

Pengaruh Konsentrasi Air Kelapa Muda dan Madu dalam NaCl Fisiologis terhadap Motilitas dan Lama Hidup Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius pangasius*)

The Effect of Concentration Young Coconut Water and Honey in 0,9% Sodium Chloride to Motility and Life Time Catfish (*Pangasius pangasius*) Spermatozoa

Laksmi Sulmartiwi, Eka Ainurrohmah dan A. Shofy Mubarak

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga
Kampus C Mulyorejo - Surabaya, 60115 Telp. 031 - 5911451

Abstract

Ability nature maturation of catfish just one time a year at early rainy season (November-March) and nature seed population was down because catching, so to solve the problem is storage of catfish spermatozoa and can be used as needed. Young coconut water and honey as thinner in storage catfish spermatozoa content glucose and fructose result ATP as energy resources. Destination of this study to know effect of young coconut water and honey to catfish spermatozoa motility and live time in storage process. Study method is experiment with Completely Randomization Design as experimental design. With different treatment young coconut water is A (0%), B (19,4%), C (39,4%), D (59,4%), E (79,4%) and F (99,4%), and add 0,6% honey at every treatment. Save the treatment at 5-7°C for 36 hours with checked every 4 hours. Data analyzed with Anova and continued by Duncan's Multiple Range Test. Result this study shown used young coconut water with different concentration is not different significant at motility but different significant at live time catfish spermatozoa. Young coconut water with concentration 99,4% and honey 0,6% influence at catfish spermatozoa live time.

Keywords : Spermatozoa, motility, life time, catfish, young coconut water, honey

Pendahuluan

Ikan patin merupakan ikan konsumsi yang terus berkembang. Menurut data terakhir dari Direktorat Jenderal Kelautan dan Perikanan menunjukkan bahwa kebutuhan benih secara nasional mencapai 55 juta ekor per bulan (Khairuman, 2007 dalam Faridah dkk., 2008). Jumlah tersebut diperlukan untuk mencapai target produksi patin konsumsi sebesar 16.500 ton.

Kesinambungan usaha dan peningkatan produksi benih patin baik jumlah dan kualitasnya perlu dijaga mengingat hambatan yang terjadi saat pemijahan patin secara alami hanya terjadi setahun sekali dan harus menggunakan hipofisa (Saparinto, 2010). Salah satu cara yang bisa digunakan untuk menyediakan benih ikan patin sepanjang tahun yaitu melalui penyimpanan spermatozoa. Penyimpanan spermatozoa diharapkan mampu mempertahankan motilitas spermatozoa yang secara normal berkisar antara 1-2 menit setelah keluar dari testis (Effendy, 1997 dalam Hidayatullah, 2007).

Penyimpanan spermatozoa membutuhkan bahan pengencer yang berfungsi untuk mengurangi aktifitas spermatozoa sehingga menghambat pemakaian energi dan dapat memperpanjang hidup spermatozoa (Sunarna dkk., 2007). Bahan pengencer yang biasa digunakan dalam penyimpanan spermatozoa adalah NaCl fisiologis yang hanya berfungsi untuk menambah volume semen (Masrizal dan Efrizal, 1997 dalam Hidayatullah, 2007).

Menurut Toelihere (1985), penyimpanan spermatozoa memerlukan fruktosa yang dimanfaatkan sebagai sumber energi bagi spermatozoa dan air kelapa muda merupakan bahan pengencer yang mengandung fruktosa. Penggunaan air kelapa muda dalam waktu yang lama dapat menurunkan pH (Barlina, 2004) sehingga dibutuhkan buffer untuk mempertahankan pH dalam kondisi normal (pH 7). Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai buffer adalah madu (Suranto, 2004). Selain itu, madu juga mengandung fruktosa sebagai sumber energi spermatozoa (Marawali dkk., 2001 dalam Hidayatullah, 2007). Selama ini, penggunaan air kelapa muda sebagai pengencer dalam penyimpanan spermatozoa belum dilakukan dengan penambahan madu. Hal ini perlu diketahui untuk mendapatkan pengencer spermatozoa yang mengandung fruktosa sehingga dapat meningkatkan motilitas dan lama hidup juga dapat mempertahankan pH. Penggunaan air kelapa muda diharapkan mampu menggantikan NaCl fisiologis sebagai bahan pengencer yang biasa digunakan dan penambahan madu berfungsi untuk mempertahankan pH pada saat penyimpanan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh air kelapa muda dan madu sebagai bahan pengencer terhadap motilitas dan lama hidup spermatozoa pada proses penyimpanan, dan mengetahui konsentrasi air kelapa muda dan madu yang dapat mempengaruhi motilitas dan lama hidup spermatozoa.

Metodologi

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pendidikan Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya, Propinsi Jawa Timur. Kegiatan ini dilaksanakan pada bulan Desember 2010.

Alat-alat yang digunakan yaitu mikroskop, *microtube*, *object glass*, *cover glass*, termometer, *autoclave*, *erlenmeyer*, *stopwatch*, *handtally counter*, timbangan analitik, gelas ukur, lap halus, kertas pH, pipet, *sputit*, *haemocytometer*, *aluminium foil*, *sterofoam*, nampan, tisu, toples plastik dan lemari es. Bahan yang digunakan yaitu induk jantan ikan patin yang telah matang gonad, air kelapa muda, madu, zat warna eosin, negrosin dan akuades.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 perlakuan dan 4 ulangan. Variasi jumlah pemberian air kelapa muda 0%, 19,4 %, 39,4 %, 59,4 %, 79,4 %, dan 99,4 % kemudian masing-masing perlakuan ditambah madu sebanyak 0,6 %. Perlakuan kontrol yang digunakan yaitu penggunaan bahan pengencer NaCl fisiologis 99,4% ditambah madu 0,6%. Berdasarkan penelitian Condro (2010) semen dan bahan pengencer (air kelapa muda dan madu) pada pH 7 dicampur dengan rasio 1:9 dan dimasukkan dalam *microtube* masing-masing 1 ml kemudian disimpan pada suhu 5-7 °C. Sebelum dilakukan pengamatan, semen yang dikeluarkan dari lemari pendingin didiamkan dulu selama 5 menit untuk adaptasi suhu pada spermatozoa.

Spermatozoa diperoleh dengan mengurut bagian perut ikan ke arah anal. Spermatozoa yang telah didapatkan lalu ditampung dan dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis berupa pengamatan terhadap volume, warna dan pH spermatozoa. Pengamatan mikroskopis berupa penentuan konsentrasi spermatozoa ikan, penentuan persentase hidup spermatozoa dan pengamatan lama gerak.

Pengukuran Mikroskopis berupa pengamatan konsentrasi spermatozoa ikan dengan cara thoma dan menggunakan pengencer berupa larutan eosin 2%. Semen segar diambil dengan pipet thoma hingga angka 0,5, selanjutnya eosin diambil hingga angka 1,01. Ujung karet penghisap ditekuk, kemudian pipet dikocok dengan gerakan membentuk angka 8 hingga larutan homogen. Penghitungan pada papan thoma, dengan menghitung spermatozoa yang terdapat pada 5 kotak besar, yaitu 4 kotak di sudut dan 1 kotak di tengah. Dihitung di bawah mikroskop pembesaran 400x. Jika jumlah spermatozoa dalam 5

kotak adalah X, maka konsentrasi dalam cairan tersebut adalah $X \times 10^6$ sel/ml (Toelihere, 1985).

Pengamatan persentase spermatozoa hidup dengan menghitung minimal 100 spermatozoa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x (Toelihere, 1985; Zilli *et al.*, 2008). Spermatozoa yang mati akan menyerap zat warna negrosin sehingga akan tampak berwarna biru kehitaman terutama pada bagian ujung kepala spermatozoa, dan spermatozoa yang hidup akan tetap berwarna transparan (Toelihere, 1985). Penghitungan persentase hidup spermatozoa yaitu dengan membagi jumlah spermatozoa hidup dengan jumlah total spermatozoa kemudian dikalikan dengan 100%. Sedangkan untuk pengamatan lama gerak dilakukan menggunakan satu tetes cairan spermatozoa ($\pm 0,01$ ml) diletakkan di atas *object glass* cekung ditambah satu tetes akuades ($\pm 0,01$ ml), dan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Penghitungannya menggunakan *stop watch* dan dihitung dari mulai spermatozoa bergerak hingga berhenti bergerak. Pengamatan lama hidup dilakukan dengan mengamati lama gerak spermatozoa. Pengamatan lama gerak dinyatakan dalam detik. Pemeriksaan terhadap spermatozoa dilakukan baik pada spermatozoa segar maupun perlakuan (Condro, 2010).

Hasil dan Pembahasan

Semen yang diperoleh dengan mengurut bagian perut ikan patin jantan ke arah anal kemudian ditampung dan dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan secara makroskopis meliputi warna, volume dan pH, sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi penghitungan konsentrasi spermatozoa, lama gerak dan persentase hidup spermatozoa. Hasil evaluasi pada semen ikan patin diperoleh warna semen putih susu, volume semen 1,5 ml yang diperoleh dari satu ekor ikan patin, pH semen 7 (netral), konsentrasi spermatozoa $10,6 \times 10^9$ sel/ml, kemampuan spermatozoa untuk bergerak hingga tidak bergerak lagi yaitu selama 2 menit 48 detik, dan persentase hidup spermatozoa adalah 90%.

Berdasarkan pemeriksaan pada semen diperoleh konsentrasi spermatozoa ikan patin $10,6 \times 10^9$ sel/ml. Konsentrasi tersebut dinyatakan normal karena menurut Kwantong (2009) konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) berkisar antara $6,9 \times 10^7$ sampai $6,94 \times 10^{10}$ sel/ml. Pemeriksaan persentase hidup spermatozoa yang diperoleh pada penelitian ini

adalah 90%. Menurut Stoss (1983) dalam Condro (2010) persentase hidup minimal semen segar yang akan digunakan untuk penyimpanan yaitu 70%. Hal ini menunjukkan bahwa spermatozoa yang digunakan dalam penelitian adalah layak.

Penelitian ini menggunakan air kelapa muda sebagai bahan pengencer pada penyimpanan spermatozoa. Penggunaan air kelapa muda tersebut didasarkan atas banyaknya ketersediaan kelapa di negara tropis seperti Indonesia sehingga ditinjau dari segi ekonomi, penggunaan air kelapa sebagai bahan pengencer dibandingkan dengan NaCl fisiologis tergolong lebih murah. Air kelapa muda mampu memenuhi syarat sebagai bahan pengencer yang murah, sederhana dan praktis untuk penyimpanan spermatozoa ikan patin. Selain itu air kelapa muda mengandung glukosa dan fruktosa yang juga terkandung dalam semen. Toelihere (1985) menyatakan bahwa suatu pengencer harus mengandung unsur-unsur yang hampir sama dengan semen dan tidak mengandung zat yang bersifat racun. Dengan demikian, air kelapa muda diharapkan mampu menggantikan NaCl fisiologis sebagai bahan pengencer dalam penyimpanan spermatozoa ikan patin.

Menurut Suranto (2004), madu memiliki sifat sebagai penyangga pH. Hal tersebut dapat dimanfaatkan untuk mempertahankan pH agar tetap dalam kondisi normal (pH 7) selama proses penyimpanan spermatozoa ikan patin. Madu dapat menstabilkan kondisi pH selama penyimpanan spermatozoa akibat pembentukan asam laktat. Menurut Toelihere (1985), pembentukan asam laktat merupakan hasil dari metabolisme spermatozoa sehingga dengan kestabilan pH, spermatozoa mampu mempertahankan hidupnya. Penelitian ini juga menambahkan madu pada bahan pengencer. Madu diketahui mengandung zat antibiotik (Rasyidi, 2010). Toelihere (1985) menyatakan antibiotik yang ditambahkan ke dalam semen yang telah diencerkan akan meningkatkan daya tahan hidup spermatozoa.

Tabel 1. Rata-rata persentase hidup spermatozoa ikan patin

Perlakuan	Rata-rata presentase hidup (%)
A	70,97 ± 6,30 ^a
B	75,02 ± 2,63 ^a
C	72,63 ± 3,57 ^a
D	71,89 ± 4,49 ^a
E	71,77 ± 4,17 ^a
F	71,27 ± 4,65 ^a

Keterangan :

Superskrip yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

A = Perlakuan dengan pengencer NaCl fisiologis dan 0,6% madu

B = Perlakuan dengan pengencer 19,4% air kelapa muda dan 0,6% madu

C = Perlakuan dengan pengencer 39,4% air kelapa muda dan 0,6% madu

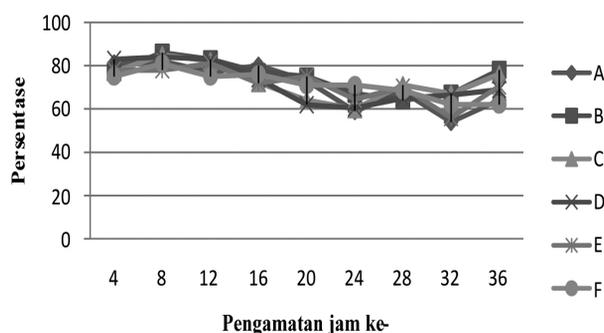
D = Perlakuan dengan pengencer 59,4% air kelapa muda dan 0,6% madu

E = Perlakuan dengan pengencer 79,4% air kelapa muda dan 0,6% madu

F = Perlakuan dengan pengencer 99,4% air kelapa muda dan 0,6% madu

Tabel 1. menunjukkan persentase hidup spermatozoa selama penyimpanan dengan berbagai konsentrasi air kelapa muda yaitu 70,97%-75,02%. Hal ini menunjukkan persentase hidup spermatozoa lebih baik dibandingkan dengan hasil penelitian Sunarma (2007) yang menggunakan madu 0,5% dan dimethyl sulfoxide 15% pada ikan nilam dengan persentase hidup spermatozoa sebesar 63,33%. Perlakuan menggunakan air kelapa muda maupun tanpa penambahan air kelapa muda tidak mempengaruhi persentase hidup spermatozoa, diduga semen yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kualitas yang baik.

Berdasarkan Gambar 1. grafik persentase hidup spermatozoa ikan patin diketahui persentase hidup spermatozoa yang tinggi pada pengamatan jam



Gambar 1. Grafik presentase hidup spermatozoa ikan patin

ke-4, jam ke-8 dan jam ke-12 diduga pada awal penelitian sumber energi yang tersedia masih cukup untuk mempertahankan persentase hidup. Terjadi penurunan persentase hidup spermatozoa pada pengamatan jam ke-16 hingga jam ke-24 diduga akibat berkurangnya sumber energi bagi spermatozoa. Hal ini juga sejalan dengan pendapat Kusuma (1990) dalam Hasibuan (2009), metabolisme spermatozoa yang menyebabkan cadangan makanan berkurang dan elektrolit larutan menjadi tidak seimbang sehingga spermatozoa mengalami kelelahan dan mati.

Soehartojo (1995) dalam Hidayaturrehman (2007) menyatakan, bahan utama yang dimanfaatkan spermatozoa sebagai sumber energi dari luar testis adalah fruktosa yang mampu mengurangi kecepatan rusaknya permeabilitas spermatozoa, sehingga kebutuhan akan nutrisi dan energi yang berupa ATP tidak terhambat sehingga spermatozoa dapat bertahan lama. Dalam keadaan normal energi yang dilepaskan dapat dipakai sebagai energi mekanik (pergerakan) atau sebagai energi kimiawi (biosintesa), jika tidak dipergunakan akan menghilang sebagai panas. Apabila persediaan energi habis, maka kontraksi fibril-fibril spermatozoa akan terhenti dan spermatozoa tidak bergerak. Untuk melangsungkan pergerakan kembali, ATP dan ADP harus dibangun kembali dengan penambahan gugusan phosphoryl yang membutuhkan sumber energi dari luar.

Tabel 2. Rata-rata lama gerak spermatozoa ikan patin

Perlakuan	Rata-rata presentase hidup (%)
A	80,86 ± 8,89 ^b
B	103,5 ± 15,67 ^a
C	92,11 ± 7,42 ^a
D	104,46 ± 10,62 ^a
E	104,03 ± 9,90 ^a
F	108,25 ± 5,32 ^a

Keterangan :

Superskrip yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

A = Perlakuan dengan pengencer NaCl fisiologis dan 0,6% madu

B = Perlakuan dengan pengencer 19,4% air kelapa muda dan 0,6% madu

C = Perlakuan dengan pengencer 39,4% air kelapa muda dan 0,6% madu

D = Perlakuan dengan pengencer 59,4% air kelapa muda dan 0,6% madu

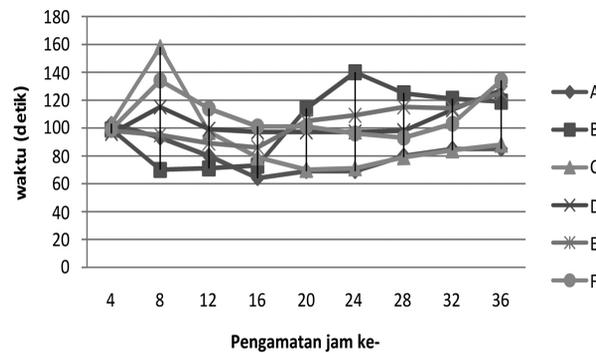
E = Perlakuan dengan pengencer 79,4% air kelapa muda dan 0,6% madu

F = Perlakuan dengan pengencer 99,4% air kelapa muda dan 0,6% madu

Pengamatan lama gerak dimulai dari bergeraknya spermatozoa pada media air hingga spermatozoa berhenti bergerak. Berdasar Tabel 2. lama gerak spermatozoa tertinggi pada perlakuan 99,4% air kelapa muda (F) yaitu 108,25 detik. Hal ini diduga karena perlakuan F mengandung konsentrasi air kelapa muda lebih banyak dibanding kandungan air kelapa muda pada perlakuan A, B, C, D dan E. Fruktosa yang terkandung dalam air kelapa muda dan madu dijadikan sebagai sumber energi dimanfaatkan oleh spermatozoa untuk bergerak. Sehingga saat sumber energi spermatozoa pada perlakuan lainnya telah habis namun pada perlakuan F sumber energi masih tersedia sehingga spermatozoa masih dapat bertahan hidup.

Lama gerak spermatozoa pada perlakuan F tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, C, D dan E yang menggunakan bahan pengencer air kelapa muda dengan konsentrasi 19,4% - 99,4% ditambah madu 0,6% akan menghasilkan lama gerak spermatozoa yang sama. Sedangkan perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B, C, D, E dan F. Lama gerak spermatozoa perlakuan tanpa penambahan air kelapa muda (A) yaitu 80,86 detik. Terbatasnya kandungan monosakarida pada perlakuan A yang menggunakan pengencer NaCl fisiologis mengakibatkan rendahnya pemanfaatan sumber energi untuk pergerakan spermatozoa. Menurut Tilman (1985) dalam Nugroho (2007), kekurangan sumber energi pada bahan pengencer dapat mengurangi pergerakan spermatozoa, daya membuahi dan jumlah spermatozoa yang hidup. Musrinsalila (2009) dalam Condro (2010) menyatakan glukosa maupun fruktosa dalam proses glikolisis memerlukan magnesium (Mg) sebagai kofaktor pada beberapa tahap proses glikolisis untuk menghasilkan ATP dan ADP bagi spermatozoa. Magnesium terkandung dalam air kelapa muda dan madu.

Berdasarkan Gambar 2., lama gerak spermatozoa ikan patin pada jam ke 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 dan 36 yaitu 99,67 detik, 110,83 detik, 91,67 detik, 83,33 detik, 92,67 detik, 97 detik, 98,3 detik, 103,3 detik dan 113 detik. Hasil penelitian tersebut menunjukkan lama gerak spermatozoa berada dalam kisaran normal karena menurut Effendy (1997) dalam Hidayaturrehman (2007) lama gerak spermatozoa secara normal berkisar antara 1-2 menit. Berdasarkan pengamatan diketahui lama gerak mulai mengalami penurunan pada jam ke-12 dan jam ke-16 dan lama gerak kembali meningkat pada pengamatan jam ke-20 hingga jam ke-36. Penurunan lama gerak tersebut diduga karena pola pemanfaatan energi oleh spermatozoa.



Gambar 1. Grafik lama gerak spermatozoa ikan patin

Kesimpulan

Penggunaan air kelapa muda dan madu sebagai pengencer tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa ikan patin (*Pangasius pangasius*).

Penggunaan air kelapa muda dan madu sebagai pengencer berpengaruh terhadap lama hidup spermatozoa ikan patin (*Pangasius pangasius*).

Bahan pengencer dengan konsentrasi 99,4% air kelapa muda dan 0,6% madu dapat mempengaruhi lama hidup spermatozoa ikan patin (*Pangasius pangasius*).

Bahan pengencer yang berasal dari air kelapa muda dengan konsentrasi 99,4% dan madu 0,6% dapat dimanfaatkan oleh pembudidaya ikan patin untuk meningkatkan lama hidup spermatozoa selama penyimpanan.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan fertilisasi spermatozoa yang telah disimpan menggunakan bahan pengencer air kelapa muda dan madu.

Daftar Pustaka

- Faridah, N., Astiawan., A. Kurniawan., V. Yuniar., W. C. Pamungkas. 2008. Pertumbuhan Ikan Patin Yang Diberi Pakan Keong Mas Hasil Pelunakan Dengan Ekstrak Daun Pepaya Sebagai Sumber Protein Tambahan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hidayatullah. 2010. Sperma. <http://www.bdp45.co.cc>. 09/10/2010. 2 hal.
- Hidayaturrahmah. 2007. Waktu Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Pada Beberapa Konsentrasi Larutan Fruktosa. Bioscientiae, 4 (1) : 9-18.
- Saparinto, C. 2010. Usaha Ikan Konsumsi di Lahan 100 m². Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sunarma, A., D. W. B. Hastuti dan Y. Sistina. 2007. Penggunaan ekstender madu yang dikombinasikan dengan krioprotektan berbeda pada pengawetan sperma ikan nilam (*Osteochilus hasseltii*). Konferensi aquaculture Indonesia. 10 pp.
- Suranto, Adji. 2004. Khasiat dan Manfaat Madu Herbal. Agromedia Pustaka. Jakarta. hal. 25-36.
- Toelihere, M. R. 1985. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Zilli, L., R. Schiavone., C. Storelli and S. Vilella. 2008. Effect of Cryopreservation on Phosphorylation State of Proteins Involved in Sperm Motility Initiation In Sea Bream. Cryobiology, 57 : 150-155.
- Barlina, R. 2004. Potensi Buah Kelapa Muda Untuk Kesehatan dan Pengolahannya. Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain, Manado, Perspektif, III (2) : 46-60.
- Condro, H. S. 2010. Pengaruh Penambahan Madu Pada Media Pengencer NaCl Fisiologis Dalam Proses Penyimpanan Sperma Terhadap Kualitas Sperma Ikan Komet (*Carassius auratus*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya.

