

Penambahan Madu Dalam Pengenceran Sperma untuk Meningkatkan Motilitas, Fertilisasi dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*)

(Supplementation of Honey in Sperm Dilution to improve Spermatozoa Motility, Fertilization and Egg Hatchability of Goldfish *Cyprinus carpio L*)

**Sudirman Tumanung<sup>1</sup>, Hengky J. Sinjal<sup>2</sup>, Juliaan Ch. Watung<sup>2</sup>**

1) Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado  
Sudirman@yahoo.com

2) Staf pengajar pada Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado  
Email : hengky\_sinjal@yahoo.com

### **Abstrack**

The research intended to determine the optimal concentration of honey addition in sperm dilution to improve sperm motility, fertilization and eggs hatchability of goldfish (*Cyprinus carpio*). Experimental design used was a Complete Randomized Design (CRD) with four treatments each with three replications. The concentration of honey addition used for treatment were A (0 ml of honey in 100 mL of physiological NaCl), B (0,2 mL of honey in 99.8 mL of physiological NaCl), C (0.4 mL of honey in 99.6 ml of physiological NaCl), D (0.6 mL of honey in 99.4 mL of physiological NaCl). Sperm dilution containers used was 12 plastic cups and the container fertilization and hatching eggs container used was 12 brass plates. Spermatozoa motility observation performed immediately after dilution process. Fertilization observation was performed after 12 hours of fertilization process, and Egg Hatchability observation was performed after 72 hours of fertilization. The observation results showed that the addition of honey in sperm dilution contributed significant effect on spermatozoa motility, fertilization and eggs hatchability of goldfish (*Cyprinus carpio*). This observation showed that the addition of 0.6 ml of honey in a sperm dilution was the best treatment indicated by the average percentage of spermatozoa motility (80,00%), fertilization (84,00%) and eggs hatchability (82,33%).

**Keywords:** Honey, spermatozoa motility, fertilization, eggs hatchability, *Cyprinus carpio L*

### **PENDAHULUAN**

Ikan mas yang termasuk famili *Cyprinidae* ini tergolong ikan yang populer dan paling banyak dipelihara rakyat, serta mempunyai nilai ekonomis. Ikan mas sangat

peka terhadap faktor lingkungan, sehingga sangat berpengaruh terhadap perkembangan daya tetas telur dan dapat mengakibatkan produksi larva rendah (Anonim, 2010). Sejalan perkembangan teknologi diberbagai bidang termasuk perikanan, budidaya ikan

pun sudah berkembang. Untuk penyediaan benih ikan sekarang ini, tidak hanya secara alami melainkan dapat dilakukan secara buatan. Namun kesulitan yang sering dihadapi dalam pemijahan buatan adalah masih rendahnya fertilisasi sperma yang akhirnya mengakibatkan rendahnya daya tetas telur sehingga produksi larva rendah (Nurman, 1998).

Salah satu permasalahan fertilisasi pada budidaya ikan air tawar adalah rendahnya tingkat fertilisasi dari spermatozoa di dalam air. Hal ini mengakibatkan banyaknya sel telur yang tidak terbuahi secara sempurna (Masrizal dan Efrizal, 1997). Dalam satu siklus reproduksi ikan dapat dihasilkan sel telur sampai jutaan per ekor, tetapi yang terbuahi hanya mencapai 5% dari total.

Rendahnya fertilisasi sperma dalam pembenihan disebabkan oleh tingginya konsentrasi sperma. Menurut Tang dan Affandi (1999), konsentrasi sperma yang tinggi dapat menghambat aktivitas spermatozoa, karena berkurangnya daya gerak sehingga spermatozoa sukar menemukan atau menembus mikrofil sel telur yang mengakibatkan rendahnya fertilisasi sperma. Selanjutnya dijelaskan bahwa konsentrasi spermatozoa yang lebih tinggi, kurang memberikan peluang kepada spermatozoa untuk membuahi sel telur, karena spermatozoa bersama-sama bersaing memasuki mikrofil sel telur.

Dalam mengatasi hal seperti ini, maka sperma yang akan digunakan akan diencerkan. Bahan yang sering digunakan untuk pengenceran sperma yaitu larutan NaCl fisiologis, namun larutan pengencer NaCl fisiologis kurang mengandung sumber

energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa (Rustidja, 2000). Menurut Effendy (1997), kemampuan spermatozoa hidup secara normal setelah keluar dari testis hanya berkisar antara 1–2 menit, selanjutnya dikatakan oleh Woynarovich dan Horvath (1980) bahwa umur sperma ikan mas (*C. carpio L.*) di dalam air tawar hanya 30–60 detik.

Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa disediakan oleh gula sederhana (monosakarida) seperti fruktosa dan glukosa (Teolihere, 1981). Penambahan fruktosa atau glukosa dalam pengenceran berguna untuk mendukung daya hidup spermatozoa pasca pengenceran, karena proses pembentukan Adenosin Trifosfat (ATP) dan Adenosin Difosfat (ADP) harus terus dilakukan agar motilitas dapat terus berlangsung (Tolihere, 1981). Gula sederhana (monosakarida) yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk menjaga kelangsungan hidupnya terkandung dalam madu (Mar'ati, 2007).

Melihat perlunya pengenceran sperma pada pembenihan ikan mas, maka penelitian ini dilakukan untuk melihat konsentrasi pengenceran yang tepat untuk mendapatkan tingkat motilitas, fertilisasi dan daya tetas telur yang baik dengan menggunakan bahan pengencer madu dalam NaCl fisiologis 0,9 %.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Balai Budidaya Air Tawar Tatelu (BBAT), Kecamatan Dimembe, Kabupaten Minahasa, Utara Provinsi Sulawesi Utara. Waktu pelaksanaan penelitian dari bulan April sampai Juni tahun 2014.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan terdiri dari loyang, mikroskop, kaca preparat, timbangan, baskom, bulu ayam, spuit berukuran 1 ml, gelas ukur 100 ml, pipet, kertas pH, aerator, selang, batu aerasi.

Bahan digunakan □ adalah hormon ovaprim, 1 ekor induk jantan ikan mas matang gonad dengan berat 0,8 kg yang berumur 8 bulan, induk betina ikan mas matang gonad dengan berat 1,5 kg berumur 1,5 tahun, madu dan NaCl fisiologis 0,9%.

### Rancangan Percobaan

Percobaan dirancang berdasarkan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 4 perlakuan yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Perlakuan yang dicobakan adalah:

**Perlakuan A** = (0 m madu + 100 m NaCl Fisiologis)

**Perlakuan B** = (0,2 mL madu + 99,8 mL NaCl Fisiologis)

**Perlakuan C** = (0,4 mL madu + 99,6 mL NaCl Fisiologis)

**Perlakuan D** = (0,6 mL madu + 99,4 mL NaCl Fisiologis)

### Cara Kerja Penelitian

Induk ikan yang digunakan adalah induk yang sudah matang gonad di aklimatisasi di kolam selama satu minggu dan diberi pakan dua kali sehari yaitu pagi dan sore. Setelah pemeliharaan dilakukan, selanjutnya penimbangan berat ikan untuk menentukan dosis hormon ovaprim. yang akan digunakan. Penyuntikan dilakukan secara *intramuscular*. Setelah 6 jam penyuntikan kemudian pengambilan telur

dilakukan dengan cara di *striping*. Telur-telur yang diovolasi kemudian ditampung di baskom yang steril.

Untuk pengambilan sperma induk jantan ikan mas dengan cara di *striping* sehingga akan mengeluarkan cairan putih/sperma. Kemudian sperma segar ditampung dalam baskom dan diamati secara makroskopis dan mikroskopis yang meliputi warna, pH, volume sperma dan motilitas sperma segar.

#### a. Pengamatan motilitas spermatozoa

Pengamatan motilitas spermatozoa dengan cara sperma diambil 0,05 ml dari setiap perlakuan dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Proses fertilisasi dilakukan dengan mengambil telur dengan sendok dan dihitung masing-masing perlakuan sebanyak 200 butir telur. Pembuahan dilakukan dengan mencampurkan sperma dan telur dalam baskom yang sudah berisi larutan pengencer, kemudian di aduk dengan bulu ayam kurang lebih 2 menit sampai tercampur merata. Setelah proses pembuahan dilakukan, selanjutnya sisa air pengenceran dibuang sampai tersisa telur saja, lalu telur-telur dimasukan kedalam loyang untuk dilakukan pengamatan tingkat fertilisasi.

#### b. Pengamatan Tingkat Fertilisasi

Pengamatan tingkat fertilisasi dilakukan setelah 12 jam. Penentuan tingkat keberhasilan fertilisasi pada telur dilihat pada perubahan warna telur dimana warna telur yang dibuahi nampak terang dan terjadi perkembangan embrio, sedangkan telur yang tidak dibuahi berwarna gelap dan tidak mengalami perkembangan pada 12 jam setelah pembuahan.

#### c. Pengamatan Daya Tetas Telur

Pengamatan tingkat penetasan telur dilakukan setelah 72 jam dengan melihat banyaknya telur yang menetas.

**Pengambilan Data**

Data yang diambil yaitu dengan pemeriksaan terhadap sperma, baik pada sperma segar maupun perlakuan. Pemeriksaan sperma segar meliputi pH, volume, warna dan bau.

Presentase motilitas sperma didasarkan pada kriteria Guest *et al. dalam* Nurman (1998) :

Tabel 1. Kriteria Guest tingkat pergerakan sperma (motilitas sperma)

KRITERIA	Nilai %
Gerakan sangat progresif, gelombang sangat besar dan cepat menunjukkan 100% sperma motil	100
Gerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90 % sperma motil	90
Antara 50-80 % sperma bergerak progresif dan menghasilkan gerakan masa	80
Gerakan melingkar, kurang dari 50% bergerak dan tidak ada gelombang	70
Gerakan spermatozoa berputar ditempat	60
Gerakan spermatozoa motil atau tidak bergerak	50

Data fertilisasi (Fr) yang diambil yaitu menghitung jumlah telur yang dibuahi pada masing-masing perlakuan untuk menentukan tingkat fertilisasi pada setiap perlakuan, persamaan yang dilakukan adalah (Nurman, 1998) :

$$Fr (\%) = \frac{\text{Jml. telur dibuahi}}{\text{Jml. telur sampel}} \times 100$$

Dalam menentukan tingkat penetasan telur data yang diperlukan adalah banyaknya telur yang menetas pada masing-masing perlakuan. Fertilisasi (Fr) dihitung berdasarkan persamaan Efrizal dan Afriazi (1998) :

$$Hr (\%) = \frac{\text{Jml. telur menetas}}{\text{Jml. telur sampel}} \times 100$$

**Analisis Data**

Penelitian ini memiliki 4 perlakuan dan masing-masing 3 ulangan. Karena seluruh satuan percobaan dianggap homogen maka rancangan yang digunakan yaitu RAL (Rancangan Acak Lengkap) menggunakan Analisis Ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji BNT 5% dan 1%.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Berdasarkan hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis sperma segar ikan mas tersebut layak digunakan untuk perlakuan dimana volume sperma 2,5 ml, bau sperma khas sperma, pH 7, warna putih susu, motilitas 60%. Menurut Arifiantini (2012), bahwa pH sperma umum berkisar antara 7,5-8,5. Menurut Faqih (2011), beberapa karakteristik semen ikan antara lain berwarna putih susu, cukup kental, berbau

khas dan rata-rata motilitas sperma kontrol sebesar 60%.

**a. Motilitas Spermatozoa**

Hasil perhitungan motilitas spermatozoa dari setiap perlakuan dan ulangan dapat dilihat pada Tabel berikut :

Tabel 2. Motilitas spermatozoa ikan mas (*C. carpio*)

Ulangan	PERLAKUAN (%)			
	A	B	C	D
1	60	50	70	90
2	50	60	60	70
3	60	70	60	80
Σ	170	180	190	240
Rataan	56,67	60,00	63,33	80

Tabel diatas menunjukkan bahwa nilai persentase rata-rata motilitas spermatozoa menunjukan bahwa nilai presentase motilitas tertinggi adalah pada perlakuan D yaitu (80,00%), kemudian disusul perlakuan C (63,33%), perlakuan B (60,00%), dan terakhir perlakuan A (56,67%).

Berdasarkan hasil analisis ragam bahwa perbedaan perlakuan memberikan pengaruh yang nyata terhadap perbedaan presentase motilitas spermatozoa ikan mas uji. Untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% dan 1%. Hasil uji BNT menunjukan perlakuan B dan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan A perlakuan D sangat berbeda nyata dengan perlakuan A, perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan B perlakuan D berbeda nyata dengan perlakuan C dan B.

Motilitas spermatozoa pada Tabel 2 menunjukkan terjadi kenaikan motilitas seiring dengan penambahan madu dalam NaCl fisiologis sampai 80% pada perlakuan D. Kemudian tingkat motilitas terendah pada perlakuan A tanpa penambahan madu yaitu 56,67%. Ini berarti dengan penambahan madu yang lebih tinggi memberikan pengaruh yang nyata terhadap motilitas. Menurut Soeparna (1980), pergerakan spermatozoa memerlukan energi seperti halnya pada sel-sel hidup lainnya. Energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa diperoleh gula sederhana seperti fruktosa dan glukosa (Tang dan Affandi, 2004). Menurut Soehartojo (1995), bahan utama yang dipakai spermatozoa sebagai sumber energi dari luar testis adalah fruktosa yang diubah menjadi asam laktat dan energi dengan enzim fruktolisin. Faktor kedua diduga terjadinya peningkatan waktu motilitas dan spermatozoa tersebut adalah bahwa fruktosa dapat meningkatkan aktifitas protein yang terdapat pada ekor spermatozoa. Beberapa ahli mengatakan bahwa bagian tengah ekor spermatozoa disusun oleh mikrotubulus yang mengandung substansi fiber yang disusun oleh protein dinein. Menurut Zaneveld (1978) dalam Purwaningsih (2000), protein dinein ini penting karena mempunyai aktivitas ATP-ase. ATP-ase akan lancar dan menyebabkan peningkatan motilitas spermatozoa. Hal sama yang dikatakana Soehartojo (1995), bahwa diluar testis sel spermatozoa mampu memakai sumber energi dari luar untuk melanjutkan hidupnya.

Persentase motilitas rendah disebabkan karena padatnya spermatozoa dalam cairan sperma. Menurut Syandri

(1993), semakin banyak volume semen maka konsentrasi spermatozoa semakin sedikit. Sebaliknya jika cairan sperma sedikit maka terjadi kepadatan spermatozoa. Dengan demikian rendahnya motilitas spermatozoa pada perlakuan A dan B, disebabkan masih kurangnya sumber energi yang menyebabkan motilitas sperma masih kurang.

**b. Fertilisasi**

Hasil perhitungan presentase fertilisasi dari setiap perlakuan dan ulangan dapat dilihat pada Tabel 4

Tabel 4. Hasil rata-rata fertilisasi ikan mas (*C. carpio*)

Ulangan	PERLAKUAN (%)			
	A	B	C	D
1	69	76	82,5	85
2	64,5	80,5	77,5	83
3	78	69	83,5	84
Σ	211,5	225,5	243,5	252
Rataan	70,50	75,17	81,17	84,00

Tabel di atas menunjukkan bahwa rata-rata fertilisasi tertinggi terdapat pada perlakuan D (84,00%) dan terendah perlakuan A (70,50%).

Hasil analisis ragam menunjukan bahwa perbedaan perlakuan memberikan pengaruh yang nyata terhadap perbedaan presentase fertilisasi ikan mas uji.

Untuk melihat perbedaan dari setiap perlakuan yang dicobakan maka dilakukan uji BNT 5% dan 1%. Hasil uji BNT menunjukan perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan A sedangkan perlakuan C dan D berbeda nyata dengan perlakuan A, perlakuan C tidak berbeda nyata dengan

perlakuan B, dan perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan C.

Tingkat fertilisasi nampaknya mengikuti apa yang terjadi pada tingkat kualitas sperma, dimana motilitas yang tinggi memberikan fertilisasi yang tinggi pula begitu juga sebaliknya. Menurut Tang dan Affandi (1999), konsentrasi spermatozoa yang tinggi dapat menghambat aktifitas spermatozoa karena berkurangnya daya gerak sehingga spermatozoa sukar menemukan atau menembus mikrofil sel telur yang mengakibatkan rendahnya fertilisasi spermatozoa. Kualitas semen seperti cairan plasma semen akan mempengaruhi motilitas spermatozoa. Nurman (1998). Perlakuan A (tanpa larutan pengencer) mengalami fertilisasi terendah (70,50%) diduga dengan NaCl fisiologi saja tidak memberikan sumber energi untuk proses feritilisasi, Menurut Soehartojo (1995), bahan utama yang dipakai spermatozoa sebagai sumber energi dari luar testis adalah fruktosa yang diubah menjadi asam laktat dan energi dengan enzim fruktolisin. Pendapat lain yaitu Affandi dan Tang (2002) yang menyatakan bahwa larutan elektrolit dalam bentuk gula seperti fruktosa atau glukosa dapat digunakan sebagai pengencer sperma. Tingginya konsentrasi spermatozoa dalam proses pembuahan dapat mengakibatkan timbulnya persaingan antara spermatozoa untuk memasuki mikrofil sel telur. Dengan adanya persaingan ini spermatozoa gagal memasuki lubang mikrofil sel telur. Disamping itu konsentrasi potasium yang tinggi dapat mengurangi lama pergerakan dari spermatozoa sehingga gagal mencapai

mikrofil yang mengakibatkan rendahnya fertilisasi (Affandi dan Tang 2002).

**c. Daya Tetas Telur**

Hasil perhitungan presentase penetasan telur dari setiap perlakuan dan ulangan dapat dilihat pada tabel 6

Hasil perhitungan rata-rata persentase daya tetas telur dalam ulangan dan perlakuan yang tertinggi pada perlakuan D yaitu (82,33%) kemudian disusul perlakuan C (77,67%), perlakuan B (72,00%), dan terendah perlakuan A (66,67%).

Tabel 6. Hasil rata-rata daya tetas telur ikan mas (*Cyprinus carpio*)

Ulangan	PERLAKUAN (%)			
	A	B	C	D
1	66	73	79	84
2	60	79	74	81
3	74	64	80	82
Σ	200	216	233	247
Rataan	66,67	72,00	77,67	82,33

Hasil analisis ragam menunjukan perbedaan perlakuan memberikan pengaruh yang nyata terhadap presentase daya tetas telur ikan mas uji. Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% dan 1 % . Hasil uji BNT menunjukan perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan A, perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A dan perlakuan D sangat berbeda nyata dengan perlakuan A, perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, perlakuan D berbeda nyata dengan perlakuan B, sedangkan perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan C.

Hasil yang diperoleh pada penetasan jika dilihat dari data persentase fertilisasi ikan mas dengan persentase daya tetas telur ternyata dengan adanya persentase fertilisasi yang tinggi akan diikuti oleh penetasan yang tinggi pula, dengan demikian tingkat penetasan telur dari masing-masing perlakuan mengikuti tingkat fertilisasi. Menurut Masrizal dan Efrizal (1997), bahwa faktor internal yang akan mempengaruhi tingkat penetasan telur adalah perkembangan embrio yang terhambat akibat sperma yang kurang motil sedangkan menurut Syandri (1993), faktor internal yang berpengaruh terhadap daya tetas telur adalah perkembangan embrio yang terhambat karena kualitas spermatozoa dan telur kurang baik.

**KESIMPULAN**

1. Penambahan madu pada media pengencer NaCl fisiologis berpengaruh terhadap presentase motilitas sperma, fertilisasi dan daya tetas telur ikan mas (*Cyprinus carpio L*).
2. Dari hasil penelitian yang diperoleh bahwa perlakuan D memiliki tingkat motilitas sperma 80,00%, fertilisasi 84,00% dan daya tetas 82,33% pada pengenceran 0,6 ml madu + 99,4 ml NaCl fisiologis memiliki nilai terbaik.

**DAFTAR PUSTAKA**

Arifiantini RI. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen Pada Hewan. Bogor. IPB press.  
 Anonim. 2010. Penuntun Laboratorium WHO untuk Pemeriksaan Semen dan Interaksi Semen Getah Serviks. Balai Penerbit FKUI, Jakarta.

- Affandi, Tang. 2002. Fisiologi Hewan Air. Pekanbaru. Universitas Riau Press.
- Effrizal, Afriazi. 1998. Pengaruh Penyuntikan Ovaprim Terhadap Kualitas Telur Ikan Lele Lokal (*Clarias batrachus*). Fisheries Journal, GARING Vol. 7. No. 2 Jurnal Fakultas Perikanan Universitas Bung Hatta. Padang
- Effendy MI. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Nusatama. Bogor.
- Faqih AR. 2011. Penurunan Motilitas dan Daya Fertilitas Sperma Ikan Lele Dumbo. J. Exp. Life Sci. 1 (2) : 56-110.
- Mar'ati K. 2007. Pengaruh Dosis dan Lama Penyimpanan Pengencer Susu Skim Pengencer Terhadap Kualitas Semen Ikan Mas (*caprinus caprio*) [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi, Islam Negeri Universitas Malang, Malang, 41 hlm.
- Masrizal, Efrizal. 1997. Pengaruh Rasio Pengenceran Mani terhadap Fertlisasi Sperma dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). Fisheries Journal Garing 6: 1-9.
- Nurman. 1998. Pengaruh Penyuntikan Ovaprim Terhadap Kualitas Spermatozoa Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariophynus*. B). Fisheries Journal, GARING Vol. 7. No. 2 Jurnal Fakultas Perikanan Universitas Bung Hatta. Padang. 2: 3-42.
- Purwaningsh E. 2000. Pengaruh Pemberian Ekstrak Juice Buah Oyong Muda Tanpa Biji (*Luffa acutangula* R) Secara In Vitro Terhadap Kualitas Spermatozoa. Jurnal Kedokteran YARSI 8 ; 70-74.
- Rustidja. 2000. Pemisahan Spermatozoa x dan y Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). Universitas Brawijaya. Malang Hatta. Padang
- Soehartojo H. 1995. Ilmu Kemajiran Pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya.
- Syandri H. 1993. Berbagai Dosis Ekstrak Hipofisasi Dan Pengaruhnya Terhadap Mani Dan Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*. L). Jurnal terubuk. XIX. No. 55 Fakultas Peikanan Universitas Bung Hatta. Padang.
- Soeparna. 1980. Pengantar Spermatologi, Masalah Khusus. Fakultas Perikanan. IPB. Bogor.
- Tang MU, Affandi R. 2004. Biologi Reproduksi Ikan. Uni Press. Riau. hal. 20-34
- Tang UM, Affandi R. 1999. Biologi Reproduksi Ikan. IPB Bogor
- Toelihere. MR. 1981. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Angkasa, Bandung, 290 hlm. Bogor.
- Woynarovich E, Horvarth, L. 1980. The Artificial Propagation of Warm-Water Fin Fish. A Manual for Extention. FAO Fish. Tech. Pap., No. 201. 183 p.