

PERBANDINGAN KESAN ANTARA DIMETILSULFOKSIDA, GLISEROL
DAN METANOL SEBAGAI KRYOPROTEKTAN DI DALAM KRYOAWETAN
SPERMA IKAN BAUNG, *Mystus nemurus*

CLEMENT JIPIU

FAKULTI SAINS GUNAAN DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA
TERENGGANU
1999

PERBANDINGAN KESAN ANTARA DIMETILSULFOKSIDA, GLISEROL
DAN METANOL SEBAGAI KRYOPROTEKTAN DI DALAM KRYOAWETAN
SPERMA IKAN BAUNG, *Mystus nemurus*.

CLEMENT JIPIU

Fakulti Sains Gunaan dan Teknologi
UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA
1999

1100024123

**PERBANDINGAN KESAN ANTARA DIMETILSULFOKSIDA, GLISEROL
DAN METANOL SEBAGAI KRYOPROTEKTAN DI DALAM
KRYOAWETAN SPERMA IKAN BAUNG, *Mystus nemurus*.**

Oleh

CLEMENT JIPIU

**Laporan Projek ini merupakan sebahagian daripada keperluan untuk
mendapatkan ijazah Bacelor Sains Perikanan**

**Fakulti Sains Gunaan dan Teknologi
UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA
1999**

PENGHARGAAN

Syukur kepada yang Esa kerana dengan kehendak-Nya, projek tahun akhir saya ini dapat disempurnakan dengan jayanya.

Saya ingin mengambil kesempatan ini untuk mengucapkan jutaan terima kasih kepada Dr. Anuar Bin Hassan yang sentiasa memberi bimbingan, tunjukajar dan nasihat yang berguna di sepanjang menjalankan projek ini. Segala jasa baik beliau sangat saya hargai.

Saya juga ingin mengucapkan setinggi-tinggi penghargaan kepada kakitangan Universiti Putra Malaysia Terengganu, atas segala bantuan yang diberikan.

Kepada ibu saya, *Ong Set Moi* dan bapa saya, *Julius Jipiu* yang tercinta, saya menyanjung dan berterima kasih di atas segala galakan, nasihat, sokongan dan kasih sayang untuk berjaya.

Khas buat *Junainah Jamaludin*, jutaan terima kasih di atas segala bantuan, kasih sayang dan sokongan untuk menyiapkan kajian ini.

Akhir sekali, kepada semua kawan-kawan di Taman Armon (Zai, Cla, Willi, Muran, Cornel, Marcel, Ju, Obo, Florin, Yana, Man, Collin dan lain-lain), coursemate dan semua yang mengenali saya, terima kasih.

ABSTRAK

Kajian tentang keberkesanan kryoprotektan terhadap kryoawetan sperma ikan baung, *Mystus nemurus* telah dijalankan. Aspek-aspek yang menentukan tahap keberkesanan sesuatu kryoprotektan yang digunakan dalam kajian ini adalah kadar motiliti, kadar persenyawaan dan kadar penetasan.

Setelah melakukan pengubahsuaian terhadap ekstender untuk digunakan dalam kajian ini, mendapati keputusan yang diperolehi lebih baik. Sebanyak 12 kombinasi kryoprotektan yang telah diuji di mana setiap kombinasi adalah berbeza dari segi jenis dan kepekatan. Penyediaan kryoprotektan pula dilakukan 24 jam sebelum proses kryoawet dimulakan untuk mengekalkan kesegarannya di mana kryoprotektan yang digunakan adalah dimetilsulfoksida (DMSO), gliserol dan metanol dicampurkan dengan kuning telur dan ekstender. Nisbah campuran sperma dan kryoprotektan adalah 1 bahagian sperma : 3 bahagian kryoprotektan. Selepas itu, sampel disimpan di dalam bekas yang mengandungi nitrogen cecair (-196°C). Kajian ini berjalan selama 29 hari di mana kadar motiliti, kadar persenyawaan dan kadar penetasan diuji sekali dalam seminggu.

Densiti sperma *M. nemurus* tanpa pencairan untuk kajian ini menunjukkan jumlah bilangan yang amat besar di mana berjulat antara 2.5×10^7 hingga 3.5×10^8 ml⁻¹. Pemerhatian selama 2 jam yang telah dilakukan terhadap sperma yang disimpan di dalam styrofoam berisi ais (0 °C) menunjukkan kadar motiliti sperma menurun sebanyak 50 peratus selepas 1 jam. Manakala hanya 15 peratus sahaja sperma yang motil selepas 2 jam. Kajian keberkesanan kryoprotektan terhadap kadar motiliti sini

telah menunjukkan bahawa sperma *M. nemurus* tidak dapat hidup pada suhu yang terlalu sejuk tanpa perlindungan daripada kryoprotektan. Kryoprotektan yang paling berkesan mengikut jenis masing-masing adalah 5% metanol, 10% gliserol dan 15% DMSO. Kepekatan kryoprotektan yang berbeza telah menunjukkan terdapat perbezaan bererti terhadap kadar sehingga hari yang ke-15 ($p < 0.05$). Namun secara keseluruhannya, kajian ini menunjukkan gliserol pada kepekatan 10% pula merupakan kryoprotektan yang paling berkesan di mana ia dapat mengekalkan kadar motiliti sperma dalam jangka masa 29 hari dengan keupayaan untuk bersenyawa kekal sehingga pada hari ke-22. Manakala sperma yang dilindungi oleh 15% metanol tidak berupaya bertahan sehingga hari yang ke-29 di mana kadar motiliti dan kadar persenyawaan ialah sifar pada hari yang ke-15. Kajian ini telah menunjukkan kryoprotektan yang berbeza memberi perbezaan yang bererti terhadap kadar motiliti dan kadar persenyawaan ($p < 0.05$).

ABSTRACT

Studies on the efficiency of cryoprotectant for *Mystus nemurus* sperm cryopreservation were conducted. Aspects that used to determine the cryoprotectant efficiency in these studies were motility, fertility and hatching rates.

Some modifications were done on the extender chemical composition to get more accurate and reliable result. In these studies, there were twelve combinations of cryoprotectant tested, which all of these combinations differed in their concentrations and types of cryoprotectant. The cryoprotectants were prepared 24 hours before collecting the sperm and kept in the refrigerator to maintain the freshness. Dimethylsulphoxide, glycerol and methanol used in these studies were mixed with extender and egg yolk as the cryoprotectants. Sperm sample and cryoprotectant ratio in these studies were one part of sperm : three part of cryoprotectant. All sample were store in the liquid nitrogen container (-196°C). The samples were kept inside the container for twenty-nine days and data of motility, fertility and hatching rate were observed once a week.

The density of undiluted *M. nemurus* sperm used in these studies showed tremendous numbers of sperm cells that ranging from 2.5×10^7 to 3.8×10^8 ml⁻¹. The observation of sperm motility rate kept in Styrofoam box filled with ice (0°C) for two hours shows that the motility rate decrease up to 50 percent after one hours and after two hours there were 15 percent of motile sperm left. The studies on cryoprotectant efficiency to the rate of the motility, fertility and hatching shows that *M. nemurus* sperm could not survive in a very cold condition without any protection from the

cryoprotectant. 5% methanol, 10% glycerol and 15% DMSO was the best among cryoprotectant tested in this study. However, glycerol with 5% concentration give the best protection to preserve sperm among all cryoprotectants used in these studies, the sperm survive until the last day of the experiment. Methanol with 15% concentration gave the poorest result among all the cryoprotectant where all sperm were dead before day 15. All cryoprotectant used in these studies shows significant differences in motility and fertility rate.