatakan normal. Hal ini sesuai pendapat Zairin Jr *et al.* (2005), bahwa konsentrasi normal sperma ikan *Cyprinidae* berkisar antara $7,6 \times 10^9$ - 28×10^9 sel/mL. Kurniawan *et al.* (2013) juga menyatakan bahwa konsentrasi sperma ikan mas (*Cyprinus carpio*) $25,58 \times 10^9$ sel/mL. Condro *et al.* (2012) menambahkan bahwa konsentrasi sperma ikan komet adalah $10,2 \times 10^9$ sel/mL. Menurut Adipu (2011), konsentrasi spermatozoa berkaitan dengan kekentalan dan motilitas sperma. Konsentrasi yang tinggi menghambat aktivitas spermatozoa karena berkurangnya daya gerak sehingga motilitas menjadi rendah, dengan demikian jika sperma dalam keadaan encer maka motilitasnya akan baik. Adanya penambahan larutan NaCl dan larutan yang mengandung fruktosa pada pengenceran sperma, maka lama waktu aktivitas sperma menjadi panjang, sehingga sperma dapat memperoleh banyak waktu untuk menemukan telur.

Motilitas sperma segar ikan koi yang diperoleh pada sperma segar adalah 90% dan viabilitas sperma segar yaitu 98%. Hal ini menunjukkan sperma segar ikan koi dalam

kondisi yang baik. Faqih (2011) menyatakan bahwa persentase motilitas spermatozoa dibawah 60% termasuk kategori kurang baik dalam proses pembuahan telur, karena sering menyebabkan pembuahan tidak berhasil. Condro *et al.* (2012) menyatakan viabilitas sperma yang baik adalah sperma dengan persentase hidup lebih dari 70%.

Motilitas Spermatozoa Ikan Koi (*Cyprinus carpio* L.) Selama Penyimpanan

Hasil motilitas spermatozoa ikan koi (*Cyprinus carpio* L.) dari masing-masing perlakuan tertera pada Gambar 1.



Gambar 1. Motilitas spermatozoa ikan koi (*Cyprinus carpio* L.)

Berdasarkan grafik diatas terlihat bahwa motilitas spermatozoa diawal penyimpanan sangat baik dan semakin menurun seiring dengan lamanya waktu penyimpanan dan perlakuan D merupakan perlakuan tertinggi dengan dosis 0,6% madu dan perlakuan A adalah perlakuan terendah dengan 0 % madu. Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian madu dalam NaCl fisiologis tidak berpengaruh nyata terhadap motilitas spermatozoa ikan koi(*Cyprinus carpio* L.).

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penambahan madu memberikan nilai tertinggi terhadap motilitas dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan madu. Hal ini disebabkan karena madu mengandung nutrisi sebagai sumber energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa dalam meningkatkan motilitas selama penyimpanan. Sesuai dengan pernyataan Barozha (2015), bahwa madu mengandung fruktosa dan glukosa sebagai sumber energi dan nutrisi bagi spermatozoa, sehingga dapat meningkatkan motilitas spermatozoa.

Kurniawan (2013) menambahkan bahwa motilitas spermatozoa terjadi karena adanya gerakan dari flagel yang terdiri dari mikro tubul. ATP yang dihasilkan oleh mitokondria diaktifkan oleh enzim ATPase untuk melepas ikatan fosfat pertama sehingga terbentuklah ADP dan fosfat anorganik dengan melepas energi untuk kontraksi fibril. Bila persediaan fosfat dalam ATP dan ADP telah habis, kontraksi fibril spermatozoa akan berhenti dan gerakan juga berhenti. Motilitas dapat terus berlangsung jika ADP dan ATP dibangun kembali dengan menambahkan

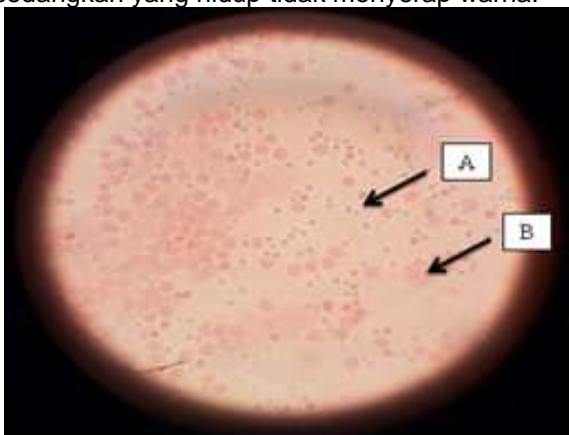
kelompok fosfat dari sumber energi berupa bahan organik seperti karbohidrat dan lemak.

Devi *et al.* (2019) menyatakan bahwa spermatozoa menyerap glukosa dan fruktosa tersebut melalui membran plasma. Membran plasma merupakan struktur yang bersifat selektif permeabel, yaitu dapat ditembus oleh beberapa jenis zat, molekul dan ion tertentu. Proses glukosa dan fruktosa menembus membran plasma disebut proses transpor membran. Transpor membran terbagi menjadi dua yaitu transpor pasif (osmosis, difusi, dan difusi difasilitasi) dan aktif (menggunakan energi dari sel). Glukosa dan fruktosa bersifat polar sehingga untuk menembus membran sel melalui proses transpor pasif yaitu oleh *carrier mediated diffusion* (difusi difasilitasi). Protein *carriers* pada membran plasma berfungsi untuk memindahkan glukosa dan fruktosa dari ekstraseluler menuju intraseluler.

Rahardhianto *et al.* (2012) menambahkan selain lama penyimpanan dan berkurangnya energi, penurunan persentase motilitas spermatozoa juga dipengaruhi oleh berkurangnya oksigen pada wadah pengamatan selama penyimpanan spermatozoa terjadi. Apabila ketersediaan oksigen tidak mencukupi kebutuhan metabolisme spermatozoa, maka terjadi proses anaerob, dalam keadaan anaerob metabolisme spermatozoa akan menghasilkan asam laktat yang mengakibatkan penurunan pH di lingkungan sperma. Kondisi lingkungan yang asam, menyebabkan penurunan daya gerak spermatozoa.

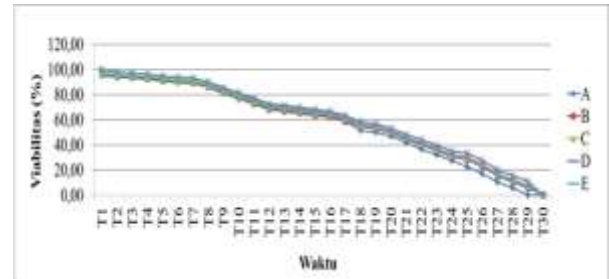
Viabilitas Spermatozoa Ikan Koi (*Cyprinus carpio* L.) Selama Penyimpanan

Persentase spermatozoa yang hidup ditentukan berdasarkan penyerapan zat warna *eosin* yang dicampurkan pada sperma. Sperma mati akan menyerap zat warna disekitarnya sedangkan yang hidup tidak menyerap warna.



Gambar 2. Spermatozoa yang diamati dengan menggunakan eosin, perbesaran 400x. Huruf A menunjukkan sperma hidup dan huruf B menunjukkan sperma mati

Gambar 2 memperlihatkan perbedaan antara sperma mati dan sperma yang hidup. Sel yang mati akan mengalami kerusakan pada membran plasmanya dan selanjutnya akan menyerap zat warna, pada sel yang menyerap warna terjadi pembengkakan (Rahardhianto *et al.*, 2012). Hasil pengamatan terhadap viabilitas spermatozoa ikan koi (*Cyprinus carpio* L.) dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik viabilitas spermatozoa ikan koi (*Cyprinus carpio* L.)

Grafik diatas menunjukkan nilai viabilitas spermatozoa ikan koi pada semua perlakuan mengalami penurunan dari T1 hingga T30. Pengamatan awal T1 (jam ke 6) terlihat bahwa viabilitas tertinggi terdapat pada perlakuan D dengan rata-rata 99,76% dan terendah terdapat pada perlakuan A dengan rata-rata 95,07, sedangkan pada pengamatan T30 (jam ke 180) terlihat semua perlakuan memiliki nilai 0,00 yang menunjukkan semua spermatozoa telah mati (Lampiran 6). Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian madu dalam NaCl fisiologis berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap viabilitas spermatozoa ikan koi (*Cyprinus carpio* L.). Seperti halnya motilitas, viabilitas juga menurun seiring dengan lama waktu penyimpanan. Hal ini disebabkan karena semakin berkurangnya sumber energi yang tersedia bagi spermatozoa sehingga viabilitas semakin menurun. Sesuai pernyataan Sulmartiwi *et al.* (2011) bahwa, terjadinya penurunan persentase hidup spermatozoa pada penyimpanan akibat berkurangnya sumber energi yang tersedia bagi spermatozoa. Metabolisme spermatozoa yang menyebabkan cadangan makanan berkurang dan elektrolit larutan menjadi tidak seimbang sehingga spermatozoa mengalami kelelahan dan kematian. Andoro (2018) menambahkan energi yang terdapat pada pengencer mengalami penurunan karena digunakan spermatozoa untuk metabolisme selama penyimpanan. Menurut Hidayaturrahmah (2007), penurunan persentase hidup spermatozoa dalam proses penyimpanan juga dapat disebabkan oleh asam laktat dan CO2 yang dihasilkan dari metabolisme spermatozoa. Rahardhianto *et al.* (2012) menyatakan asam laktat dapat menghambat aktifitas metabolisme spermatozoa sehingga akan menurunkan metabolisme spermatozoa dan menyebabkan kematian pada sperma.

Berdasarkan hasil yang diperoleh juga menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan madu merupakan perlakuan tertinggi dan merupakan perlakuan yang lebih lama daya hidupnya dibanding dengan perlakuan tanpa penambahan madu. Diduga perlakuan dengan penambahan madu memberikan energi yang dibutuhkan sperma sehingga sperma masih bertahan selama penyimpanan. Menurut Hidayaturrahmah (2007), fruktosa dan glukosa yang ada pada madu merupakan sumber energi dan nutrisi bagi spermatozoa. Adanya tambahan sumber energi tersebut dapat memperpanjang daya tahan hidup spermatozoa. Tumanung et al. (2015) menambahkan bahwa energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa disediakan oleh gula sederhana (monosakarida) seperti fruktosa dan glukosa. Penambahan fruktosa dan glukosa dalam pengenceran berguna untuk mendukung daya hidup spermatozoa pasca pengenceran.

Menurut Adipu (2011) faktor terjadinya lama waktu viabilitas sperma karena pemberian fruktosa dapat mengurangi kecepatan rusaknya permeabilitas spermatozoa dibanding air sebagai larutan fertilisasi yang terjadi di alam. Seperti diketahui permeabilitas membrane sangat berkaitan dengan transportasi nutrisi yang penting dalam metabolisme sel, dengan mengurangi kecepatan rusaknya permeabilitas membrane spermatozoa, maka kebutuhan akan nutrisi tidak terhambat dan selanjutnya sel spermatozoa tersebut dapat bertahan lama. Purwaningsih (2000) juga menambahkan bahwa permeabilitas membrane spermatozoa erat kaitannya dengan viabilitas.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian madu dalam NaCl fisiologis tidak berpengaruh terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan koi (*Cyprinus carpio* L.)
2. Motilitas spermatozoa tertinggi pada perlakuan D dengan konsentrasi 0,6 mL madu dan 99,4 mL NaCl fisiologi selama penyimpanan.
3. Motilitas spermatozoa tertinggi pada perlakuan D dengan konsentrasi 0,6 mL madu dan 99,4 mL NaCl fisiologi selama penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

Arfah, H., Hasan, F. dan Setiawati, M., 2015. Pemberian Berbagai Jenis Madu dengan Rasio Pengenceran Berbeda Terhadap Kualitas Sperma *Pangasianodon hypophthalmus*. Jurnal Akuakultur Indonesia. Vol. 14(2).

Arifiantini, R.I. Wresdiyati, T. dan Retnani. E.F., 2006. Kaji Banding Morfometri Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Menggunakan Pewarnaan Williams, Eosin, Eosin Nigrosin dan Formol-saline. J. Sain vet. Vol. 24(1).

Barozha, D. L., 2015. The Effect of Honey Motility and Viability Catfish (*Pangasius pangasius*) Spermatozoa. J. Majority. Vol. 4(3).

Condro, H. S., Mubarak, A. S. dan Sulmartiwi, L., 2012. Pengaruh Penambahan Madu pada Media Pengencer NaCl Fisiologis dalam Proses Penyimpanan Sperma Terhadap Kualitas Sperma Ikan Komet (*Carassius auratus auratus*). Journal of Marine and Coastal Science. Vol 1(1).

Diana, F., Rizal, M. dan Mariani, D., 2015. Pengaruh Penggunaan Konsentrasi Air Kelapa Muda pada Pengencer NaCl Fisiologi Terhadap Motilitas dan Mortalitas Spermatozoa Ikan Tawes (*Puntius javanicus*). Jurnal Perikanan Tropis. Vol. 2(2).

Faizal, M., 2016. Pengaruh Penggunaan Kuning Telur Angsa (*Cignus olor*) dan Air Kelapa Muda (*Cocos nucifera*) Terhadap Kualitas Sperma Kambing Boer dengan Waktu Equilibrasi yang Berbeda. Skripsi. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

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

Hidayaturrahmah, 2007. Waktu Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) pada Beberapa Konsentrasi Larutan Fruktosa. Boiscientiae. Vol. 4(1).

Jayamurti, K., 2014. Analisis Efisiensi Faktor yang Mempengaruhi Produksi Ikan Koi Di Kecamatan Cisaat Kabupaten Sukabumi. Skripsi. Departemen Ekonomi Sumberdaya dan Lingkungan Fakultas Ekonomi dan Manajemen, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Julianuari, F., 2014. Pengaruh Penambahan Madu dengan Dosis Berbeda Terhadap Motilitas Spermatozoa dan Daya Tetap Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) pada Proses Reservasi. Jurnal Publikasi. Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Kartini, N., 2012. Kajian Aspek Reproduksi Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*) Jantan yang Dipelihara pada Kondisi Lingkungan Berbeda. Skripsi. Departemen

Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Kurniawan, I. Y., Basuki, F. dan Susilowati, T., 2013. Penambahan Air Kelapa dan Gliserol pada Penyimpanan Sperma Terhadap Motilitas dan Fertilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of Aquacultur Mngement and Technology*. Vol. 2(1).
- Kusrini, E., Cindelaras, S. dan Prasetio, B., 2015. Pengembangan Budidaya Ikan Hias Koi (*Cyprinus carpio*) Lokal di Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias Depok. *Media Akuakultur*. Vol 10(2).
- Nainggolan, R., Monijung, R. D., dan Mingkid, W., 2015. Penambahan Madu dalam Pengencer Sperma untuk Motilitas Spermatozoa, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Budidaya Perairan*. Vol. 3(1).
- Novianto, B. R., Sudarno dan Masithah, E. D., 2014. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Gliserol dalam Susu Skim Kuning Telur untuk Proses Penyimpanan Sperma Beku Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius pangasius*).
- Rahardhianto, A., Abdulgani, N. dan Trisyani, N., 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*. Vol. 1(1).
- Sawitri, D. A. L., 2019. Efektifitas Cacahan Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca*) untuk Mencegah Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Koi *Cyprinus carpio*. Skripsi. Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sulmartiwi, L., Ainurrohmah, E. dan Mubarak, S., 2011. Pengaruh Konsentrasi Air Kelapa Muda dan Madu dalam NaCl Fisiologi Terhadap Motilitas dan Lama Hidup Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius pangasius*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol. 3(1).
- Tumanung, S., Sinjal, H. J., dan Watung, J. C., 2015. Penambahan Madu dalam Pengencer Sperma untuk Meningkatkan Motilitas, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) Vol. 3(1).