

Perbandingan Kualitas Spermatozoa Ikan Lele Masamo (*Clarias sp.*) Pada Media Pengencer Yang Berbeda Selama Penyimpanan Pada Suhu 4-5°C

*Comparison of Spermatozoa Quality of Masamo Catfish (*Clarias sp.*) In Different Extender During Short-Term Preservation*

Dhea Auryn Savitri*, Nur Ducha

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: dhea.17030244045@mhs.unesa.ac.id

Abstrak. Kebutuhan masyarakat akan konsumsi ikan lele sangat tinggi sehingga diperlukan penyediaan benih yang cukup banyak. Salah satu upaya untuk menyediakan benih adalah dengan melakukan pengenceran semen agar sel telur yang dibuahi lebih banyak. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui media pengencer terbaik dalam menjaga kualitas spermatozoa ikan lele Masamo selama penyimpanan pada suhu 4-5°C. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan lima kali pengulangan, yaitu tanpa pengencer (TP), *Ginsburg Fish Ringer* (GF), NaCl 0,9% (NA) dan *Immobilizing Saad* (IS). Semen segar diencerkan dengan rasio pengenceran 1:5 dengan media pengencer yang berbeda. Parameter yang diukur meliputi motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan lele Masamo. Data dianalisis menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan dilanjutkan dengan uji ANAVA satu arah dan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media *Immobilizing Saad* mampu mempertahankan persentase motilitas selama penyimpanan 0, 1, 24 dan 48 jam masing-masing sebesar 88,00% ± 3,71; 87,00% ± 3,26; 78,50% ± 3,79; 12,50% ± 3,54 dan persentase viabilitas masing-masing sebesar 91,29% ± 1,55; 89,19% ± 2,18; 81,95% ± 1,99; 58,93% ± 3,01. Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa media pengencer *Immobilizing Saad* merupakan media pengencer terbaik dalam mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan lele Masamo selama penyimpanan pada suhu 4-5°C.

Kata kunci: ikan lele Masamo; media pengencer; motilitas spermatozoa; viabilitas spermatozoa

Abstract. The community's need for catfish consumption is very high, so it is necessary to provide enough semen. An effort to provide semen is diluting the semen so that more eggs are fertilized. The study aimed to determine the best extender in maintaining spermatozoa quality of Masamo catfish during short-term preservation. This study used a Completely Randomized Design (CRD) with four treatments and five repetitions, namely without an extender (TP), *Ginsburg Fish Ringer* (GF), 0.9% NaCl (NA), and *Immobilizing Saad* (IS). Fresh semen was diluted at a 1:5 ratio with different extenders. Motility and viability of Masamo catfish spermatozoa were measured. Data were analyzed with the *Kolmogorov-Smirnov* test and continued with the one-way ANOVA and Duncan's tests. The results showed that the *Immobilizing Saad* media was able to maintain the average percentage of motility during 0, 1, 24 and 48 hours storage are 88.00% ± 3.71; 87.00% ± 3.26; 78.50% ± 3.79; 12.50% ± 3.54 respectively and average viability percentages were 91.29% ± 1.55, 89.19% ± 2.18, 81.95% ± 1.99, 58.93% ± 3.01 respectively. Based on the research, it can concluded that *Immobilizing Saad* extender is the best extender to maintain the motility and viability of Masamo catfish spermatozoa during short-term preservation.

Key words: Masamo catfish; extender; sperm motility; sperm viability

PENDAHULUAN

Perikanan budidaya di Indonesia merupakan sektor perikanan dengan prospek lebih baik dibandingkan dengan sektor perikanan tangkap. Perikanan budidaya merupakan produksi ikan yang kondisinya sebagian dikelola dan dikendalikan oleh manusia seperti pengembangbiakan spesies ikan yang diinginkan, peningkatan mutu dengan kawin silang dan seleksi, pembasmian hama dan penggunaan pakan pilihan untuk peningkatan mutu ikan (Eer dkk., 2004). Prospek yang lebih baik tersebut dapat dilihat dari pernyataan Nainggolan dkk. (2019) bahwa volume produksi sektor perikanan budidaya pada tahun 2012-2017 mengalami peningkatan rata-rata sebesar 14,16%, sedangkan volume produksi perikanan tangkap pada tahun 2012-2017 hanya mengalami peningkatan rata-rata sebesar 8,70%.

Salah satu komoditas unggulan perikanan budidaya yaitu ikan lele Masamo (*Clarias sp.*). Ikan lele Masamo adalah ikan yang diperoleh dari kombinasi plasma nutfah 7 strain ikan lele dari berbagai negara (Abidin dkk., 2016). Ikan lele merupakan ikan air tawar yang kulit tubuhnya licin, tidak bersisik dan berlendir. Ikan lele memiliki banyak kelebihan, diantaranya adalah kandungan gizi yang tinggi (protein (15,6 g/ekor), vitamin B-12, asam lemak omega-3 (220 mg/ekor), asam lemak omega-6 (875 mg/ekor), rendah kalori dan lemak (122 kal dan 6,1 g/100 gram ikan lele), rendah merkuri (Santoso dkk., 2019), pertumbuhan yang relatif cepat dan memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi (Suyanto, 2006). Selain itu, ikan lele relatif mudah untuk dibudidayakan karena memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi sehingga dapat bertahan hidup pada tempat dengan kondisi yang kurang baik seperti sungai, sawah, rawa maupun tempat yang kurang oksigen seperti di tempat berlumpur (Rahmawati dkk., 2021). Kemampuan adaptasi ikan lele ini dikarenakan adanya organ *arborescent* sehingga ikan lele dapat menghirup udara secara langsung (Mohamed, 2012) dan meningkatkan toleransi mereka terhadap kondisi DO yang merugikan (Coniza dkk., 2003).

Untuk memenuhi tingginya kebutuhan masyarakat akan ketersediaan ikan lele, maka diperlukan ketersediaan benih dengan jumlah dan kualitas yang memadai. Ketersediaan benih ikan dapat diperoleh secara alami dan buatan. Menurut Devi dkk. (2019), upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi benih yaitu dengan melakukan pengenceran spermatozoa agar lebih banyak telur yang dapat dibuahi. Alasan lain diperlukan proses pengenceran sperma adalah karena kualitas sperma (persentase viabilitas, persentase motilitas, durasi motilitas dan durasi viabilitas) akan terus menurun setelah proses ejakulasi sehingga diperlukan upaya untuk menjaga kualitasnya (Rustidja, 2000). Metode pengenceran sperma ini membutuhkan media pengencer. Media pengencer mengandung bahan organik dan anorganik yang memiliki kegunaan untuk menambah volume semen (Ducha dkk., 2018), memperpanjang durasi penyimpanan spermatozoa, mengurangi kerapatan antar spermatozoa (Handoko dkk., 2018) dan mencegah inisiasi aktivasi sperma (Vuthiphandchai dkk., 2021). Rustidja (2000) menambahkan media pengencer berfungsi untuk memperkecil aktivitas spermatozoa, memperpanjang dan mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa pada saat penyimpanan. Selain itu, menurut Kusumawati dan Leondro (2014), bahan pengencer memiliki persyaratan seperti memiliki kandungan nutrisi untuk mendukung kebutuhan spermatozoa saat penyimpanan, tidak beracun bagi spermatozoa, bersifat seperti larutan penyangga (*buffer*), memungkinkan spermatozoa untuk bergerak secara progresif dan menjaga spermatozoa dari kejutan suhu dingin (*cold shock*).

Setiap media pengencer harus mampu mempertahankan kualitas spermatozoa dan memperpanjang durasi penyimpanan setelah dilakukan proses pengenceran (Solihati dan Kune, 2009). Terdapat beberapa pengencer semen ikan yang sudah cukup banyak digunakan dan dikembangkan oleh peneliti-peneliti sebelumnya, seperti NaCl (Hijriana, 2014; Mukti dkk., 2020), media *Immobilizing Saad* (Maria dkk., 2006; Dokpong, 2010), media KCl (Agarwal dkk., 2013; Raghuvanshi dkk., 2019), *fish ringer* (Abinawanto dkk., 2021; Alam dkk., 2018), *Hanks' Balanced Salt Solution* (HBSS) (Caldas dkk., 2020; Culpepper dkk., 2018; Yang dkk., 2020) dan Kurokura (Cheng dkk., 2021; Shaliutina-Kolešová dkk., 2019; Du dkk., 2018).

Media NaCl 0,9% memiliki karakteristik yang serupa dengan larutan penyangga (*buffer*), isotonis terhadap plasma semen dan dapat menjaga pH semen dari perubahan pH (Arsetyo, 2012; Ansel dan Prince, 2004), melindungi spermatozoa dari *coldshock* dan sebagai penyeimbang elektron (Nilna, 2010). Media NaCl ini memiliki penanganan yang mudah, tersedia di mana-mana dan biayanya murah (Billich dkk., 2008). Media pengencer ringer merupakan salah satu media pengencer yang umum digunakan karena mudah untuk disiapkan. Media ringer umum digunakan pada spermatozoa ikan air tawar, tetapi media ringer yang telah dimodifikasi dapat digunakan sebagai media pengencer spermatozoa ikan air laut (Muchlisin, 2005). Media ringer merupakan larutan yang bersifat poliionik, non-alkalinisasi, isotonik dan kristaloid yang seimbang dan mengandung ion fisiologis seperti Na^+ , K^+ , Ca^{2+} dan Cl^- (El-Ashker, 2014). Media ringer memiliki pH 7,9 yang mirip dengan pH seminal plasma sehingga dapat mempertahankan motilitas dalam jangka waktu yang lama (Muchlisin dkk., 2004), sedangkan media *Immobilizing Saad* merupakan media pengencer yang mengandung tris yang mampu melindungi spermatozoa dari *coldshock* dengan cara menjaga keseimbangan elektrolit intraseluler dan ekstraseluler untuk keberlangsungan proses kimia di dalam spermatozoa sehingga dapat mengurangi kematian spermatozoa secara berlebih (Tambing dkk., 2000). Selain itu, tris merupakan regulator pH (Gadea, 2003), yang melindungi spermatozoa dari perubahan konsentrasi ion hidronium dan ion hidroksida, memiliki pH yang mirip dengan sebagian besar sel hidup, lebih murah dari penyangga lain dan sangat larut dalam air (Namula dkk., 2019).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Maria dkk. (2006), semen ikan Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) yang diencerkan dalam media pengencer *Immobilizing Saad* memiliki nilai motilitas tertinggi (80%) setelah penyimpanan dingin selama 24 jam. Penelitian Handoko dkk. (2018) menunjukkan bahwa spermatozoa yang diencerkan dan disimpan pada suhu 4-5°C akan mengalami penurunan nilai motilitas dan durasi motilitas seiring dengan lama waktu penyimpanan. Penggunaan media pengencer KCl (*saline solution*) merupakan media pengencer yang paling baik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa hingga hari ke-7 penyimpanan pada suhu 4-5°C dengan nilai rata-rata persentase motilitas sebesar 28,00%±4,67. Pada penelitian ini digunakan 3 macam media pengencer yang berbeda, yaitu media pengencer NaCl 0,9%, *Immobilizing Saad* dan *Ginsburg Fish Ringer* untuk membandingkan kualitas semen ikan lele Masamo setelah penyimpanan pada suhu 4-5°C. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh macam media pengencer terhadap kualitas spermatozoa ikan lele Masamo dan jenis media pengencer manakah yang paling baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa ikan lele Masamo.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian menggunakan empat perlakuan dengan lima kali pengulangan, yaitu tanpa penambahan media pengencer (TP), media pengencer NaCl 0,9 % (NA), *Immobilizing Saad* (IS) dan *Ginsburg Fish Ringer* (GF). Lama waktu penyimpanan spermatozoa yang digunakan yaitu 0, 1, 24 dan 48 jam penyimpanan dalam suhu 4-5°C.

Alat dan bahan yang digunakan pada proses pembuatan media pengencer adalah tabung erlenmeyer, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, gelas ukur, aluminium foil, membran *milipore*, *laminar air flow*, ddH₂O/ akuades, NaCl 154 mM (0,9%), NaCl 200 mM dan tris 30 mM (media *Immobilizing Saad*) dan NaCl 123.2 mM; KCl 3.75 mM; CaCl₂ 3.0 mM; NaHCO₃ 2.65 mM (media *Ginsburg Fish Ringer*). Alat dan bahan yang digunakan pada proses koleksi dan preparasi semen adalah *waterbath*, tabung sentrifugasi, gelas ukur, aluminium foil, mikropipet, mikrotip, *syringe*, kertas indikator pH, membran *milipore*, *laminar air flow*, mikroskop cahaya, kaca objek (*object glass*), kaca penutup (*cover glass*), alat bedah (*dissecting set*), termometer, batang pengaduk, *hand counter*, media pengencer, dan pewarnaan eosin-nigrosin.

Pembuatan media pengencer dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* agar steril dan untuk mencegah adanya kontaminasi kotoran dan bakteri. Media NaCl 0,9% merupakan larutan isotonis yang dibuat dengan cara melarutkan 0,9 gram kristal NaCl ke dalam 100 ml akuades (Diarti dkk., 2016). Media *Ginsburg Fish Ringer* dibuat dengan cara melarutkan 3,25 g NaCl, 0,125 g KCl, dan 0,175 g CaCl₂·2H₂O dalam 450 ml ddH₂O steril, kemudian ditambahkan 0,10 g NaHCO₃ dan ddH₂O steril sampai volume akhirnya 500 ml (Draper dan Moens, 2009). Media *Immobilizing Saad* dibuat dengan cara melarutkan 11,7 gram NaCl dan 3,63 gram tris dalam 450 ml ddH₂O steril. Setelah larut kemudian ditambahkan ddH₂O steril sampai volume akhirnya 500 ml (Maria dkk., 2006). Media pengencer yang telah dibuat kemudian difiltrasi dengan menggunakan membran *milipore* dan disimpan di dalam *refrigerator* pada suhu 4-5°C

Semen segar diperoleh dari lele Masamo jantan usia ±2 tahun yang sudah matang gonad dan diperoleh dari pembudidaya ikan di daerah Bangkalan, Madura. Proses koleksi sperma ikan lele dilakukan dengan metode pembedahan. Hal ini dikarenakan ukuran testis yang relatif kecil dan bentuk gerigi pada saluran kantong sperma (*seminal vesicles*) menyebabkan koleksi sperma tidak dapat dilakukan secara *stripping* (Bertha dkk., 2016). Semen dikoleksi dengan cara membedah perut ikan menggunakan alat bedah (*dissecting set*) secara membujur sampai bagian anus kemudian diambil kantong spermanya. Kantong sperma kemudian dibersihkan dengan tisu sampai kering dari sisa darah yang menempel. Kantong sperma yang sudah bersih kemudian dihancurkan dengan cara digunting menggunakan gunting bedah dan diambil semennya menggunakan *syringe* tanpa jarum dan ditempatkan dalam tabung sentrifugasi steril dan ditutup dengan aluminium foil.

Semen yang telah dikoleksi kemudian dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis sebelum diencerkan. Evaluasi makroskopis dilakukan dengan cara pengamatan kondisi fisik semen secara langsung seperti pH, warna, bau dan konsistensi semen. Evaluasi mikroskopis dilakukan melalui pengamatan kualitas spermatozoa (motilitas massa, motilitas individu dan viabilitas spermatozoa) menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.

Semen yang telah dievaluasi kualitasnya kemudian diencerkan dengan rasio pengenceran 1:5 (semen:media pengencer) menggunakan media pengencer sesuai dengan perlakuan. Pengenceran semen dilakukan di dalam *waterbath* pada suhu 37°C, kemudian dimasukkan ke dalam *refrigerator*

bersuhu 4-5°C dengan menggunakan metode *water jacket* untuk menghindari terjadinya *cold shock* dan dilakukan penyimpanan selama 0, 1, 24 dan 48 jam. Pemilihan waktu penyimpanan hingga 48 jam dikarenakan untuk menghindari adanya kemungkinan pertumbuhan bakteri yang dapat mempengaruhi kualitas media pengencer (Maria dkk., 2006).

Semen yang telah diencerkan sesuai perlakuan dievaluasi kualitasnya secara mikroskopis meliputi pengamatan motilitas dan pengamatan viabilitas. Motilitas spermatozoa diamati dengan meneteskan semen pada kaca objek (*object glass*) kemudian ditutup dengan kaca penutup (*cover glass*) lalu diamati menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Penilaian dilakukan berdasarkan metode Garner dan Hafez (2008) yaitu dengan membandingkan spermatozoa yang bergerak maju (progresif) dengan spermatozoa yang bergerak mundur dan hanya diam (imotil).

Pengamatan viabilitas dilakukan dengan meneteskan semen pada bagian ujung kaca objek (*object glass*) dan meneteskan pewarna eosin-nigrosin kemudian mencampurkannya. Penggunaan pewarna eosin-nigrosin memiliki keuntungan yaitu dapat dibuat preparat apusan permanen dan nigrosin memberikan warna latar yang gelap sehingga mudah untuk membedakan spermatozoa yang hidup dan mati (Ducha dkk., 2018). Semen yang telah tercampur dengan pewarna kemudian dibuat preparat apusan dengan cara menempelkan ujung kaca objek (*object glass*) lain pada campuran semen pada sudut 45° kemudian diratakan hingga menjadi preparat tipis. Preparat kemudian dikering anginkan dan diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Perhitungan viabilitas diperoleh dari jumlah spermatozoa hidup per jumlah total spermatozoa dikali 100%. Spermatozoa yang hidup tidak menghisap warna, sedangkan spermatozoa yang mati akan menghisap warna karena eosin akan menembus membran sel yang rusak. Hal ini diakibatkan oleh membran plasma yang rusak pada spermatozoa mati kehilangan sifat semi-permeabilitasnya dan membentuk pori-pori kecil yang memungkinkan untuk zat warna dapat menembus ke dalam sel yang biasanya tidak dapat ditembus karena adanya membran plasma (Sharma dan Agarwal, 2021).

Data penelitian yang diperoleh ditransformasi menggunakan transformasi arcsin dan dilakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Data selanjutnya dilakukan uji ANAVA satu arah untuk mengetahui pengaruh dari suatu faktor (penggunaan media pengencer yang berbeda) terhadap variabel dependen (motilitas dan viabilitas spermatozoa), dilanjutkan dengan uji beda nyata menggunakan uji Duncan untuk menguji perbedaan diantara seluruh pasangan perlakuan yang mungkin terlepas dari jumlah perlakuan yang digunakan dengan tetap mempertahankan taraf nyata yang ditentukan dengan program SPSS.

HASIL

Berdasarkan pada analisis semen segar yang telah dilakukan, diketahui semen segar yang digunakan dalam penelitian ini memiliki volume 1,2 ml, motilitas individu sebesar 85% dan motilitas massa ++. Berdasarkan pada hasil uji makroskopis dan makroskopis, maka semen layak untuk diproses lebih lanjut, yaitu pengenceran penyimpanan pada suhu 4-5°C. Hal ini sejalan dengan pernyataan Raafi (2018) bahwa syarat semen untuk dapat dilakukan penyimpanan adalah semen dengan nilai motilitas individu $\geq 70\%$ dan motilitas massa ++.

Nilai rata-rata persentase motilitas \pm SD dan rata-rata persentase viabilitas \pm SD didapatkan setelah dilakukan pengamatan dan hasil yang didapat dianalisis. Hasil analisis dengan menggunakan uji Duncan ($\alpha=0,05$) menunjukkan bahwa nilai rata-rata persentase motilitas dengan menggunakan berbagai macam media pengencer berbeda nyata dilihat dari adanya perbedaan notasi (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil rata-rata persentase motilitas \pm SD spermatozoa ikan lele Masamo dengan berbagai macam media pengencer

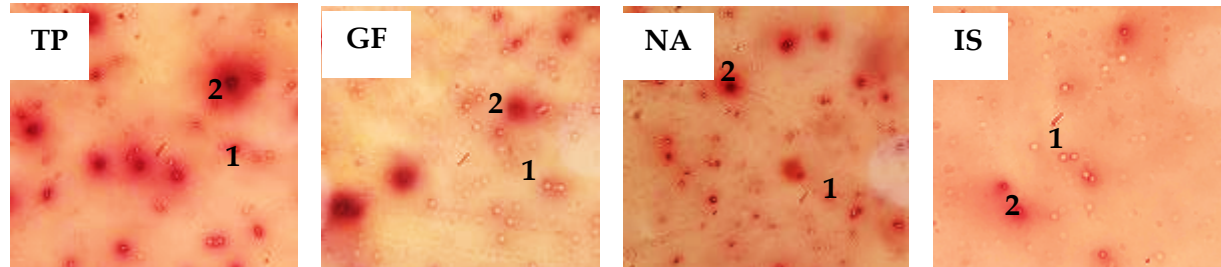
Perlakuan	Rata-rata motilitas (%) + SD			
	Jam 0	Jam 1	Jam 24	Jam 48
Tanpa pengencer	88,50 \pm 2,85 ^a	76,00 \pm 3,79 ^b	36,00 \pm 4,87 ^b	5,00 \pm 2,5 ^b
Media Ginsburg Fish Ringer	87,00 \pm 3,26 ^a	65,50 \pm 3,26 ^a	26,50 \pm 2,85 ^a	1,50 \pm 2,24 ^a
Media NaCl 0,9%	87,00 \pm 3,26 ^a	86,00 \pm 4,54 ^c	52,50 \pm 3,95 ^c	2,00 \pm 1,12 ^{ab}
Media Immobilizing Saad	88,00 \pm 3,71 ^a	87,00 \pm 3,26 ^c	78,50 \pm 3,79 ^d	12,50 \pm 3,54 ^c

Keterangan: notasi dengan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$)

Hasil rata-rata persentase motilitas pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pada jam ke-0 tidak terdapat perbedaan nyata antar perlakuan. Motilitas tertinggi mulai dari jam ke-1 sampai jam ke-48 adalah perlakuan dengan penggunaan media pengencer *Immobilizing Saad* dengan motilitas pada jam

ke-1 yaitu 87% dan pada jam ke-48 yaitu 12,5%. Nilai rata-rata persentase motilitas terus menurun dan mengalami penurunan drastis pada jam ke-48. Motilitas terendah mulai dari jam ke-1 sampai jam ke-48 adalah perlakuan dengan penggunaan media pengencer *Ginsburg Fish Ringer* dengan motilitas pada jam ke-1 yaitu 65,5% dan pada jam ke-48 yaitu 1,5%.

Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan metode pewarnaan eosin-nigrosin. Spermatozoa yang hidup tidak menghisap warna, sedangkan spermatozoa yang mati akan menghisap warna. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 2.



Gambar 1. Viabilitas spermatozoa setelah pengenceran dengan pengencer berbeda pada perbesaran 400x.
Keterangan : spermatozoa hidup (1); spermatozoa mati (2); TP= tanpa perlakuan, GF= *Ginsburg Fish Ringer*, NA= NaCl 0,9%, IS= *Immobilizing Saad* (Sumber : dokumentasi pribadi)

Tabel 2. Hasil rata-rata persentase viabilitas \pm SD spermatozoa ikan lele Masamo dengan media pengencer berbeda

Perlakuan	Rata-rata viabilitas (%) + SD			
	Jam 0	Jam 1	Jam 24	Jam 48
Tanpa pengencer	88,76 ^{ab} \pm 2,17	80,55 ^a \pm 2,88	42,39 ^b \pm 3,71	18,67 ^a \pm 1,06
Media Ginsburg Fish Ringer	87,57 ^a \pm 1,93	79,40 ^a \pm 1,79	37,03 ^a \pm 3,36	19,79 ^a \pm 2,24
Media NaCl 0,9%	89,17 ^{ab} \pm 2,34	86,36 ^b \pm 1,27	61,02 ^c \pm 2,34	41,65 ^b \pm 3,09
Media Immobilizing Saad	91,29 ^c \pm 1,55	89,19 ^c \pm 2,18	81,95 ^d \pm 1,99	58,93 ^c \pm 3,01

Keterangan: notasi dengan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0.05$)

Berdasarkan hasil rata-rata persentase viabilitas pada Tabel 2 menunjukkan bahwa viabilitas tertinggi mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-48 adalah perlakuan dengan penggunaan media pengencer *Immobilizing Saad* dengan viabilitas pada jam ke-0 yaitu 91,29% dan pada jam ke-48 yaitu 58,93%. Nilai rata-rata persentase viabilitas terus menurun dan terjadi penurunan drastis pada jam ke-48. Viabilitas terendah pada jam ke-0 adalah perlakuan dengan penggunaan media pengencer *Ginsburg Fish Ringer* yaitu 87,57% dan viabilitas terendah pada jam ke-48 adalah perlakuan dengan tanpa penggunaan media pengencer yaitu 18,67%.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan jenis media pengencer yang berbeda berpengaruh pada motilitas dan viabilitas spermatozoa pada saat penyimpanan. Berdasarkan pada uji Duncan ($\alpha = 0.05$) pada motilitas menunjukkan bahwa pada jam ke-0 tidak terdapat perbedaan nyata antar perlakuan. Hal ini karena ikan merupakan hewan berdarah dingin (poikiloterm) yang ketika spermatozoanya disimpan tanpa dilakukan pengenceran pada suhu 4-5°C tidak akan mengalami kejutan suhu dingin (*cold-shock*). Hal ini sama dengan pernyataan Cabrita dkk. (2009) bahwa spermatozoa ikan dapat disimpan tanpa dilakukan pengenceran terlebih dahulu pada suhu 4-5°C karena tidak seperti spermatozoa mamalia, spermatozoa hewan akuatik tidak akan mengalami kejutan suhu dingin (*cold-shock*) saat penyimpanan.

Berdasarkan pada Tabel 1 dan 2, dapat diketahui bahwa terdapat penurunan nilai rata-rata persentase motilitas dan viabilitas pada setiap perlakuan setiap jamnya, dan penurunan paling drastis terjadi pada jam ke-48. Hal ini diakibatkan oleh beberapa hal seperti semakin berkurangnya cadangan nutrisi dan energi pada media pengencer dan terjadinya peningkatan pH semen selama masa penyimpanan yang menyebabkan kerusakan dan kematian spermatozoa (Solihati dan Kune, 2009). Pergerakan spermatozoa membutuhkan energi yang disediakan oleh ATP dan energi tersebut digunakan oleh dynein ATP-ase yang terletak di dalam aparatus motil flagela (aksonema) (Inaba dkk., 1999). Hal ini menyebabkan tingginya kebutuhan ATP dalam sperma untuk memodulasi motilitas sperma (Ziętara dkk., 2004). Spermatozoa ikan lele memiliki tingkat ATP dan muatan energi adenilat

(adenylate energy charge/AEC) yang rendah sehingga diperlukan tambahan substrat energi untuk mempertahankan motilitas spermatozoa (Rurangwa dkk., 2002; Mansour dkk., 2003). Selain itu, kondisi penyimpanan dingin yang lama juga dapat mempengaruhi motilitas dan viabilitas spermatozoa. Hal ini karena kondisi lingkungan yang anaerobik dan adanya kontaminasi mikroba. Penambahan antibiotik dalam jumlah yang tepat dapat meningkatkan kelangsungan hidup spermatozoa yang disimpan dalam suhu 4-5 °C dengan cara mencegah adanya infeksi bakteri pada spermatozoa yang dapat menyebabkan kematian spermatozoa (Rurangwa dkk., 2004).

Berdasarkan penelitian ini, perlakuan dengan penggunaan media pengencer *Immobilizing Saad* merupakan media pengencer optimal yang dapat mempertahankan persentase motilitas hingga $12,50 \pm 3,54\%$ setelah 48 jam penyimpanan. Media pengencer *Immobilizing Saad* memiliki tekanan osmolaritas yang mendekati tekanan osmolaritas cairan sperma ikan lele, sehingga tidak merusak membran sperma dan sperma tetap dalam keadaan diam atau tidak aktif. He dan Woods (2003) menyatakan bahwa sperma akan tetap diam ketika berada pada media yang bersifat isotonik dan menjadi motil ketika media bersifat hipo-osmotik pada ikan air tawar dan hiper-osmotik pada ikan air laut. Namun, lain halnya pada perlakuan dengan penggunaan media pengencer *Ginsburg Fish Ringer* yang diduga bersifat hiper-osmotik terhadap sperma sehingga menyebabkan terjadinya dehidrasi (air keluar dari sel) secara berlebihan dan sperma menjadi rusak. Natrium klorida yang digunakan sebagai bahan media pengencer memiliki pengaruh terhadap peningkatan nilai osmolaritas dan motilitas spermatozoa sehingga terjadi peningkatan durasi motilitas spermatozoa (Agarwal, 2011). Motilitas sperma juga dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti pH, kation, osmolalitas dan rasio pengenceran sperma, baik dalam lingkungan berair maupun media pengencer. Spermatozoa sebagian besar spesies ikan tidak bergerak dalam testis dan seminal plasma. Oleh karena itu, motilitas diinduksi setelah spermatozoa dilepaskan ke lingkungan berair selama reproduksi alami atau ke dalam pengencer selama reproduksi buatan (Alavi dan Cosson, 2006).

Faktor lain yang menentukan kualitas spermatozoa adalah nilai persentase viabilitas. Nilai persentase viabilitas menunjukkan jumlah spermatozoa yang hidup dan mati yang ditentukan oleh jumlah spermatozoa yang menyerap zat pewarna eosin. Spermatozoa yang hidup tidak akan terwarnai (transparan) sedangkan yang mati akan terwarnai. Hasil uji Duncan ($\alpha=0,05$) menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P>0,05$) pada viabilitas spermatozoa dengan menggunakan media pengencer yang berbeda. Hal ini ditunjukkan dengan notasi yang berbeda pada setiap perlakuan. Berdasarkan perlakuan yang telah dilakukan, perlakuan dengan penggunaan media *Immobilizing Saad* merupakan media yang dapat mempertahankan nilai viabilitas tertinggi. Rendahnya nilai persentase viabilitas pada perlakuan media pengencer *Ginsburg Fish Ringer* diakibatkan karena kurangnya cadangan nutrisi (monosakarida) pada media pengencer sehingga untuk mendukung kehidupan spermatozoa (Arfah dkk., 2015). Penggunaan energi untuk pergerakan dan proses biosintesis pada spermatozoa menyebabkan semakin berkurangnya jumlah nutrisi yang terkandung pada spermatozoa. Pernyataan ini sejalan dengan pendapat Solihati dkk. (2006) bahwa kerusakan membran spermatozoa dapat diakibatkan oleh terjadinya metabolisme spermatozoa yang menyebabkan semakin sedikit cadangan makanan dan cairan elektrolit yang tidak seimbang. Kerusakan membran spermatozoa ini diakibatkan karena adanya pertukaran larutan intraseluler dan ekstraseluler antara spermatozoa dengan media pengencer karena terdapat perbedaan konsentrasi. Liu dkk. (2012) juga menambahkan bahwa kerusakan pada integritas membran plasma dan fungsi mitokondria dapat menyebabkan ketidakstabilan membran spermatozoa dan mempengaruhi metabolisme energi oleh mitokondria yang sehingga mengakibatkan tingkat viabilitas yang rendah. Sperma ikan lele memiliki laju metabolisme yang sangat tinggi. Selama inkubasi imotil, sperma ikan lele memiliki tingkat respirasi yang rendah ($0,39-0,85 \mu\text{g}/\text{min}/\text{ml}$ semen) dan meningkat drastis hingga 15-25 kali lipat (Mansour dkk., 2003). Omitogun dkk. (2012) mengatakan bahwa laju metabolisme yang tinggi berarti penggunaan nutrisi dan energi yang juga tinggi sehingga menyebabkan semakin cepat terjadi akumulasi limbah dalam larutan pengencer tempat spermatozoa tersuspensi. Akumulasi limbah dapat mencapai tingkat toksik bagi spermatozoa yang dapat menyebabkan spermatozoa mati sehingga nilai viabilitas rendah.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa media pengencer yang berbeda memiliki pengaruh terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan lele Masamo. Media pengencer *Immobilizing Saad* merupakan media pengencer terbaik yang mampu mempertahankan motilitas dan viabilitas semen ikan lele Masamo pada suhu penyimpanan 4-5°C selama 48 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin Z, Handayani W dan Fattah M, 2016. Analysis of Masamo Catfish Marketing By Analytical Approach At Farmer Group "Sumber Lancar", Blimbing, Malang City. *ECSoFiM (Economic and Social of Fisheries and Marine Journal)*; 4(1): 90-104.
- Abinawanto A, Vardini N, Kristanto AH, Lestari R dan Bowolaksono A, 2021. Effect of Egg Yolk Of Free-Range Chicken And Methanol As A Cryoprotective Agent For The Sperm Preservation Of Cyprinid Fish, *Neolissochilus soroides* (Valenciennes, 1842). *Heliyon*; 7(10), e08158.
- Agarwal NK, 2011. Cryopreservation of Fish Semen. *Himalayan Aquatic Biodiversity Conservation and New Tools in Biotechnology*. 1st ed. Transmedia Publication, Uttarakhand; 104-127.
- Agarwal NK, Saini V, dan Raghuvanshi SK, 2013. Characterization And Short-Term Storage Of Semen Of A Coldwater Himalayan Fish Species. *Biojournal*; 8(1): 1-8.
- Alam MA, Rahman SM, Yamamoto Y, Hattori RS, Suzuki T, Watanabe M dan Strüssmann CA, 2018. Optimization Of Protocols For Microinjection-Based Delivery Of Cryoprotective Agents Into Japanese Whiting Sillago Japonica Embryos. *Cryobiology*.
- Alavi S dan Cosson J, 2006. Sperm Motility In Fishes. (II) Effects Of Ions And Osmolality: A Review. *Cell Biology International*; 30(1): 1-14.
- Ansel HC dan Prince SJ, 2004. Kalkulasi Farmasetik. Jakarta: EGC.
- Arfah H, Hasan F dan Setiawati M, 2015. Pemberian Berbagai Jenis Madu Dengan Rasio Pengenceran Berbeda Terhadap Kualitas Sperma *Pangasianodon hypophthalmus*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*; 14(2): 164-170.
- Arsetyo R, 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*; 1(1): E58-E63.
- Bertha PD, Junior MZ, dan Soelistyowati DT, 2016. Spermatogenesis Ikan Lele *Clarias Sp.* Jantan Yang Diberi Pakan Mengandung Ekstrak Purwoceng. *Jurnal Akuakultur Indonesia*; 15(1): 49-55.
- Billich C, Muche R, Brenner G, Schmidt SA, Krüger S, Brambs HJ dan Pauls S, 2008. Ct-Guided Lung Biopsy: Incidence Of Pneumothorax After Instillation Of NaCl Into The Biopsy Track. *European Radiology*; 18(6): 1146-1152.
- Cabrera E, Robles V and Herráez P, 2009. Reproductive Aquaculture. Florida : CRC Press.
- Caldas JS, Corcini CD, Silva EF, Silva JC, Cardoso TF, Acosta IB, ... dan Varela Junior AS, 2020. Liquid Storage of *Geophagus brasiliensis* Semen in The Presence of Different Extenders. *Cryoletters*; 41(4): 202-208.
- Cheng Y, Franěk R, Rodina M, Xin M, Cosson J, Zhang S dan Linhart O, 2021. Optimization of Sperm Management and Fertilization in Zebrafish (*Danio rerio* (Hamilton)). *Animals*; 11(6): 1558.
- Coniza EB, Catacutan MR, dan Tan-Fermin JD, 2003. Growth And Yield Of Asian Catfish *Clarias Macrocephalus* (Gunther) Fed Different Growth-Out Diets. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*; 55(1): 53-60
- Culpepper III CM, Guitreau AM, Allred S, Tiersch TR dan Allen PJ, 2018. Evaluation of Commercial-Scale Approaches For Cryopreservation Of White Crappie, *Pomoxis annularis*, Sperm. *Journal of the World Aquaculture Society*; 49(4): 725-734.
- Devi OS, Susilowati T dan Nugroho RA, 2019. Pengaruh Penambahan Madu Dengan Dosis Berbeda Dalam Media Pengencer NaCl Fisiologis Terhadap Kualitas Sperma Ikan Tawes (*Barbonymus gonionotus*). *Sains Akuakultur Tropis: Indonesian Journal of Tropical Aquaculture*; 3(2).
- Diarti M, Tatontos EY dan Turmuji A, 2016. Larutan Pengencer Alternatif NaCl 0,9% dalam Pengecatan Giemsa pada Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa. *Jurnal Kesehatan*; 1709-1716.
- Dokpong D, 2010. Short-Term And Long-Term Storage Of Small Scale Mud Carp, *Cirrhinus microlepis* Sperm. *Doctoral dissertation*. Thailand: Suranaree University of Technology.
- Draper BW dan Moens CB, 2009. A High-Throughput Method For Zebrafish Sperm Cryopreservation And In Vitro Fertilization. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*; (29): e1395.
- Du C, Han YL, Shi YX dan Zhu JQ, 2018. Cryopreservation of *Plagiognathops microlepis* Sperm. *Cryobiology*; 85: 105-112.
- Ducha N, Hariani D dan Budijastuti W, 2018. The Relationship of Physical And Chemical Conditions of CEP Diluent With Egg Yolk Addition To Bull Spermatozoa Quality Before And After Storage At Temperatur of 4-5° C. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 953, No. 1, p. 012208). IOP Publishing.
- Eer AV, Schie TV dan Hilbrands A, 2004. Small-Scale Freshwater Fish Farming. 2nd ed. Wageningen: Agromisa Foundation.
- El-Ashker M, 2014. Disturbances of Body Fluids, Electrolytes And Acid Base Imbalance. 10.13140/2.1.3946.3363.
- Gadea J, 2003. Semen Extenders Used In The Artificial Insemination Of Swine. *Spanish Journal of Agricultural Research*; 1(2): 17-27.
- Garner DL and Hafez ESE. 2008. Spermatozoa and Plasma Semen In Reproduction in Farm Animal. Hafez ESE, and Hafez B (eds.). 7 th ed. Lippincott dan Williams. Baltimore, Marryland, USA.
- Handoko KJ, Ducha N dan Purnomo T, 2018. Pengaruh Macam Media Pengencer terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Tombro (*Cyprinus carpio*) Selama Penyimpanan pada Suhu 4-5°C. *LenteraBio*
- He S dan Woods III LC, 2003. The Effects Of Osmolality, Cryoprotectant And Equilibration Time On Striped Bass (*Morone saxatilis*) Sperm Motility. *Journal of the World Aquaculture Society*; 34(3): 255-265.

- Hijriana DD, 2014. Pengaruh Media Pengencer NaCl Fisiologis Dan Kuning Telur Sitrat Terhadap Persentase Viabilitas Dan Motilitas Spermatozoa Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Doctoral dissertation*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Inaba K, Kagami O dan Ogawa K, 1999. Tctex2-related Outer Arm Dynein Light Chain Is Phosphorylated At Activation Of Sperm Motility. *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 256(1): 177-183.
- Kusumawati ED dan Leandro H, 2014. Inseminasi Buatan. Malang: Unikama
- Liu QH, Xiao ZZ, Xu SH, Ma DY, Xiao YS dan Li J, 2012. Marine Fish Sperm Cryopreservation and Quality Evaluation in Sperm Structure and Function. In *Current Frontiers in Cryopreservation*. IntechOpen.
- Mansour N, Lahnsteiner F dan Berger B, 2003. Metabolism of Intratesticular Spermatozoa Of A Tropical Teleost Fish (*Clarias gariepinus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*; 135(2): 285-296
- Maria AN, Viveiros ATM, Freitas RTF dan Oliveira AV, 2006. Extenders and Cryoprotectants For Cooling And Freezing Of Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) Semen, An Endangered Brazilian Teleost Fish. *Aquaculture*; 260(1-4): 298-306.
- Mohamed NB, 2012. Phylogenetic Relationships Between Four Catfish Species (family Clariidae) Inferred from Analysis of Cytochrome B Mitochondrial DNA Gene. *Doctoral dissertation*. Malaysia: Universiti Malaysia Sarawak.
- Muchlisin ZA, 2005. Current Status Of Extenders And Cryoprotectants On Fish Spermatozoa Cryopreservation. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*; 6(1).
- Muchlisin ZA, Hashim R dan Chong AS, 2004. Preliminary Study On The Cryopreservation Of Tropical Bagrid Catfish (*Mystus nemurus*) Spermatozoa; The Effect Of Extender And Cryoprotectant On The Motility After Short-Term Storage. *Theriogenology*; 62(1-2): 25-34.
- Mukti AT, Eka SH, Satyantini WH dan Mubarak AS, 2020. Studi Pendahuluan: Pengaruh Krioprotektan yang Berbeda terhadap Persentase Kerusakan dan Penetasan Embrio Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Journal of Aquaculture and Fish Health*; 9(3)
- Nainggolan H, Rahmantya KF, Asianto AD, Wibowo D, Wahyuni T, Zunianto A, ... dan Malika R, 2019. Kelautan dan Perikanan dalam Angka Tahun 2018 [Marine and fisheries in figures, 2018]. Jakarta: Ministry Of Marine Affairs And Fisheries, Republic Of Indonesia.
- Namula Z, Tanihara F, Wittayarat M, Hirata M, Nguyen NT, Hirano T, ... Otoi T, 2019. Effects Of Tris (Hydroxymethyl) Aminomethane On The Quality Of Frozen-Thawed Boar Spermatozoa. *Acta Veterinaria Hungarica*; 67(1): 106-114.
- Nilna. 2010. Standar Operasional Pekerjaan Prosesing Semen. Dinas Peternakan Provinsi Sumatra Barat
- Omitogun OG, Ilori O, Olaniyan O, Amupitan P, Oresanya T, Aladele S dan Odofin W, 2012. Cryopreservation Of The Sperm Of The African Catfish For The Thriving Aquaculture Industry In Nigeria. *Current Frontiers in Cryopreservation (Katkoo I (ed) vol 2: 305-329*.
- Raafi A, 2018. Pengaruh Konsentrasi (Kadar) Sari Bawang Putih (*Allium Sativum L.*) Dalam Pengencer Andromed Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Setelah Pengenceran. *Doctoral dissertation*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Raghuvanshi SK, Charak SR dan Agarwal NK, 2019. Semen Characteristics And Extenders Competency During Refrigerated Storage Of Snow Trout (*Schizothorax richardsonii*) Semen. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*; 7(6): 350-354.
- Rahmawati YD, Ratnasari D dan Lababan FMJ, 2021. Pemanfaatan Pangan Lokal Lele Untuk Pembuatan Nugget. *JAMU: Jurnal Abdi Masyarakat UMUS*; 1(02).
- Rurangwa E, Biegniewska A, SiComin´ska E, Skorkowski EF, Ollevier F, 2002. Effect of Tributyltin On Adenylate Content And Enzyme Activities Of Teleost Sperm: A Biochemical Approach To Study The Mechanism Of Toxicant Reduced Spermatozoa Motility. *Comp. Biochem. Physiol*; C131: 335 - 344
- Rurangwa E, Kime D, Ollevier F dan Nash J, 2004. The Measurement Of Sperm Motility And Factors Affecting Sperm Quality In Cultured Fish. *Aquaculture*; 234(1-4): 1-28.
- Rustidja, 2000. Prospek Pembekuan Sperma. Malang: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.
- Santoso S, Yanti WS, dan Deni R, 2019, Pengolahan Ikan Lele Menjadi Nugget Sehat untuk Menumbuhkan Kreativitas Masyarakat dalam Berwirausaha. *Jurnal Abdikarya: Jurnal Karya Pengabdian Dosen dan Mahasiswa*; 3(3).
- Shaliutina-Kolešová A, Dietrich M, Xian M dan Nian R, 2019. Seminal Plasma Transferrin Effects On Cryopreserved Common Carp (*Cyprinus carpio*) Sperm And Comparison With Bovine Serum Albumin And Antifreeze Proteins. *Animal reproduction science*; 204: 125-130.
- Sharma R dan Agarwal A, 2021. Sperm Vitality: Eosin-Nigrosin Dye Exclusion. *Manual of Sperm Function Testing in Human Assisted Reproduction*; 47.
- Solihati N dan Kune P, 2009. Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simental. Kupang: Universitas Nusa Cendana.
- Solihati N, Idi R, Setiawan R dan Asmara IY, 2006. Pengaruh Lama Penyimpanan Semen Cair Ayam Buras pada Suhu 5°C terhadap Periode Fertil dan Fertilitas Sperma (The Storage Time Effect of The Local Chicken Chilled Semen at 5°C on Fertility and Fertile Period of Sperm). *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*; 6(1).

- Susilawati N, 2011. Spermatology. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Suyanto SR, 2006. Budidaya Ikan Lele. Jakarta: Swadaya.
- Tambing SN, Toelihere MR, Yusuf TL dan Utama I, 2000. Pengaruh Gliserol Dalam Pengencer Tris Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*; 5(2): 1-8.
- Vuthiphandchai V, Boonthai T dan Nimrat S, 2021. Chilled Storage Of Asian Seabass (*Lates calcarifer* (Bloch) Semen: Effects Of Ions, Extenders And Storage Periods On Sperm Quality And Fertilization Ability. *Journal of Applied Ichthyology*; 37(4): 593–600.
- Yang S, Huang W, Chen H, Huang M, Liufu Y dan Meng Z, 2020. Effect of Chilled Storage On Sperm Quality Of Basa Catfish (*Pangasius bocourti*). *Fish Physiology and Biochemistry*; 46(6): 2133-2141.
- Ziętara MS, Słomińska E, Rurangwa E, Ollevier F, Świerczyński J dan Skorkowski EF, 2004. In Vitro Adenine Nucleotide Catabolism In African Catfish Spermatozoa. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*; 138(4): 385–389.

Article History:

Received: 01 Juli 2022

Revised: 09 Agustus 2022

Available online: 16 Agustus 2022

Published: 30 September 2022

Authors:

Dhea Auryn Savitri, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: dhea.17030244045@mhs.unesa.ac.id

Nur Ducha, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: nurducha@unesa.ac.id

How to cite this article:

Savitri DA, Ducha N, 2022. Perbandingan Kualitas Spermatozoa Ikan Lele Masamo (*Clarias sp.*) Pada Media Pengencer Yang Berbeda Selama Penyimpanan Pada Suhu 4-5°C. *LenteraBio*; 11(3): 545-553.