

PENGARUH KRIOPROTEKTAN DIMETIL SULFOKSIDA DOSIS BERBEDA DALAM EKSTENDER MADU TERHADAP KUALITAS SPERMA IKAN BELIDA SELAMA MASA PENYIMPANAN

The Effect of Different Doses of Dimethyl Sulfoxid Cryoprotectant in Honey Extender on Sperm Quality of Featherback Fish During the Storage Period

Danang Yonarta, Mochamad Syaifudin*, Ferdinand Hukama Taqwa, Tanbiyaskur, Muhammad Fery Artha Kusuma
Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.
Jl. Raya Palembang-Prabumulih KM.32 Indrayala, Ogan Ilir
Email: msyaifudin@fp.unsri.ac.id

Diserahkan tanggal 13 Januari 2022, Diterima tanggal 23 Juni 2022

ABSTRAK

Krioprotektan merupakan salah satu bahan yang berperan dalam penyelamatan bahan biologis pada kriopreservasi. Dimetil sulfoksida (DMSO) sebagai krioprotektan memiliki kemampuan cepat untuk penetrasi ke dalam sel pada saat equilibrasi (penurunan suhu) dan meninggalkan sel pada saat thawing (pencairan kembali). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penggunaan dosis terbaik dari larutan krioprotektan yang menggunakan DSMO dalam ekstender madu terhadap karakteristik dari sel spermatozoa ikan belida pada proses kriopreservasi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Balai Pembibitan dan Hijauan Pakan Ternak (BPHPT) Sembawa pada bulan Maret sampai dengan November 2020. Ikan uji didapat dari hasil tangkapan dari alam, selanjutnya dilakukan pemeliharaan selama 4 bulan untuk mendapatkan tingkat kematangan gonad yang maksimal. Pengambilan sel sperma dilakukan secara stripping, proses stripping dilakukan dengan mengurut bagian perut ikan secara memutar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama waktu penyimpanan selama 28 hari pada P3 memberikan hasil terbaik terhadap motilitas (skor 3), nilai viabilitas sebesar 48,93%, lebih tinggi dari Kontrol, P1 dan P2. Selain itu, pada perlakuan tersebut tidak ditemukan adanya abnormalitas yang terjadi pada sperma ikan belida.

Kata kunci: Dimetil sulfoksida, Kriopreservasi, Sperma ikan belida

ABSTRACT

Cryoprotectant plays a role in saving biological material during cryopreservation. Dimethyl sulfoxide (DMSO) as a cryoprotectant has the ability to quickly penetrate into the cell at equilibration and leave the cell at thawing procedure. This study aims to determine the best dose of DSMO in honey extender to the characteristics of the featherback Fish spermatozoa cells in the cryopreservation process. This research was conducted at the Laboratory of Balai Pembibitan dan Hijauan Pakan Ternak (BPHPT) Sembawa from March to November 2020. The test fish were obtained from catches from nature, then reared for 4 months to get the maximum level of gonad maturity. Sperm cell retrieval is carried out by stripping, the stripping process is carried out by massaging the belly of the fish in a circular manner. The results showed that at storage time of 28 days, P3 gave the best results on motility (score 3), and the viability value was 48,93%, higher than Control, P1 and P2. In addition, the treatment did not show any abnormalities that occurred in the featherback fish sperm.

Keywords: Dimethyl sulfoxide, cryopreservation, featherback fish sperm

PENDAHULUAN

Perkembangan teknologi yang dilakukan pada kegiatan budidaya ikan baik ikan air tawar maupun ikan air laut yang terdapat di Indonesia pada saat ini terus mengalami kemajuan. Namun dibalik kemajuan teknologi tersebut, beberapa spesies ikan yang sudah dibudidayakan dengan tingkat keberhasilan dari kegiatan tersebut masih belum maksimal, serta keberadaannya di alam semakin sedikit dan terancam punah, salah satu spesies ikan air tawar yang keberadaannya semakin sedikit yaitu ikan belida (Kottelat *et al.*, 1993). Ikan belida (*Chitala lopis*) banyak ditemukan di beberapa kepulauan yang ada di Indonesia seperti, Pulau Jawa, Sumatera, dan

Kalimantan (Kottelat *et al.*, 1993). Ikan belida (*Chitala lopis*) saat ini masuk dalam katagori jenis ikan dilindungi oleh Menteri Perikanan dan Kelautan.

Upaya yang perlu dilakukan dalam mengatasi kepunahan yakni dengan cara domestikasi ikan belida dalam lingkungan yang terkontrol. Kriopreservasi merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam proses penyimpanan atau penyelamatan bahan biologis dengan menggunakan suhu yang sangat rendah, yang nantinya mampu mempertahankan sesempurna mungkin sifat - sifat biologis yang terdapat pada sel spermatozoa terutama viabilitas dari spermatozoa setelah dikembalikan ke suhu normal (Supriatna dan Pasaribu, 1992). Menurut Shaw *et al.* (2000), proses kriopreservasi atau proses

penyimpanan pada suhu rendah telah banyak dilakukan pada sel gamet, yaitu pada sel telur dan sel spermatozoa. Keberhasilan pada proses kriopreservasi juga dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya bahan pengencer dan bahan krioprotektan (Zaenab, 2007).

Larutan ekstender merupakan larutan pengencer dari sel spermatozoa pada proses kriopreservasi yang mengandung ion-ion garam yang mampu menyerupai kondisi tekanan osmotik sehingga mampu mencegah proses terjadinya aktivitas pada spermatozoa (Billard *et al.*, 1995). Pada proses kriopreservasi larutan krioprotektan merupakan zat kimia non elektrolit yang memiliki fungsi untuk mereduksi pengaruh dari letal pada proses pemaparan kriopreservasi sel, baik yang berupa efek larutan maupun pembentukan kristal es intraseluler (Ernawati, 1999). Larutan yang banyak digunakan sebagai krioprotektan adalah dimetil sulfoksida (DMSO) (He dan Woods, 2004). Rurangwa *et al.* (2001) menyatakan bahwa dimetil sulfoksida (DMSO) merupakan krioprotektan yang mempunyai kemampuan cepat untuk masuk ke dalam sel pada saat pembekuan dan meninggalkan sel pada saat pencairan kembali sehingga banyak digunakan pada proses kriopreservasi.

DMSO sebagai krioprotektan telah dilakukan pada penelitian Sunarna *et al.* (2010), diantaranya ikan nilam dengan dosis terbaik penggunaan 0,5 % madu ditambahkan DMSO dengan konsentrasi terbaik 15 % menunjukkan motilitas dan tingkat penetasan telur yang dibuahi sperma masing-masing sebesar 63,33% dan 87,97%. Pada penelitian Sutarjo (2014), yang menggunakan krioprotektan DMSO dengan sukrosa pada ikan mas menghasilkan tingkat fertilisasi telur ikan mas sebesar 71,60% dan daya tetas sebesar 69,89%. Sedangkan menurut Mangkunegara *et al.* (2019), dengan pemanfaatan madu pada kriopreservasi sperma ikan gabus dengan dosis madu 400 mg/ml dengan menghasilkan nilai motilitas sebesar 40-70% dan viabilitas 64,15%. Oleh karena itu, dilakukan penelitian kriopreservasi sperma pada ikan belida menggunakan madu dengan berbagai dosis DMSO yang berbeda

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian dilakukan di Laboratorium Kolam Percobaan, Laboratorium Dasar Perikanan dan Laboratorium Balai Pembibitan dan Hijauan Pakan Ternak (BPHPT) Sembawa pada bulan Maret sampai dengan November 2020.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan belida, kuning telur, alkohol 70%, madu, dimetilsulfoksida, NaCl, akuades, *penicillin*, *streptomycin*, eosin, dan nitrogen cair. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, tabung *corning* 15 mL, spuit suntik 1 mL, *straw* 0,25 mL, *container*, mikroskop, kertas saring, tabung berskala, *UV ray stabilizer*, *refrigerator*, *cool top*, *water bath*, *magnetic stirrer*, selang kanulasi.

Persiapan Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan belida (*Chitala lopis*) yang sudah matang gonad dengan akumulasi induk yang digunakan sebanyak 5 ekor ikan jantan. Ikan yang digunakan sebelumnya telah dilakukan pemeliharaan di Laboratorium Kolam Percobaan dengan wadah budidaya berupa kolam beton yang berukuran 4x2 meter selama 4 bulan, dengan pemberian

makan sebanyak 4 kali sehari menggunakan pakan hidup berupa benih ikan lele. Pengamatan kematangan gonad jantan dilakukan dengan cara mengurut perut ikan ke arah organ urogenital (*stripping*). Induk jantan matang gonad dengan tingkat kematangan IV akan mengeluarkan sperma berupa cairan putih keruh setelah diurut kemudian sperma yang keluar diamati untuk melihat pergerakan massa. Ciri lain yang bisa dilihat dari induk ikan belida yakni warna organ urogenital mulai memerah dan ukurannya sedikit membengkak yang dapat diindikasikan bahwa ikan tersebut telah matang gonad.

Pengambilan Sperma Ikan

Pengambilan sel sperma dilakukan secara *stripping*, proses *stripping* dilakukan dengan mengurut bagian perut ikan secara memutar, saat semen keluar dari alat urogenital kemudian semen ditampung dengan menggunakan tube berukuran 1,5 mL dengan cara mendekatkan tube pada lubang urogenital, Semen yang didapat memiliki tingkat kematangan gonad IV dan kemudian dilakukan pemeriksaan kualitas sperma.

Pemeriksaan Kualitas Sperma

Pemeriksaan kualitas sperma dilakukan untuk mengetahui karakteristik awal dari sperma tersebut. Pengamatan warna semen dilakukan secara visual, sedangkan untuk pengamatan pH semen diukur dengan menggunakan pH indikator. Pengukuran volume semen dengan membaca langsung pada tabung berskala sehingga semen yang didapat mencukupi untuk digunakan pada perlakuan. Proses pengamatan warna, pH dan volume dilakukan sebelum kriopreservasi. Pemeriksaan motilitas dan viabilitas sperma dilakukan sebelum proses kriopreservasi dan setelah proses kriopreservasi.

Pembuatan Kriomedia

Proses pembuatan kriomedia mengacu pada Sumarna *et al.* (2010), dimana madu 0,5% sebanyak 0,25 mL yang dilarutkan dalam larutan ringer laktat 99,5% sebanyak 49,75 mL sehingga volume larutan ekstender yang dibuat sebanyak 50 mL, kemudian tambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) sesuai perlakuan yakni 10%, 15% dan 20%, selanjutnya ditambahkan kuning telur sebanyak 10 % dari total larutan kriomedia, kemudian kriomedia dihomogenkan dengan *magnetic stir bar* diatas *hot plate* dengan suhu 30 °C selama 10 menit, dan larutan disimpan dalam *refrigerator* (5 °C) selama 3 hari. Setelah 3 hari diambil supernatannya untuk digunakan sebagai larutan ekstender kemudian ditambahkan 0,02 g.mL⁻¹ *Streptomycin* dan *Penicillin* untuk mencegah dari kontaminasi patogen selama proses kriopreservasi.

Proses Kriopreservasi

Sampel sperma yang menunjukkan motilitas di atas 70% digunakan pada perlakuan. Pengenceran sperma dilakukan dengan perbandingan 1:9 yakni dengan 0,25 mL sperma ditambahkan ke dalam 2,25 mL larutan kriomedia. Sperma dimasukkan ke dalam mini *straw* dengan volume 0,25 mL. Mini *straw* yang akan digunakan terlebih dahulu disterilisasi dengan menggunakan *UV ray stabilizer* selama 15 menit. Pengisian larutan sperma ke dalam *straw* dilakukan dengan menggunakan mesin *filling*. Kemudian ujung *straw* ditutup dengan menggunakan *sealer* khusus. Proses *filling* dan *sealing* dilakukan di dalam *cool top* pada suhu 5 °C.

Tahapan berikutnya adalah *equilibration* yaitu pembekuan tahap pertama dengan meletakkan *straw* di atas nitrogen cair dengan suhu -140 °C selama 10 menit. Selanjutnya adalah proses penyimpanan larutan sperma ke dalam kontainer yang dilakukan dengan suhu -196 °C. Proses *thawing* pada penelitian ini menggunakan suhu 35 °C selama 30 detik dengan menggunakan *water bath*. Proses pencairan dilakukan pada hari ke-0 (5 jam pertama penyimpanan), hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-28

Data viabilitas dianalisis secara statistik dengan Analisis Sidik Ragam (ANSIRA). Apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji lanjut BNT dengan tingkat kepercayaan 95%. Sedangkan data motilitas dan kualitas sperma segar dianalisis secara deskriptif dan ditinjau dengan referensi.

Karakteristik Sperma

Pengamatan karakteristik sperma dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis yang meliputi warna, pH, persentase motilitas, spermatozoa hidup dan pengamatan morfologi dari sperma. Pengamatan tersebut dilakukan sebelum proses kriopreservasi. Setelah proses kriopreservasi dilakukan pengamatan motilitas dan viabilitas dari sperma pada 5 jam setelah proses kriopreservasi, hari ke 7, hari ke 14 dan hari ke 28 setelah proses kriopreservasi.

Motilitas Sperma

Motilitas spermatozoa ikan belida ditentukan dari pergerakan sperma dari suatu lapang pandang. Pergerakan sperma yang baik ialah mempunyai kecenderungan bergerak maju disebut juga gerak progresif (Guest et al., 1976). Pengamatan tersebut dilakukan sebelum kriopreservasi dan 5 jam setelah proses kriopreservasi, hari ke 7, hari ke 14 dan hari ke 28 setelah proses kriopreservasi. Penilaian motilitasnya berdasarkan Guest et al. (1976) ditunjukkan dalam Tabel 1. Penilaian motilitas dilakukan secara subyektif dengan pengamatan di bawah mikroskop menggunakan pembesaran 400x. Sperma diamati selama 15 detik dengan melakukan aktivasi mencampur satu tetes semen dengan dua tetes air di atas kaca preparate (Boonthai et al., 2016).

Tabel 1. Kriteria motilitas spermatozoa (Guest et al., 1976)

| Karakteristik | Skala |
|--|------------|
| > 70% memiliki rerata 85% (= spermatozoa bergerak cepat dengan arah maju (<i>progressive</i>) dengan pergerakan ekor bervariasi) | 5 |
| 40-70% memiliki rerata 55% (= kebanyakan spermatozoa bergerak arah maju dan beberapa menunjukkan gerak cepat) | 3-4 |
| 10-40% (= spermatozoa yang bergerak maju sedikit atau sangat sedikit spermatozoa menunjukkan gerak arah maju) | 1-2 |
| 5-10% (=spermatozoa diam sedikit gerakan (bergerak) dan sedikit gerak arah maju) | 0,5 – 0,75 |
| 1-5% memiliki rerata 3% (=spermatozoa immotil/diam, kadang-kadang terlihat sedikit gerak dan bergerak) | 0,25 |

Viabilitas Sperma

Viabilitas adalah persentase spermatozoa hidup yang didasarkan atas perbedaan daya permeabilitas atau daya serap sel terhadap cairan pada spermatozoa yang diberi cairan eosin dikaca preparat ulas untuk membedakan spermatozoa yang hidup dan yang mati (Sukendi et al., 2011). Pengamatan tersebut dilakukan sebelum kriopreservasi dan hari ke 0, hari ke 7 hari ke 14 dan hari ke 28 setelah kriopreservasi, dihitung dengan rumus:

$$\text{Viabilitas} = \frac{\sum \text{sperma hidup}}{\sum \text{total sperma}} \times 100 \% \quad \dots\dots\dots (1)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Sperma Segar Ikan Belida (*Chitala lopis*) Sebelum Kriopreservasi

Sel sperma ikan belida yang digunakan pada proses kriopreservasi harus memiliki karakteristik yang baik, dimana harus memenuhi beberapa kriteria agar dapat dilakukan pengawetan. Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis sperma segar ikan belida sebelum kriopreservasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Sperma Segar Ikan Belida sebelum Kriopreservasi.

| Parameter | Nilai |
|-------------------------------------|------------------------|
| Makroskopis | |
| Volume (ml) | 3,2 |
| pH | 6,8 |
| Warna | Putih Susu |
| Mikroskopis | |
| Konsentrasi (sel.mL ⁻¹) | 1,04 x 10 ⁹ |
| Motilitas (skor) | 5 |
| Viabilitas (%) | 88 % |
| Morfologi | Normal |

Berdasarkan pengamatan makroskopis dan mikroskopis (Tabel 2), sperma segar ikan belida memiliki warna putih susu dengan pH sperma 6,8 dan tingkat kekentalan yang sedang. Hal ini menunjukkan bahwa warna dan konsistensi semen tersebut memiliki kualitas yang baik. Menurut Pangestuningtyas (1993) sperma yang berkualitas baik terlihat seperti susu kental, dan berwarna putih susu. Konsentrasi sel sperma segar yang diperoleh adalah 1,04x10⁹ sel.mL⁻¹ lebih sedikit dibandingkan dengan konsentrasi sel pada penelitian Kristanto (2008) yakni sebesar 1,13x10⁹ sel.mL⁻¹. Hal ini disebabkan ukuran ikan belida yang digunakan lebih kecil dan mempengaruhi konsentrasi sel sperma.

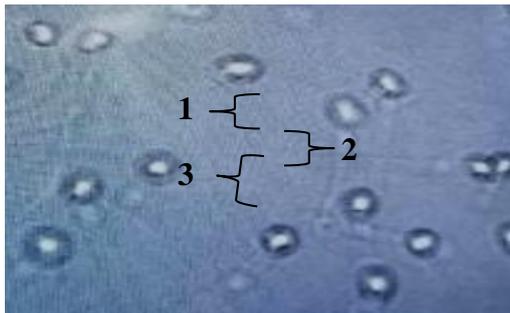
Nilai viabilitas sperma segar sebelum kriopreservasi pada penelitian ini yaitu 88%. Menurut Rustidja (2000), nilai viabilitas sperma diatas 70% dapat digunakan untuk kriopreservasi. Selain itu, pengamatan motilitas sebelum proses kriopreservasi menggunakan mikroskop menunjukkan nilai motilitas dengan skor 5. Kondisi pH dan konsentrasi gula serta garam dalam larutan yang mengandung sperma berpengaruh terhadap motilitas sperma ikan, dimana pH diatas 4 merupakan

kondisi lingkungan yang baik untuk sperma ikan (Dziewulska dan Pilarska, 2018).

Pengamatan morfologi sebelum proses kriopreservasi dilakukan untuk mengetahui bahwa sperma yang digunakan dalam proses kriopreservasi memiliki morfologi yang baik. Sel sperma dengan pergerakan cepat serta memiliki bentuk morfologi lengkap merupakan kriteria sel sperma yang baik. Hasil ini menunjukkan bahwa sel sperma yang akan digunakan memenuhi syarat untuk dilakukan kriopreservasi (Chew *et al.*, 2010). Keberhasilan kriopreservasi sperma sangat tergantung pada kualitas sperma yang baik sebelum disimpan. (Horokhovatskyi *et al.*, 2018).

Morfologi Sperma

Hasil pengamatan mikroskopis morfologi sperma ikan belida dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi Sperma Ikan Belida dengan Pembesaran 100 X; (1) Kepala ;(2) Bagian Tengah ;(3) Ekor

Morfologi sperma (Gambar 1) menunjukkan tidak adanya perbedaan kelengkapan komponen jika dibandingkan dengan sperma segar ikan belida sebelum dilakukan proses kriopreservasi. Pengamatan morfologi setelah proses kriopreservasi menunjukkan penggunaan DMSO dengan dosis berbeda pada proses kriopreservasi tidak memberikan dampak terhadap abnormalitas yang terjadi pada morfologi dari sperma ikan belida. Menurut Faranita (2009), spermatozoa normal terdiri atas kepala, bagian tengah, dan ekor. Hal ini dikarenakan prinsip kerja DMSO mencegah terjadinya pembentukan kristal-kristal es dalam medium pengencer pada waktu pembekuan (Gerzilov, 2010). Menurut Rurangwa *et al.* (2001), DMSO sebagai krioprotektan memiliki kemampuan yang cepat untuk penetrasi ke dalam sel pada saat equilibrasi dan meninggalkan sel pada saat thawing sehingga banyak digunakan pada proses kriopreservasi.

Abnormalitas spermatozoa dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti stress, genetik dan gangguan pada tubuli seminiferi (Barth dan Oko, 1989). Sutkevidiene dan Zilinskas (2004) menambahkan bahwa faktor-faktor yang berpengaruh terhadap terjadinya abnormalitas spermatozoa adalah umur, status kesehatan serta faktor genetik. Hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap morfologi dari sperma ikan belida setelah kriopreservasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Motilitas Sperma Ikan Belida

Persentase motilitas spermatozoa pasca penyimpanan pada setiap perlakuan mengalami penurunan seiring dengan lama waktu penyimpanan. Penggunaan dosis DMSO sebanyak 20% dengan lama waktu penyimpanan selama 28 hari menunjukkan hasil yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan penggunaan dosis yang lebih rendah pada perlakuan lainnya (Tabel 3).

Tabel 2. Morfologi Spermatozoa Ikan Belida setelah Proses Kriopreservasi

| Perlakuan | Hari ke | | | | |
|-----------|----------|--------|--------|--------|--------|
| | 0 | 7 | 14 | 28 | |
| Kontrol | - | Normal | Normal | Normal | Normal |
| P1 | 10% DMSO | Normal | Normal | Normal | Normal |
| P2 | 15% DMSO | Normal | Normal | Normal | Normal |
| P3 | 20% DMSO | Normal | Normal | Normal | Normal |

Tabel 3. Rata-rata Motilitas Sperma Ikan Belida Pasca Kriopreservasi

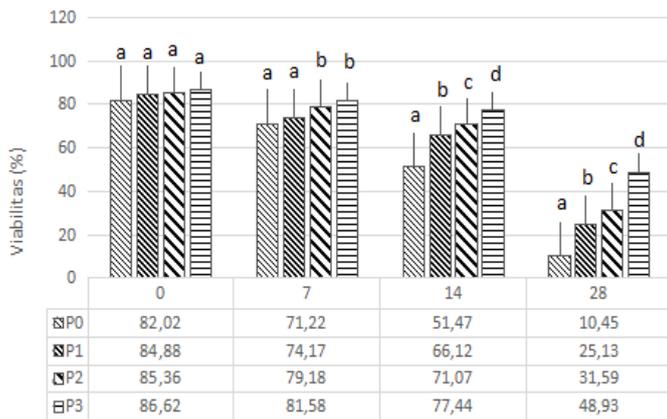
| Perlakuan | Hari ke | | | | |
|-----------|----------|---|----|----|---|
| | 0 | 7 | 14 | 28 | |
| Kontrol | - | 5 | 3 | 2 | 0 |
| P1 | 10% DMSO | 5 | 4 | 3 | 2 |
| P2 | 15% DMSO | 5 | 4 | 3 | 2 |
| P3 | 20% DMSO | 5 | 5 | 4 | 3 |

Secara umum lama waktu penyimpanan menunjukkan penurunan nilai motilitas dari setiap perlakuan akibat penggunaan dosis DMSO yang berbeda, namun, pemberian dosis DMSO yang tinggi yakni 20% memiliki kecenderungan untuk mempertahankan motilitas jika dibandingkan dengan penggunaan dosis yang lebih rendah yakni 10% dan 15%. Penurunan motilitas yang terjadi pada konsentrasi DMSO di setiap perlakuan selama penyimpanan, disebabkan oleh berkurangnya metabolisme sel spermatozoa yang terjadi akibat efek kejutan dingin (*cold shock*). Kejutan dingin dapat menyebabkan penurunan motilitas dan memicu terjadinya kerusakan langsung yang berpengaruh pada struktur dan fungsi

seluler, salah satunya yaitu penurunan proses metabolisme spermatozoa (Gazali dan Tambing, 2002).

Viabilitas Sperma Ikan Belida

Pengamatan viabilitas menunjukkan seluruh penggunaan dosis dimetil sulfoksida yang digunakan untuk kriopreservasi mampu mempertahankan sperma selama 28 hari penyimpanan. Hasil viabilitas sperma pada hari ke- 0 (5 jam setelah proses kriopreservasi) mengalami penurunan dari setiap perlakuan, hal ini diduga lamanya waktu sperma ketika di luar tubuh sebelum diberikan perlakuan mempengaruhi kelangsungan hidup dari sperma itu sendiri. Penyajian informasi data viabilitas dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Viabilitas Sperma Ikan Belida dengan Krioprotektan Berbeda Pasca Kriopreservasi

Penggunaan dosis DMSO yang berbeda memberikan pengaruh terhadap nilai persentase dari viabilitas sperma yang berdampak terhadap keberlangsungan proses metabolisme sperma selama penyimpanan. Nilai viabilitas pada P3 dengan lama penyimpanan 28 hari (48,93%) memberikan hasil yang baik dalam menjaga sperma dibandingkan P2 (31,59%) dan P1 (25,13%). Nilai viabilitas selama penyimpanan 28 hari masih dalam kondisi baik. Hal ini didukung oleh penelitian (Mangkunegara *et al.*, 2019) nilai viabilitas ikan gabus yang di kriopreservasi selama pemeliharaan 7 hari sebesar 64,13%. Penyimpanan sperma ikan belida yang di kriopreservasi selama 7 hari yakni 81,58%. Nilai viabilitas menurun berbanding lurus dengan lama waktu penyimpanan. Kondisi ini terjadi diduga kuat disebabkan oleh penggunaan dosis DMSO dengan konsentrasi tersebut mampu untuk menggantikan air dan mengeluarkan elektrolit-elektrolit yang terdapat didalam sel secara maksimal

Penggunaan dosis DMSO pada perlakuan P3 menunjukkan hasil terbaik jika dibandingkan dengan P2, P1 dan kontrol, hal ini diduga DMSO dengan dosis 20% memungkinkan untuk masuk ke dalam sel pada titik konsentrasi yang dapat digunakan dan mampu melindungi sel secara optimal selama pembekuan. Proteksi krioprotektan terhadap membran sel merupakan indikasi dari interaksi yang berjalan baik antara krioprotektan dan membran sel. Interaksi ini dapat mengurangi kerusakan membran sel pada saat terjadi perubahan keadaan dari relatif cair ke struktur relatif padat dan juga pada saat kembali ke struktur yang relatif cair selama proses pencairan atau thawing (Kostaman dan setioko, 2011)

DMSO sebagai krioprotektan memiliki kemampuan yang cepat untuk penetrasi ke dalam sel pada saat equilibrasi dan meninggalkan sel pada saat thawing sehingga banyak digunakan pada proses kriopreservasi (Rurangwa *et al*, 2001). Prinsip kerja DMSO dalam pembekuan semen yaitu molekul-molekul DMSO yang kecil masuk ke dalam sel sperma untuk mengganti air dalam sel sperma (Notman *et al*, 2007)

Pembekuan menyebabkan terbentuknya kristal-kristal es intraseluler. Kristal es tersebut mendesak membran sel ke segala arah, sehingga selaput membrannya pecah dan substansi kimia sel sperma keluar. Rusaknya membran plasma sperma mengakibatkan terganggunya proses fisiologis dan metabolisme sehingga sperma mengalami kematian (Zhu dan Liu 2000). Hal yang sama juga dikemukakan oleh Valerdi *et*

al., (2009), bahwa proses kerja DMSO dalam pengencer semen yaitu menggantikan air di dalam sel sehingga pada saat pembekuan tidak terbentuk kristal es yang berbahaya.

KESIMPULAN

Penggunaan dosis DMSO sebanyak 20% dengan penyimpanan selama 28 hari menunjukkan kualitas sperma yang lebih baik dengan nilai motilitas 3 dan viabilitas sebesar 48,93% serta tidak terjadi kerusakan ataupun kelainan pada morfologi sperma

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Sriwijaya yang telah memfasilitasi pendanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Boonthai, T., W. Khaopong, J. Sangsong, T. Sooksawat, S. Nimrat, V. Vuthiphandchai. 2016. Semen collection methods affect the bacterial composition of post-thawed semen of silver barb (*Barbodes gonionotus*). *Animal Reproduction Science*, 166: 90–98
- Billard, R., Cosson, J., Claudette, J. dan Francoise, F., 1998. Initiation of carp spermatozoa motility and early ATP reduction after milt contamination by urine. *Elsevier Science, Aquaculture*: 160, 317-328.
- Chew, P.C., Rashid, Z.A. dan Hasan, R., 2010. Application of Innovative Biotechnologies Regarding Aquaculture and Fisheries Sector in Malaysia: Cryopreservation Programme. *Freshwater Fisheries Research Center, Malaysia*. 17 hal.
- Dziewulska, K., and Pilarska, M., 2018. Inhibitory effect of K⁺ ions and influence of other ions and osmolality on the spermatozoa motility of European burbot (*Lota lota* L.). *PLoS ONE* 13(5): e0196415. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196415>
- Ernawati, Y., 1999. Efisiensi implantasi LHRH dan 17 - metiltestosteron serta pembekuan sperma dalam upaya peningkatan produksi benih ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*). Disertasi. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor
- Horokhovatskyi, Y., Dietrich, M A., Lebeda, I., Fedorov, P., Rodina, M., Dzyuba, B. 2018 Cryopreservation effects on a viable sperm sterlet (*Acipenser ruthenus*) subpopulation obtained by a Percoll density gradient method, Cryopreservation effect on sterlet sperm biodiversity. *PLOS ONE*, pp. 1–23.
- He, S. dan Wood, L, C., 2003. The effects of osmolality, cryoprotectant and equilibration time on striped bass sperm motility. *Journal of World Aquaculture Society*. 34, 255 - 265.
- Gazali, M. dan Tambing, S.N., 2002. Kriopreservasi sel spermatozoa. *Hayati*, 9 (1), 27-32.

- Mangkunegara, A.A.A., Dwinanti, S.H. dan Syaifudin, M., 2019. Pemanfaatan madu sebagai bahan ekstender untuk kriopreservasi sperma ikan gabus (*Channa striata*). Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Pertanian. Universitas Sriwijaya. Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia, 7(2), 123 - 134.
- Kottelat, M., Whitten, A.J., Kartikasari, S.N. dan Wiroatmodjo, S., 1993. Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi. Edisi Dwi Bahasa InggrisIndonesia. Periplus Edition (HK) Ltd. Bekerjasama dengan Kantor Menteri KLH, Jakarta
- Kostaman, T. dan Setioko, A.R., 2011. Perkembangan penelitian teknik kriopreservasi untuk penyimpanan semen unggas. Wartazoa, 21(3), 145-152.
- Kristanto, A. H., Nuryadi., Yosmaniar. dan Sutrisno., 2008. Perkembangan telur dan sperma induk ikan belida (*Notopterus chitala*) yang dipelihara di kolam. J. Ris. Akuakultur, 3(1), 73 - 82.
- Notman, R., Den Otter, W.K., Noro, M.G., Briels, W.J. and Anwar, J., 2007. The permeability enhancing mechanism of DMSO in ceramide bilayers simulated by molecular dynamics. Biophys J 93(6): 2056- 2068.
- Pangestuningtias, J.W., (1993). Study tentang pengaruh radiasi sinar ultra violet dan waktu penyimpanan sperma ikan mas (*Cyprinus carpio* L) terhadap persentase pembuahan dan persentase penetasan telur. Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Rurangwa, E., Volckaert, F. A. M., Huyskens, G., Kime, D. E. dan Ollevier, F., 2001. Quality control of refrigerated and cryopreserved semen using Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA), viable staining and standardized fertilization in african catfish (*Clarias gariepinus*). Theriogenology, 55, 751–769.
- Rustidja., 2000. Pemisahan Spermatozoa x dan y Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Universitas Brawijaya. Malang.
- Shaw, J. M., Oranrathachai, A. dan Trounson, A. O., 2000. Cryopreservation of oocytes and embryos. In Trounson AO, Gardner DK (eds). Hand book of In Vitro Fertilization, 2nd Ed. CRC Press, Boca Raton FL, pp 373-412.
- Sunarma, A., Budihastuti, D.W. dan Sistina, Y. 2010. Penggunaan ekstender madu yang dikombinasikan dengan krioprotektan berbeda pada pengawetan sperma ikan nilam (*Osteichilus hasseltii Valenciennes, 1842*), Omni-Akuatika, 9(11). 51–55
- Supriatna, I. dan Pasaribu, F. H., 1992. In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio, dan Pembekuan Embrio. Bogor. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor. 2008.
- Sutarjo, G.A., 2014. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Dengan Krioprotektan Dimetil sulfoksida Terhadap Kualitas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Pada Proses Kriopreservasi. Jurnal Gamma. ISSN 0216-9037.
- Valerdi, M.R., Eftekhari, P., Yazdi., Karimian, L., Hassani, F. and Movaghar, B., 2009. Vitrification versus slow freezing gives excellent survival, post warming embryo morphology and pregnancy outcomes for human cleaved embryos. J Assist Reprod Genet, 26, 347- 354.
- Zaenab, S., 2007. Motilitas Spermatozoa dalam Berbagai Pengencer dan Krioprotektan pada Proses Kriopreservasi. Thesis. Universitas Airlangga. Surabaya. hal 72
- Zhu, W.J., Liu, X.G., 2000. Cryodamage to plasma membrane integrity in head and tail regions of human sperm. Asian J Andrology 2: 135-138.