

Penambahan madu dalam pengenceran sperma terhadap motilitas spermatozoa, fertilisasi dan daya tetas telur ikan Patin Siam, *Pangasius hypophthalmus*

(Addition of honey in sperm dilution to optimize sperm motility, fertilization and hatchability of Patin Siam egg, *Pangasius hypophthalmus*)

**Lutfi Marthin¹, Juliaan Ch. Watung², Ockstan J. Kalesaran²,
Elvi L. Ginting³, Hengky J. Sinjal², Indra R.N. Salindeho²**

¹) Mahasiswa pada Program Studi Budidaya Perairan FPIK Unsrat Manado

²) Staf pengajar pada Program Studi Budidaya Perairan FPIK Unsrat Manado

³) Staf pengajar pada Program Studi Ilmu Kelautan FPIK Unsrat Manado

Email: okstanju@yahoo.co.id

Abstract

This research aimed to determine the optimal doses of honey addition on the sperm dilution to optimize spermatozoa motility, fertilization and hatchability of Patin Siam eggs (*Pangasius hypophthalmus*). The experimental design used was Complete Random Design (RAL). Diluent solution consisted of a physiological NaCl 0.9% and honey. Treatment doses of honey in aqueous diluent sperm tested as treatments were A (0 mL), B (0.2 mL), C (0.4 mL) and D (0.6 mL), each with three replications. Observations made included spermatozoa motility, fertilization and eggs hatchability. The research results showed that the addition of honey had a significant influence on motility, fertilization, and eggs hatchability. This study concluded that the addition of honey in sperm diluent solution with a dose of 0.6 mL of honey in 99.4 mL of NaCl could increase the spermatozoa motility and fertilization of Patin siam.

Keywords: honey, motility, fertilization, hatchability, *Pangasius hypophthalmus*

PENDAHULUAN

Ikan Patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) merupakan spesies ikan air tawar dari jenis Pangasidae yang memiliki ciri-ciri umum yaitu tidak bersisik, tidak memiliki banyak duri, kecepatan pertumbuhannya relatif cepat, dapat di produksi secara massal dan memiliki

peluang pengembangan skala industri. Ikan patin siam sekarang ini sudah banyak dibudidayakan baik di kolam maupun jarring apung. Dengan keunggulan tersebut ikan ini menjadi salah satu komoditas perikanan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi, baik dalam segmen usaha pembenihan maupun usaha pembesarannya (Susanto, 2009).

Permasalahan yang sering dihadapi dalam kegiatan pembenihan ikan patin siam adalah ikan ini hanya memijah setahun sekali pada musim hujan yaitu bulan Desember sampai April. Selain itu, motilitas spermatozoa akan terus menurun setelah dikeluarkan dari tubuh ikan. Menurunnya motilitas spermatozoa berdampak pada rendahnya tingkat fertilisasi yang menyebabkan sel telur tidak dibuahi dengan sempurna yang akhirnya mengakibatkan rendahnya daya tetas telur sehingga produksi larva rendah (Nurman, 1998). Rendahnya tingkat fertilisasi pada pemijahan buatan karena tingginya konsentrasi sperma dan durasi waktu aktivitas sperma yang relatif singkat.

Untuk mengoptimalkan jangka waktu penggunaan dan mempertahankan kualitas sperma setelah dikeluarkan dari tubuh ikan, maka digunakan bahan pengencer yang dapat mempertahankan kehidupan spermatozoa. Bahan yang sering digunakan untuk pengenceran sperma yaitu larutan NaCl. Larutan NaCl memberi sifat buffer, mempertahankan pH semen dalam suhu kamar, bersifat isotonis dengan cairan sel, melindungi spermatozoa terhadap *coldshock* dan penyeimbangan elektron yang sesuai (Nilna, 2010). Tetapi untuk mengoptimalkan jangka waktu bertahan hidup spermatozoa, perlu ditambahkan bahan pengencer yang dapat memberikan energi bagi spermatozoa.

Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa disediakan oleh gula sederhana seperti fruktosa dan glukosa yang terdapat pada madu. Penambahan fruktosa dan glukosa sebagai sumber energi dari luar dalam larutan pengencer berguna untuk mendukung daya hidup spermatozoa setelah

pengenceran. Karena proses pembentukan Adenosin Trifosfat (ATP) dan Adenosin Difosfat (ADP) harus terus dilakukan agar motilitas dapat terus berlangsung (Salisbury, 1985 dalam Arsetyo, 2012). Selain itu, alasan digunakannya madu sebagai sumber energi untuk spermatozoa, selain harga yang terjangkau ketersediaan madu cukup banyak dan mudah ditemukan. Tujuan Penelitian ini adalah untuk menentukan dosis madu dalam larutan pengencer sperma untuk mengoptimalkan motilitas spermatozoa, fertilisasi dan daya tetas telur ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Balai Perikanan Budidaya Air Tawar (BPBAT) Tatelu, Kecamatan Dimembe, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. Waktu pelaksanaan penelitian dari bulan November 2017 sampai Maret 2018. Percobaan dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan, masing-masing dengan tiga ulangan.

- Perlakuan A = (0 mL madu dalam 100 mL NaCl Fisiologis)
- Perlakuan B = (0,20 mL madu dalam 99,80 mL NaCl Fisiologis)
- Perlakuan C = (0,40 mL madu dalam 99,60 mL NaCl Fisiologis)
- Perlakuan D = (0,60 mL madu dalam 99,40 mL NaCl Fisiologis)

Bahan Uji

Induk patin siam jantan dan betina matang gonad, hormon ovaprim, madu, akuades NaCl fisiologis 0,9 dan alkohol.

Prosedur Percobaan

Ikan yang digunakan adalah induk ikan patin siam matang gonad berasal dari BPBAT Tatelu yang sudah diseleksi dan dipindahkan ke dalam kurungan jarring/hapa secara terpisah dan diaklimatisasi selama ± 24 jam. Pemberian hormon ovaprim pada induk dilakukan dengan cara penyuntikan, yaitu dilakukan pada dorsal secara intramuscular dengan dosis 0,6 mL/kg berat ikan untuk induk betina dan 0,3 mL/kg berat ikan untuk induk jantan (Manantung *dkk.*, 2013).

Wadah untuk pengeceran sperma menggunakan 12 mangkok plastik yang sudah disterilkan menggunakan alkohol. Wadah untuk pengamatan fertilisasi dan daya tetas telur menggunakan 12 loyang yang sudah disterilkan. Pada masing-masing loyang dilengkapi dengan aerator.

Metode Pemijahan buatan dengan penambahan madu pada larutan pengeceran sperma, (Kalesaran *dkk.*, 2017) berupa tahapan sbb :

- Menyediakan larutan pengeceran yaitu 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL madu yang dilarutkan dalam NaCl fisiologis pada gelas plastik,
- larutan dihomogenkan selama 15 menit,
- Pengambilan telur induk betina dilakukan dengan cara memberikan tekanan halus (*striping*) disepanjang abdomen kearah urogenital. Telur-telur yang diovolusi kemudian ditampung di baskom yang sudah disterilkan. Sperma induk jantan diperoleh dengan cara bagian perutnya diurut kearah anus. Setelah keluar sperma kemudian sperma segar ditampung dengan menggunakan botol pelastik yang sudah disterilkan.

- Mencampurkan sel telur dan sperma yang telah diencerkan dengan madu pada wadah pengeceran, kemudian diaduk menggunakan bulu ayam selama 2 menit sampai tercampur merata,
- Membilas telur dengan air bersih sampai tersisa telur saja,
- Menambahkan air ke dalam wadah menjadi $\frac{3}{4}$ dari tinggi wadah/akuarium dan menambahkan aerasi untuk suplai oksigen, dan
- Menjaga inkubasi telur, selanjutnya telur akan menetas.

Pengumpulan Data

Pengamatan sperma

Pengamatan sperma dilakukan secara makroskopis dengan mengamati volume sperma, warna, kekentalan, pH dan bau, sedangkan pengamatan secara mikroskopis yaitu dengan mengamati tingkat motilitas spermatozoa dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x.

Pengamatan motilitas spermatozoa

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara sperma diambil 0,05 mL dari masing-masing perlakuan dan diletakan ke dalam *objek glass* lalu diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Persentase motilitas spermatozoa masing-masing perlakuan diperoleh dengan mengamati pergerakan spermatozoa berdasarkan kriteria Guest (tingkat pergerakan sperma).

Pengamatan fertilisasi

Proses fertilisasi dilakukan dengan mengambil telur dengan sendok dan dihitung masing-masing perlakuan sebanyak

200 butir telur. Pembuahan dilakukan dengan mencampurkan telur ke dalam mangkok plastik yang berisi larutan pengencer dan sperma, sesuai dengan masing-masing perlakuan, kemudian diaduk dengan bulu ayam kurang lebih 2 menit sampai tercampur merata, selanjutnya larutan pengencer sperma dibuang sampai tersisa telur saja. Setelah tercampur kemudian telur dibilas dengan air bersih lalu ditebar ke tempat penetasan. Pengamatan tingkat fertilisasi dilakukan setelah 12 jam dari proses pencampuran dengan sperma. Data persentase fertilisasi dari setiap perlakuan dihitung dengan menggunakan persamaan (Nurman, 1998):

$$\text{Fertilisasi} = \frac{\text{jumlah telur dibuahi}}{\text{jumlah telur sampel}} \times 100$$

Pengamatan daya tetas telur

Pengamatan daya tetas telur dilakukan setelah 30 jam dari proses pembuahan, dengan menghitung jumlah telur yang menetas menjadi larva. Persentase daya tetas telur dihitung dengan menggunakan persamaan (Efrizal dan Afriazi, 1998) :

$$\text{daya tetas} = \frac{\text{jumlah telur menetas}}{\text{jumlah telur sampel}} \times 100$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Sperma Segar

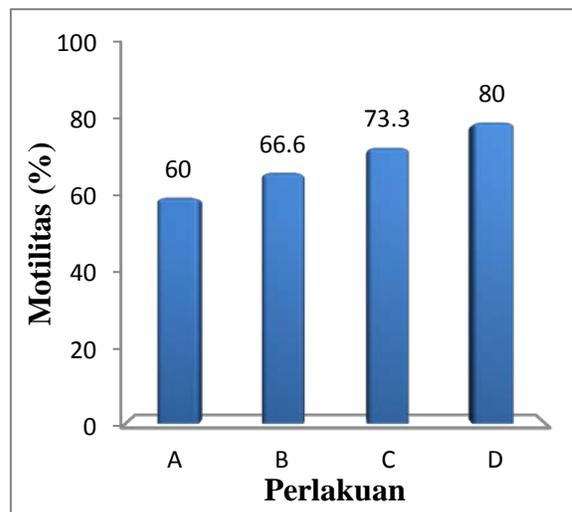
Pengamatan sperma segar ikan patin siam dilakukan sebagai data penunjang dalam penelitian ini. Data hasil pengamatan volume, warna, kekentalan, pH, bau (makroskopis) dan motilitas (mikroskopis) dapat dilihat pada Table 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan sperma segar

No.	Pengamatan	Hasil
1	Berat Ikan	3.7 Kg
2	Volume	8 ml
3	Warna	Putih Susu
4	pH	7
5	Kekentalan	Kental
6	Bau	Khas Sperma
7	Motilitas Spermatozoa	60 %

Motilitas Spermatozoa

Dari hasil pengamatan pergerakan spermatozoa dalam larutan pengencer, data yang diperoleh pada masing-masing perlakuan dan ulangan setelah dilakukan perhitungan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Histogram motilitas (%) ikan Patin Siam

Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa data persentase tertinggi terdapat pada perlakuan D (0,60 mL madu dalam 99,40 mL NaCl fisiologis) dan terendah terdapat pada perlakuan A (0 mL madu dalam 100 mL NaCl fisiologis).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} lebih besar dari nilai F_{tabel} pada taraf 1% ($13,32 > 7,59$). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan (madu dan NaCl fisiologis) memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap perbedaan tingkat motilitas spermatozoa ikan patin siam.

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan (A) tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan (B), tetapi berbeda sangat nyata dibandingkan dengan perlakuan (C) dan (D). Perlakuan (B) tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan (C), tetapi berbeda sangat nyata dengan perlakuan (D). Perlakuan (C) tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan (D).

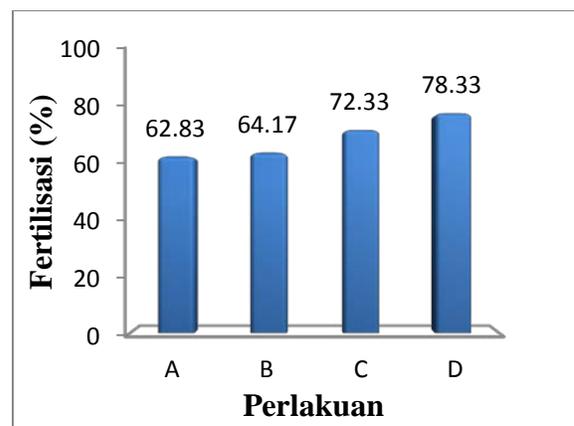
Penambahan madu dalam larutan pengenceran sperma dapat meningkatkan motilitas spermatozoa (Gambar 1). Sama halnya dengan pernyataan Tang dan Affandi dan Tang (2004) bahwa energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa diperoleh dari gula sederhana seperti fruktosa dan glukosa. Apabila ketersediaan energi telah habis maka spermatozoa tidak akan bergerak. Untuk dapat bergerak kembali, ATP (Adenosin Trifosfat) dan ADP (Adenosin Difosfat) harus dibangun dengan penambahan gugusan phosphoryl yang membutuhkan sumber energi dari luar (Hidayaturrahmah, 2007). Motilitas spermatozoa terjadi karena adanya pergerakan dari bagian ekor.

Dari pernyataan di atas dapat dikatakan, apabila ketersediaan fosfat dalam ATP dan ADP telah habis, kontraksi fibril spermatozoa akan berhenti yang menyebabkan spermatozoa berhenti

bergerak. Adanya penambahan larutan NaCl dan fruktosa pada pengenceran sperma maka lama waktu aktifitas sperma menjadi panjang, sehingga sperma memperoleh banyak waktu untuk menemukan dan membuahi sel telur (Adipu *dkk.*, 2011). Faktor lain terjadinya peningkatan motilitas spermatozoa diduga karena fruktosa dapat mengurangi kecepatan rusaknya permeabilitas spermatozoa dalam air (Nainggolan *dkk.*, 2015).

Fertilisasi

Hasil pengamatan fertilisasi, setelah dilakukan perhitungan, dapat dilihat pada Gambar 2. Dari hasil pengamatan fertilisasi telur ikan patin siam, persentase rata-rata tertinggi terdapat pada perlakuan D (78%) dan terendah pada perlakuan A (62,83%).



Gambar 2. Histogram fertilisasi (%) ikan Patin Siam

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel} pada taraf 1% ($12,26 > 7,59$). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan (madu dan NaCl fisiologis) memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap perbedaan tingkat fertilisasi ikan patin siam.

Hasil uji BNT pada taraf 5% dan 1%, menunjukkan bahwa perlakuan (A) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan (B), tetapi berbeda nyata dengan perlakuan (C) dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan (D). Perlakuan (B) berbeda nyata dengan perlakuan (C) dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan (D). Perlakuan (C) tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan (D).

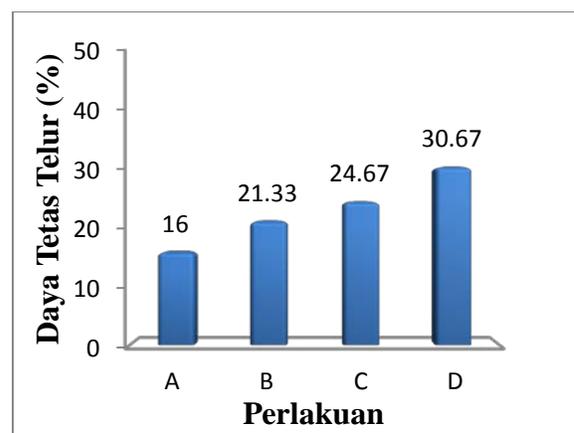
Kualitas sperma memiliki pengaruh terhadap tingkat fertilisasi. Apabila kualitas spermatozoa baik, maka tingkat fertilisasi akan tinggi. Menurut Tumanung *dkk.* (2015), tingkat fertilisasi mengikuti apa yang terjadi pada tingkat kualitas sperma, dimana motilitas yang tinggi memberikan fertilisasi yang tinggi pula. Sperma yang tidak diberi bahan pengencer (NaCl fisiologis), memiliki kepadatan sperma yang tinggi, sehingga spermatozoa sukar bergerak.

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa semakin baik pergerakan spermatozoa, semakin tinggi juga pembuahan yang terjadi. Hal ini didukung oleh pernyataan Iriyanto (2014), bahwa kenaikan tingkat fertilisasi seiring meningkatnya penambahan madu dalam pengeceran sperma. Hal ini dikarenakan penambahan madu dapat meningkatkan motilitas spermatozoa yang akan mempengaruhi pembuahan telur oleh spermatozoa. Pada kondisi pergerakan sperma aktif dan lincah, sperma mempunyai kemampuan dan energi untuk menembus lubang mikrofil telur (Adipu *dkk.*, 2011)

Daya Tetas Telur

Hasil pengamatan daya tetas telur setelah dilakukan perhitungan, dapat dilihat

pada Gambar 3 yang memperlihatkan bahwa nilai persentase tertinggi terdapat pada perlakuan D (30%), kemudian perlakuan C (24%), selanjutnya perlakuan B (21,33%) dan terendah pada perlakuan A (16%) dan hasil perhitungan analisis ragam menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} lebih besar dari nilai F_{tabel} pada taraf 5% ($5,73 > 4,07$) tetapi lebih kecil dari nilai F_{tabel} pada taraf 1% ($5,73 < 7,59$). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan (madu dan NaCl fisiologis) memberikan pengaruh yang nyata terhadap perbedaan daya tetas telur ikan patin siam.



Gambar 3. Histogram daya tetas telur (%) ikan Patin Siam

Hasil uji BNT pada taraf 5% dan 1%, menunjukkan bahwa perlakuan (A) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan (B), tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan (C) dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan (D). Perlakuan (B) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan (C), tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan (D). Perlakuan (C) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan (D).

Jika dilihat dari data motilitas dan fertilisasi dimana perlakuan dengan nilai tertinggi terdapat pada perlakuan D dan

terendah pada perlakuan A. Akan tetapi nilai persentase daya tetas telur tertinggi (perlakuan D), hanya memiliki nilai persentase sebesar 30% saja. Nilai yang diperoleh dalam tingkat penetasan telur, cukup rendah jika dibandingkan dengan nilai motilitas dan fertilisasi. Menurut Masrizal dan Efrizal (1997), daya tetas telur ikan selalu ditentukan oleh pembuahan sperma, kecuali bila ada faktor lingkungan yang mempengaruhinya. Selanjutnya, Oyen *dkk.* (1991) dalam Syandri (1993), menyatakan bahwa, faktor internal yang berpengaruh terhadap daya tetas telur adalah perkembangan embrio yang terhambat karena kualitas spermatozoa dan telur kurang baik, sedangkan faktor eksternal adalah lingkungan yang didalamnya terdapat temperatur air, oksigen terlarut, pH, dan amoniak.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi nilai daya tetas telur ikan patin siam, dikarenakan ikan tersebut memiliki telur yang bersifat mudah tenggelam dan menjadi lengket setelah berhubungan dengan air. Menurut Slembrouck *dkk.* (2005), telur ikan patin siam dapat menempel satu sama lain atau pada substrat melalui selaput lendir lengket yang menutupi seluruh permukaan telur. Apabila telur ikan patin melekat satu sama lain, kemungkinan besar telur tidak akan menetas. Karena hal tersebut akan lebih baik melakukan inkubasi telur dalam air yang mengalir untuk membersihkan terus menerus sisa-sisa kandungan organik yang ditimbulkan oleh telur (NH_3 , CO_2). Berdasarkan sifat-sifat telur ikan patin tersebut, dapat dikatakan bahwa wadah

penetasan mempengaruhi persentase daya tetas telur ikan patin siam.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan madu dalam larutan pengencer sperma dengan dosis 0,6 mL madu dalam 99,4 mL NaCl fisiologis (perlakuan D), dapat meningkatkan nilai motilitas spermatozoa dan fertilisasi ikan patin siam.

DAFTAR PUSTAKA

- Adipu Y, Sinjal H, Watung J. 2011. Ratio Pengenceran Sperma Terhadap Motilitas Spermatozoa, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Lele (*Clarias sp*). Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis Vol. 7 No. 1: 48-55.
- Affandi R, Tang MU. 2004. Biologi Reproduksi Ikan. Uni Press. Riau. hal. 20-34.
- Arsetyo, Rahardhianto, Abdulgani N, 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, No. 1: 58-63
- Effrizal, Afriazi. 1998. Pengaruh Penyuntikan Ovaprim Terhadap Kualitas Telur Ikan Lele Lokal (*Clarias batrachus*). Fisheries Journal Vol. 7. No. 1: 43-51
- Hidayaturrahmah. 2007. Waktu Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* L) Pada Beberapa Konsentrasi Larutan Fruktosa, Bioscientiae Vol. 4 : 9-18.

- Irianto A, Watung J, Kalesaran O, Monijung R. 2014. Penambahan Madu Dalam Pengenceran Sperma Untuk Meningkatkan Motilitas Spermatozoa, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Lele (*Clarias* sp). Jurnal Budidaya Perairan. Vol. 3 No.1: 27-34.
- Kalesaran OJ, Watung J, Monijung R. 2017. Pengembangan metode pemijahan buatan melalui penambahan madu pada larutan pengenceran sperma untuk meningkatkan produksi larva ikan lele (*Clarias gariepinus*). Prossiding Seminar Nasional Biologi 2 (Semabio2). Universitas Sunan Gunung Djati, Bandung.
- Manantung VO, Sinjal H, Monijung R. 2013. Evaluasi Kualitas, Kuantitas Telur dan Larva Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*) Dengan Penambahan Ovaprim Dosis Berbeda. Jurnal Budidaya Perairan. Vol. 1 No. 3: 14-23.
- Masrizal, Efrizal. 1997. Pengaruh Rasio Pengenceran Mani terhadap Fertilisasi Sperma dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). Fisheries Journal Garing 6 : 1-9
- Nainggolan R, Monijung R D , Mingkid W. 2015. Penambahan Madu Dalam Pengenceran Sperma Untuk Motiitas Spermatozoa, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Jurnal Budidaya Perairan. Vol. 3 No. 1: 131-140.
- Nilna. 2010. Standar Operasional Pekerjaan Prosesing Semen. Sumatera Barat ; Dinas Peternakan Propinsi.
- Nurman. 1998. Pengaruh Penyuntikan Ovaprim Terhadap Kualitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariaphynus* B). Jurnal Fakultas Perikanan Universitas Bung Hatta. Padang. Vol. 7. No. 2: 3-42.
- Slembrouck JJ, Subagja D, Day, Firdausi M, Legendre. 2005. Pembuahan Buatan Dan Teknik Inkubasi Telur. Petunjuk Teknis Pembenihan Ikan Patin Indonesia (*Pangasius djambal*). IRD. Lembaga Penelitian Perancis untuk Pembangunan, Bogor.
- Susanto H. 2009. Pembenihan dan Pembesaran Patin. Penebar Swadaya. Jakarta. 132 Halaman.
- Syandri H. 1993. Berbagai Dosis Ekstrak Hipofisasi Dan Pengaruhnya Terhadap Mani Dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). Jurnal Terubuku. Fakultas Perikanan Universitas Bung Hatta, Padang.
- Tumanung S, Sinjal H, Watung J. 2015. Penambahan Madu Dalam Pengenceran Sperma Untuk Meningkatkan Motilitas, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). Jurnal Budidaya Perairan Vol 3 No. 1: 51-58.