

Efek Kuning Telur Terhadap Motilitas Sperma Ikan Lukas (*Puntius bramoides* Val) Pascakriopreservasi

Primasari Pertiwi^{1*}, Abinawanto², Salman Farisi¹

¹Fakultas MIPA, Program Studi Biologi, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia

²Fakultas MIPA, Program Studi Biologi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

Email: ^{1*}primasari.pertiwi@fmipa.ac.id, ²abinawanto@gmail.com, ¹alfarisi.mdr@gmail.com

(* : coresponding author)

Abstrak – Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh beberapa konsentrasi kuning telur sebagai krioprotektan alami yang efektif untuk kriopreservasi serta menganalisis kualitas spermatozoa ikan lukas (*Puntius bramoides* Val) 48 jam pascakriopreservasi. Penelitian ini menggunakan 9 perlakuan dan 4 kali ulangan. Konsentrasi kuning telur yang digunakan sebagai krioprotektan adalah 0% (kontrol negatif), 5%, 7%, 9%, 11%, 13%, 15%, 17%, dan penggunaan *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) 1% sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan beberapa konsentrasi kuning telur sebagai krioprotektan ekstraseluler alami mampu mempengaruhi nyata ($P < 0,005$) terhadap kualitas spermatozoa ikan lukas 48 jam pascakriopreservasi. Penggunaan kuning telur konsentrasi 9% merupakan konsentrasi optimum dalam menjaga motilitas spermatozoa ikan lukas dengan rata-rata persentase yang diperoleh masing-masing sebesar $80,45 \pm 0,93\%$.

Kata Kunci: Ikan Lukas, Motilitas, Kriopreservasi, Kuning Telur.

Abstract – The research aims to determine the effect of several concentrations of egg yolk as an effective natural cryoprotectant for cryopreservation and to analyze the quality of lukas fish spermatozoa (*Puntius bramoides* Val) 48 hours after cryopreservation. This research used a 9 treatments and 4 replications. The concentration of egg yolk used as a cryoprotectant was 0% (negative control), 5%, 7%, 9%, 11%, 13%, 15%, 17%, and 1% Carboxymethyl Cellulose (CMC) was used as a positive control. The results showed that the use of several concentrations of egg yolk as a natural extracellular cryoprotectant was able to significantly influence ($P < 0.005$) the quality of Lukas fish spermatozoa 48 hours after cryopreservation. The use of egg yolk concentration of 9% is the optimum concentration in maintaining the motility of Lukas fish spermatozoa with the average percentage obtained each being $80.45 \pm 0.93\%$.

Keywords: Lukas Fish, Motility, Cryopreservation, Egg Yolk.

1. PENDAHULUAN

Ikan lukas (*Puntius bramoides* Val) merupakan jenis ikan air tawar yang terdistribusi secara luas di beberapa sungai di Jawa, Sumatra, dan Kalimantan. Ikan ini telah lama dikenal dan digemari oleh masyarakat sebagai ikan konsumsi karena kandungan gizinya dan merupakan sumber protein hewani (Umiyati, 2005). Bentuk tubuh ikan lukas mirip dengan ikan bandeng, namun dibandingkan dengan ikan bandeng, ikan lukas mempunyai nilai jual di pasar yang tergolong lebih murah. Ikan lukas dapat dijadikan sebagai alternatif pilihan ikan konsumsi masyarakat dikarenakan keunggulan lain dari ikan ini, yaitu tingkat kematangan gonad yang relatif cepat dibandingkan spesies *family Cyprinidae* lainnya (Sukumasavin, 2008).

Jumlah ikan lukas di Waduk Gajah Mungkur, Jawa Tengah pada tahun 2005 berada pada urutan kelima yaitu sebesar ± 140 ton, namun pada tahun 2009 produksi ikan ini mengalami penurunan drastis menjadi hanya 63,1 ton. Penurunan produksi ikan lukas di waduk ini diduga terkait dengan laju eksploitasi yang semakin meningkat dari tahun ke tahun dan diintroduksinya spesies patin (*Pangasius pangasius*) (Kasim *et al.*, 2012). Pemenuhan permintaan benih dalam jumlah besar dan berkelanjutan menjadi kendala dalam proses produksi ikan lukas, sehingga dibutuhkan solusi alternatif yang dapat menyelesaikan permasalahan tersebut. Alternatif yang bisa dilakukan untuk menyediakan benih ikan lukas sepanjang tahun yaitu melalui penyimpanan spermatozoa yang dapat dilakukan dengan teknik kriopreservasi (Setyono, 2009).

Kriopreservasi merupakan metode yang dapat digunakan untuk menyimpan materi genetik dalam keadaan beku. Metode kriopreservasi dapat memungkinkan untuk menyimpan materi genetik (seperti spermatozoa dan sel telur) dalam waktu yang lama (Avis & Wagner 1991). Menurut

Sunarma (2007) teknik kriopreservasi memiliki beberapa manfaat antara lain mempertahankan keragaman genetik suatu spesies, sinkronisasi reproduksi secara buatan, serta sebagai salah satu bentuk konservasi *ex-situ*.

Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan kriopreservasi salah satunya adalah penggunaan kombinasi ekstender dan krioprotektan. Kuning telur dapat digunakan sebagai krioprotektan ekstraseluler alami pada spermatozoa ikan karena mengandung lipoprotein untuk mencegah terjadinya *cold shock* pada saat proses pembekuan (Vishwanath dan Shannon, 2000). Penggunaan kuning telur juga lebih murah dan mudah didapatkan. Penelitian kriopreservasi menggunakan kuning telur telah diteliti antara lain pada spermatozoa ikan patin jambal (*Pangasius djambal*) (Sularto *et al.*, 2013), dan spermatozoa ikan tawes (*Barbonymus gonionotus*) (Abinawanto *et al.*, 2013).

2. METODE

2.1 Pengoleksian Sperma

Induk jantan yang akan diambil spermanya, terlebih dahulu disuntik dengan menggunakan GnRH analog (Ovaprim, Syndell) dengan dosis 0,5 mL/kg Berat Badan, penyuntikkan dilakukan secara intramuskular. Sperma yang akan digunakan diperoleh dengan cara *stripping* pada bagian abdomen. Sebelum dilakukan *stripping*, bagian abdomen dan urogenital terlebih dahulu dibersihkan dengan kertas tisu untuk mencegah kontaminasi sperma dari urin, lendir dan feses. Sperma yang keluar ditampung terlebih dahulu dalam *disposable syringe* tanpa jarum dengan skala 1 mL.

2.2 Larutan Pengencer

Pengencer yang digunakan terdiri atas ekstender berupa larutan glukosa, metanol, dan kuning telur. Pembuatan larutan tersebut dilakukan melalui dua tahap. Tahap pertama adalah memisahkan kuning telur dari *yolk sac* menggunakan kertas saring (*Whatman* nomor 1). Tahap kedua ialah mencampurkan larutan ekstender glukosa dengan kuning telur sesuai komposisi yang telah ditentukan. Campuran dihomogenkan dengan cara menghisap dan mengeluarkan campuran sebanyak 10 kali dengan menggunakan pipet mikro. Campuran tersebut dibuat dalam beberapa *cryotube* yang telah diberi label, kemudian disimpan dalam lemari pendingin bersuhu 6°C. Metanol dimasukkan terakhir sebelum penambahan sperma ke dalam *cryotube*. Perbandingan sperma dan larutan pengencer yang akan digunakan, yaitu 1:9 (Sunarma, 2007).

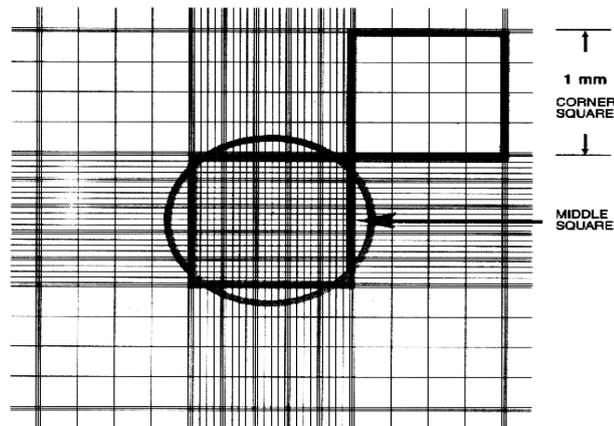
2.3 Evaluasi Sperma

Evaluasi sperma akan dilakukan sebanyak dua kali, yaitu evaluasi sperma segar dan pascakriopreservasi. Pengamatan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi makroskopis meliputi volume, warna, bau, dan pH.

2.4 Persentase Motilitas Sperma

Pengenceran sperma yang akan digunakan untuk penghitungan motilitas spermatozoa segar dan pascakriopreservasi sebesar 100 kali. Sebanyak 10 µL sperma yang diencerkan, kemudian di teteskan pada kamar hitung *improved Neubauer* (Gambar 1) dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 40. Penghitungan dilakukan dengan menghitung jumlah spermatozoa yang motil dan spermatozoa total. Rumus penghitungan persentase motilitas yaitu:

$$\% \text{ motilitas} = \frac{\Sigma \text{ spermatozoa motil}}{\Sigma \text{ spermatozoa total}} \times 100\% \quad (1)$$



Gambar 1. Penghitungan Motilitas Dengan Kamar Hitung

2.5 Pengolahan dan Analisis Data

Analisis statistik pada data dilakukan dengan menggunakan *Statistical Product and Service Solution (SPSS) 16.0 for Windows*. Data-data yang diperoleh ditabulasikan kemudian dianalisis menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Karakteristik fisik dan kimia sperma ikan Lukas

Pengamatan karakteristik fisik dan kimia sperma ikan lukas meliputi volume, pH, warna, dan bau sperma. Berikut ini merupakan data karakteristik sperma ikan lukas yang masing-masing dilakukan sebanyak empat kali pengulangan dengan beberapa individu yang berbeda (Tabel 1).

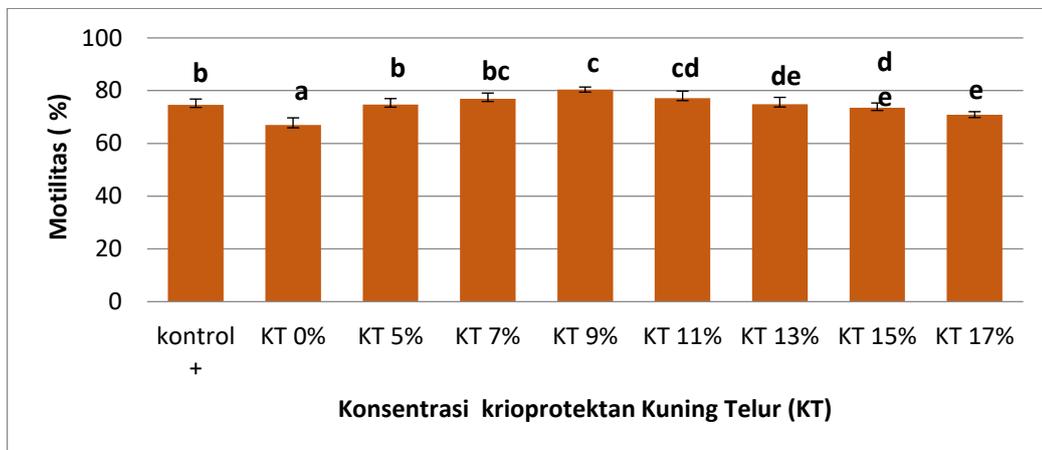
Tabel 1. Karakteristik Fisik Dan Kimia Sperma Ikan Lukas

Individu	Volume (mL)	pH	Warna	Bau
1	0,45	8,0	Putih susu	Amis
2	0,52	8,5	Putih susu	Amis
3	0,74	8,2	Putih susu	Amis
4	0,80	8,2	Putih susu	Amis
Rata-rata	0,63	8,2	Putih susu	Amis
SD	0,17	0,21	-	-

Rata-rata volume sperma yang diperoleh dalam penelitian adalah sebesar $0,63 \pm 0,17\%$ (Tabel 1). Menurut Ginzburg (1972) nilai volume sperma tersebut normal untuk sperma ikan dari *family Cyprinidae* yang memiliki kisaran volume sebesar 0,2--3,55 mL. Menurut Routray *et al.* (2007) variasi volume sperma yang dihasilkan oleh ikan lukas dikarenakan oleh beberapa faktor salah satunya faktor lingkungan. Faktor lingkungan seperti suhu, pH air, dan kadar oksigen yang tidak sesuai dapat menyebabkan stress pada ikan sehingga ikan tersebut tidak dapat menghasilkan volume sperma dalam jumlah banyak. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pH rata-rata sperma ikan lukas sebesar $8,2 \pm 0,21\%$. Nilai pH tersebut normal untuk sperma ikan dari *family Cyprinidae* yang memiliki kisaran pH antara 6,2--8,2 (Routray *et al.*, 2007). Warna sperma yang diperoleh dalam penelitian sesuai dengan Fujaya (2002) yaitu berwarna putih susu dengan bau amis.

3.2 Persentase motilitas spermatozoa pascakriopreservasi

Evaluasi secara mikroskopis terhadap spermatozoa ikan lukas 48 jam pascakriopreservasi adalah dengan menghitung persentase motilitas spermatozoa. Hasil uji statistik menggunakan uji Anava ($P < 0,05$) terhadap persentase motilitas spermatozoa ikan lukas menunjukkan bahwa, adanya perlakuan menggunakan kuning telur sebagai krioprotektan memberikan pengaruh nyata terhadap motilitas spermatozoa. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya perbedaan nyata antara kontrol positif yaitu menggunakan *carboxymethyl cellulose* (CMC) 1% dengan kontrol negatif yaitu kuning telur konsentrasi 0% (tanpa kuning telur) dan dengan perlakuan kuning telur (5%, 7%, 9%, 11%, 13%, 15%, dan 17%). Data persentase motilitas spermatozoa ikan lukas 48 jam pascakriopreservasi dapat dilihat pada gambar 2. Perlakuan dengan menggunakan kuning telur konsentrasi 0% memiliki nilai motilitas terendah yaitu $66,94 \pm 2,76\%$, sedangkan perlakuan dengan kuning telur 9% merupakan konsentrasi paling optimum dalam mempertahankan nilai motilitas yaitu $80,45 \pm 0,93\%$.



Gambar 2. Persentase Motilitas Spermatozoa Pascakriopreservasi

Proses kriopreservasi dapat menyebabkan motilitas spermatozoa menurun, karena spermatozoa mengalami kerusakan selama proses kriopreservasi (Rurangwa *et al.*, 2004). Penggunaan kuning telur sebagai krioprotektan ekstraseluler dapat mempertahankan motilitas spermatozoa karena kandungan lesitin (fosfatidil kolin) dan lipoprotein. Kandungan protein tersebut berperan sebagai membran *coating* yang dapat melindungi spermatozoa dari perubahan lingkungan eksternal suhu ekstrem rendah (Arifiantini *et al.*, 2005). Perlindungan dengan lesitin dan lipoprotein pada permukaan luar membran sel spermatozoa dapat mencegah kerusakan akibat *cold shock*. Resiko kerusakan membran spermatozoa akibat kehilangan fosfolipid dapat dikurangi dengan menambahkan kuning telur ke dalam larutan pengencer. Hal tersebut disebabkan protein dalam plasma semen justru akan mengikat lesitin dan lipoprotein dalam kuning telur (Bergeron *et al.*, 2004). Perlindungan kuning telur terhadap membran spermatozoa akan mempengaruhi nilai presentase motilitas spermatozoa, karena kerusakan membran spermatozoa dapat dihindari dan spermatozoa akan tetap motil.

Kuning telur juga mengandung zat anti aglutinasi untuk mencegah denaturasi protein, sehingga tidak terjadi penggumpalan sperma. Penggumpalan sperma dapat menghambat motilitas spermatozoa. Menurut Beaden *et al.* (2004) penambahan kuning telur dapat meningkatkan viskositas plasma sperma sehingga dapat memperlambat pergerakan spermatozoa. Pergerakan spermatozoa yang lambat dapat mengurangi penggunaan energi (ATP) yang tersedia sehingga mampu memperpanjang durasi motilitas spermatozoa. Viskositas yang terlalu tinggi juga dapat menyebabkan motilitas spermatozoa menurun karena sulit bergerak atau bahkan spermatozoa dalam keadaan imotil. Hal tersebut dapat terlihat pada perlakuan kuning telur konsentrasi 17% (Gambar 2). Persentase motilitas pada perlakuan tersebut mengalami penurunan menjadi $70,80 \pm 1,22\%$, hal tersebut diduga akibat viskositas yang meningkat sehingga motilitas spermatozoa menjadi terhambat.

4. KESIMPULAN

Penggunaan beberapa konsentrasi kuning telur (0%, 5%, 7%, 9%, 11%, 13%, 15%, 17%) sebagai krioprotektan ekstraseluler alami mampu mempengaruhi kualitas motilitas spermatozoa ikan lukas (*Puntius bramooides* Val) 48 jam pascakriopreservasi. Penggunaan kuning telur konsentrasi 9% merupakan konsentrasi optimum dalam menjaga motilitas spermatozoa ikan lukas dengan rata-rata persentase yang diperoleh sebesar $80,45 \pm 0,93\%$.

REFERENCES

- Abinawanto, S. Rahayu, R. Lestari. (2013). Cryopreservation of Java barb (*Barbonymus gonionotus*) spermatozoa using egg yolk as a cryoprotectant. *Global Veterinary* 10(3): 318--321.
- Arifiantini, R. I., T. L. Yusuf & O. Indah. (2005). Kaji banding dua teknik pengemasan menggunakan tiga macam pengencer untuk pembekuan semen sapi Friesian Holstein (FH). *Seminar Nasional Teknologi Perternakan dan Veteriner*. 366--376.
- Bearden, H.J., J.W. Fuquay & S.T. Willard. (2004). *Applied animal reproduction*. 6th ed. Pearson Prentice Hall, New Jersey: xvi + 427 hlm.
- Bergeron, A., M.H. Crete, Y. Brindel & P. Manjunath. (2004). Low-density lipoprotein fraction from hen's egg yolk decreases the binding of the major proteins of bovine seminal plasma to sperm and prevents lipid efflux from the sperm membrane. *Biology of Reproduction* 70: 708--717.
- Fujaya, Y. (2002). *Fisiologi ikan: Dasar pengembangan teknologi perikanan*. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanudin, Makassar: vii + 204 hlm.
- Kasim, K., C. Umar, P.S. Sulaiman & N. Zulfia. (2012). Makanan dan reproduksi ikan lukas (*Dangila cuvieri*, Valenciennes 1842) di perairan waduk gajah mugkur Wonogiri. *BAWAL* 4(2): 113--120.
- Routray, P., D. K. Verma, S. K. Sarkar & N. Sarangi. (2007). Recent advances in carp seed production and milt cryopreservation. *Fish Physiology Biochemistry* 10: 1--15.
- Rurangwa, E., D. E. Kime, F. Ollevier & J. P. Nash. (2004). The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture* 234: 1--28.
- Setyono, B. (2009). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Bahan pada Pengencer Sperma Ikan "Skim Kuning Telur" terhadap Laju Fertilisasi, Laju Penetasan dan Sintasan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). *Gamma* 5(1): 01--12.
- Sularto, E. Tahapari, W. Hadie & I. Nurlela. (2013). Penggunaan kuning telur bebek sebagai ekstender pada proses kriopreservasi sperma ikan patin jambal. *Konferensi Akuakultur Indonesia* 220--225.
- Sukumasavin, N. (2008). *Advanced freshwater aquaculture: Fish reproduction*. Inland Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Thailand: 133--159 hlm.
- Sunarma, A. (2007). *Kriopreservasi sperma ikan nilem (Osteochilus hasselti) menggunakan ekstender dan krioprotektan berbeda*. Tesis S2-Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto: xvii + 55 hlm.
- Umiyati, T. (2005). *Studi Pakan Alami Ikan Senggaringan (Mystus nigriceps) dan Ikan Lukas (Puntius bramooides) di Perairan Bendung Gerak Serayu Kabupaten Banyumas*. Skripsi (Tidak Dipublikasi). Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Vishwanath, R. & P. Shannon. (2000). Storage of Bovine Semen in Liquid Frozen State. *Animal Reproduction Science* 62: 23--53.