

Pengaruh Macam Media Aktivator terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Tombro (*Cyprinus carpio*)

*The Effect of Different Activator Medium on Sperm Motility of Common Carp (*Cyprinus carpio*)*

Sukma Aji Prastyawan*, Nur Ducha, Tarzan Purnomo

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

*Sukma.Aji.Prastyawan@gmail.com

ABSTRAK

Fertilisasi buatan membutuhkan larutan yang dapat menginduksi motilitas spermatozoa ikan. Spermatozoa ikan tidak motil dalam seminal plasma, sehingga dibutuhkan media aktivator untuk menginduksi motilitas spermatozoa. Tujuan penelitian ini untuk mengkaji pengaruh penambahan media aktivator yang berbeda terhadap motilitas dan durasi motilitas spermatozoa ikan tombro (*Cyprinus carpio*). Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan dalam penelitian ini dengan empat perlakuan dan lima pengulangan. Empat media perlakuan meliputi; media aktivator A dengan komposisi KCl, sukrosa, K_2HPO_4 dan $MgCl_2 \cdot 6H_2O$. Media aktivator B dengan komposisi NaCl, glycine, dan larutan penyangga tris. Media aktivator C dengan komposisi NaCl, KCl, dan larutan penyangga tris. Media aktivator D dengan komposisi NaCl. Nilai motilitas didapat dengan mengestimasi persentase spermatozoa yang bergerak lurus ke depan menggunakan mikroskop perbesaran 400x dan nilai durasi motilitas didapat dengan mencatat lama waktu spermatozoa motil sampai tidak motil dalam detik. Data dianalisis menggunakan uji ANAVA satu arah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivator memberikan pengaruh paling baik pada motilitas dengan nilai $92,00 \pm 5,219$ dan durasi motilitas dengan nilai $1089,60 \pm 28,174$ setelah aktivasi. Simpulan dari penelitian ini adalah penambahan berbagai macam media aktivator berpengaruh terhadap motilitas dan durasi motilitas.

Kata kunci: media aktivator; kualitas spermatozoa; spermatozoa ikan tombro

ABSTRACT

Artificial fertilization requires a solution that induce fish sperm motility. The fish spermatozoa are immotile in the seminal plasmas, so it requires activator medium to induce motility. The purpose of this research was to determine the effect of different activator medium on the motility and motility duration of tombro fish (*Cyprinus carpio*) spermatozoa. Complete Random Design used in this study with four treatments and five repetitions. Four medium treatment were activator medium A with composition KCl, sucrose, K_2HPO_4 and $MgCl_2 \cdot 6H_2O$. Activator medium B with composition NaCl, glycine, and buffer tris. Activator medium C with composition NaCl, KCl, and buffer tris. Activator medium D with composition NaCl. Motility values obtained by estimating the percentage motility of moving forward spermatozoa used light microscopy 400x magnification. Motility duration value obtained by recording the length of time of motile spermatozoa until immotile in second. Result were by one-way ANOVA test. Results of research on motility and duration motility showed activator medium A gave best effect with a value of 92.00 ± 5.219 and 1089.60 ± 28.174 after activation. The conclusion of this study was the addition of different activator medium gave effect on motility and duration motility.

Key word: activator medium; spermatozoa of common carp; sperm quality

PENDAHULUAN

Fertilisasi buatan termasuk alternatif fertilisasi selain fertilisasi alami. Fertilisasi buatan lebih menjanjikan dikarenakan jumlah telur yang akan ditetaskan dapat dikontrol, kualitas air dapat dikontrol serta tingkat mortalitasnya lebih sedikit dan mampu menghasilkan telur lebih banyak dari pada proses fertilisasi alami (FAO, 2015). Fertilisasi buatan membutuhkan media yang dapat menginduksi motilitas spermatozoa ikan.

Menurut Islam dan Akhter (2011) spermatozoa ikan air tawar dan ikan laut ini

tidak motil (bergerak) selama dalam saluran reproduksi atau di pengencer yang osmolaritasnya hampir sama dengan seminal plasma. Menurut Alavi dan Cosson (2006) penyebab spermatozoa tidak motil pada seminal plasma dan saluran reproduksi adalah konsentrasi dari ion potasium (K^+) konsentrasi tinggi di dalam seminal plasma dapat menghambat pergerakan dari *dynein motors* sehingga mencegah ikan motil. Upaya yang dilakukan untuk menginduksi motilitas spermatozoa dengan cara menambahkan media aktivator. Media aktivator adalah suatu

larutan yang dapat menginduksi motilitas spermatozoa ikan (Rocha *et al.*, 2008). Motilitas dan durasi motilitas termasuk salah satu faktor yang digunakan untuk menilai kualitas spermatozoa ikan.

Faktor yang memengaruhi motilitas spermatozoa ikan tombro dan durasi motilitas sebagai berikut; pH, kandungan ion, osmolaritas dan suhu (Alavi dan Cosson, 2005; Alavi dan Cosson, 2006; Islam dan Akhter, 2011; Cabrita *et al.*, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh berbagai macam media aktivator terhadap motilitas dan durasi motilitas spermatozoa ikan tombro (*Cyprinus carpio*).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Juli hingga Agustus 2016 di Laboratorium Bioteknologi Biologi FMIPA UNESA dan Unit Pengelola Budidaya Air Tawar (UPBAT), Puntren, kota Batu Jawa Timur. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah semen segar ikan tombro yang diaktivasi menggunakan berbagai macam aktivator. Bahan yang digunakan untuk pembuatan media aktivator A adalah 2.567 g sukrosa, 0.2237 g KCl, 0.122 g $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 0.272 g K_2HPO_4 , aqua bisdestilasi 100 ml; pH 9.0 dengan penambahan 30% KOH (Atanasov *et al.*, 2006). Media aktivator B adalah NaCl 0.009 M, *glycine* 0.05 M and 7-9 tris 0.02 M and 87.40 mOsmol/kg (Aguilar-Juárez *et al.*, 2014). Media aktivator C adalah 45mM NaCl, 5mM KCl, dan 30 mM tris dalam 100 ml akuades (Sunarma dkk., 2007), serta media aktivator D adalah NaCl sebanyak 0,3 g dilarutkan dalam 100 ml akuades (Bozkurt *et al.*, 2009; Bozkurt, 2005).

Evaluasi semen yang meliputi warna semen, pH, konsistensi, motilitas, osmolaritas dilakukan terlebih dahulu. Setelah dilakukan evaluasi, dilakukan aktivasi dengan perbandingan 1:20 (semen segar: media aktivator). Tahap berikutnya adalah melakukan pengamatan motilitas dan durasi motilitas spermatozoa. Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan dengan membandingkan spermatozoa hidup bergerak ke depan dengan spermatozoa yang diamati (Ducha dkk., 2012). Durasi motilitas spermatozoa diukur dengan *stopwatch* dari spermatozoa motil sampai tidak ada spermatozoa motil dalam detik. Pengamatan mikroskopis menggunakan perbesaran 400x.

Data berupa persentase motilitas ditransformasikan terlebih dahulu dengan menggunakan transformasi *arc sin*. Data durasi motilitas dan data hasil transformasi dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 20 *for windows*. Pengujian data dilakukan menggunakan uji *One Sample Kolmogorov-Sminorv* untuk menentukan distribusi data. Data motilitas dan durasi motilitas yang berdistribusi normal masing-masing diuji menggunakan ANAVA satu arah, dilanjutkan dengan uji beda nyata menggunakan uji Duncan.

HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan nilai motilitas dan durasi motilitas tertinggi pada media aktivator A dengan nilai $92.00 \pm 5.219\%$, 1089.60 ± 28.17 detik. Media D menunjukkan hasil terendah dalam motilitas dan durasi motilitas sebesar $70.00 \pm 2.236\%$, 371.40 ± 46.33 detik (Tabel 1.).

Tabel 1. Nilai motilitas dan durasi motilitas spermatozoa ikan tombro dengan berbagai media aktivator

Data pengamatan	Rata-rata Motilitas dan Durasi motilitas Setelah Aktivasi \pm Standar Deviasi.			
	Media A	Media B	Media C	Media D
Motilitas (%)	92.00 ± 5.219^a	83.00 ± 3.813^b	84.50 ± 3.121^b	70.00 ± 2.236^c
Durasi motilitas (detik)	1089.60 ± 28.17^a	648.00 ± 47.17^b	626.80 ± 21.91^b	371.40 ± 46.33^c

Keterangan:

Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0.05$).

Media A (KCl, sukrosa, K_2HPO_4 dan $MgCl_2 \cdot 6H_2O$).

Media B (NaCl, *glycine*, dan tris).

Media C (NaCl, KCl, dan tris).

Media D (NaCl).

Hasil uji Duncan ($\alpha=0.05$) menunjukkan rata-rata motilitas dan durasi motilitas spermatozoa pada berbagai perlakuan media aktivator memiliki perbedaan nyata, tetapi pada penambahan media aktivator B dan C tidak memiliki perbedaan yang nyata. Hasil terbaik ditunjukkan pada penambahan media aktivator A dan hasil paling rendah ditunjukkan pada penambahan media aktivator D.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa media A memberikan pengaruh paling baik dibandingkan media aktivator lainnya. Media A memiliki syarat yang dibutuhkan untuk menjadi suatu media aktivator bagi ikan tombro. Media A dapat menginduksi motilitas spermatozoa dengan optimal. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Atanasov *et al.* (2006) bahwa penambahan media aktivator yang memiliki komposisi KCl, sukrosa, K_2HPO_4 dan $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ dapat meningkatkan 22% reproduktivitas untuk ikan *Cyprinus carpio*. Media A memiliki pH 9 dan nilai osmolaritas sebesar 85 mOsmol/kg.

Faktor-faktor yang dapat memengaruhi motilitas spermatozoa antara lain; komposisi ion pada media aktivasi, osmolaritas, pH dan suhu. Media A memiliki komposisi sukrosa, KCl, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, dan K_2HPO_4 . Oleh karena itu media A memiliki komposisi yang lebih beragam dan kompleks dalam hal ini adalah ion potasium dan ion magnesium. Ion potasium dalam media A sebanyak 3,7 mM. Ion potasium juga terdapat pada media aktivator C yakni sebesar 5 mM. Media B dan D tidak memiliki komposisi ion potasium. Ion magnesium secara alami terdapat pada seminal plasma (Alavi dan Cosson, 2005. Sesuai dengan Khara *et al.* (2014) bahwa ion potasium pada konsentrasi yang sedikit < 6 mM dapat meningkatkan motilitas spermatozoa ikan *Cyprinus carpio*. Konsentrasi ion potasium yang rendah dalam seminal plasma dapat mengakibatkan terjadinya *efflux* ion potasium dan menginduksi motilitas spermatozoa). Menurut Cabrita *et al.* (2009) diduga bahwa Ion magnesium berpengaruh positif terhadap motilitas spermatozoa *common carp*, dikarenakan kation bivalen lebih efektif dari pada monovalen dalam mengurangi efek dari tingginya ion potasium dalam seminal plasma. Natrium klorida berpengaruh terhadap osmolaritas dan juga motilitas. Natrium klorida difungsikan dalam media

aktivator untuk meningkatkan nilai osmolaritas larutan sehingga dapat meningkatkan nilai durasi motilitas (Agarwal, 2011). Nilai osmolaritas media A didapat bukan dari NaCl melainkan dari konsentrasi ion magnesium dan potassium. Media A memiliki komposisi yang tidak dimiliki oleh media yang lain, yakni sukrosa. Sukrosa dapat memperpanjang durasi spermatozoa, dikarenakan sukrosa dapat berfungsi sebagai cadangan energi bagi spermatozoa. Sukrosa berfungsi sebagai penyedia cadangan energi bagi spermatozoa (Atanasov *et al.*, 2006)

Komposisi media aktivator berpengaruh terhadap nilai osmolaritas suatu larutan (Aguilar-Juárez *et al.*, 2014). Keempat media aktivator memiliki nilai osmolaritas yang lebih rendah dari nilai osmolaritas semen ikan tombro 305 mOsmol/kg. Spermatozoa ikan akan motil jika berada pada suatu larutan yang hipotonis (Islam dan Akhter, 2011). Perbedaan gradien konsentrasi larutan yang semakin besar menyebabkan cairan masuk ke dalam sel spermatozoa dan mengakibatkan spermatozoa menggelembung dan mati lebih cepat. Hal tersebut menjadi dasar media D memiliki durasi motilitas yang terkecil, karena pada media D memiliki nilai osmolaritas yang lebih kecil dari media yang lain. Menurut Cabrita *et al.* (2009) semakin besar perbedaan nilai osmolaritas antar media aktivator dan seminal plasma akan menyebabkan penurunan durasi motilitas.

Derajat keasaman media A, B, C dan D berturut-turut ialah; 9, 8, 8, dan 7. Kondisi lingkungan yang alkali mampu meningkatkan motilitas spermatozoa karena enzim ATP-ase dan dinein dapat bekerja secara optimum pada lingkungan yang alkali antara 8 - 9. Menurut Zhou *et al.* (2015) derajat keasaman media aktivator yang baik memiliki rentang antara 7,8 - 9 untuk ikan *Cyprinus carpio*.

Suhu lingkungan dalam seminal plasma maupun media aktivator berperan dalam durasi motilitas. Dalam penelitian ini suhu merupakan salah satu variabel kontrol, sehingga diharapkan tidak berdampak terhadap durasi motilitas spermatozoa. Menurut Dadras *et al.* (2016) peningkatan suhu berdampak pada kecepatan motilitas spermatozoa namun dapat menurunkan nilai durasi motilitas. Penurunan durasi motilitas tersebut dikarenakan pasokan energi dalam spermatozoa tidak tercukupi. Pasokan energi yang tidak cukup menyebabkan spermatozoa tidak motil.

Hal yang menyebabkan media A mampu menginduksi motilitas spermatozoa dengan optimum dikarenakan media A memenuhi berbagai faktor untuk menginduksi spermatozoa ikan *Cyprinus carpio*. Berbeda dengan media aktivator lainnya yang hanya memenuhi beberapa syarat untuk menginduksi motilitas spermatozoa sehingga tidak dapat mencapai titik optimal motilitas spermatozoa.

SIMPULAN

Simpulan penelitian ini adalah penambahan berbagai macam media aktivator berpengaruh terhadap motilitas dan durasi motilitas. Media aktivator terbaik untuk ikan tombro adalah media aktivator yang memiliki komposisi sukrosa, KCl, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, dan K_2HPO_4 .

Penelitian lanjutan dapat dilakukan untuk menguji hasil penambahan media aktivator terhadap keberhasilan fertilisasi telur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Unit Pengelola Budidaya Air Tawar (UPBAT), Punten, kota Batu Jawa Timur yang telah mendukung penelitian ini, sehingga penelitian mengenai pengaruh berbagai macam media aktivator terhadap kualitas spermatozoa ikan tombro dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal NK, 2011. Cryopreservation of Fish Semen. *Himalayan Aquatic Biodiversity Conservation & New Tools in Biotechnology*. Madhu Thapliyal, Ashish Thapliyal, J.P. Bhatt (Ed.). India: Transmedia Publication.
- Aguilar-Juárez M, Campos GR, and Chávez CGP, 2014. Cold storage of the sperm of the endemic trout *Oncorhynchus mykiss nelsoni*: a strategy for short-term germplasm conservation of endemic species. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 85: 294-300.
- Alavi SMH, and Cosson J, 2005. Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. *Cell Biology International* 29 :101-110.
- Alavi SMH, and Cosson J, 2006. "Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review". *Cell Biology International*. 30: 1-14.
- Atanasov V, Staikov Y, and Nikolov G, 2006. Sperm diluent VKA-3 for artificial propagation of carps (*Cyprinus carpio* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 12: 176-184.
- Bozkurt Y, 2005. Effect of Different Cryoprotectants on Viability of Mirror Carp (*Cyprinus carpio*) Spermatozoa. *Egirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*. 1 (1): 63-67.
- Bozkurt Y, Ogretmen F, and Secer FS, 2009. Effect of Different Extenders and Storage Periods on Motility and Fertilization Success of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) Sperm During Spawning Season. *Tarim Bilimleri Dergisi*. 15 (3): 277-284.
- Cabrita E, Robles V, and Herráez P. 2009. *Methods in Reproductive Aquaculture Marine and Freshwater Species*. Ebook. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Dadras H, Dzyuba B, Cosson J, Golpour A, Siddique MAM and Linhart O, 2016. Effect of Water Temperature on The Physiology of Fish Spermatozoon Function: A Brief Review. *Aquaculture Research* 47:1-12. doi:10.1111/are.13049.
- Ducha N, Susilawati T, Aulanni'am, Wahyuningsih S, 2012. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan Pada Refrigerator Dalam Pengencer CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur. *Jurnal Kedokteran Hewan* 7(1):5-8.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015. Training Manual in The Artificial Propagation of Carps. Budapest.
- Islam MS, and Akhter T, 2011. Tale of Fish Sperm and Factors Affecting Sperm Motility: A Review. *Advances in Life Sciences*. 1(1): 11-19.
- Khara H, Hoveiri SB, Hadiseh D, Rahbar M, Ahmadnejad M, and Khodadoost A, 2014. Effect of Different Activation Solutions on Motility and Fertilizing Ability of Spermatozoa in Common Carp *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758. *Indian J. Fish*. 61(3): 63-68.
- Rocha MJ, Arukwe A and Kapoor BG, 2008. *Fish Reproduction*. Ebook. New Hampshire: Science Publishers.

Sunarma A, Hastuti DW, dan Sistina Y, (2007). Pengaruh Ekstender Madu yang Dikombinasikan dengan Krioprotektan Berbeda pada Pengawetan Sperma Ikan Nilem (Indonesian Sharkminow, *Osteochilus hasseltii* Valenciennes, 1842). Makalah disajikan dalam Konferensi

Indonesian Aquacult 2007, Surabaya, 05-07 Juli 2007.

Zhou J, Chen L, Li J, Li H, Hong Z, and Xie M, 2015. The Semen pH Affects Sperm Motility and Capacitation. *Plos One*. 10(7): 1-15.