ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

SKRIPSI

PERSENTASE MOTILITAS PROGRESIF DAN PERSENTASE HIDUP SPERMATOZOA *POST THAWING* HASIL PAPARAN SINAR ULTRAVIOLET (UV)

OLEH :

DITA KHRISNAMURTI

SURABAYA – JAWA TIMUR

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

2005

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PERSENTASE MOTILITAS PROGRESIF DAN PERSENTASE HIDUP SPERMATOZOA *POST THAWING* HASIL PAPARAN SINAR ULTRAVIOLET (UV)

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan - Universitas Airlangga

Oleh

DITA KHRISNAMURTI

NIM 060112865

Menyetujui

Komisi Pembimbing,

Tri Wahyu Suprayogi, M.Si., drh	Jola Rahmahani, M.Kes., drh
Pembimbing pertama	Pembimbing kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui,

Komisi penguji,

Sri Mulyati, M.Kes., Drh

Ketua

E. Djoko Putranto, MS., Drh

Sekretaris

Mas'ud Hariadi, M.Phill., PhD., Drh

Anggota

Tri Wahyu Suprayogi, M.Si., Drh

Anggota

Jola Rahmahani, M.Kes., Drh

Anggota

Surabaya, Juli 2005

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,

Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh

NIP. 130687297

PERSENTASE MOTILITAS PROGRESIF DAN PERSENTASE HIDUP SPERMATOZOA *POST THAWING* HASIL PAPARAN SINAR ULTRAVIOLET (UV)

DITA KHRISNAMURTI

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh paparan sinar ultraviolet (UV) terhadap persentase motilitas progresif dan persentase hidup spermatozoa sapi perah Friesian Holstein setelah dibekukan sebagai upaya meningkatkan program inseminasi buatan.

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa semen segar sapi FH dengan penambahan diluter kuning telur dan susu skim. Sampel dibagi dalam 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol (P0) tanpa paparan sinar UV, kelompok perlakuan I (P1) dengan jarak paparan 15 cm, kelompok perlakuan II (P2) dengan jarak paparan 20 cm, kelompok perlakuan III (P3) dengan jarak paparan 25 cm, masing-masing kelompok perlakuan dipapar dengan sinar lampu UV (λ=254 nm) berkekuatan 15 watt selama 5 menit. Kemudian dilakukan proses pembekuan yang meliputi tahapan *gliserolisasi, equilibrasi, filling&sealing, prefreezing, freezing, storage.*

Data hasil penelitian berupa persentase motilitas progresif spermatozoa dan persentase hidup spermatozoa ditabulasikan dan dilakukan analisis dengan anova satu arah menggunakan SPSS.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terjadi penurunan motilitas progresif ($p>0,05$) *post thawing* dan daya hidup spermatozoa *post thawing* juga tidak mengalami penurunan ($p>0,05$) sehingga semen hasil paparan sinar UV (λ=254 nm) dapat diterapkan pada proses pembuatan semen beku untuk program inseminasi buatan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji syukur kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat, hidayah dan cahaya pertolongannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **PERSENTASE MOTILITAS PROGRESIF DAN PERSENTASE HIDUP SPERMATOZOA *POST THAWING* HASIL PAPARAN SINAR ULTRAVIOLET (UV).**

Dalam kesempatan ini dengan rasa hormat, penulis menyampaikan ucapan terima kasih atas bantuan dan bimbingan kepada :

1. Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Bapak Tri Wahyu Suprayogi, M.Si., drh, selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Jola Rahmahani, M.Kes., drh, selaku dosen pembimbing kedua yang selalu memberikan bantuan berupa bimbingan, saran, petunjuk dan nasehat yang sangat bermanfaat untuk penelitian dan penulisan skripsi tersebut.
3. Ibu Sri Mulyati, M.Kes., drh, Bapak E. Djoko Putranto, M.S., drh, dan Bapak Mas'ud Hariadi, M.Phill., PhD., drh, selaku dosen penguji yang telah memberikan segala kritik dan saran perbaikan untuk kesempurnaan skripsi ini.
4. Bapak Abdul Samik, M.Si., drh, Bapak Trilas Sardjito, M.Si., drh, yang telah banyak memberikan arahan, bimbingan dan ilmu selama melakukan penelitian.

5. DUE – LIKE batch III yang telah memberikan bantuan dana untuk terlaksananya penelitian ini.
6. Rasa sayang dan cinta tak terbatas untuk kedua orang tua terutama bunda yang selalu memberikan rasa tenang dan damai di hati, terima kasih atas dukungan dan pengorbanan selama ini.
7. Dendy Triyanto dan Vita Ariemurti, terima kasih telah menjadi saudaraku.
8. Sahabat - sahabatku Rio, wendi, lee-2, Lia, Q-qyu, Nike, Cici, farah, Aam, Iin, Jemblunk, Andi, Dion terima kasih atas persahabatan yang penuh kedewasan dan toleransi diantara kita karena kita semua berbeda.
9. Teman–teman seperjuangan : mbak Dian, mas Yudi, mas Miko, Rani, Sari dan teman–teman yang lain.
10. Seluruh teman-teman dan semua pihak yang telah membantu kelancaran penulisan skripsi.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, karena penulis juga seorang manusia, oleh karena itu dengan keikhlasan dan kerendahan hati memohon maaf dan mengharapkan adanya kritik yang sifatnya membangun dan mengarah pada perbaikan skripsi ini.

Surabaya, juli 2005

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL viii

DAFTAR GAMBAR ix

DAFTAR LAMPIRAN x

BAB I. PENDAHULUAN 1

1.1 Latar belakang 1

1.2 Perumusan masalah 4

1.3 Landasan teori 4

1.4 Tujuan penelitian 6

1.5 Manfaat penelitian 6

1.6 Hipotesis penelitian 7

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA 8

2.1 Sapi Friesian Holstein 8

2.2 Fisiologi semen 9

2.3 Fisiologi dan morfologi spermatozoa 10

2.4 Spermatozoa X dan Y 15

2.5 Semen beku 18

2.6 Sinar ultraviolet 21

BAB III. MATERI DAN METODE 23

3.1 Waktu dan Tempat penelitian 23

3.2 Materi penelitian 23

3.2.1 Bahan penelitian 23

3.2.2 Alat penelitian 23

3.3 Metode penelitian 24

3.3.1 Pengambilan sampel 24

3.3.2 Prosedur penelitian 24

3.3.3 Pemeriksaan semen beku hasil pemisahan spermatozoa 25

3.4 Peubah yang diamati 26

3.5 Rancangan penelitian dan Analisis data 27

BAB IV. HASIL PENELITIAN 28

4.1 Persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* 28

4.2 Persentase hidup spermatozoa *post thawing* 29

BAB V. PEMBAHASAN 31

5.1 Keadaan awal sampel penelitian 31

5.2 Persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* 34

5.3 Persentase hidup spermatozoa *post thawing* 36

BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN 39

RINGKASAN 41

DAFTAR PUSTAKA 43

LAMPIRAN 50

GAMBAR 62

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

DAFTAR TABEL

Tabel halaman

1. Rataan dan simpangan baku persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* 28

2. Rataan dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa *post thawing* 29

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Spermatozoa dilihat dengan mikroskop electron 13

2. Potongan melintang kepala spermatozoa 14

3. Diagram batang persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* Semen sapi Friesian Holstein 28

4. Diagram batang persentase hidup spermatozoa *post thawing*..... 30

5. Gambar preparat ulas spermatozoa pada perlakuan kontrol (P0) 62

6. Gambar preparat ulas spermatozoa pada perlakuan jarak paparan sinar UV 15 cm (P1) 62

7. Gambar preparat ulas spermatozoa pada perlakuan jarak paparan sinar UV 20 cm (P2) 63

8. gambar preparat ulas spermatozoa pada perlakuan jarak paparan sinar UV 25 cm (P3) 63

9. Alat-alat yang digunakan 64

10. Kotak penelitian 65

11. Ruang pemrosesan semen beku 65

12. Metode pengambilan sampel..... 65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran halaman

1. Data awal pemeriksaan makroskopis spermatozoa sebelum perlakuan pemaparan sinar UV 50

2. Data awal pemeriksaan mikroskopis spermatozoa sebelum perlakuan pemaparan sinar UV 50

3. persentase motilitas spermatozoa setelah pemaparan sinar UV dan sebelum dibekukan 51

4. Persentase hidup spermatozoa setelah pemaparan sinar UV dan sebelum dibekukan 51

5. Persentase motilitas spermatozoa *post thawing* 52

6. Persentase hidup spermatozoa *post thawing* 52

7. Analisis statistik persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* 53

8. Analisis statistik persentase hidup spermatozoa *post thawing* 54

9. Skema penelitian 55

10. Skema proses pembuatan semen beku 56

11. Pemeriksaan makroskopis semen meliputi : pemeriksaan volume, warna, bau, konsistensi, dan pH 57

12. Pemeriksaan mikroskopis semen meliputi : pemeriksaan konsentrasi, gerakan massa, gerakan individu, persentase hidup spermatozoa 59

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Dalam era globalisasi dan menyongsong terbukanya pasar bebas, dunia peternakan khususnya di Indonesia dituntut untuk dapat meningkatkan mutu dan produksi ternak, baik dalam hal kualitas dan kuantitas. Seiring dengan meningkatnya kebutuhan produksi ternak yang berkualitas sehingga merangsang para pakar dan ilmuwan di bidang peternakan melakukan berbagai penelitian, yang pada akhirnya tercipta teknologi baru. Dengan adanya hal ini peningkatan mutu ternak dapat terwujud, dan peternakan di Indonesia menjadi berkembang.

Kemajuan bioteknologi telah diterapkan di berbagai aspek, termasuk bioteknologi reproduksi. Bioteknologi reproduksi yang pertama kali dikenal dan diterima oleh masyarakat khususnya oleh peternak untuk meningkatkan efisiensi reproduksi ternak adalah inseminasi buatan (IB).

Pengetahuan tentang inseminasi buatan telah tertulis dalam buku-buku bangsa Arab kuno, dimulai pada abad ke 14, seorang tentara Arab memasukkan secarik kain dari kapas ke dalam vagina kuda betina yang baru saja dikawinkan dengan kuda pejantan unggul, kemudian kain tersebut dimasukkan ke dalam alat kelamin kuda betina miliknya, akhirnya kuda tersebut melahirkan anak yang berkualitas baik. Teknologi IB terus berkembang di berbagai negara dan mulai dikembangkan di Indonesia sebelum tahun 1950 oleh Prof. Seit (Partodihardjo, 1992).

Teknologi inseminasi buatan mempunyai nilai kepraktisan dan manfaat yang sangat besar. Seekor pejantan yang memiliki sifat genetik yang sangat baik dapat membuahi ratusan betina ke seluruh pelosok dan peternak tidak perlu memelihara pejantan sehingga dapat dialihkan dengan memelihara betina lebih banyak, otomatis hal ini akan mengurangi biaya pemeliharaan. Pejantan unggul tersebut adalah pejantan yang telah mengalami seleksi, sehingga anak-anak yang dihasilkan mendapatkan sifat yang baik pula (Partodiharjo, 1992).

Inseminasi buatan ditujukan untuk meningkatkan efisiensi reproduksi ternak dengan menggunakan semen beku pejantan unggul. Pada perkawinan alami seekor sapi pejantan hanya dapat melayani 50-70 ekor sapi betina dalam waktu satu tahun, sedangkan dengan IB sapi jantan dapat mengawini 5000-7000 ekor sapi betina pertahun (Toelihere, 1993).

Usaha peternakan akan lebih efisien dalam pemeliharaannya apabila kita dapat menentukan jenis kelamin anak sebelum kebuntingan ternak terjadi. Dengan demikian, peternak sapi potong dapat memperoleh anak sapi yang berjenis kelamin jantan dan peternak sapi perah dapat memperoleh anak sapi yang berjenis kelamin betina setiap tahunnya. Oleh karena itu, IB perlu mendapat perhatian yang serius dari para ilmuwan dan peneliti.

Bioteknologi telah berhasil memenuhi keinginan peternak yaitu telah ditemukannya cara-cara pemisahan spermatozoa berkromosom seks X (Spermatozoa X) dan spermatozoa berkromosom seks Y (Spermatozoa Y), sehingga jika yang

diinseminasikan pada induk betina adalah spermatozoa X maka didapatkan keturunan betina, begitu pula sebaliknya, jika yang diinseminasikan adalah spermatozoa Y maka yang didapatkan keturunan jantan (Ismudiono, 2001).

Beberapa teknik pemisahan spermatozoa X dan Y telah banyak ditemukan antara lain: teknik kolom *sephadex*, swim-up, elektroforesis, antigen H-Y, kolom percoll, dan dengan sinar ultraviolet (UV) (Mahaputra dan Mustofa, 2002).

Sinar UV panjang gelombang 254 nm memiliki kemampuan membunuh terhadap bakteri, virus, jamur, ricketsia dan organisme lain apabila terpapar selama 20 menit pada jarak 1 cm. Oleh sebab itu, sinar UV sering digunakan untuk sterilisasi (Gritz *et al.*, 1990)

Pemaparan spermatozoa menggunakan sinar UV mempunyai pengaruh terhadap rasio hidup spermatozoa X dan Y. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terdahulu menyatakan bahwa terdapat pergeseran rasio hidup spermatozoa berkromosom seks X lebih besar dibandingkan dengan spermatozoa berkromosom seks Y yang lebih kecil setelah diberi perlakuan pemaparan dengan sinar UV panjang gelombang tertentu (Ismudiono, 2001).

Berdasarkan penelitian Widyanti (2004) menyatakan bahwa paparan sinar UV (λ = 254 nm) pada jarak 10 cm dengan lama waktu 10 menit diperoleh persentase hidup spermatozoa X dan Y masing-masing sebesar 39,459% dan 31,83%

Penyinaran dengan sinar UV juga berdampak pada rasio spermatozoa X dan Y dari individu yang teradiasi, kromosom seks akan mengalami mutasi lethal sehingga diharapkan rasio seks keturunan jantan dan betina akan berubah (Pai, 1992).

1.2 PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang penelitian yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan suatu masalah :

- Apakah paparan sinar UV dengan jarak pemaparan tertentu dapat mempengaruhi persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* ?
- Apakah paparan sinar UV dengan jarak pemaparan tertentu dapat mempengaruhi persentase hidup spermatozoa *post thawing* ?

1.3 LANDASAN TEORI

Pelaksanaan program inseminasi buatan menggunakan semen beku yang telah diketahui jenis kelamin pedet yang akan dilahirkan sangat menunjang peningkatan mutu dan kualitas ternak serta menunjang terciptanya efisiensi reproduksi peternakan sapi potong dan sapi perah.

Pemaparan dengan menggunakan sinar UV mampu menggeser rasio hidup spermatozoa X yang akan menghasilkan pedet betina dan spermatozoa Y yang akan menghasilkan pedet jantan. Berdasarkan penelitian Ismudiono dkk (2001)

pemaparan sinar UV pada spermatozoa dapat menggeser rasio hidup spermatozoa X lebih besar dibandingkan spermatozoa Y.

Spermatozoa X dan Y memiliki perbedaan antara lain : Ukuran kepala, densitas, motilitas, kandungan DNA, muatan spermatozoa. Perbedaan inilah yang menjadi dasar spermatozoa X dan Y dapat dipisahkan (Hafez, 2000; De Jonge *et al.*, 1997) Menurut Adimoelja (1995) spermatozoa X mengandung 2,8% DNA lebih banyak dibandingkan dengan spermatozoa Y. Perbedaan pada hewan domestik ± 3,6 – 4,1%, hal ini berakibat kepala spermatozoa X lebih luas 7% daripada kepala spermatozoa Y, yang terkandung didalamnya benang-benang kromatin yang lebih memadat dengan materi DNA yang lebih banyak sehingga lebih tahan terhadap efek *heat shock* paparan radiasi. Spermataozoa Y yang mempunyai ukuran kepala lebih kecil cenderung lebih peka terhadap efek *heat shock* paparan radiasi sehingga mempunyai daya hidup lebih rendah.

Sinar UV dapat diserap oleh sel–sel tubuh dan kelamin dengan sangat mudah dan menimbulkan efek teratogen (Diffey, 1991). Kepekaan sel–sel tubuh terhadap radiasi berbeda–beda, jaringan yang tersusun oleh sel–sel aktif membelah relatif lebih peka dibandingkan dengan jaringan yang selnya tidak aktif membelah (Sassung dkk., 1996).

Radiasi merupakan pelepasan energi dari atom-atom. Besarnya energi yang dikeluarkan tergantung pada panjang gelombang, jumlah sinar, dan lama waktu penyinaran.

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan Purwanto (2004) didapatkan persentase motilitas spermatozoa 32% setelah mendapat paparan sinar UV panjang gelombang 254 nm pada jarak 20 cm selama 15 menit, namun diperoleh persentase hidup lebih tinggi yaitu 73% jika dipapar selama 5 menit pada jarak dan panjang gelombang yang sama. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pemaparan sinar UV (λ = 254 nm) dengan variasi jarak yaitu : 15, 20 dan 25 cm dengan lama paparan dibuat konstan selama 5 menit

1.4 TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan :

- Mengetahui pengaruh pemaparan sinar UV terhadap persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing*.
- Mengetahui pengaruh pemaparan sinar UV terhadap persentase hidup spermatozoa *post thawing*.

1.5 MANFAAT PENELITIAN

- Memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh pemaparan sinar UV terhadap persentase motilitas progresif dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*.
- Memenuhi tuntutan para peternak sapi perah untuk mendapatkan pedet sesuai dengan jenis kelamin yang diharapkan setiap tahunnya melalui Inseminasi buatan.

1.6 HIPOTESIS

- Pemaparan sinar UV dengan jarak pemaparan tertentu mempengaruhi persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing*
- Pemaparan sinar UV dengan jarak pemaparan tertentu mempengaruhi persentase hidup spermatozoa *post thawing.*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sapi Friesian Holstein

Sapi perah yang diternakkan di Indonesia adalah sapi Friesian Holstein atau Fries Holland (FH) merupakan famili Bovidae, Sub famili Bovinae, Genus Bos, Sub genus Bos, Spesies Bos taurus dan Sub spesies Taurus–taurus (Walters, 1953., Williamson *et al*, 1993., Scavone *et al*, 2001). Sapi perah ini mulai berkembang biak di propinsi Friesland, Negara Belanda. Sapi FH murni pada umumnya diternakkan di dataran tinggi, dengan temperatur rata–rata perhari berkisar 17 – 21°C, kelembaban 55%, ketinggian tempat antara 750 - 1250 m diatas permukaan air laut (Syarief dan Sumoprastowo, 1985). Menurut Blakely and Bade (1991) Sapi FH mempunyai kemampuan merumput tinggi, produksi susu tinggi dan susunya dapat dimanfaatkan untuk pembuatan keju. Sapi perah di Indonesia mayoritas diimpor dari Australia, New Zealand, dan peternakan Holstein di Amerika Serikat (Wahyuddin dkk., 1997).

Karakteristik sapi FH adalah warna bulu belang hitam putih, ekor dan kaki di bawah persendian siku/lutut berwana putih, khusus pada daerah dahi berwarna putih dengan pola segitiga, tanduk mengarah ke depan dan membengkok ke dalam dan badan menyerupai baji. Sapi betina bersifat jinak dan tenang sehingga mudah dikuasai, sedangkan yang jantan agak galak dan ganas (Syarief dan Sumoprastowo, 1985). Berat badan betina dewasa mencapai 570 – 730 Kg sedangkan jantan dewasa 700 – 1000 Kg. Sapi FH berbadan besar sehingga mempunyai kapasitas makan yang

banyak dan kemampuan produksi susu lebih tinggi daripada bangsa sapi perah lain. Produksi susu rata-rata 5928 liter/laktasi dengan kadar lemak 3,7% (Atmodilaga, 1976).

Perkembangan sapi perah FH di daerah tropis khususnya di Indonesia mengalami beberapa hambatan berkaitan dengan kondisi lingkungan, tempat dengan ketinggian 300 – 1520 m di atas permukaan air laut, suhu rata–rata 27 °C umumnya cocok untuk usaha sapi perah (Schimdt and Van Vleck, 1974).

2.2 Fisiologi semen

Semen adalah sekresi alat kelamin jantan yang secara normal diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi (Toelihere, 1981). Semen terdiri dari 2 bagian yaitu bagian yang berupa sel disebut spermatozoa atau sel–sel kelamin jantan dan bagian yang tidak bersel disebut plasma semen berupa cairan atau medium semi–gelatinous (Partodihardjo, 1992).

Volume semen sapi yang diejakulasikan secara normal berkisar antara 5 – 8 ml (Hafez, 1993) sedangkan menurut Partodihardjo (1992) adalah 4 – 5 ml, semen sapi memiliki volume yang kecil dengan konsentrasi spermatozoa yang tinggi sehingga memberikan warna putih kekuningan. Sedangkan menurut Toelihere (1981) volume semen sapi normal adalah 1,0 – 15,0 ml.

Volume semen sapi per ejakulasi berbeda–beda menurut bangsa, umur, ukuran, bobot badan, tingkat makanan, frekuensi penampungan, dan besar testis.

Warna semen dari ejakulasi normal adalah krem atau putih susu (Bearden and Fuquay, 1992). Menurut Toelihere (1993) sapi jantan menghasilkan semen normal berwarna kekuningan yang disebabkan adanya kandungan riboflavin.

Perbedaan anatomik kelenjar kelamin asesoris pada berbagai jenis hewan menyebabkan perbedaan volume dan komposisi (Toelihere, 1981). Konsentrasi spermatozoa per-ml 1200 juta, sedangkan jumlah spermatozoa per ejakulasi 6000 juta dengan volume 4 – 6 ml (Partodihardjo, 1992), namun menurut Hafez (2000) setiap ml semen terdapat 1,8 x 10^9 spermatozoa.

2.3 Fisiologi dan morfologi spermatozoa

Spermatozoa pertama kali dilihat oleh Ham dan pengamatannya dilaporkan pertama kali oleh Anthoni van Leeuwenhoek pada tahun 1677 (Salisbury dan Vandemark, 1985). Spermatozoa merupakan sel kecil, kompak, sangat khas, dihasilkan secara terus menerus di dalam testis dan berfungsi untuk pembuahan ovum. Spermatozoa dihasilkan di dalam tubuli seminiferi (Hafez, 2000). Mereka berasal dari spermatogonia epitel germinalis. Pertumbuhan sel–sel ini dengan cara pembelahan sel kearah lumen tubulus seminiferus. Sel spermatozoa akan melepaskan diri dari sekitarnya dan berubah bentuk serta ciri–cirinya (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Spermatozoa dibentuk di dalam testis, melalui spermatogenesis. Terdapat 2 fase dalam proses spermatogenesis; pertama, Spermatositogenesis yaitu perubahan

sel spermatogonia (2n) secara mitosis, disusul dengan dengan pembelahan meiosis yang berakhir menjadi spermatid (n). Kedua, Spermiogenesis adalah fase dimana spermatid mengalami metamorfosis menjadi spermatozoa lengkap terdiri bagian akrosom, kepala, leher, sampai bagian ekor. Spermatozoa yang telah terbentuk akan melewati rete testis, vas eferens, kemudian masuk ke dalam epididimis, selama perjalanannya spermatozoa mengalami perubahan kapasitasi sehingga mampu melakukan fertilisasi (Bearden and Fuquay, 1992). Selama proses pendewasaan, sel spermatozoa melekat pada sel sertoli dan selama pertautannya spermatozoa mendapatkan suplai makanan dari sel tersebut sampai spermatozoa dilepaskan dan masuk ke dalam lumen tubuli dan mengawali perjalanan panjang sel spermatozoa menuju saluran pengeluaran (Salisbury dan Vandemark, 1985). Seluruh proses spermatogenesis berlangsung selama 40 – 45 hari dan dikontrol oleh hormon FSH (*Folicle stimulating hormone*), yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior (Hardjopranjoto, 1995).

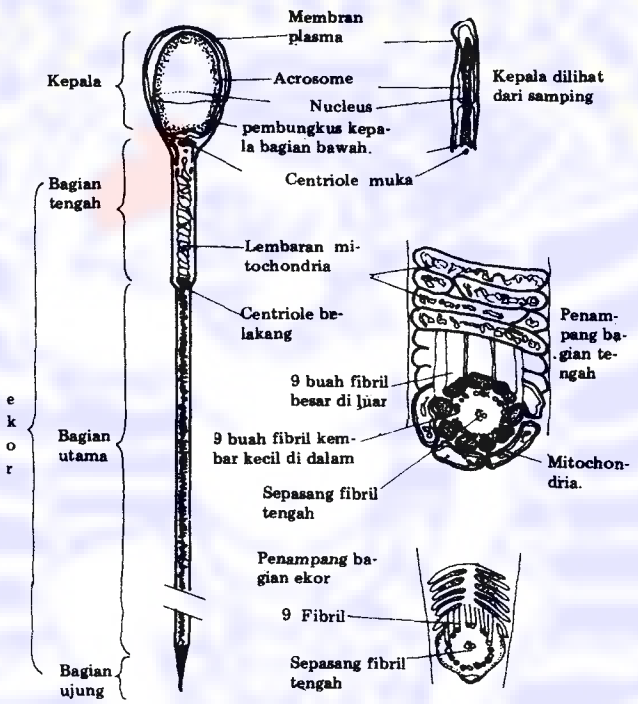
Spermatozoa sebagian besar tersusun oleh komponen sebagai berikut :

- *Deoxyribonucleoprotein* : terdapat di dalam nukleus yang terletak di kepala spermatozoa. *Nucleoprotein* dalam inti spermatozoa terdapat pada semua spesies, terbentuk oleh asam *deoxyribonucleus* yang terikat pada protein. Tersusun oleh 4 bagian pokok yaitu : *adenine, guanine, oxytosine,* dan *thymine*.

- *Muco – polysaccharide* : terikat pada molekul–molekul protein yang terdapat di dalam akrosom. *Polysaccharide* ini mengandung 4 macam gula–gula yaitu : *fucose, galactose, manose, hexosamine*. Diduga memiliki fungsi sebagai pengisi struktur spermatozoa, didasarkan atas kenyataan bahwa apabila spermatozoa itu mengalami pendinginan yang mendadak maka terjadilah penggembungan dari spermatozoa itu.
- *Plasmalogen* : merupakan lemak aldehydrogen terdapat pada bagian leher, badan, dan ekor spermatozoa, merupakan bahan yang dipergunakan sebagai respirasi endogen.
- Protein yang menyerupai keratin : merupakan selubung tipis yang meliputi seluruh badan, kepala, dan ekor spermatozoa. Protein ini mempunyai unsur zat tanduk yaitu S (sulfur) dan banyak ditemukan pada membran sel dan fibril–fibrilnya, sehingga kemungkinan protein ini bertanggung jawab terhadap sifat elastisitas permukaan sel.
- Enzim dan co – enzim : spermatozoa mengandung berbagai macam enzim dan co-enzim yang pada umumnya digunakan dalam proses hidrolisis dan oksidasi. Spermatozoa juga mengandung *hyaluronidase* yang diduga berada dekat sekali dengan permukaan sel, sehingga setiap saat dapat dilepaskan ke medium sekitarnya.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA

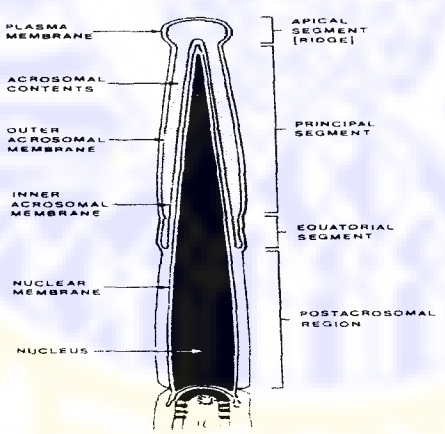
Spermatozoa normal terdiri dari kepala, badan, dan ekor (Anonimus, 2000). Menurut Partodihardjo (1992) kepala spermatozoa normal berbentuk bulat lonjong, gepeng dengan panjang 9 μm dan tebal 1 – 2 μm, bagian leher spermatozoa normal berbentuk bulat pendek, panjang 13 μm dan diameter 1 μm, ekor spermatozoa normal berbentuk bulat, panjang dengan diameter ½ - ¼ μm dan panjang 44 -50 μm.



Gambar 1. Spermatozoa dan bagian–bagiannya dilihat dengan mikroskop electron
Sumber : Partodihardjo, 1992

Kepala spermatozoa normal mengandung nukleus yang tersusun rapat oleh kromatin, sedangkan bagian ekor terdapat alat pelengkap untuk pergerakan atau motilitas (Hafez, 2000). Pada bagian posterior kepala spermatozoa terdapat kumpulan mitokondria (*Mitochondria sheath*) yang bertugas mensuplai energi untuk

aktivitas spermatozoa. Sumber energi yang dibutuhkan spermatozoa untuk pergerakannya adalah dalam bentuk ATP (*Adenosin Tri phosphate*). ATP diperoleh melalui proses hidrolisis enzimatik, suatu proses yang bersifat spontan dalam menghasilkan energi (Hartranto, 1991). Hampir setengah bagian anterior kepala spermatozoa dibungkus oleh akrosom yang memiliki struktur seperti kantong berdinding rangkap dan mengandung bahan–bahan seperti enzim *acrosin, hyaluronidase*, *hydrolase, esterase* yang berperanan untuk menembus dinding sel telur pada saat fertilisasi (Toelihere, 1981; Garner dan Hafez, 2000). Setengah bagian posterior kepala spermatozoa dibungkus oleh selubung inti posterior (*Post nuclear cup*). Perbedaan struktur selubung akrosom dan selubung inti posterior memperlihatkan perbedaan afinitas terhadap zat warna pada kedua selubung tersebut. Pada saat proses pewarnaan, apabila spermatozoa mati zat warna akan masuk ke bagian tengah kepala, hal ini merupakan dasar pewarnaan spermatozoa yang dapat digunakan untuk perhitungan hidup mati spermatozoa (Irawan, 2000).



Gambar 2. Penampakan melintang kepala spermatozoa
Sumber : Hafez, 2000

Pada awalnya motilitas spermatozoa berasal dari kontraktilitas filamen axial pada bagian tengah spermatozoa, kemudian kontraksi dilanjutkan keseluruh bagian ekor. Substansi kontraktil berupa myosin urat daging dan kontraksinya merupakan fungsi kompleks aktomiosin (Salisbury dan Vandemark, 1985). Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh suhu, mikroorganisme, unsur–unsur kimia (ion–ion organik, ATP, lemak, dan protein), faktor pengocok, sentrifugasi, dan pencucian (Syafei, 1988).

2.4 Spermatozoa kromosom X dan Y

Kromosom pertama kali ditemukan oleh Waldeyer pada tahun 1888 dan diartikan sebagai benang–benang halus yang terdapat di dalam nukleus (inti). Dalam bahasa latin kromosom berarti suatu benda yang dapat mengikat zat warna, dimana bahan penyusunnya adalah kromatin. Jumlah kromosom yang dimiliki oleh tiap–tiap spesies adalah tetap. Oleh karena itu, susunan kromosom mempunyai arti penting dalam penentuan filogeni dan taksonomi suatu spesies (Emery dan Mueller, 1988; Suryo, 1990 dikutip dari Widyanti, 2004)

Pejantan pada mamalia menentukan jenis kelamin anak yang dilahirkan. Sebagai hasil pembelahan reduksi selama spermatogenesis, spermatozoa hanya mengandung ½DNA pada sel–sel somatik dari spesies yang sama dan terbentuklah 2 macam spermatozoa. Spermatozoa yang berkromosom seks X (Spermatozoa X) akan menghasilkan embrio betina, sedangkan spermatozoa yang membawa kromosom seks

Y (Spermatozoa Y) akan menghasilkan embrio jantan, karena pada kromosom seks Y terdapat *sexing determining region Y* (SRY) yang menentukan terbentuknya testis pada hewan jantan (Pancahastana, 1999).

Spermatozoa X dan Y dapat dibedakan berdasarkan sifat–sifatnya, perbedaan tersebut adalah :

1. Kepala spermatozoa X mempunyai ukuran yang lebih besar daripada Y. Oleh karena itu, spermatozoa X mengandung kromosom lebih banyak (Tendean dkk., 1980).
2. Kromosom yang dikandung spermatozoa Y lebih sedikit daripada spermatozoa X sehingga apabila dilakukan sentrifugasi spermatozoa X akan lebih cepat membentuk endapan dibandingkan spermatozoa Y (Syafei, 1988). Perbedaan DNA spermatozoa X dan Y dapat dipisahkan dengan *fluorescent staining* dan *flow cytometry* (Garner dan Hafez, 2000).
3. Spermatozoa Y pada sapi diketahui mempunyai *fluorescent body* (*F – Body*) dan tidak terdapat pada spermatozoa X (Mohri dkk., 1987).
4. Spermatozoa Y lebih ringan sehingga pergerakannya lebih cepat dibandingkan dengan spermatozoa X, spermatozoa X lebih tahan hidup dan bergerak kearah katoda (Ericson dan Glass, 1982).

Spermatozoa X dan Y berbeda dalam ukuran, berat, densitas, motilitas, muatan (Hafez, 2000).

Johnson (1995) menyatakan bahwa seleksi awal jenis kelamin pada manusia dan hewan saat ini dapat dikerjakan lebih efektif dengan *flow cytometry* untuk pemisahan X dan Y secara mendasar dan tepat.

Spermatozoa Y lebih kecil, ringan dan pendek dibandingkan dengan spermatozoa X, sehingga spermatozoa Y lebih cepat dan banyak bergerak, serta kromosom yang dikandung spermatozoa Y lebih sedikit daripada spermatozoa X (Schilling and Thormalen, 1976; Hafez, 1993). Dengan demikian, bila dilakukan sentrifugasi maka spermatozoa X lebih cepat membentuk endapan daripada spermatozoa Y (Mohri dkk., 1987). Ukuran kepala spermatozoa ditentukan dengan cara mengukur panjang dan lebar dari kepala spermatozoa sapi, panjang kepala spermatozoa rata–rata 8 – 10 μm, lebar kepala 4,0 – 4,5 μm, menurut Toelihere (1981) hasil kali panjang dan lebar kepala spermatozoa kira–kira 32 – 45 μm.

Penelitian mengenai pemisahan spermatozoa telah banyak dilakukan, antara lain pemisahan spermatozoa pada manusia dengan menggunakan teknik filtrasi *sephadex* oleh Adimoelja (1995).

Secara praktis deteksi jenis kelamin bermanfaat untuk menghasilkan pedet jantan dan betina superior sebagai induk untuk menghasilkan susu dan daging, menghasilkan pejantan untuk penghasil daging dan menghasilkan betina untuk penghasil susu (Hafez, 1993 dan De Jonge *et al.*, 1997).

2.5 Semen beku

Pengetahuan mengenai pembekuan semen (Semen beku/*Frozen semen*) telah diketahui pada abad ke 18 oleh Spallanzani (Perry, 1973), namun penemuan ini kurang mendapat perhatian. Pada tahun 1897 Davenport melakukan penelitian yaitu pembekuan pada spermatozoa manusia pada suhu -17 °C, dan hasilnya spermatozoa tersebut tetap hidup. Penelitian tersebut kemudian dilanjutkan oleh beberapa peneliti dari berbagai negara antara lain : F. Jahnel (1938), Shettles (1940), Shafner (1941), Hoagland dan Pincus (1942), serta Parkes (1945) (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Semen beku adalah semen yang telah diencerkan menurut prosedur, kemudian dibekukan di bawah titik beku air antara -79 °C sampai -196 °C (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994; Partodihardjo, 1992). Pembekuan adalah suatu proses penghentian untuk sementara waktu kegiatan hidup sel tanpa mematikan fungsi sel, dimana proses hidup dapat berlanjut setelah pembekuan dihentikan (Susilawati, 2000). Pada prinsipnya pembekuan berfungsi untuk mengawetkan umur dan daya guna sel atau dapat disebut daya hidup dan fertilitas spermatozoa (Partodihardjo, 1992).

Untuk mempertahankan daya hidup dan fertilitas spermatozoa dalam pembekuan diperlukan tahapan–tahapan karena mempengaruhi stabilitas dan fungsi membran spermatozoa (Einarsson, 1992). Tahap – tahap proses pembekuan adalah :

1. *Cooling* :

Menurut Bearden dan Fuquay (1992) adalah proses pendinginan semen setelah dilakukan pengenceran, dengan memasukkan gelas ukur bertutup yang telah berisi semen pada gelas beaker berisi air dengan suhu 37 °C kemudian diletakkan di dalam alat pendingin selama 75 – 120 menit. Proses ini harus berjalan perlahan minimal 1 jam untuk menurunkan suhu semen dari 37 °C menjadi 5 °C. Perendaman setengah bagian gelas ukur berisi semen ke dalam gelas beaker berisi air dengan suhu 37°C untuk mencegah *cold shock* (Hafez, 1993)

2. Gliserolisasi :

Gliserol dipakai sebagai zat pelindung pada proses pembekuan semen dan ditambahkan secara bertahap pada semen setelah *cooling* (Toelihere, 1993). Hal ini bertujuan untuk mencegah terjadinya *osmotic shock.*

Waktu equilibrasi adalah waktu yang diperlukan spermatozoa untuk menyesuaikan diri dengan pengencer, lama waktu yang dibutuhkan 2 jam dengan menempatkan gelas ukur berisi semen di dalam alat pendingin bersuhu 3 – 5 °C menuju -140 °C yang merupakan titik kritis terhadap kerusakan dan kematian sel. Hal ini dihubungkan dengan efektifitas antibiotik yang bekerja selama 2 jam terlampaui (Lindsay dkk., 1982; Hafez, 1993; Toelihere, 1993). Semen dikemas dalam bentuk *ministraw,* yang mempunyai volume 0,25 ml. *Prefreezing* dilakukan dengan menempatkan

keranjang berisi straw pada uap nitrogen cair kira–kira 1 – 2 cm di atas permukaan nitrogen cair. Proses ini berlangsung kurang lebih 10 menit kemudian dimasukkan ke dalam nitrogen cair (Anonimus, 1998).

3. *Freezing* :

Suatu proses penghentian untuk sementara kegiatan hidup dari sel tanpa mematikan fungsi sel dan proses hidup dapat berlanjut setelah pembekuan dihentikan (Susilawati, 2000).

4. Penyimpanan/*Storage* :

Semen beku yang telah dikemas dalam bentuk ministraw disimpan dalam kontainer yang berisi nitrogen cair bersuhu -196 °C. Keberadaan nitrogen cair harus selalu dikontrol secara periodik karena kehabisan nitrogen cair akan meningkatkan suhu, sehingga dapat mematikan spermatozoa (Anonimus, 1998)

5. *Thawing* :

Pencairan kembali semen beku pada suhu optimum 37°C. Kondisi spermatozoa *post thawing* tidak memiliki daya tahan hidup seperti semen segar dan tidak dapat dibekukan kembali (Hafez, 2000). Motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa *post thawing* perlu diperiksa dengan nilai minimal 40%-50% (Anonimus, 1998).

2.6 Sinar ultraviolet

Sinar Ultraviolet merupakan salah satu spektrum dari cahaya polikromatis yang dipancarkan dengan rentang panjang gelombang 100 sampai 380 nm atau memiliki frekuensi $8x10^{14}$ - $3,4x10^{16}$ Hz (Hecht, 1990). Rentang panjang gelombang sinar UV berada diantara sinar X dan cahaya tampak (*visible light*). Sinar X memiliki energi lebih besar daripada sinar UV dan energi sinar UV lebih besar daripada sinar tampak (Anonimus, 1998).

Menurut Beehler (1992) berdasarkan rentang panjang gelombang, maka sinar UV dibagi menjadi :

1. Panjang gelombang pendek *(Short wave)* yaitu sinar UV yang mempunyai spektrum panjang gelombang antara 180 – 280 nm dengan puncak 254 nm. Oleh karena itu disebut sinar UV 254 nm atau UV – C.
2. Panjang gelombang menengah *(Medium wave)* yaitu sinar UV yang mempunyai spektrum panjang gelombang antara 280 – 320 nm, dengan puncak 312 nm. Oleh karena itu disebut sinar UV 312 atau UV – B.
3. Panjang gelombang panjang (*Long wave*) yaitu sinar UV yang mempunyai spektrum panjang gelombang antara 320 – 380 nm dengan puncak 365 nm. Daerah ini disebut sinar UV – 365 atau UV – A.

Sinar UV panjang gelombang 254 nm memiliki kemampuan membunuh bakteri pada jarak optimal 50 cm dari sumber sinar dengan kekuatan 15 watt dan lama waktu 30 menit (Frazier dan Westhoof, 1988 yang dikutip oleh Setyaningrum,

2002). Radiasi sinar UV sangat efektif untuk sterilisasi apabila terpapar langsung dengan jarak kurang dari 1 inci (Anonimus, 2005). Berdasarkan sifat yang dimiliki tersebut, sinar UV sering digunakan ditempat–tempat yang menuntut kondisi aseptis seperti laboratorium, rumah sakit, ruang produksi industri makanan dan minuman serta farmasi (Suwahyono dkk., 2005).

Efek radiasi sinar UV terhadap kulit normal manusia dapat bersifat menguntungkan dan merugikan. Sinar UV mampu membunuh kuman-kuman patogen, merangsang sintesis vitamin D, dan mengobati beberapa penyakit kulit seperti *Psoriasis vulgaris*, namun disisi lain, sinar UV dapat meyebabkan immunosupresi, kulit terbakar, *tanning*, katarak dan kanker kulit (Matsumura *et al*., 2002 dan Gabriel, 2001).

Sinar UV mempunyai kemampuan untuk merusak gen–gen yang melengkapi spermatozoa. Namun dikatakan pula bahwa spermatozoa yang terkena sinar UV dengan panjang gelombang dan jarak tertentu masih mampu mengaktifkan dan membentuk pronuklei jantan serta mensintesis DNA (Beehler, 1992).

Menurut Ismudiono dkk (2001) radiasi sinar UV mampu mengubah rasio hidup spermatozoa X dan Y, dengan penyinaran sinar UV pada jarak tertentu menghasilkan rasio hidup spermatozoa X lebih besar daripada spermatozoa Y. Fatchiyah (1992) menyatakan bahwa radiasi sinar UV dapat mengubah rasio seks anak mencit yang lahir dan mengakibatkan penurunan jumlah kelahiran anak mencit jantan.

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Taman Ternak Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan desember 2004 sampai dengan bulan maret 2005.

3.2 Materi penelitian

3.2.1 Bahan penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel berupa semen segar sapi perah Friesian Holstein dengan penambahan diluter A (susu skim dan kuning telur). Pada proses semen beku dilakukan penambahan diluter B (Susu skim + kuning telur + gliserol).

3.2.2 Alat penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan alat–alat antara lain lampu ultraviolet panjang gelombang pendek (254 nm) jenis TL dengan daya 15 watt produksi *Philips*, vagina buatan, mikroskop listrik, tabung reaksi, mikroplate, spatula, cover gelas, obyek gelas, pipet Pasteur, pipet eppendorf, waterbath, nampan, spuit, gunting, ministraw, api bunsen, rak, cool top.

3.3 Metode penelitian

3.3.1 Pengambilan sampel

Dalam penelitian ini menggunakan semen segar sapi perah FH dengan penambahan diluter susu skim dan kuning telur. Pengambilan semen dilakukan dengan metode penampungan semen menggunakan vagina buatan.

3.3.2 Prosedur penelitian.

Setelah dilakukan pengambilan sampel menggunakan vagina buatan, dilakukan pemeriksaan antara lain secara makroskopis untuk mengetahui : volume, warna, bau, konsistensi, dan pH kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan mikroskopis untuk mengetahui gerakan massa, gerakan individual, dan konsentrasi spermatozoa.

Semen yang telah diperiksa, diambil menggunakan pipet Pasteur dan diteteskan ke dalam masing–masing mikroplate yang telah diberi tanda P0, P1, P2, P3 dengan volume tiap perlakuan sebanyak 1 ml, kemudian ditambahkan diluter susu skim + kuning telur ke dalam masing– masing perlakuan sesuai dengan perbandingan, kemudian mikroplate P1, P2, P3 diletakkan di dalam kotak yang telah terpasang lampu UV panjang gelombang 254 nm dan berkekuatan 15 watt, tepat di bawah lampu. Perlakuan I dipapar dengan jarak 15 cm, perlakuan II dipapar dengan jarak 20 cm, perlakuan III dipapar dengan jarak 25 cm. Paparan sinar UV dilakukan dengan lama waktu 5 menit.

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Setelah 5 menit lampu UV dimatikan, mikroplate berisi sampel diambil dan diletakkan di atas nampan yang telah berisi air sehingga setengah bagian mikroplate terendam air, dan dimasukkan ke dalam cool top, lalu didiamkan selama 1½ jam. Proses gliserolisasi yaitu penambahan diluter B sehingga volume semen menjadi 2 kali lipat dari volume awal, dilakukan 4 tahap dengan interval waktu 15 menit, kemudian didiamkan dengan lama waktu ± 1 – 3 jam dengan tujuan spermatozoa mampu beradaptasi dengan pengencer/diluter (proses equlibrasi). Sampel tersebut dikemas dalam bentuk ministraw dengan volume 0,25 ml dan proses ini dilakukan di dalam cool top suhu 5 °C. Ministraw yang telah diatur dalam keranjang straw dimasukkan dalam uap nitrogen cair (± 1 - 2 cm di atas nitrogen cair) selama 9 menit pada suhu - 140 °C (*prefreezing*) kemudian ministraw dipindahkan ke dalam kanister dan dimasukkan dalam nitrogen cair pada suhu - 196 °C (proses *freezing*) dan disimpan dalam kontainer (proses *storage*).

3.3.3 Pemeriksaan semen beku hasil pemisahan spermatozoa

Semen yang telah disimpan di dalam kontainer dengan kemasan ministraw diambil dengan pinset dari kanister, kemudian lakukan proses *thawing* dengan cara mencelupkan ministraw ke dalam waterbath selama ± 7 detik, lalu gunting ministraw pada bagian tengah dan ujungnya. Teteskan semen di atas gelas obyek, tutup dengan gelas penutup untuk dilakukan pemeriksaan motilitas *post thawing* di bawah mikroskop pembesaran 400x, bersamaan dengan itu dilakukan pembuatan preparat

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

ulas dengan cara meneteskan semen di atas gelas obyek dan satu tetes eosin negrosin kemudian dicampur menggunakan gelas obyek yang lain dan gelas obyek tersebut didorong dengan sudut 45° dan dibuat preparat ulas setipis mungkin, setelah itu preparat difiksasi di atas nyala api kemudian dilakukan penghitungan persentase hidup spermatozoa di bawah mikroskop pembesaran 400x.

3.4 Peubah yang diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah persentase motilitas progresif dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*. Penilaian terhadap motilitas spermatozoa bersifat subyektif, menurut Irawan (2000) 80 - 100% nilai motilitas baik sekali, 60 – 80% nilai motilitas baik, 40 – 60% cukup baik, 20 – 40% jelek, dan 0 – 20% sangat jelek. Spermatozoa yang masih layak digunakan untuk IB, memiliki penilaian berkisar antara D/+++/P sampai D/++/P (Hafez, 1993). Sedangkan menurut Lindsay (1982) sampel yang dianggap bagus berkisar antara 70 – 90% spermatozoa motil dengan gerakan progresif.

Pemeriksaan hidup mati spermatozoa menggunakan prinsip spermatozoa hidup memiliki membran utuh yang tidak dapat ditembus zat warna, sedangkan pada spermatozoa mati dapat menyerap zat warna (Hunter, 1995). Pada saat pewarnaan menggunakan eosin-negrosin, permukaan spermatozoa dilapisi sejumlah zat warna apabila sel tersebut mati, zat warna akan masuk kebagian tengah kepala, hal ini terjadi akibat permeabilitas membran sel meningkat terutama didaerah *post nuclear*

cups sehingga akan menyerap zat warna menjadi merah keunguan, sementara membran spermatozoa hidup masih utuh sehingga warna kepala akan putih jernih (Hardijanto, 1993).

Namun terkadang persentase hidup tidak cocok dengan persentase motilitas spermatozoa, hal ini dikarenakan : spermatozoa yang tidak bergerak belum tentu mati sehingga tidak menyerap zat warna sedangkan pada spermatozoa yang hidup dan bergerak, kemungkinan mempunyai *defect* (cacat) pada dinding selnya, sehingga dapat menghisap zat warna dan di bawah mikroskop dianggap mati.

3.5 Rancangan penelitian dan Analisis data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dalam empat kelompok perlakuan yaitu : kelompok kontrol (P0), kelompok perlakuan I (P1), kelompok perlakuan II (P2), kelompol perlakuan III (P3), yang masing–masing mendapatkan 6 ulangan. Analisis statistik yang digunakan adalah Anova satu arah, bila terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT).

Data hasil penelitian berupa persentase motilitas progresif dan persentase hidup spermatozoa ditabulasikan dan dianalisis dengan Anova satu arah. Analisis data menggunakan SPSS (*Statistical program for sosial science*) *11.0 for Windows* (Notobroto, 2001).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

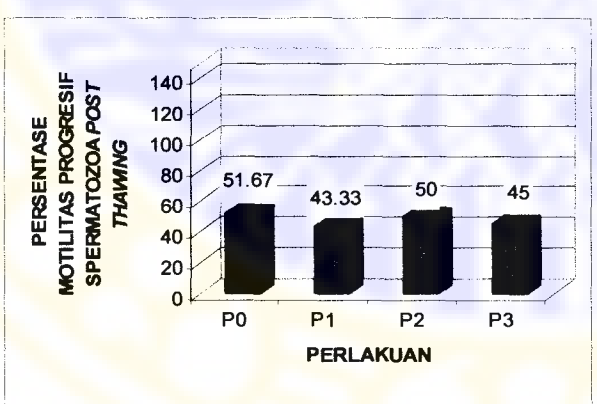
4.1 Rataan persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing*

Data tentang *post thawing progressive motility* spermatozoa setelah diberi perlakuan pemaparan sinar UV panjang gelombang 254 nm dengan 3 perlakuan : jarak paparan 15 cm (P1), jarak paparan 20 cm (P2), jarak paparan 25 cm (P3) dan lama waktu 5 menit tercantum dalam tabel 1.

Tabel 1. Rataan dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa *Post Thawing* Semen Sapi Friesian Holstein

Perlakuan (Jarak Paparan Sinar Ultraviolet)	Banyaknya Ulangan (n)	Rataan dan Simpangan baku (%) (X± SD)
Kontrol (P0)	6	$51,67^{a} \pm 12,91$
15 cm (P1)	6	$43,33^{a} \pm 16,02$
20 cm (P2)	6	$50,00^{a} \pm 7,07$
25 cm (P3)	6	$45,00^{a} \pm 16,2$

Superskrip sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata



Gambar 3. Diagram Batang Persentase Motilitas Progresif *Post Thawing* Semen Sapi Friesian Holstein

Berdasarkan penghitungan dan rata–rata persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* dengan taraf signifikansi 5% menunjukkan bahwa rataan persentase motilitas progresif spermatozoa setelah menerima perlakuan pemaparan sinar UV panjang gelombang 254 nm dengan daya lampu 15 Watt, memberikan hasil tidak berbeda nyata (p>0,05) antara kelompok kontrol dengan ketiga kelompok perlakuan.

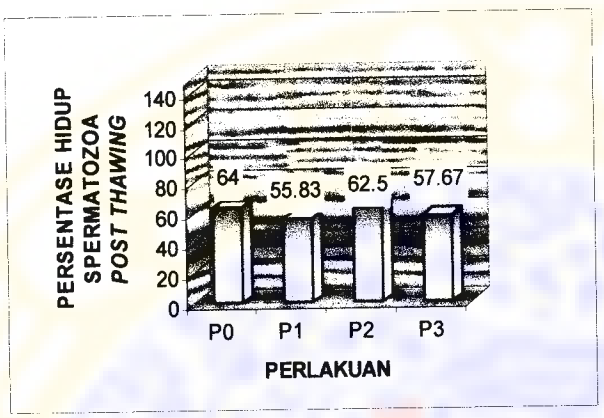
4.2 Rataan persentase hidup spermatozoa *post thawing*

Data tentang persentase hidup spermatozoa *post thawing* yang mendapat perlakuan pemaparan sinar UV dengan jarak paparan 15 cm (P1), jarak paparan 20 cm (P2), jarak paparan 25 cm (P3) selama 5 menit tercantum dalam tabel 2.

Tabel 2. Rataan dan Simpangan Baku Persentase Hidup Spermatozoa *Post Thawing* Semen Sapi Friesian Holstein

Perlakuan (Jarak Paparan Sinar Ultraviolet)	Banyaknya Ulangan (n)	Rataan dan Simpangan baku (%) (X± SD)
Kontrol (P0)	6	$64{,}00^{a} \pm 9{,}32$
15 cm (P1)	6	$55{,}83^{a} \pm 13{,}63$
20 cm (P2)	6	$62{,}50^{a} \pm 7{,}29$
25 cm (P3)	6	$57{,}67^{a} \pm 11{,}93$

Superskrip sama pada kolom yang sama nenunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata



Gambar 4. Diagram Batang Persentase Hidup Spermatozoa *Post Thawing* Semen Sapi Friesian Holstein

Setelah dilakukan analisis statistik dengan menggunakan Anova satu arah terhadap rataan persentase hidup spermatozoa *post thawing* menunjukkan tidak terjadi penurunan yang signifikan ($p>0,05$) pada persentase hidup spermatozoa akibat pemaparan sinar UV (λ=254 nm, daya lampu 15 watt) pada jarak 15, 20 dan 25 cm selama 5 menit dan proses pembekuan.

Bab V

PEMBAHASAN

5.1 Keadaan awal sampel penelitian

Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan adalah semen segar sapi perah FH dan terdapat 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (P0) : tanpa paparan sinar UV, kelompok perlakuan I : sampel dipapar sinar UV dengan jarak paparan 15 cm, kelompok perlakuan II : sampel dipapar dengan jarak 20 cm, dan kelompok perlakuan III : sampel dipapar dengan jarak 25 cm, ketiga kelompok perlakuan dipapar dengan sinar UV 254 nm menggunakan lampu UV berkekuatan 15 watt. Berdasarkan penelitian Wahyudin (2005), sinar UV mampu menggeser rasio hidup spermatozoa X lebih besar daripada spermatozoa Y. Setelah pemaparan dilakukan proses pembekuan pada sampel dan pemeriksaan persentase motilitas progresif dan persentase hidup spermatozoa *post thawing* sebagai pemeriksaan awal sebelum dilakukan inseminasi buatan.

Sampel diambil menggunakan vagina buatan, metode ini merupakan salah satu metode penampungan semen, sedangkan metode lainnya yaitu : *massage ampula* dan elektroejakulator. Dalam penelitian ini, diperoleh sampel berupa semen dengan volume berkisar antara 6-10 ml, warna putih – putih kekuning-kuningan dengan rata-rata motilitas 80%. Berdasarkan hasil di atas, maka sampel dapat diproses lebih lanjut karena semen normal pada sapi berwarna putih susu sampai kekuningan,

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

volume rata-rata 5 - 8 ml (1 - 15 ml) dengan motilitas minimal 65% (Toelihere, 1993).

Gerakan massa adalah faktor penting dan merupakan kriteria yang paling utama untuk mengindikasikan bahwa semen tersebut dapat diproses lebih lanjut atau tidak. Gerakan massa hanya dapat dilihat pada awal semen ditampung, sedangkan setelah perlakuan hanya dapat melihat gerakan individual. Pada sampel yang digunakan memiliki gerakan massa +++ (positif 3), dalam hal ini sampel dinilai baik. Menurut King (1993) gerakan massa terbaik berkisar positif 3- positif 5 (minimum positif 1; maksimum positif 5).

Motilitas spermatozoa merupakan salah satu ciri utama yang sering dijadikan patokan paling sederhana dalam penilaian semen untuk IB. Motilitas atau daya gerak spermatozoa biasanya digunakan sebagai ukuran kesanggupan spermatozoa untuk membuahi sel telur. Hafez (2000) mengatakan bahwa setidaknya 50% motilitas spermatozoa bersifat progresif.

Motilitas spermatozoa dalam penelitian ini mempunyai nilai rata – rata 80%. Menurut Hardijanto&Hardjopranjoto (1994) mengatakan bahwa pemeriksaan motilitas spermatozoa hendaknya dilakukan pada suhu kamar agar mendapatkan hasil yang optimal mengingat spermatozoa sangat rentan terhadap suhu, lingkungan atau perlakuan buruk.

Hasil penelitian didapatkan motilitas spermatozoa setelah dipapar sinar UV 254 nm dengan jarak terdekat 15 cm masih diatas 55% dengan gerakan progresif atau

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

aktif maju ke depan. Hal ini berkaitan dengan batas minimum motilitas spermatozoa untuk dapat dilakukan proses pembekuan, King (1993) turut menegaskan bahwa sampel yang menunjukkan motilitas kurang dari 70% setelah koleksi dan kurang dari 50% sebelum *freezing* sebaiknya tidak digunakan, dan menurut Anonimus (2000) standar minimal persentase *post thawing motility* untuk sapi adalah 40%.

Pada saat proses pembekuan (g*liserolisasi, equilibrasi, filling&sealing, prefreezing, freezing*) diperkirakan motilitas spermatozoa menurun hingga 20% - 80%. Oleh karena spermatozoa sangat mudah rusak karena pengaruh luar, maka dalam pengambilan, pengolahan, penyimpanan spermatozoa harus sangat hati-hati, adanya zat kimia seperti logam dan desinfektan zat kimia lainnya dapat mengganggu kehidupan spermatozoa (Hardjopranjoto, 2002).

Spermatozoa bersifat *immotile* ketika dikeluarkan ke lumen tubulus seminiferus, sebagian besar pergerakannya bersifat pasif karena adanya gerakan peristaltik dari otot – otot epididimis dan cairan yang dikeluarkan oleh sel sertoli, sehingga spermatozoa mampu mencapai epididimis (King, 1993). Setelah melewati epididimis, spermatozoa mendapatkan suplai energi dari seminal plasma yang mengandung fruktosa, asam sitrat, carnitin, dan GPC (*Gliserolphosphorilcoline*) (King, 1993).

5.2 Persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemaparan sinar UV berdaya lampu 15 watt tidak memberikan pengaruh terhadap motilitas progresif spermatozoa *post thawing*. Persentase perlakuan I (43,33 ± 16,02) tidak berbeda nyata dengan kontrol (P0) dengan persentase motilitas progresif *post thawing* (51,67 ± 12,91), begitu pula antara perlakuan II (50,00 ± 7.07) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan P3 (45,00 ± 16,2). Hal tersebut menyatakan bahwa pemaparan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm selama 5 menit pada jarak 15, 20, dan 25 cm tidak menyebabkan kerusakan dan kematian spermatozoa yang sangat mencolok.

Kondisi membran plasma yang baik menyebabkan tudung akrosom lebih terlindungi dan proses metabolisme dapat berjalan dengan lancar sehingga dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa (Herdis, 2005). Kerusakan membran spermatozoa akan mempengaruhi kualitas spermatozoa, kerusakan membran dapat menyebabkan pasokan energi yang berasal dari perombakan ATP tidak optimal sehingga akan menurunkan motilitas spermatozoa (Aurich *et al.*, 1997 yang dikutip oleh Wahyuddin, 2005).

Motilitas spermatozoa disebabkan karena pada fibril–fibril mikro bagian luar, pada ekor spermatozoa terdapat suatu protein yang disebut *dynein*. Protein ini memiliki fungsi sebagai enzim ATP-ase, sehingga mampu merubah ATP hasil metabolisme menjadi AMP dan dua ion Pi anorganik. Ion Pi anorganik memiliki

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

energi yang tinggi sehingga menimbulkan kontraksi pada fibril–fibril mikro dan menghasilkan gerakan berpilin (Lehninger, 1994 dalam Herdis, 2005)

Berdasarkan persentase motilitas progresif *post thawing* pada penelitian ini menunjukkan bahwa semen hasil pemaparan spermatozoa menggunakan sinar UV (254 nm) dapat diproses menjadi semen beku. Motilitas dihitung mulai dari 40%, 50%, 60%, 70% dan seterusnya, angka ini menunjukkan adanya hubungan jumlah motilitas progresif dari spermatozoa (Rasberch, 1993).

Selama proses pembekuan, spermatozoa mendapatkan suplai energi untuk pergerakan dan daya hidup dari plasma semen dan diluter. Penambahan gliserol pada diluter semen beku mempunyai fungsi sebagai pelindung terhadap adanya perubahan temperatur, selain itu diluter digunakan sebagai sumber nutrisi, mempertahankan pH, melindungi spermatozoa dari mikroorganisme dan memperbanyak volume. Hal ini berkaitan dengan konsentrasi awal spermatozoa dalam semen beku yaitu 20 -30 juta/ml (Partodihardjo, 1992) dan menurut Anonimus (2000) konsentrasi spermatozoa per straw adalah 25 juta.

Cold shock dan terbentuknya kristal–kristal es intraseluler merupakan problem utama dalam proses pembekuan. Kristal–kristal es akan merusak organel spermatozoa seperti mitokondria dan memutuskan rantai oksidasi sehingga proses metabolisme tidak berlangsung, ATP (*adenosine tri phosphate*) sebagai sumber energi tidak terbentuk (Supriatna dan Pasaribu, 1992). Adanya gliserol dalam diluter

dapat berdifusi ke dalam spermatozoa, gliserol mampu mencegah pengumpulan molekul–molekul H_2O kristalisasi es pada daerah titik beku larutan (Mazur, 1980).

Fruktosa yang tersedia dalam diluter akan menyebabkan spermatozoa tetap bergerak, Karena fruktosa berperan menghasilkan energi berupa ATP yang mengandung fosfat anorganik (Pi) kaya energi dan digunakan untuk kontraksi fibril–fibril serta menghasilkan gerak spermatozoa (Tambing dkk, 1999).

5.3 Persentase hidup spermatozoa *post thawing*

Hasil penelitian menunjukkan persentase hidup *post thawing* tidak mengalami penurunan yang nyata, perlakuan I (53,83%) tidak berbeda nyata dengan persentase hidup pada kontrol (64,00%), begitu pula antara perlakuan II (62,50%) tidak berbeda nyata dengan perlakuan III (57,67%) setelah mendapat paparan sinar UV panjang gelombang 254 nm pada jarak 15, 20 dan 25 cm selama 5 menit.

Sama halnya dengan membran plasma sel lainnya, membran plasma spermatozoa tersusun oleh protein dan fosfolipid, pada umumnya sel akan menggunakan mekanisme tertentu untuk mencegah kerusakan membran yang tidak terkontrol (Mackie *et al.*, 2001). Membran plasma sel memegang peranan penting karena berfungsi menjaga organel–organel sel secara fisik dan mengatur lalu lintas keluar masuk sel seluruh substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses biokemik sel. Adanya penambahan zat krioprotektan ke dalam medium pengencer semen dapat melindungi kerusakan spermatozoa, baik yang dikarenakan efek larutan

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

maupun pembentukan kristal es ekstraseluler dan intraseluler. Zat krioprotektan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gliserol (Herdis, 2005).

Penurunan persentase hidup spermatozoa *post thawing* biasa terjadi dalam proses pembekuan sebab saat spermatozoa berada dalam suhu yang menurun drastis dari keadaan semula, sehingga kerusakan spermatozoa sebesar 20% dari keseluruhan masih dapat dikatakan memuaskan. Pada proses pembekuan terbentuklah kristal–kristal es dan terjadi penumpukan elektrolit dan bahan–bahan terlarut lainnya. Konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipoprotein dinding spermatozoa dan waktu pencairan kembali permeabilitas membran sel akan berubah dan menyebabkan kematian sel (Toelihere, 1993). Pembekuan ternyata tidak berpengaruh buruk terhadap kemampuan fertilisasi spermatozoa kecuali spermatozoa babi dan kuda, yang kehilangan kemampuan untuk fertilisasi setelah pembekuan (Nalbandov, 1990)

Penurunan persentase hidup spermatozoa *post thawing* disebabkan oleh perbedaan kondisi membran pada saat pembekuan dan proses pencairan kembali. Perubahan ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran sehingga terjadi lisis dan kematian (Suprayogi, 1996). Kerusakan membran plasma terjadi selama proses pembekuan dan *thawing* diantara suhu -15 sampai -60°C (Parks dan Graham, 1992).

Permukaan spermatozoa dibungkus oleh suatu membran lipoprotein, apabila spermatozoa mati permeabilitas membran meningkat terutama didaerah pangkal

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

kepala dan hal ini merupakan dasar pewarnaan spermatozoa hidup dan mati (Toelihere, 1993). Dengan eosin negrosin spermatozoa mati berwarna merah muda, sedangkan spermatozoa hidup tidak dapat diwarnai dan tetap berwarna putih dengan latar belakang biru gelap (Noakes, 1986). Hal ini ditegaskan oleh Bearden dan Fuquay (1992) bahwa eosin berhubungan dengan pewarnaan diferensial yang tidak dapat menembus membran sel hidup tetapi dapat menembus membran sel mati, latar belakang pewarnaan seperti eosin negrosin dapat membantu menampakkan kepala spermatozoa hidup. Prinsipnya adalah zat warna eosin negrosin tidak masuk ke dalam spermatozoa hidup akibat membran plasmanya masih utuh.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Hasil penelitian tentang pengaruh pemaparan sinar UV panjang gelombang 254 nm menggunakan lampu UV berdaya 15 watt dengan jarak paparan 15 cm, 20 cm, 25 cm terhadap persentase motilitas progresif dan persentase hidup spermatozoa *post thawing*. Dapat diambil kesimpulan adalah sebagai berikut :

- Persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* tidak menurun pada pemaparan dengan sinar UV masing-masing pada jarak 15, 20, dan 25 cm.
- Persentase hidup spermatozoa *post thawing* tidak menurun pada pemaparan dengan sinar UV masing-masing pada jarak 15, 20, dan 25 cm.

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk melengkapi penelitian ini adalah :

- Sebaiknya dilakukan pemeriksaan terhadap struktur DNA dan organel spermatozoa akibat pemaparan sinar UV dan proses pembekuan.

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

- Dilakukan penghitungan rasio hidup spermatozoa X dan spermatozoa Y *post thawing*.
- Diharapkan dilakukan penelitian mengenai efek pemaparan sinar UV panjang gelombang 254 nm terhadap semen sapi potong dan diaplikasikan secara in-vivo.

DAFTAR PUSTAKA

Adimoelja, A. 1995. Separation of X Spermatozoa with Sephadex Gel Filtration Method for Female Preselection. Thesis. Universitas Airlangga.

Anonimus. 1998. Petunjuk Penampungan Semen, Prosesing, Distribusi dan Evaluasi Mani Beku di BIB Singosari. Singosari, Malang. 22-24, 27.

Anonimus. 1998. UV Offers Reliable Disinfection. http://www.bigbrandwater.com

Anonimus. 2000. Prosedur Tetap (PROTAP) Produksi dan Distribusi Semen Beku. Direktorat Perbibitan. Jakarta. 29-31, 44-46.

Anonimus. 2002. The Response of Yeast to Radiation. http://www.ncbi.com

Anonimus. 2005. Ultraviolet Sterilzation. http://www.about.com.

Atmodilaga dkk. 1976. Mari Beternak Sapi Perah. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Gramedia. Jakarta. 10, 13.

Aurich, J.E., V. Schonheer, H. Hoppe and N.C. Aurich. 1997. Effect of Antioxidants on Motility and Membrane Integrity of Chilled Stored Stallon Semen. Theriogenology. 48 : 185 – 192.

Bearden, H.J. and J.W. Fuquay. 1992. Applied Animal Reproduction. 3 rd Ed. Prentice Hall. Englewood Cliffs. New Jersey. 341 – 345.

Beehler, D.M. 1992. Kapita Selekta Patologi Klinik. Terjemahan. Andrianto G dan Gunawan J. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.

Blakely, J. and D.H.Bade. 1984. Ilmu Peternakan (The Science of Animal Husbandry). 4th ed. Diterjemahkan oleh Srigandono. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 282-284.

Crowder, L.V. 1988. Planet Genetics. Terjemahan. L. Kusdiarto. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 322 – 356.

De Jonge CJ, S.P. Flaherty, A.M. Barnes, N.J. Swann, C.D. Mathews. 1997. Failure of Multitube Sperm Swim Up for Preselection. Fertil Steril. 67(6): 1109- 1114.

Diffey, B.L. 1991. Solar Ultraviolet Radiation Effects on Biological Systems. Review in Physics in Medicine and Biology. 36 : 299 – 328.

Einarsson, S. 1992. Concluding Remarks. In: Influence of Thawing Method Motility. Plasma Membrane Integrity and Morphology of Frozen Thawed Stallion Spermatozoa. Theriogenology. 48: 531 – 536.

Emery, A.E., R.F. Mueller. 1988. Element of Medical Genetics, 7 ed Ed. Churchill Livingstone. London. 285 – 301.

Ericsson, R.J. and R.H. Glass. 1982. Functional Difference Between Sperm Bearing X or Y Chromosom. In: E.S.E Hafez (Ed.). Reproduction in Farm Animal. 6 th ed. Lea and Febriger. Philadelphia.

Fatchiyah. 1992. Pengaruh Induksi Radiasi Sinar Ultraviolet terhadap Reproduktivitas, Hepar, dan Kromosom Mencit Jantan (*Mus musculus*). Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi, prog. Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya.

Frazier, W.C. and D.C. Westhoof. 1988. Food Microbiology 4 ed . Mc Graw Hill Publising Company Limited. New Delhi. Hal : 89-97.

Gabriel, J.F. 2001. Fisika Lingkungan. Hipokrates. Jakarta. 293 – 294.

Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: E.S.E Hafez (Ed.). Reproduction in Farm Animals. 6 th ed. Lea and Febriger. Philadelphia. 96 – 109.

Gritz, D.C, Lee. T.Y, McDonnel. P.J, Shih. K, Baron. N. 1990. UV Radiation for Sterilization of Contact Lenses. Clao Jurnal 16 (4). 294-298.

Hafez, E.S.E and B. Hafez. 2000. Reproduction in Farm Animal. 7 th Rd. Lippicott Williams & wilkins. Philadelphia. USA. 165 – 444.

Hafez, E.S.E., 1993. Preservation and Cryopreservation of Gamete Embryos. In: E.S.E. Hafez (Ed.). Reproduction in Farm Animals. 6 th ed. Lea and Febriger. Philadelphia. 96 – 109.

Hardijanto dan S. Hardjopranjoto. 1994. Diktat Kuliah Ilmu Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Surabaya. 18 – 20, 25, 44 - 52, 70 – 78.

Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya. 55 – 69.

Hartranto, Eka R.Y. Pengaruh Pengenceran Spermatozoa terhadap Motilitas Spermatozoa. 1991. Lembaga penelitian. Universitas Airlangga.

Hecht. 1990. Optics Second Edition. Adelphi University.

Herdis. 2005. Optimalisasi Inseminasi Buatan Melalui Aplikasi Teknologi Laserpunktur pada Domba Garut (Ovis Aries). Disertasi. Institut Pertanian Bogor. 64, 67, 80 – 82.

Irawan, D. 2000. Pemisahan Sel Spermatozoa Sapi Madura Kromosom Seks X dan Y dengan Teknik Sentrifugasi Menggunakan Kolom Percoll. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 19 – 20.

Ismudiono, P. Srianto, S.P. Madyawati. 2001. Penyinaran dengan Sinar Ultraviolet pada Semen Beku Sapi Perah Setelah Thawing Sebagai Upaya Pemisahan Kromosom Seks X dan Y. Laporan Penelitian DIK Suplemen Universitas Airlangga. Lembaga Penelitian. Universitas Airlangga. Surabaya.

Johnson, L.A. 1995. Sex Preselection by Flow Cytometric Separation of X and Y Chromosome Bearing Sperm Based on DNA Difference. Review. J. Reprod fertil. 4: 893 – 903.

King, G.J. 1993. In: Reproduction in Domesticated Animals. World Animal Science, Vol 9. Elsevier Science Publisher, B.V.P. 23, 115, 370-371.

Lehninger, A.L. 1994. Dasar – Dasar Biokimia, Jilid 2. Terjemahan. Thenawijaya M. Erlangga. Jakarta.

Lindsay, K.W., Entwistle and A. Winantea. 1982. Reproduksi Ternak Indonesia. Fakultas petenakan dan Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.

Mackie, A.R., P.S. James, S. Ladha and R. Jones. 2001. Diffusion Barriers in Ram and Boar Sperm Plasma Membranes : Directionality of Lipid Diffusion Across The Posterior ring. Biology Reproduction. Society for The Study of Reproduction, Inc. 64 : 113 – 119.

Mahaputra, L., I. Mustofa. 2002. Pemisahan Sel Sperma Pembawa Kromosom Kelamin dan Perkembangan Embrio Hasil Fertilisasi in Vitro pada Sapi Madura. Media Kedokteran Hewan. 18 (1) : 8 – 10.

Matsumura, Y., and H.N Ananthaswamy. 2002. Short-Term and Long-Term Cellular and Molecular events following UV Radiation of Skin : Implications for Molecular Medicine. Review in Molecular Medicine. http://www.expertreviews.org/

Mazur, P. 1980. Fundamental Aspects of The Freezing of Cells with Emphasis on Mammalian Ova and Embryos. 9th International Congress on Animals Reproduction & AI. 1: 99 – 114.

Mohri, H., S. Oshio, S. Kaneko, T. Kobayashi and R. Lizuka. 1987. Separation and Characterization of Mammalian X- and Y- Bearing Sperm. In: H. Mohri (Ed.). New Horizon in Sperm Cell Research. Japan Scientific Sociates Press Tokyo. Gordon and Beach Science Publishers. NY.

Notobroto, H.B. 2001. Statistika Deskriptif dan Statistika Parametrik dalam SPSS for Windows. Pelatihan Metodologi Penelitian Statistika dan Komputer bagi Calon Peneliti Kabupaten Manggarai. Lembaga Penelitian. Universitas Airlangga.

Pai, C.A. 1992. Foundation of Genetics. McGraw – Hill Publ. Co. New York.

Pancahastana, H. 1999. Upaya Merubah Sex Ratio Spermatozoa dengan Melakukan Pemisahan Spermatozoa X dan Y Menggunakan Putih Telur pada Sapi Bali. Skripsi. Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya. Malang.

Parks, J.E. and J.K. Graham. 1992. Effects of Cryopreservation Procedures on Sperm Membranes. Theriogenology. 38: 209 – 222.

Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Jurusan Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Penerbit Mutiara Sumber Widya. Jakarta. 519 – 571.

Perry, E.J. 1973. The Artificial Insemination of Farm Animals. 4th Revised ed. Rutgers University Press. New Jersey. 349 – 357.

Purwanto, K.A. 2004. Pengaruh Lama Waktu Paparan Radiasi Ultraviolet C (UV-C) terhadap Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas dan Permeabilitas Membran Spermatozoa Sapi Perah. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Hal : 23-24.

Rasbech, N.O. 1993. Artificial Insemination. In: G.J. King (Ed.). Reproduction in Domesticated Animals. World Animal Science, Vol 9. Elsevier Science Publisher, B.V.P. 369.

Salisbury, G.W. and N.L. Vandemark. 1985. Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi (Physiology and Artificial Insemination of Cattle). Diterjemahkan oleh Januar, R. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Sassung, J., S. Asminah, S. Jatiman. 1996. Buku Materi Pokok Pengetahuan Nuklir PIPA 4432/Modul 6 – 9. Universitas Terbuka. Penerbit Karunika. Jakarta.

Setyaningrum, W. 2002. Pengaruh Penyinaran Ultraviolet dengan Lama Waktu Penyimpanan setelah Penyinaran terhadap Total Bakteri pada Kulit Karkas Ayam Pedaging. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Hal : 10.

Scavone M.D., C. Oliveira, L.A. Trinca and F. Foresti. 2001. Synaptonemal Complex Analysis of The Holstein-Friesian, Piemontese and Simmental Breeds of Bos taurus-taurus. Cytobios 105 (408): 55-63.

Schilling, E., Thormalen A. 1976. Attempt for Separation of X and Y Spermatozoa by Density Gradient Centrifugation. Int. Cong. of Animal Reproduction and Artificial Insemination, Krakow. 90.

Schimdt, G.H. and Van Vleck. 1974. Principles of Dairy Science. Freeman, W.H. and Company. San Fransisco.

Suprayogi, T.W. 1996. Pengaruh Waktu Penyimpanan Bahan Pengencer Kuning Telur Sitrat terhadap Daya Fertilisasi Sel Mani Domba. Lemlit, Universitas Airlangga.

Supriatna, I. dan F.H. Pasaribu. 1992. In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio dan Pembekuan Embrio. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Susilawati, T., Hardjopranjoto S, Sumitro S.B., Hinting A. 2000. Perubahan Fungsi Membran Spermatozoa Hasil Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll pada Proses Seleksi Jenis Kelamin. Jurnal Ilmu Ternak Tropika. Vol 1.

Suwahyono, U., P, Wahyudi dan F.G.K. laksmi. 2005. Pengaruh Pemaparan Sinar UV Terhadap Pertumbuhan Trichoderma Harzianum dan Kemampuan Mikroparasitiknya Terhadap Fusarium Oxysparum. Jurnal Saint dan Teknologi. http://www.IPTEKnet.com

Syafei, S. 1988. Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan Menggunakan Kolom Percoll. Jurnal A.A., Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang.

Syarief, M.Z. dan M. Sumoprastowo. 1985. Ternak Perah. CV. Yasaguna. Jakarta. 16 – 18.

Tambing, S.N., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, dan I.K. Sutama. 1999. Pengaruh Gliserol dalam Pengencer Tris terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. J. Ilmu Ternak dan Veteriner. 5(2) : 84 – 90.

Tendean, O.S., S.A. Pangkahila, D. Sudjono, Hinting and A. Adimoelja. 1980. Head Size Measurement of Spermatozoa The Identification of X and Y Sperm After Filtration Through a Sephadex Gel Column. Paper Presented in Laboratory Biomedic Faculty of Medicine. Universitas Airlangga.

Toelihere, M.R. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.

Toelihere, M.R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.

Wahyuddin, P., S.B. Siregar, N. Hidayati, dan T. Sugiarti. 1993. The Production Performance of Holstein – Friesian Dairy Cattle in West java. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. Vol : 2(3).

Wahyudin, A. 2005. Rasio Spermatozoa X dan Y Sapi Perah Setelah Pemaparan Sinar Ultraviolet. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

Widyanti, K.C. 2004. Perbedaan Motilitas, Daya Hidup dan Rasio Hidup spermatozoa X dan spermatozoa Y Sapi Perah Setelah Dipapar dengan Sinar Ultraviolet Panjang Gelombang Pendek. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 19 – 20.

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Lampiran 1. Pemeriksaan Makroskopis Spermatozoa Sebelum Perlakuan Pemaparan Sinar UV

Pengambilan	Volume (mL)	Warna	Bau	Konsistensi	pH
I	10,5	Putih	Khas	Sedang	6 – 7
II	9,5	Putih kuning	Khas	Sedang	6 – 7
III	6,5	Putih kuning	Khas	Sedang	6 – 7
IV	6	putih	Khas	Sedang	6 – 7
V	8	Putih	Khas	Sedang	6 – 7
VI	10	Putih	Khas	Sedang	6 - 7

Lampiran 2. Pemeriksaan Mikroskopis Spermatozoa Sebelum Perlakuan Pemaparan Sinar UV

Pengambilan	Gerakan massa	Gerakan individu	Motilitas	Konsentrasi	% hidup dan mati
I	+++	Progresif	80%	SD	90%
II	+++	Progresif	80%	D	95%
III	+++	Progresif	90%	D	95%
IV	+++	Progresif	80%	SD	92%
V	+++	Progresif	85%	SD	89%
VI	+++	Progresif	80%	SD	91%

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Lampiran 3. Persentase motilitas spermatozoa setelah pemaparan sinar UV dan sebelum dibekukan

ULANGAN	PERLAKUAN			
	P0	P1	P2	P3
I	63%	55%	70%	70%
II	75%	58%	65%	65%
III	78%	65%	66%	73%
IV	75%	58%	72%	75%
V	64%	56%	68%	58%
VI	62%	55%	62%	56%
Rata-Rata	69,5	57,83	61,67	66,17

Lampiran 4. Persentase hidup spermatozoa setelah pemaparan sinar UV dan sebelum dibekukan

ULANGAN	PERLAKUAN			
	P0	P1	P2	P3
I	72%	57%	70%	80%
II	75%	63%	67%	70%
III	80%	65%	70%	78%
IV	78%	60%	75%	75%
V	70%	60%	72%	75%
VI	67%	55%	65%	70%
Rata-Rata	73,67	60	69,83	74,67

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Lampiran 5. Persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing*

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
I	40%	40%	55%	65%
II	65%	65%	50%	30%
III	60%	60%	40%	50%
IV	65%	40%	60%	60%
V	40%	30%	50%	40%
VI	40%	25%	45%	25%
Rata-Rata	51,67	43,33	50	45

Lampiran 6. Persentase hidup spermatozoa *post thawing*

Ulangan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
I	56%	52%	62%	72%
II	72%	75%	70%	45%
III	70%	70%	53%	61%
IV	75%	52%	70%	70%
V	54%	44%	65%	53%
VI	57%	42%	55%	45%
Rata-Rata	64	55,83	62,50	57,67

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Lampiran 7. Analisis Statistik Persentase Motilitas Spermatozoa *Post Thawing*

Oneway

Descriptives

Pengaruh sinar UV thd persentase motilitas spermatozoa stl pembekuan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	6	51.67	12.91	5.27	38.12	65.21	40	65
1	6	43.33	16.02	6.54	26.52	60.15	25	65
2	6	50.00	7.07	2.89	42.58	57.42	40	60
3	6	45.00	16.12	6.58	28.08	61.92	25	65
Total	24	47.50	13.10	2.68	41.97	53.03	25	65

ANOVA

Pengaruh sinar UV thd persentase motilitas spermatozoa stl pembekuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	283.333	3	94.444	.515	.677
Within Groups	3666.667	20	183.333		
Total	3950.000	23			

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Lampiran 8. Analisis Statistik Persentase Hidup Spermatozoa *post thawing*

Oneway

Descriptives

Pengaruh sinar UV thd persentase hidup spermatozoa setelah pembekuan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	6	64.00	9.32	3.80	54.22	73.78	54	75
1	6	55.83	13.63	5.56	41.53	70.14	42	75
2	6	62.50	7.29	2.97	54.85	70.15	53	70
3	6	57.67	11.93	4.87	45.15	70.18	45	72
Total	24	60.00	10.65	2.17	55.50	64.50	42	75

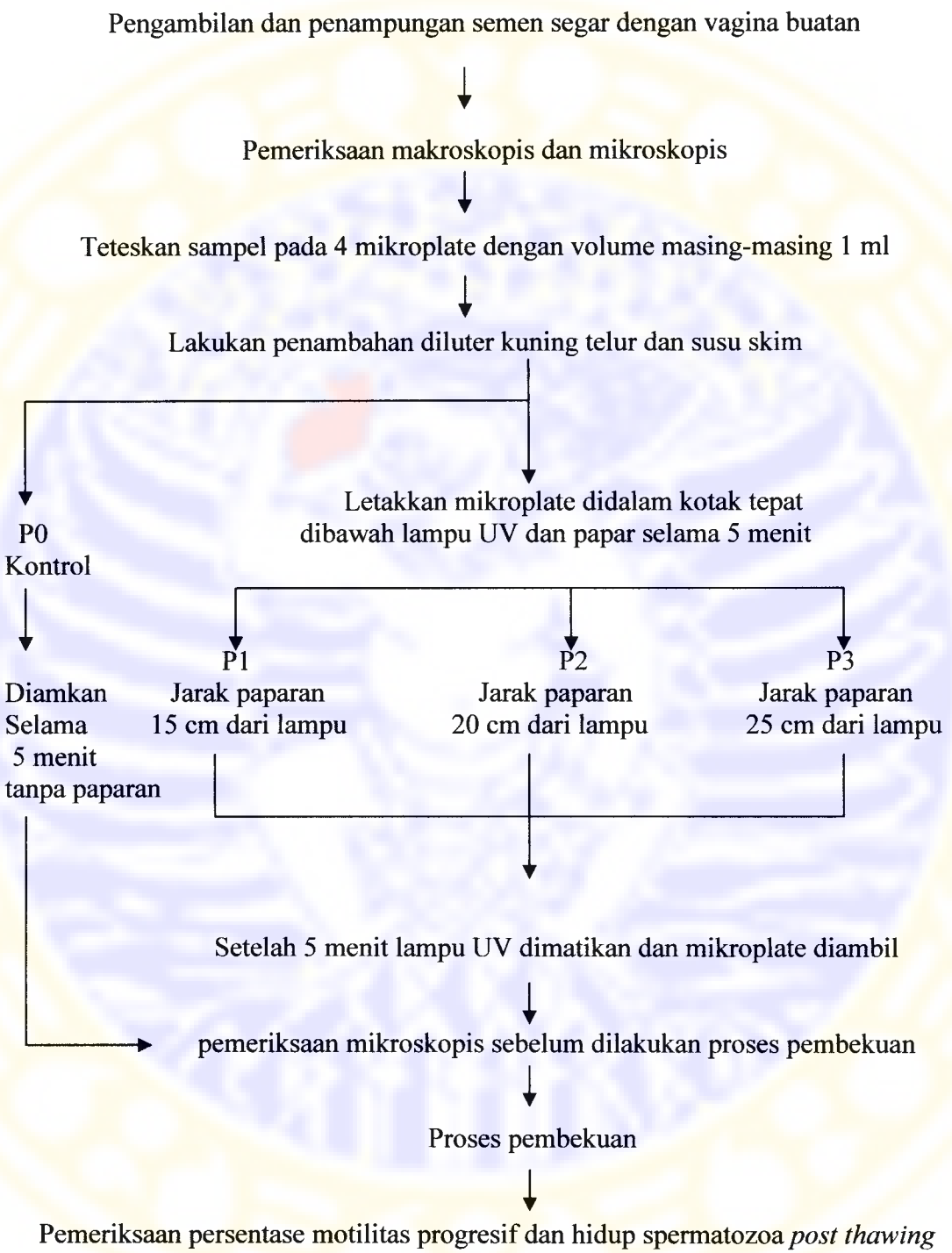
ANOVA

Pengaruh sinar UV thd persentase hidup spermatozoa setelah pembekuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	270.333	3	90.111	.770	.524
Within Groups	2339.667	20	116.983		
Total	2610.000	23			

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Lampiran 9. Skema Penelitian



ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Lampiran 10. Skema Proses Pembuatan Semen Beku

Semen hasil paparan sinar UV

↓ Pendinginan : memasukkan mikroplate yang berisi sampel + diluter ke dalam *cool top*, suhu *cooltop* diturunkan sampai 5 ºC (±1 Jam)

Gliserolisasi

↓ Penambahan gliserol (diluter B) dengan 4 tahap masing–masing tahap berselang waktu 15 menit (total 1 jam)

Equilibrasi

↓ Proses adaptasi spermatozoa terhadap pengencer (±1 – 4 jam) pada *cool top* 5 ºC

Filling&Sealing

↓ Pengemasan sampel ke dalam ministraw dilakukan dalam *cool top* 5 ºC

Prefreezing

↓ Straw yang telah dikemas, diatur dalam keranjang straw kemudian dimasukkan ke dalam uap Nitrogen cair (1 – 2 cm di atas Nitrogen cair) selama 9 – 14 menit

freezing

↓ Ministraw dipindahkan ke dalam kanister dan dimasukkan ke dalam Nitrogen cair

Pemeriksaan persentase motilitas progresif dan hidup spermatozoa *post thawing*

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Lampiran 11. Pemeriksaan Makroskopis Semen meliputi Pemeriksaan Volume, Warna, Bau, Konsistensi, dan pH

Cara pemeriksaan :

- Pemeriksaan volume :

  Pemeriksaan volume dilakukan dengan melihat skala angka yang terdapat pada tabung penampung. Volume yang dipancarkan oleh pejantan berbeda–beda tergantung umur, ras hewan, besar dan beratnya hewan, frekuensi penampungan, dan beberapa faktor lainnya.

- Pemeriksaan warna :

  Pemeriksaan warna semen dilakukan dengan melihat semen yang terdapat pada tabung penampung. Untuk pemeriksaan ini perlu mengetahui warna - warna normal dari semen setiap spesies hewan. Pada sapi warna semen normalnya berwarna putih sampai putih kekuning – kuningan, jika terdapat warna merah atau nanah berarti ada luka pada saluran semen pejantan atau radang.

- Pemeriksaan bau :

  Untuk mengetahui bau semen dilakukan dengan mencium tabung yang didalamnya terdapat semen.

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

- Pemeriksaan konsistensi :

  Konsistensi semen dapat diketahui dengan cara menggetar–getarkan tabung atau memiringkan sedikit tabung penampung kemudian ditegakkan kembali. Semen dikatakan pekat apabila terdapat bintik–bintik kecil yang bergerak–gerak, sedangkan dikatakan encer tidak nampak bintik–bintik pada dindimg tabung penampung semen.

- Pemeriksaan pH :

  Pemeriksaan dilakukan dengan cara memasukkan kertas indikator pH ke dalam tabung penampung berisi semen, derajat pH dapat dilihat dengan mencocokkan kertas pada tabel indikator.

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Lampiran 12. Pemeriksaan Mikroskopis Semen meliputi Pemeriksaan Konsentrasi, Gerakan Massa, Gerakan Individu, dan Persentase Hidup Spermatozoa

Cara pemeriksaan :

- Pemeriksaan konsentrasi :

  Pemeriksaan dilakukan dengan cara meneteskan sampel semen pada gelas obyek yang telah dibersihkan, kemudian diamati di bawah mikroskop pembesaran 400x.

  Penilaiannya :

  - D (Densum) : letak spermatozoa sangat rapat, jarak antara kepala spermatozoa satu dengan yang lainnya kurang dari panjang satu kepala spermatozoa, berarti terdapat ±1 juta spermatozoa dalam setiap ml semen.
  - SD (Semi Densum) : jarak antara kepala spermatozoa satu dengan yang lainnya lebih besar dari panjang satu kepala spermatozoa, berarti terdapat 200.000 – 1.000.000 spermatozoa dalam setiap ml semen.
  - R (Rarum) : jarak antara kepala spermatozoa satu dengan yang lain hampir sama dengan seluruh panjang satu spermatozoa, berarti terdapat < 200.000 spermatozoa dalam setiap ml smen.
  - A (Azospermia) : semen sangat encer atau dapat dikatakan sangat sedikit terdapat spermatozoa.

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

- Pemeriksaan gerakan massa :

  Pemeriksaan dilakukan dengan cara meneteskan sampel semen pada gelas obyek yang telah dibersihkan, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x.

  Penilaiannya :

  - O : tidak ada pergerakan spermatozoa maupun gerakan massa.
  - 1+ : gerakan massa spermatozoa lemah.
  - 2++ : gerakan massa spermatozoa berupa gelombang–gelombang tipis, jarang dan sedang.
  - 3+++ : gerakan massa spermatozoa berupa gelombang–gelombang tebal, gelap, dan berpindah–pindah tempat.
  - 4+++ : gerakan massa spermatozoa berupa gelombang–gelombang tebal, gelap dan sangat cepat.

- Pemeriksaan gerakan individu

  Pemeriksaan dilakukan dengan cara meneteskan sampel semen pada gelas obyek, kemudian ditutup dengan gelas penutup dan diamati dibawah mikroskop pembesaran 400x.

  Penilaiannya :

  - Progresif (P) : gerakan aktif dan maju kedepan.
  - O (V) : gerakan oscilatori atau gerakan berputar dan lamban.
  - C : gerakan sirkuler atau melingkar.

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

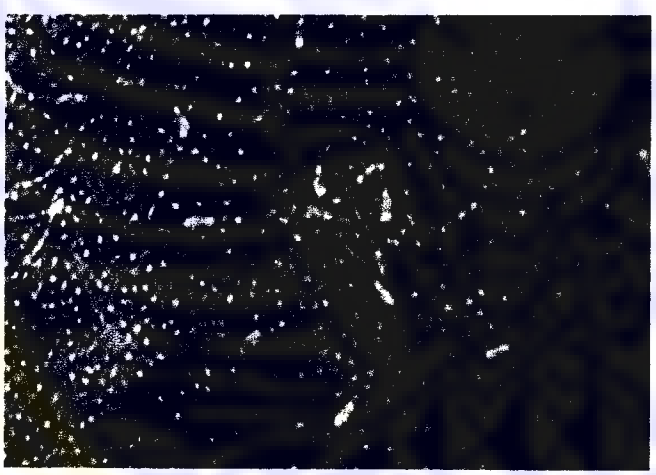
- R : gerakan reverse yaitu gerakan mundur ke belakang
- N : tidak ada pergerakan spermatozoa.

- Pemeriksaan persentase hidup spermatozoa

Pemeriksaan dilakukan dengan cara meneteskan sampel semen pada gelas obyek kemudian diteteskan beberapa tetes eosin negrosin dan buat preparat ulas, diamati di bawah mikroskop pembesaran 400x.

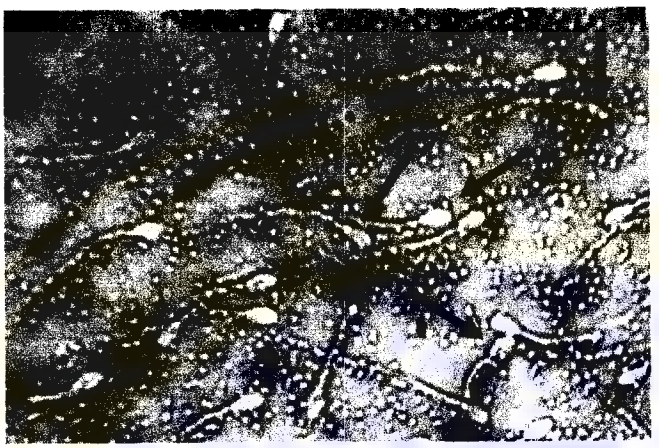
Spermatozoa dikatakan hidup apabila kepala spermatozoa tidak menyerap zat warna, sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah karena menyerap zat warna. Kemudian hitung persentase spermatozoa yang hidup 10x lapang pandang atau telah mencapai 100 spermatozoa.

Gambar 5. Gambar preparat ulas spermatozoa dengan pewarnaan eosin negrosin, pembesaran 400x, pada P0 : tanpa paparan sinar UV
Spermatozoa hidup ditunjukkan oleh panah berwarna ungu : kepala spermatozoa tidak terwarnai zat warna (putih)
Spermatozoa mati ditunjukkan oleh panah berwarna biru : kepala spermatozoa terwarnai zat warna (merah keunguan)

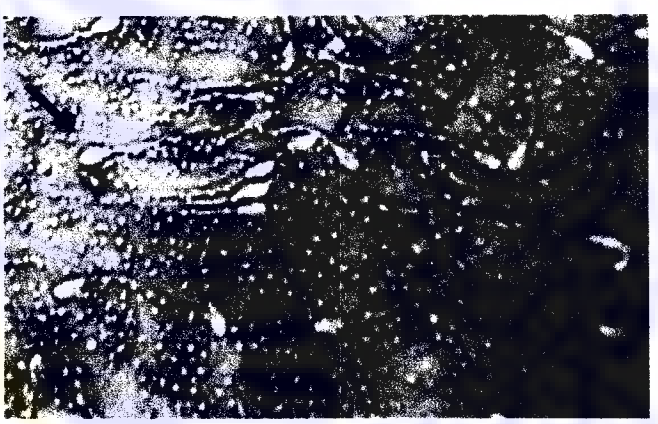


Gambar 6. Gambar preparat ulas spermatozoa dengan pewarnaan eosin negrosin, pembesaran 400x, pada P1 : jarak paparan 15 cm
Spermatozoa hidup ditunjukkan oleh panah berwarna ungu : kepala spermatozoa tidak terwarnai zat warna (putih)
Spermatozoa mati ditunjukkan oleh panah berwarna biru : kepala spermatozoa terwarnai zat warna (merah keunguan)

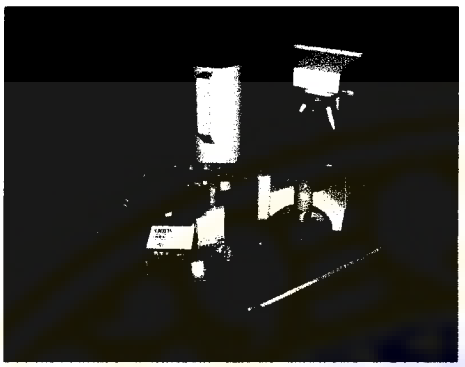
ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga



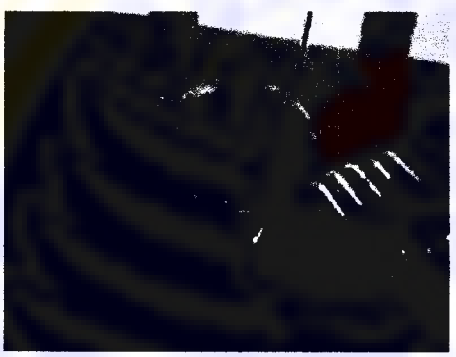
Gambar 7. Gambar preparat ulas spermatozoa dengan pewarnaan eosin negrosin, pembesaran 400x, pada P2 : jarak paparan 20 cm
Spermatozoa hidup ditunjukkan oleh panah berwarna ungu : kepala spermatozoa tidak terwarnai zat warna (putih)
Spermatozoa mati ditunjukkan oleh panah berwarna biru : kepala spermatozoa terwarnai zat warna (merah keunguan)



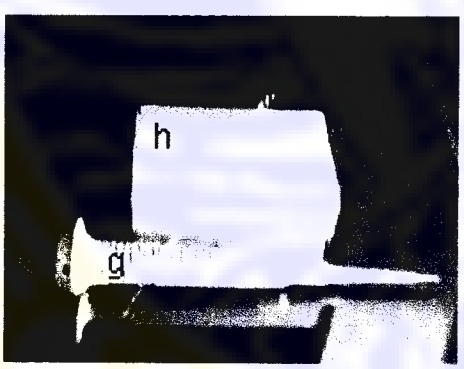
Gambar 8. Gambar preparat ulas spermatozoa dengan pewarnaan eosin negrosin, pembesaran 400x, pada P3 : jarak paparan 25 cm
Spermatozoa hidup ditunjukkan oleh panah berwarna ungu : kepala spermatozoa tidak terwarnai zat warna (putih)
Spermatozoa mati ditunjukkan oleh panah berwarna biru : kepala spermatozoa terwarnai zat warna (merah keunguan)



Peralatan penampungan dan pemeriksaan sampel



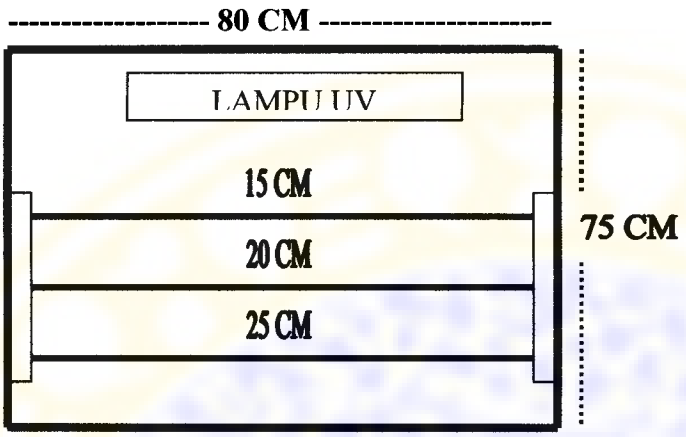
(a : gelas obyek, b : gelas penutup, c : korek api, d : api Bunsen,
e : mikroplate, f : tabung reaksi)



(g : pipet eppendorf, h : tip pipet, i : pipet Pasteur)

Gambar 9. Alat-alat yang digunakan

ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga



Gambar 10. Kotak penelitian

Gambar 11. Ruang pemrosesan semen beku

Gambar 12. Metode pengambilan sampel yaitu menggunakan vagina buatan