

SKRIPSI

**PENGARUH WAKTU PENCAIRAN KEMBALI MANI
BEKU SAPI FRIESIAN HOLSTEIN
TERHADAP KUALITASNYA**



O l e h :

NUR HARDINI
DENPASAR - BALI

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 0**

PENGARUH WAKTU PENCAIRAN KEMBALI MANI
BEKU SAPI FRIESIAN HOLSTEIN
TERHADAP KUALITASNYA

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Dokter Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

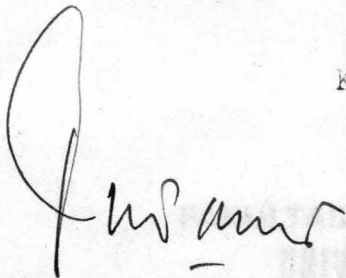
oleh

NUR HARDINI

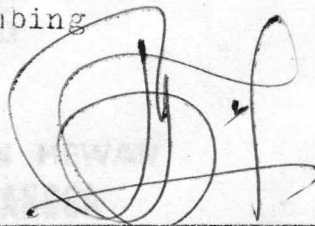
068410955

Oleh :

Menyetujui
Komisi Pembimbing



(Dr. Drh. Ismudiono, MS.)



(Drh. M. Hariadi, M.Phil.)

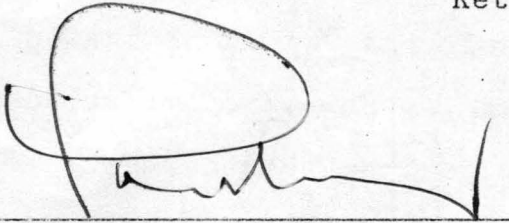
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar DOKTER HEWAN.

Menyetujui

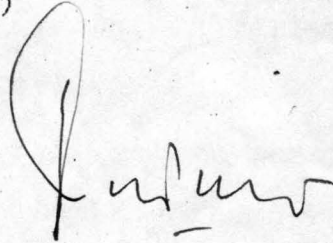
Panitia Penguji



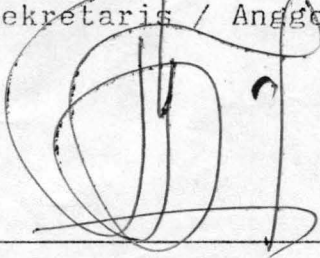
(Drh. Achmad Sadik)
Ketua



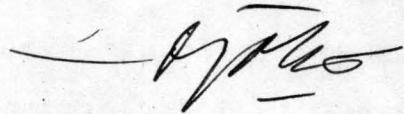
(Prof. Dr. Soehartojo H, M.Sc.)
Sekretaris / Anggota



(Dr. Drh. Ismudiono, MS.)
Anggota



(Drh. Mas'ud Hariadi, M. Phil.)
Anggota



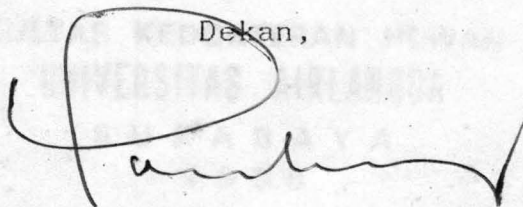
(Drh. Djoko Galiono, MS.)
Anggota

Surabaya, 15 September 1990

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



(Prof. Dr. Soehartojo H, M.Sc.)

PRAKATA

Salah satu pengawetan air mani untuk inseminasi buatan adalah dengan penyimpanan beku yang disebut mani beku atau frozen semen. Sekarang mani beku sudah dipergunakan secara luas, terutama pada ternak sapi dan hasilnya sudah dapat dirasakan oleh para peternak.

Penanganan mani beku dari sapi Friesian Holstein dengan selang waktu berbeda dilakukan pada penelitian ini dan hasilnya dituangkan dalam tulisan ini.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada Dr.Drh. Ismudiono, M.S. selaku pembimbing pertama dan Drh. Mas'ud Hariadi, M.Phil selaku pembimbing kedua atas saran dan bimbingannya. Demikian juga kepada Drh. Djaman Hedah selaku pimpinan Balai Inseminasi Buatan Singosari dan semua pihak yang telah membantu dalam penulisan naskah ini, atas bantuannya sangat dihargai.

Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi mereka yang memerlukannya. Demi kesempurnaan penulisan ini saran dan kritik penulis harapkan.

Surabaya, September 1990

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	5
Sejarah Semen Beku	5
Semen Beku Bentuk Straw	6
Kualitas Air Mani Beku	7
Kualitas Pejantan Sebagai Sumber Sel Mani.	8
Perlakuan dan Frekuensi Air Mani	8
Cara Penyimpanan Mani Beku Bentuk Straw ..	9
Cara Pencairan Kembali Mani Beku Bentuk Straw	10
Membedakan Spermatozoa Hidup terhadap Sperma- tosoa Mati dengan Pewarnaan	12
MATERI DAN METODE	13
Materi Penelitian	13
Metode Penelitian	13
Pembuatan Mani Beku	13
Pemeriksaan Spermatozoa Hidup dan Spermato- zoa Bergerak Progresif	16
Rancangan Percobaan dan Analisa Data	17
HASIL DAN PEMBAHASAN	18
KESIMPULAN	24
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	29

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Rataan Persentase Spermatozoa Hidup dan Spermatozoa Bergerak Progresif Setelah Pencairan Kembali (Persen \pm SD)	19

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Pengenceran Air Mani	30
2.	Pengencer Tris Kuning Telur	32
3.	Persentase Spermatozoa Hidup pada Mani Beku Sapi Friesian Holstein Setelah Pencairan Kembali dengan Selang Waktu yang Berbeda dalam Air Sumur	34
4.	Hasil Transformasi $\text{Arcsin}\sqrt{\%}$ dari Persentase Spermatozoa Hidup Setelah Pencairan Kembali dengan Selang Waktu yang Berbeda dalam Air Sumur	35
5.	Persentase Spermatozoa Bergerak Progresif pada Mani Beku Sapi Friesian Holstein Setelah Pencairan Kembali dengan Selang Waktu yang Berbeda	37
6.	Uji Kruskal Wallis	38
7.	Analisis Regresi Spermatozoa Hidup	40
8.	Analisis Regresi Spermatozoa Bergerak Progresif	42

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Grafik Hasil Persentase Spermatozoa Hidup dan Spermatozoa Bergerak Progresif Setelah Pencairan Kembali Mani Beku Sapi Friesian Holstein	20

BAB I

PENDAHULUAN

Latar Belakang Penelitian

Untuk memenuhi kebutuhan akan protein hewani, pemerintah telah mengembangkan peternakan rakyat dalam realisasi proyek-proyek seperti : Bimas, Banpres yang kesemuanya menyusup ke pedesaan. Selain itu untuk meningkatkan produktifitas ternak telah dikeluarkan tiga program kebijaksanaan yaitu : penggalakkan program inseminasi buatan, pengendalian pemotongan hewan betina produktif dan pemberantasan kemajiran.

Metode inseminasi buatan sebenarnya sederhana saja , segera setelah sapi betina menunjukkan tanda-tanda birahi inseminator akan menyuntikkan mani beku dari sapi jantan unggul dengan laras inseminasi (insemination gun). Manfaat yang diperoleh dari pelaksanaan program inseminasi buatan ini adalah peningkatan pemakaian pejantan berkualitas baik, peningkatan mutu genetik yang lebih cepat dengan daya reproduksi yang tinggi dari turunannya, biaya lebih murah bila dibandingkan dengan kawin alam, mengurangi kemungkinan penyebaran penyakit kelamin seperti Brucellosis, Trichomoniasis, Vibriosis dan sebagainya. Manfaat lain adalah terjadinya hubungan yang baik antara peternak dengan petugas IB sehingga kejadian penyakit menular disuatu tempat dapat segera diketahui dan pemberantasan lebih cepat dapat segera dilakukan.

Selain itu dimungkinkan merangsang peternak untuk membuat catatan sendiri tentang keadaan sapiunya dan dengan tehnik IB ini dimungkinkan penggunaan pejantan berkualitas tinggi yang tidak dapat melakukan perkawinan secara alam (Arthur, 1975; Hardjopranjoto, 1976; Sorensen, 1979; Toelihere, 1981).

Menurut data suatu penelitian menunjukkan, keberhasilan inseminasi buatan yang diukur dari banyaknya perkawinan per kebuntingan (service per conception) di Indonesia masih berada sekitar angka 2,5 artinya diperlukan rata-rata dua setengah kali inseminasi untuk terjadinya satu kebuntingan. Sedangkan menurut standar di negara maju seharusnya 1,68 yang berarti kurang dari dua kali inseminasi untuk terjadi satu kebuntingan (Anonymous, 1988). Beberapa kendala yang menyebabkan terjadinya angka service per conception di Indonesia adalah kesalahan tata cara inseminasi dalam program inseminasi buatan. Tata cara yang dimaksud diantaranya adalah waktu pencairan kembali (thawing) yang terlalu lama dan selang waktu antara pencairan kembali mani beku dengan saat inseminasi yang terlalu lama, sehingga kurva peningkatan suhu air mani tidak konstan. Kesalahan yang lainnya adalah tehnik dan waktu inseminasi yang tidak tepat sehingga penumpahan (deposisi) air mani tidak sempurna dan laras inseminasi melukai saluran alat kelamin (Muljo, 1978, Toelihere, 1985).

Masalah yang banyak membelit peternak Sapi perah rakyat, memang tidak hanya bersumber dari peternak itu sendiri. Peternak sering kali telah mengetahui saat-saat birahi dan tanda-tanda birahi seperti alat kelamin bengkak, merah dan hangat serta mengeluarkan lendir jernih dari alat kelamin. Kesalahan terhadap sering dilakukan oleh para inseminator di lapangan.^x Keterlambatan melakukan inseminasi, terutama bila yang harus ditempuh cukup jauh dengan sarana yang terbatas serta telekomunikasi yang belum berkembang baik terutama di pedesaan sehingga tidak memungkinkan dibawahnya kontainer nitrogen ke kandang tempat inseminasi. Sebagai gantinya mani beku dicairkan kembali (thawing) ditempat straw disimpan (KUD / pos inseminasi) dan dibawa dalam thermos, ditempuh waktu beberapa jam sebelum diinseminasikan ke hewan betina. Hal ini memperpanjang jarak waktu antara thawing dan inseminasi sehingga dapat menurunkan fertilitas air mani.

Usaha dalam mengatasi persoalan tersebut telah dicoba dengan pemakaian bejana atau thermos kecil berisi nitrogen cair dalam jumlah sedikit kemudian ditempatkan satu atau dua straw mani beku untuk dibawa ke lapangan. Akan tetapi cara ini merupakan suatu pemborosan nitrogen cair yang mahal dan cepat menguap. Namun hal ini bukan hanya kesalahan petugas lapangan, keterbatasan dana, tenaga lapangan yang kurang baik dari segi kualitas dan

kuantitas, transfer teknologi yang tersendat, sarana infrastruktur yang kurang memadai juga mempengaruhi perkembangan sapi perah di Indonesia.

Permasalahan

Berdasar latar belakang permasalahan di atas, maka perlu dicari selang waktu antara pencairan kembali dengan menggunakan air sumur dan saat inseminasi dimana persentase sel mani hidup masih mencapai syarat minimal dari mutu air mani yang dipakai dalam inseminasi buatan.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pencairan kembali mani beku dengan menggunakan air sumur dari sapi Frisian Holstein terhadap kualitasnya.

Manfaat

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diketahui selang waktu antara pencairan kembali dengan menggunakan air sumur dan saat inseminasi, yang masih dapat memberikan kualitas air mani yang baik apabila dipakai untuk inseminasi buatan.

Hipotesis

Pada perlakuan ini hipotesis yang diajukan adalah perlakuan pencairan kembali (thawing) mani beku berpengaruh terhadap kualitas air mani.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Sejarah Semen Beku

Mani beku atau frozen semen adalah air mani yang disimpan pada suhu dibawah titik beku antara - 79 sampai - 196 ° Celcius (Hardjopranjoto, 1976).

Sebenarnya pengetahuan tentang pengawetan air mani dengan pembekuan telah diketemukan pada tahun 1803 oleh seorang fisiolog Italia, Lazaro Spallanzani. Selanjutnya pada tahun 1887, Davenport juga melakukan percobaan yang sama yang mengemukakan bahwa sel mani manusia tetap hidup pada pendinginan - 17 ° Celcius. Penelitian tersebut dilanjutkan oleh beberapa peneliti dari berbagai negara seperti Jahnel (1938), Shettles (1940), Shaffner (1941), Hoagland dan Pincus (1942) serta Parkes (1945) (Toelihere, 1985; Hardjopranjoto, 1976).

Pada tahun 1949, tiga peneliti Inggris yaitu Polge, Smith dan Parkes menemukan bahan penambahan gliserol dalam pengencer air mani yang dapat mempertahankan kehidupan spermatozoa ayam dan manusia pada suhu - 79 ° Celcius untuk waktu yang lama. Steward (1951) melaporkan anak sapi pertama yang lahir dari inseminasi buatan dengan memakai mani beku (Toelihere, 1985).

Di Indonesia, pada permulaan tahun 1973 sebelum Balai Inseminasi Buatan yang didirikan di Lembang

selesai dibangun, mani beku di impor dari berbagai negara yang telah maju industri peternakannya yaitu Inggris, Australia, Amerika Serikat dan Selandia Baru (Partodihardjo, 1979). Pembuatan mani beku di dalam negeri dilakukan pertama kali pada bulan Desember 1974 di Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Dapat dikatakan bahwa sejak tahun 1974 hampir semua inseminasi pada sapi di Indonesia dilakukan dengan menggunakan mani beku.

Semen Beku Bentuk Straw

Menurut Pickett dan Berndtson (1974), plastik jerami atau straw diperkenalkan pertama kali oleh Sorensen pada tahun 1940 untuk pengepakan air mani cair dengan menggunakan kapas tak serap sebagai penutup ujung jerami yang kemudian diperbaiki oleh Cassou pada tahun 1950 dengan memakai polivinil alkohol sebagai penutupnya. Kemudian Perez et al. (1953) membekukan air mani dalam jerami selulosa astat dan dimasukkan ke dalam kantong-kantong plastik kemudian dibekukan dengan es kering dan cairan alkohol (Hardjopranjoto, 1976).

Untuk pengemasan mani beku, pada umumnya digunakan straw yang berasal dari Perancis dan telah ditetapkan dengan kapasitas : 0,25 ml; 0,5 ml dan 1,2 ml yang terbuat dari polivinil klorida dengan panjang 135 mm dan diameternya berturut-turut adalah 2,0 mm; 2,8 mm; 4,2mm.

Salah satu sisi ditutup polivinil alkohol di antara dua penutup kapas (penutup oleh pabrik), sedang sebelah sisi lain ditutup di laboratorium setelah diisi dengan air mani.

Menurut Adler et al., (1960) dan Goffaux et al., (1968) yang disimpulkan oleh Muljo (1978) mani beku dalam bentuk straw lebih tinggi tingkat kesuburannya dibanding dengan mani beku dalam bentuk pellet.

Mani beku kemasan straw mempunyai kebaikan-kebaikan antara lain : Biaya yang lebih murah, lebih tahan terhadap perubahan fisik dan kimiawi dalam pembekuan sampai pada suhu yang sangat rendah, straw dapat diberi warna dan dapat dicetak dengan data mani secara lengkap dan tidak terhapus selain itu penutupan dapat dijamin kerapatannya, kecepatan pendinginan merata ke semua bagian, penyimpanan lebih baik dan efisien, proses pembuatannya lebih mudah serta kemungkinan terkontaminasi virus dalam penyimpanan tidak ada (Hardjopranjoto, 1976; Muljo, 1978).

Kualitas Air Mani Beku

Beberapa faktor yang mempengaruhi kualitas air mani beku adalah kualitas pejantan sebagai penghasil air mani, cara penyimpanan serta cara pencairan kembali (thawing) mani beku di lapangan, perlakuan dan frekuensi pengambilan air mani (Muljo, 1978).

Jumlah sel mani hidup dalam straw dapat dikatakan baik ,

apabila setelah dilakukan thawing mempunyai konsentrasi minimal 10 sampai 12 juta (Hardjopranjoto, 1976).

Kualitas Pejantan Sebagai Sumber Air Mani

Produksi dan kualitas air mani seekor pejantan sangat dipengaruhi oleh mutu genetik dan kondisi lingkungannya. Lingkungan yang sesuai akan memberi produksi yang optimum. Foote (1980) mengatakan bahwa karakteristik dari air mani juga dipengaruhi oleh umur, ukuran tubuh dan bangsa ternak. Laing (1979) menyatakan bahwa berdasarkan sifat air mani yang dihasilkan, kesuburan pejantan dibagi menjadi tiga golongan yaitu mempunyai tingkat kesuburan tinggi bila jumlah, motilitas dan morfologi dari sel mani adalah normal, mempunyai tingkat kesuburan rendah bila jumlah serta motilitas sel mani kurang dari normal dan steril bila semua sel mani yang dihasilkan mempunyai bentuk yang abnormal serta tidak mempunyai daya hidup.

Semakin tinggi tingkat kesuburan pejantan akan semakin baik kualitas air mani yang dihasilkan sehingga semakin baik pula mani beku dalam straw setelah pengolahan. Demikian pula sebaliknya semakin rendah tingkat kesuburan pejantan akan semakin rendah kualitas air mani dan mani beku dalam straw yang dihasilkan.

Perlakuan dan Frekuensi Pengambilan Air Mani

Perlakuan yang kasar pada sapi pejantan, menurut Perry (1968) dan Toelihere (1981) dapat menurunkan volume

air mani. Hal ini karena adanya mekanisme hormonal, di mana perlakuan kasar dapat meningkatkan hormon adrenalin dalam peredaran darah hewan jantan sehingga menghambat pancaran air mani dan menurunkan kualitas dan kuantitas air mani.

Selanjutnya dijelaskan pengambilan air mani yang terlalu sering dapat mengakibatkan penurunan terhadap libido, volume dan jumlah sel mani. Hal ini sesuai dengan pendapat Graham yang dikutip oleh Dukelow et al., (1960) yang melaporkan bahwa penambahan frekuensi pengambilan air mani dua kali menjadi empat kali pancaran air mani tiap minggu dapat menurunkan volume dan konsentrasi sel mani tiap pancaran, walaupun volume dan konsentrasi sel mani tiap satuan waktu bertambah.

Menurut Hardjopranjoto (1976), air mani yang dikumpulkan dua kali seminggu dengan masing-masing pengumpulan dua kali pancaran air mani, akan menghasilkan air mani yang berkualitas cukup baik dan pengumpulan yang terlalu jarang mengakibatkan banyak sel mani mempunyai bentuk yang abnormal. Perlakuan dan cara pengambilan yang tidak benar akan menurunkan kualitas air mani, sehingga tingkat kesuburan sel mani dalam straw yang dihasilkan rendah.

Cara Penyimpanan Mani Beku Bentuk Straw

Mani beku mempunyai sifat yang sangat labil yaitu kualitasnya sangat mudah menurun apabila penanganan tidak

dilakukan dengan baik. Dalam penanganan mani beku disamping mani bekunya sendiri juga perlu diperhatikan sarana lain yang berkaitan terutama nitrogen cair dan container.

Untuk penyimpanan mani beku dalam kemasan straw diperlukan beberapa peralatan seperti silinder plastik pendek (goblet) yang diletakkan dalam canister dan disimpan dalam kontainer berisi nitrogen cair. Nitrogen cair temperatur -196° Celcius digunakan sebagai media pembekuan dan penyimpanan mani beku. Guna mempertahankan kualitas mani beku, maka permukaan nitrogen cair dalam kontainer harus selalu menutupi mani beku. Jumlah nitrogen cair yang sangat kurang akan mengakibatkan suhu dalam kontainer yang diperlukan untuk menjaga daya tahan sel mani dalam straw tidak sesuai, sehingga banyak sel mani yang mati. Demikian pula pemindahan straw dari tempat penyimpanan yang kurang cepat, mutu kontainer yang kurang baik dan terlalu sering dibuka akan mengurangi jumlah sel mani yang hidup (Muljo, 1978; Toelihere, 1985).

Cara Pencairan Kembali Mani Beku Bentuk Straw

Pencairan kembali (thawing) mani beku dalam kemasan straw merupakan saat kritis yang menentukan kualitas air mani tersebut, sehingga cara pencairan kembali straw di lapangan yang tidak benar mengakibatkan air mani yang dicairkan kembali menjadi menurun (Ennen et al, 1976; Salisbury dan Van deMark, 1978; Muljo, 1981).

Oleh karena mani beku yang sudah dicairkan kembali tidak dapat dibekukan lagi dan merupakan barang rapuh serta tidak tahan hidup lama maka untuk menjamin fertilitas yang tinggi mani beku yang sudah dithawing harus segera digunakan untuk inseminasi (Foote, 1980; Toelihere, 1985).

Menurut Rickett dan Berndtson (1974), sebaiknya straw dicairkan kembali secara cepat untuk mencegah panas yang berlebihan.

Menurut Hafez dan Elliot (1954), thawing yang dilakukan pada air bersuhu 38° sampai 40° Celcius menghasilkan daya tahan hidup sperma yang lebih baik bila dibandingkan dengan pada suhu yang lebih rendah. Peneliti lain yaitu Brugman *et al.*, (1988); O'Dell dan Almquist (1954) yang dikutip oleh Toelihere (1985), bahwa tidak terdapat perbedaan antara daya tahan hidup sperma yang dicairkan kembali pada air bersuhu 38° sampai 40° celcius dengan yang dicairkan kembali pada air bersuhu 5° Celcius. Di Balai Inseminasi Buatan Ungaran, Jawa Tengah, thawing semen beku dengan menggunakan air kran dikatakan memberi hasil yang lebih memuaskan daripada thawing memakai air es, namun tidak disebutkan berapa lama jarak waktu antara thawing dan inseminasi. Tetapi menurut Sanjaya (1976) yang dikutip oleh Toelihere (1985), bahwa metode thawing yang mungkin paling praktis adalah thawing di dalam air kran dalam waktu kurang dari lima menit.

Membedakan Spermatozoa Hidup terhadap Spermatozoa Mati dengan Pewarnaan

Hasil Penelitian dari Lasley, Easley dan Mc Kenzi (1942) yang dikutip oleh Salisbury (1978) mengatakan bahwa zat warna tertentu dapat membedakan antar spermatozoa hidup dengan yang mati. Zat warna khusus yang dapat mewarnai spermatozoa mati adalah eosin. Eosin merupakan pewarna sel yang paling baik untuk dipergunakan dalam prosedur pengecatan.

Perbedaan afinitas terhadap zat warna eosin antara membran sel yang hidup dan yang mati dipergunakan untuk menghitung jumlah spermatozoa hidup. Pada saat air mani segar dicampur dengan zat warna eosin spermatozoa hidup tidak menghisap zat warna, sedang spermatozoa yang mati akan menghisap warna karena permeabilitas dinding spermatozoa meningkat. Kepala spermatozoa menjadi merah atau merah muda tetapi spermatozoa yang hidup tetap tidak terwarnai (Bearden dan Fuquay, 1980).

BAB III

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Singosari dari tanggal 25 September sampai 14 Oktober 1989.

Alat-alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari vagina buatan dengan selongsong karet dan tabung penampung berskala, beker gelas, erlenmeyer, pipet berskala 10 cc, pH meter, alat Blom, gelas obyek, gelas penutup, alat penghitung, pembakar spiritus, termometer, gunting straw, kertas tissue serta container. *termometer*

Bahan

termometer
Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari air mani dari seekor sapi Friesian Holstein sebagai bahan baku frozen semen, vaselin untuk pelicin vagina buatan, bahan pengencer Tris kuning telur untuk pengenceran, Eosin-Negrosin sebagai bahan pewarnaan, mini straw untuk wadah (tempat) air mani dan nitrogen untuk bahan pembeku straw.

Pembuatan Mani Beku

Pembuatan mani beku meliputi beberapa tahap yaitu :

a. Penampungan air mani

Pengumpulan air mani dilakukan dengan memakai vagina buatan yang sudah diberi pelicin, suhu bagian dalam 45 sampai 50 Celcius dan gelas penampung air mani berskala 1 sampai 10 ml.

b. Pemeriksaan air mani

Pemeriksaan meliputi pemeriksaan mikroskopis dan makroskopis. Pemeriksaan mikroskopis terdiri dari pemeriksaan gerak massa, gerak individu, jumlah spermatozoa hidup, konsentrasi spermatozoa. Pemeriksaan makroskopis meliputi pemeriksaan volume, konsentrasi, warna, bau dan derajat keasaman air mani.

c. Pengenceran air mani

Bahan pengencer yang digunakan adalah Tris kuning telur. Besarnya pengenceran ditentukan dengan spektromik. Setelah pengenceran dilakukan pemeriksaan gerakan individu dan spermatozoa hidup.

d. Pengisian straw

Pengisian straw dengan air mani dilakukan satu jam setelah air mani diencerkan dengan sempurna kemudian straw ditutup.

e. Penyusunan straw di atas rak

Penyusunan straw di atas rak khusus yang diatur

sedemikian rupa yang memungkinkan suhu merata di setiap bagian straw.

f. Ekuilibrasi

Ekuilibrasi adalah suatu proses untuk memperkenankan sel mani mengadakan keseimbangan dengan bahan pengencer yang telah ditambah gliserol. Proses ini dilakukan pada suhu tiga sampai lima derajat Celcius selama tiga jam.

g. Pembekuan awal

Pada tahap ini rak yang berisi straw ditempatkan dalam uap nitrogen cair di dalam kontainer pada suhu -140° Celcius selama sembilan jam.

h. Pembekuan

Pembekuan dilakukan dengan cara memindahkan straw dari rak ke dalam goblet dan langsung dimasukkan ke dalam nitrogen cair yang bersuhu -196° Celcius.

i. Penyimpanan

Penyimpanan straw dilakukan dengan cara menempatkan di dalam goblet kemudian dimasukkan ke dalam canister dan disimpan dalam kontainer berisi nitrogen cair yang bersuhu -196° Celcius selama dua hari.

j. Pencairan kembali

Pencairan kembali mani beku kemasan straw dilakukan dua hari setelah penyimpanan. Terlebih dahulu disiapkan

straw dalam kontainer dan empat buah beker gelas berisi air sumur yang masing-masing telah diberi label nomor satu sampai empat. Pencairan kembali dilakukan dengan pengambilan sebuah straw dari kontainer dengan menggunakan pinset kemudian dimasukkan dengan cepat ke beker gelas. Lama thawing dihitung sejak straw dimasukkan ke dalam beker gelas berisi air sumur sampai dengan diambil kembali. Selanjutnya straw diangkat dan dikeringkan dengan kertas tissue, kemudian straw dibuka dengan gunting straw. Mani beku tersebut sebagian diperiksa gerak individunya dan sebagian dibuat preparat ulas untuk menentukan jumlah spermatozoa hidup. Tiap-tiap beker gelas dimasukkan sebuah straw dengan penghitungan waktu untuk beker gelas nomor satu selama 1 menit, beker gelas nomor dua, tiga dan empat masing-masing 30, 60 dan 90 menit. Penelitian dilakukan dengan 15 kali ulangan.

Pemeriksaan Spermatozoa Hidup dan Spermatozoa Bergerak Progresif

Pemeriksaan gerakan individu digunakan alat Blom dan diperiksa di bawah mikroskop pembesaran 450 kali. Penilaian persentase gerak progresif dengan menaksir jumlah spermatozoa yang bergerak progresif.

Persentase spermatozoa hidup dan mati ditentukan dari pewarnaan Eosin-Negrosin. Pada gelas obyek yang bersih ditetaskan satu tetes zat warna serta satu tetes air mani

lalu keduanya dicampur secara merata dengan menggunakan ose steril, kemudian dengan gelas penutup dibuat preparat ulas dan segera secepatnya dikeringkan di atas nyala api pembakar spiritus. Pekerjaan membuat preparat ulas dilakukan secepat mungkin. Hasil ulasan tersebut diperiksa dengan mikroskop pembesaran 450 kali. Penghitungan jumlah persentase spermatozoa dilakukan sebanyak dua kali 100 sel mani untuk setiap pemeriksaan.

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Untuk data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan spermatozoa hidup, dalam persen ditransformasikan bentuk $\text{Arcsin} \sqrt{\text{persen}}$. Selanjutnya untuk mengetahui ada perbedaan pada perlakuan digunakan uji beda nyata terkecil (Steel and Torrie, 1980). Data yang didapat dari hasil pemeriksaan spermatozoa bergerak progresif digunakan uji Kruskal Wallis dan apabila terdapat perbedaan pada perlakuan dilanjutkan dengan uji pasangan berbeda (Covner, 1980). Selain itu digunakan analisis regresi bentuk menyatakan hubungan antara variabel yang dinyatakan dalam bentuk persamaan matematik (Sudjana, 1984).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, dilakukan pemeriksaan kualitas dan kuantitas air mani dari satu ejakulasi sapi Friesian Holstein sebelum proses pembuatan mani beku. Pemeriksaan meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Hasil pemeriksaan tersebut adalah volume 5 cc, pH 6,6, warna putih kekuningan, bau khas normal, konsistensi kental, gerak massa ✓, gerak individu progresif, spermatozoa hidup 85,5 persen dan konsentrasi 1.205 juta / ml.

Dari hasil pemeriksaan kualitas dan kuantitas air mani tersebut dapat dinyatakan bahwa air mani sapi Friesian Holstein yang digunakan untuk pembuatan mani beku dalam batas normal dan dapat diproses menjadi mani beku. Hal ini sesuai dengan syarat minimal dari mutu air mani sapi yang dapat diproses menjadi mani beku adalah mempunyai volume 5 sampai 10 cc (Foote, 1980), pH 6 - 6,9, konsistensi kental dan warna putih agak kekuningan (Sallisbury *et al.*, 1978), persentase spermatozoa hidup 70 % (Lindsay *et al.*, 1982), konsentrasi spermatozoa 1000 sampai 2000 juta per ml, jumlah spermatozoa normal 70 sampai 95 persen (Cole and Cupps, 1977) serta gerak progresif 50 sampai 75 persen (Foote, 1980, Toelihere, 1985).

Setelah pengenceran air mani dengan menggunakan larutan Tris kuning telur menunjukkan persentase spermatozoa

hidup 78,5 persen dan sel yang bergerak progresif 65 persen. Dari hasil angka di atas dinilai masih memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut menjadi mani beku. Air mani sapi yang akan dibekukan, setelah proses pengenceran minimal mempunyai 50 persen spermatozoa hidup dan bergerak progresif (Anonymous, 1987).

Dalam penelitian ini untuk mencairkan kembali mani beku digunakan air sumur (30° Celcius), agar lebih mendekati pelaksanaan inseminasi buatan di lapangan.

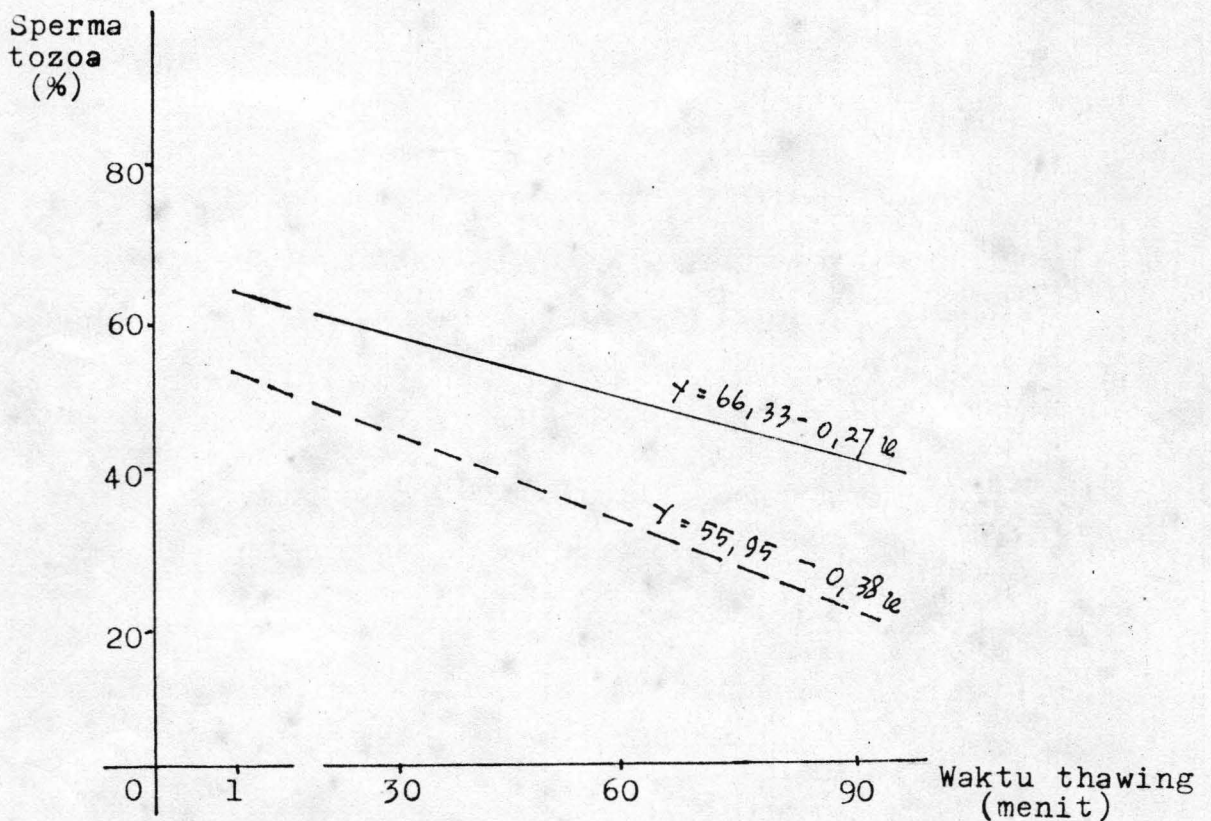
Pada proses pencairan kembali diperoleh hasil rata-rata persentase spermatozoa hidup dan spermatozoa yang bergerak progresif untuk perlakuan waktu seperti terlihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Rataan Persentase Spermatozoa Hidup dan Spermatozoa Bergerak Progresif Setelah Pencairan Kembali (Persen \pm SD)

Lama perlakuan (menit)	Spermatozoa	
	Gerak Progresif ($\bar{x} \pm SD$)	Daya hidup ($\bar{x} \pm SD$)
1	53,66 \pm 2,3	65,26 \pm 1,9
30	40,96 \pm 3,2	58,60 \pm 2,7
60	32,00 \pm 2,5	51,36 \pm 3,2
90	23,00 \pm 2,5	41,30 \pm 1,9

Angka-angka pada tabel tersebut, memperlihatkan spermatozoa yang bergerak progresif setelah pencairan kembali dengan selang waktu 1, 30, 60 dan 90 menit masing-masing

menunjukkan $53,66 \pm 2,3$; $40,96 \pm 3,2$; $32,00 \pm 2,5$ dan $23,00 \pm 2,5$ persen. Untuk persentase spermatozoa hidup dari keempat perlakuan, masing-masing $65,26 \pm 1,9$; $58,60 \pm 2,7$; $51,36 \pm 3,2$ dan $41,30 \pm 1,9$ persen. Angka-angka pada lampiran 3 dan 5 dapat ditunjukkan dengan grafik di bawah ini



Grafik 1. Grafik Persentase Spermatozoa Hidup dan Spermatozoa Bergerak Progresif Setelah Pencairan Kembali Mani Beku Sapi Friesian Holstein

Keterangan : ————— Spermatozoa Hidup
 - - - - - Spermatozoa Bergerak Progresif

Dari grafik tersebut, terlihat bahwa semakin lama masa thawing akan menyebabkan penurunan daya hidup maupun gerak progresif spermatozoa.

Setelah dilakukan analisa statistik dengan menggunakan analisa varian terhadap jumlah spermatozoa hidup dan spermatozoa yang bergerak progresif dan kemudian dilanjutkan dengan pengujian beda nyata, ternyata didapatkan hasil bahwa pencairan kembali mani beku berpengaruh sangat nyata terhadap kualitas air mani ($p < 0,01$), dan perlakuan thawing selama 1 menit berbeda sangat nyata dengan thawing selama 30, 60 serta 90 menit. Pencairan kembali dengan selang waktu 30 menit berbeda sangat nyata dengan pencairan kembali selama 60 dan 90 menit. Demikian pula terdapat perbedaan yang sangat nyata antara pencairan selama 60 menit dengan pencairan selama 90 menit. Terdapat korelasi negatif antara spermatozoa hidup dan spermatozoa bergerak progresif dengan waktu thawing yang menyatakan harga x yang besar menyebabkan atau berpasangan dengan y yang kecil, kemudian dibuat persamaan regresi sehingga apabila waktu thawing diketahui maka kita bisa memperkirakan persentase spermatozoa hidup atau spermatozoa bergerak progresif.

Dari hasil yang diperoleh, dapat dilihat bahwa terjadi penurunan persentase daya hidup spermatozoa maupun

gerak progresif spermatozoa dengan bertambahnya lama selang waktu pencairan kembali mani beku. Menurut Saacke dan White (1972) thawing secara lambat akan menurunkan daya spermatozoa dalam mempertahankan acrosomnya, berarti pula menurunkan kapasitas pembuahannya. Pernyataan di atas diperkuat oleh Wiggin dan Almquist (1975) yang menyatakan bahwa bertambahnya waktu setelah pencairan kembali akan menurunkan persentase motilitas dan acrosom yang utuh spermatozoa.

Penyimpanan spermatozoa dalam bentuk mani beku adalah untuk menghambat dan gerakan spermatozoa yang kemudian dapat dipulihkan kembali dengan dicairkannya kembali.

Pada pencairan kembali yang dilakukan dengan selang waktu 90 menit memberikan hasil rata-rata persentase spermatozoa hidup dan bergerak progresif paling rendah. Hal ini disebabkan oleh waktu pencairan kembali (thawing) yang terlalu lama sehingga terjadi perubahan pH akibat aktifitas spermatozoa yang merupakan bahan racun bagi spermatozoa itu sendiri. Hal ini sesuai dengan suatu pernyataan bahwa lamanya pencairan kembali dapat meningkatkan jumlah kematian spermatozoa akibat peningkatan asam laktat yang dihasilkan dari proses metabolismenya, sehingga pH media menurun (Hardjopranjoto, 1976). Sedangkan media yang pH nya rendah (asam) menyebabkan hambatan aktifitas fruktolisis sehingga menyebabkan kematian spermatozoa yang meningkat (Salisbury dan Van deMark, 1978). Dimana pada

keadaan anaerobik fruktosa digunakan sebagai sumber utama untuk memperoleh energi (Garner dan Hafez, 1980).

Pencairan kembali mani beku dengan selang waktu 1 dan 30 menit menghasilkan persentase spermatozoa hidup dan spermatozoa bergerak progresif lebih dari 40 persen. Sedangkan untuk pencairan kembali dengan selang waktu 60 dan 90 menit memberikan nilai persentase spermatozoa hidup dan bergerak progresif kurang dari 40 persen. Menurut Hedah (1989) batas minimal persentase spermatozoa hidup dan bergerak progresif setelah pencairan kembali pada mani beku sapi adalah 40 persen. Hal ini diperkuat oleh surat yang dikeluarkan oleh Balai Inseminasi Buatan Singosari nomor TN 270/237/BIB/X/89 dan ditujukan kepada Kepala Dinas Daerah Tingkat I seluruh Indonesia juga kepada Koordinasi GKSI Komda Jawa Timur, Jawa Tengah dan Jawa Barat, bahwa straw yang masih layak untuk diinseminasikan yaitu sel sperma yang hidup dan bergerak progresif mempunyai nilai lebih dari 40 persen : langsung dapat dipergunakan, nilai 25 sampai 40 persen : dipertimbangkan dan bila mempunyai nilai kurang dari 25 persen : diafkir.

Karena keberhasilan pelaksanaan inseminasi buatan dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satu diantaranya adalah kualitas mani beku, sangat dipengaruhi oleh penanganan dan penggunaannya. Penanganan dan penggunaan mani beku yang baik dan benar dapat meningkatkan keberhasilannya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Pencairan kembali mani beku dengan selang waktu yang lebih lama menyebabkan penurunan kualitas air mani.
2. Pencairan kembali mani beku dari sapi Friesian HHolstein dalam kemasan straw dengan menggunakan air sumur dengan selang waktu sampai menit ke 30 menghasilkan persentase spermatozoa hidup dan bergerak progresif lebih dari 40 persen dengan demikian masih layak untuk inseminasi.

Saran

Karena terjadi penurunan persentase daya hidup dan gerak progresif spermatozoa bila dithawing terlalu lama maka dianjurkan untuk melakukan thawing pada saat akan dilaksanakan inseminasi.

RINGKASAN

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh pencairan kembali mani beku sapi Frisian Holstein terhadap kualitasnya. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Singosari, Malang.

Air mani yang berhasil ditampung dari seekor sapi Frisian Holstein setelah memenuhi syarat pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis kemudian diproses menjadi mani beku. Mani beku kemasan straw tersebut kemudian diperiksa daya hidup dan gerak progresif setelah dicairkan (thawing) dengan selang waktu satu, 30, 60 dan 90 menit dengan ulangan 15 kali. Data yang diperoleh dari spermatozoa hidup (persen) ditransformasikan dengan transformasi $\arcsin \sqrt{\text{persen}}$, kemudian dilakukan analisa varian dilanjutkan uji beda nyata terkecil. Untuk data dari spermatozoa bergerak progresif (persen) dilakukan uji Kruskal Wallis bila terdapat perbedaan dilakukan uji pasangan berbeda.

Dari hasil penelitian ternyata pencairan kembali yang lebih lama berpengaruh sangat nyata terhadap persentase spermatozoa hidup dan bergerak progresif ($p \leq 0,01$). Pada pencairan kembali (thawing) dengan selang waktu 1 dan 30 menit menunjukkan persentase hidup dan bergerak progresif lebih dari 40 persen.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1987. Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Singosari. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. 1-2.
- Anonymous. 1988. Manajemen Sapi Perah. Kompas. 19 Oktober 1988. 8.
- Anonymous. 1989. Perihal Penjelasan Semen Beku Produksi Balai Inseminasi Buatan Singosari. Balai Inseminasi Buatan Singosari.
- Arthur, G. H. 1975. Veterinary Reproduction and Obstetrics. 4th ed. The English Language Book Society and Bailliere Tindall. London. 286-287.
- Bearden, H. J. and J. W. Fuquay. 1980. Applied Animal Reproduction. Reston Publishing Company, Inc. Virginia. 146-169.
- Cole, H. H. and P. T. Cupps. 1977. Reproduction in Domestic Animal. 3rd ed. Academic Press. New York. 257-279.
- Conover, W. J. 1980. Practical Nonparametric Statistics. 2nd ed. John Wiley and Sons. New York. Chichester. Brisbane. Toronto.
- Dukelow, G. H. , E. L. Frederick and C. F. Graham. 1960. Frequency of Ejaculation in Bovine. J. Dairy. Sci 43. 1335-1339.
- Ennen, B. D. , W. E. Berdtson , R. G. Mortimer and B. W. Pickett. 1976. Effect of Processing Procedures on Motility of Bovine Spermatozoa Frozen in 25 ml Straws. J. Anim. Sci. Vol.43. No. 3. 651-656.
- Foote, R. H. 1980. Artificial Insemination. In: E. S. E. Hafez ed. Reproduction in Farm Animals. 4th ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 403-431, 521-544.
- Garner, D. L. and E. S. E. Hafez. 1980. Spermatozoa. In: E. S. E. Hafez ed. Reproduction in Farm Animals. 4th ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 167-186.

- Hafs, H. D. and F. I. Elliot. 1954. Effect of Thawing Temperature and Extender Composition on The Fertieliety of Frozen Bull Semen. J. Ani. Sci. 13: 958.
- Hardjopranjoto, S. 1976. Ilmu Inseminasi Buatan. Edisi kedua. Cetakan ke lima. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 20-83.
- Hardjopranjoto, S. 1981. Fisiologi Reproduksi. Edisi kedua. Fakultas Kedokteran Hewan. Surabaya. 72-78.
- Hafez, E. S. E. 1980. Reproduction in Farm Animal. 4th.ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 167-201.
- Hedah, D. 1985. Kesalahan Handling Frozen Semen (Semen Beku) dan Teknis Inseminasi Buatan Menurunkan Fertilitas. Direktorat Bina Produksi Peternakan. Direktorat Jendral Peternakan. Departemen Pertanian. 1-9.
- Laing, J. A. 1979. Fertility and Infertility in Domestic Animals. 3rd. ed. The English Language Book Society and Bailliere Tindall. London. 128-157.
- Lindsay, D. R., K. W. Entwistle and A. Winantea. 1982. Reproduction in Domestic Livestock in Indonesia. The Australian Universities. 67-68.
- Muljo, M. S. 1978. Spermatologi untuk Peningkatan Mutu Genetic dan Produktivitas Ternak dalam Rangka Penyediaan Pangan. Prosiding Simposium Spermatologi. 19-21 Januari 1978. Surabaya. Perkumpulan Andrologi Surabaya. 53-69.
- Muljo, M. S. 1981. Inseminasi Buatan pada Sapi dan Beberapa Seluk Beluknya. Balai Inseminasi Buatan Singosari. 12-28.
- Olar, T. T., W. C. Becker and P. L. Senger. 1977. Effect of Thawing Rate and Cold Post Thaw Temperatures on Bovine Semen Packed in Glass Ampules. J. Anim. Sci. Vol. 44 No.1 95-100.
- Partodihardjo, S. 1979. Risalah Inseminasi Buatan di Indonesia. Proceedings Seminar Penelitian dan Penunjang Perkembangan Peternakan. Lembaga Penelitian Peternakan. Departemen Pertanian. 5-8 Nopember 1979. Bogor. 281-298.
- Perry, E. J. 1968. The Artificial Insemination of Farm Animals. 4th. ed. Rutger Univ. Press. New Brunswick, New Jersey. 94-111.

- ✓ Pickett, B. W. and W. E. Berndtson. 1974. Preservation of Bovine Spermatozoa by Freezing in Straws. A Review. *J. Dairy Sci.* 57: 1287-1298.
- Saacke, R. G. and J. M. White. 1972. Semen Quality Test and Their Relationship to Fertility Proc. 4th. ed. Tech. Conf. Artif. Insemination Reproduction. 22.
- ✓ Salisbury, G. W. and N. L. Van Demark. 1978. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle W. H. Freeman and Company. San Francisco. 247-357, 434-579.
- ✓ Sorensen, A. M. 1979. Animals Reproduction Principles and Practice. Mc. Graw-Hill Book Company. New York. 31-143.
- Sudjana. 1984. Metoda Statistika. Edisi Ketiga. Penerbit Tarsito Bandung. 296-303.
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics A Biometrical Approach. Mc. Graw-Hill. New York. 256-260.
- ✓ Toelihere, M. R. 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung. 93-121.
- Wiggin, H. B. and J. O. Almquit. 1975. Effect of Glycerol Equilibration time and Thawing Rate Upon Acrosomal Maintenance and Motility of Bull Spermatozoa Frozen in Plastic Straw. *J. Ani. Sci.* 40: 302.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pengenceran Air Mani

Cara pengenceran air mani dengan bahan pengencer Tris kuning telur.

Pengencer A disiapkan dalam penangas air bersuhu 37°C. Pengencer B disiapkan dalam cool top yang suhunya 3 - 5°C. Misalkan volume air mani yang berhasil ditampung 5 cc, diencerkan 12 kali, maka volume akhir 60 cc.

$$\begin{aligned} \text{Kebutuhan} \\ \text{Pengencer B} &= \frac{\text{vol. akhir pengenceran} - \text{vol. air mani}}{2} \\ &= \frac{60 \text{ cc} - 5 \text{ cc}}{2} \\ &= 55 \text{ cc} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Pengencer A II} &= \text{vol. B} - \text{vol. air mani} \\ &= 55 \text{ cc} - 5 \text{ cc} \\ &= 50 \text{ cc} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Pengencer A I} &= \text{vol. air mani} \\ &= 5 \text{ cc} \end{aligned}$$

Selanjutnya volume air mani (5 cc), dimasukkan dalam gelas ukur dan ditambahkan dengan pengencer A I (5 cc), juga disiapkan kebutuhan pengencer A II (50cc) pada gelas ukur yang lain serta termometer. Kesemuanya dimasukkan dalam beker gelas volume 1000 cc yang telah diisi air dengan suhu 37°C dan diletakkan dalam cool top.

Bila air dalam beker gelas suhunya turun menjadi 12 C, maka pengencer A II dimasukkan dalam gelas ukur 100 cc dan diaduk pelan-pelan. Gelas ukur pengencer A

ganti diisi dengan pengencer B (55 cc).

Bila suhu dalam beker gelas turun 5°C dengan bantuan potongan-potongan es ditambahkan pengencer B seperempat bagian dan tiap 10 menit ditambahkan seperempat bagian dan seterusnya sampai selesai.

Lampiran 2. Pengencer Tris Kuning Telur

Bahan :

1. Tris amino methan	13,63 gram
2. Citric acid	7,62 gram
3. Lactose	15 gram
4. Fructose / Levulose	3,75 gram
5. Raffinose	27 gram
6. Aquadest steril	755 cc
7. Kuning telur	200 cc
8. Penicillin	1 juta I.U 00,13 gram
9. Streptomycin	1 gram
10. Glycerol	14 cc

Cara membuat :

- Bahan-bahan pada nomor 1 sampai 5, dimasukkan dalam erlenmeyer volume 1000 cc.
- Kemudian tambahkan 755 cc aquadest steril, diaduk hingga homogen.
- Setelah itu erlenmeyer dimasukkan dalam panci yang berisi air dan dimasak di atas nyala api.
- Bila air sudah mendidih, erlenmeyer diangkat dan diletakkan dalam ruang yang ber A.C. Bila bahan-bahan dalam gelas suhunya sudah turun sampai 37°C, Penicillin Streptomycin dimasukkan dan diaduk hingga homogen.
- Terakhir kuning telur dimasukkan dan diaduk hingga homogen.

- Setelah itu gelas yang berisi semua bahan tadi disimpan dalam lemari es dan tahan selama satu minggu.
- Dua sampai tiga hari setelah penyimpanan terdapat endapan dari bahan tadi.
- Bila bahan pengencer tadi akan digunakan, endapan dipisahkan dahulu dengan menggunakan penyedot khusus.

Susunan pengencer dalam 100 cc :

- Pengencer A : Hanya supernatan 100 cc.
- Pengencer B : Supernatan 86 cc dan glycerol 14 % 14 cc

Persentase Spermatozoa Hidup pada Mani Beku Sapi Fresian Holstein Setelah Pencairan Kembali dengan Selang Waktu yang Berbeda dalam Air Sumur

No. Sampel	Selang waktu thawing (menit)			
	1	30	60	90
1	69,00	65,00	56,00	42,50
2	66,00	58,00	49,00	40,00
3	64,00	56,00	50,50	40,50
4	63,50	58,00	55,00	42,00
5	66,00	56,00	50,00	42,00
6	65,00	60,50	53,50	41,50
7	67,00	59,50	50,00	41,00
8	64,00	56,00	46,00	40,50
9	68,00	61,50	56,50	42,00
10	65,00	60,00	54,00	41,50
11	66,00	61,00	50,00	40,00
12	64,50	58,00	50,00	41,50
13	63,50	57,00	51,00	40,00
14	67,00	60,00	52,00	43,00
15	62,00	55,00	46,00	41,50
Jumlah	980,50	881,50	769,50	619,50
Rataan	65,26	58,60	51,36	41,30
S D	1,90	2,70	3,20	1,90

Lampiran 4.

Hasil Transformasi $\text{Arcsin}\sqrt{\%}$ dari Persentase Spermatozoa Hidup Setelah Pencairan Kembali dengan Selang Waktu yang Berbeda dalam Air Sumur

No. Sampel	1'	30'	60'	90'
1	56,17	53,75	47,29	40,69
2	54,33	49,60	44,43	39,23
3	53,13	48,45	45,29	40,40
4	52,83	49,60	47,87	40,69
5	54,33	48,45	45,00	40,69
6	53,73	51,06	47,01	40,11
7	54,94	50,48	45,00	39,82
8	53,13	48,45	42,71	39,52
9	55,55	51,65	48,73	40,40
10	53,73	50,77	47,29	40,11
11	53,33	51,35	45,00	39,23
12	53,43	49,60	45,00	40,11
13	52,83	49,02	45,57	39,23
14	54,94	50,77	46,15	40,98
15	51,94	47,87	42,71	40,11
Jumlah	808,34	750,87	685,05	601,32
Rataan	53,88	50,05	45,67	40,08

$$X = 2845,58$$

$$X^2 = 136606,60$$

$$FK = \frac{2845,58^2}{60} = 134955,42$$

$$JKT = 136606,66 - 134955,42 = 1651,24$$

$$JKP = 136539,90 - 134955,42 = 1584,48$$

$$JKS = 1651,24 - 1584,48 = 66,76$$

Daftar Sidik Ragam

S K	db	JK	KT	Fhit	F tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	3	1584,48	528,16	443,83**	2,79	4,17
Sisa	56	66,76	1,19			
Total	59	1651,24				

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5 \% &= t \ 5 \% \times \text{SSD} \\ &= 2 \times \sqrt{\frac{2 \times 1,19}{15}} \\ &= 0,86 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1 \% &= 2,66 \times 0,43 \\ &= 1,14 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata rata	Beda			BNT	
		X - 90'	X - 60'	X - 30'	5 %	1 %
1'	53,88	13,8**	8,21**	3,83**	0,86	1,14
30'	50,05	9,97**	4,38**			
60'	45,67	5,59**				
90'	40,08					

**

-berbeda sangat nyata ($p < 0,01$)

Lampiran 5.

Persentase Spermatozoa Bergerak Progresif pada Mani Beku Sapi Fresian Holstein Setelah Pencairan Kembali dengan Selang Waktu yang Berbeda

No. Sampel	Selang waktu thawing (menit).			
	1	30	60	90
1	55,00	45,00	35,00	25,00
2	55,00	40,00	30,00	20,00
3	50,00	45,00	35,00	25,00
4	55,00	40,00	30,00	20,00
5	50,00	45,00	30,00	25,00
6	55,00	45,00	30,00	25,00
7	55,00	45,00	35,00	20,00
8	55,00	40,00	35,00	25,00
9	55,00	45,00	30,00	25,00
10	50,00	45,00	30,00	20,00
11	55,00	45,00	30,00	25,00
12	55,00	40,00	35,00	20,00
13	55,00	35,00	30,00	25,00
14	50,00	45,00	30,00	20,00
15	55,00	45,00	35,00	25,00
Jumlah	850,00	630,00	480,00	345,00
Rataan	53,66	40,96	32,00	23,00
S D	2,30	3,20	2,50	2,50

Lampiran 6. Uji Kruskal Wallis

Obs	Rank	Obs	Rank	Obs	Rank	Obs	Rank
55	55	45	44	35	28	25	11
55	55	40	33,5	30	20	20	3,5
50	47,5	45	44	35	28	25	11
55	55	40	33,5	30	20	20	3,5
50	47,5	45	44	30	20	25	11
55	55	45	44	30	20	25	11
55	55	45	44	35	28	20	3,5
55	55	40	33,5	35	28	25	11
55	55	45	44	30	20	25	11
50	47,5	45	44	30	20	20	3,5
55	55	45	44	30	20	25	11
55	55	40	33,5	35	28	20	3,5
55	55	35	28	30	20	25	11
50	47,5	45	44	30	20	20	3,5
55	55	45	44	35	28	25	11
R _i	805	602	348	120			
n _i	53,67	40,13	23	8			

$$\begin{aligned}
 T_H &= \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1) \\
 &= \frac{12}{60(60+1)} \left[76395,53 - 3(60+1) \right] \\
 &= 250,47 - 183 = 67,47
 \end{aligned}$$

T tabel 12,83 T hit > T tab

Uji Pasangan Berbeda

$$\begin{aligned}
 S^2 &= \frac{1}{N-1} \left[\sum R (x_{ij})^2 - N \frac{(N+1)^2}{4} \right] \\
 &= \frac{1}{60-1} \left[77374,5 - 60 \frac{(60+1)^2}{4} \right] \\
 &= \frac{1}{59} [21559,5] = 215,59
 \end{aligned}$$

$$\left| \frac{R_i}{n_i} - \frac{R_j}{n_j} \right| > \left| t_{1-\alpha/2} \left[S^2 \frac{N-1-T}{N-k} \right]^{\frac{1}{2}} \left[\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right]^{\frac{1}{2}} \right|$$

$$\text{A dan B } \left| \frac{805}{53,67} - \frac{602}{40,13} \right| > \left| 2 \left[215,59 \left(\frac{60-1-67,47}{60-4} \right)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15} \right)^{\frac{1}{2}} \right] \right|$$

	13,54	>	4,15
A dan C	30,67	>	4,15
A dan D	45,67	>	4,15
B dan C	17,13	>	4,15
B dan D	32,13	>	4,15
C dan D	15	>	4,15

Lampiran 7. Analisis Regresi Spermatozoa Hidup

Waktu (X_i)	Sperma hidup (Y_i)	($X_i Y_i$)	X_i^2	X_i	Y_i	$X_i Y_i$	X_i^2
1	69,00	69,00	1				
1	66,00	66,00	1	90	42,50	3825	8100
1	64,00	64,00	1	90	40,00	3600	8100
1	63,00	63,50	1	90	40,50	3645	8100
1	66,00	66,00	1	90	42,00	3780	8100
1	65,00	65,00	1	90	42,00	3780	8100
1	65,00	65,00	1	90	41,50	3735	8100
1	67,00	67,00	1	90	41,00	3690	8100
1	64,00	64,00	1	90	40,50	3645	8100
1	68,00	68,00	1	90	42,00	3780	8100
1	65,00	65,00	1	90	41,50	3735	8100
1	66,00	66,00	1	90	40,00	3645	8100
1	64,50	64,50	1	90	41,50	3735	8100
1	63,50	63,50	1	90	40,00	3645	8100
1	67,00	67,00	1	90	43,00	3870	8100
1	62,00	62,00	1	90	41,50	3735	8100
30	65,00	1950	900				
30	58,00	1740	900				
30	56,00	1680	900				
30	58,00	1740	900				
30	56,00	1680	900				
30	60,50	1815	900				
30	59,50	1785	900				
30	56,00	1680	900				
30	61,50	1845	900				
30	60,00	1800	900				
30	61,00	1830	900				
30	58,00	1740	900				
30	57,00	1710	900				
30	60,00	1800	900				
30	55,00	1650	900				
60	56,00	3360	3600				
60	49,00	2940	3600				
60	50,50	3030	3600				
60	55,00	3300	3600				
60	50,00	3000	3600				
60	53,50	3210	3600				
60	50,00	3000	3600				
60	46,00	2760	3600				
60	56,50	3390	3600				
60	54,00	3240	3600				
60	50,00	3000	3600				
60	50,00	3000	3600				
60	51,00	3060	3600				
60	52,00	3120	3600				
60	46,00	2760	3600				
				2715	3251,00	126440,50	189015

$$\sum X_i = 2715 ; \sum Y_i = 3251 ; \sum X_i Y_i = 126440,50 ; \sum X_i^2 = 189015$$

$$a = \frac{(\sum Y_i) (\sum X_i^2) - (\sum X_i) (\sum X_i Y_i)}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$b = \frac{n \sum X_i Y_i - (\sum X_i) (\sum Y_i)}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$a = \frac{(3251) (189015) - (2715) (126440,50)}{60 \cdot 189015 - (2715)^2}$$

$$a = \frac{45795074}{723294} = 66,33$$

$$b = \frac{60 (126440,50) - (2715) (3251)}{60 \cdot 189015 - (2715)^2}$$

$$b = \frac{-477916,24}{723299} = -0,27$$

Persamaan Regresi $Y = a + b X$

$$Y = 66,33 - 0,27 X$$

Penghitungan Korelasi

$$r = \frac{\sum XY - \frac{(\sum X) (\sum Y)}{n}}{\sqrt{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} \cdot Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n}}}$$

$$r = \frac{126440,50 - \frac{(2715) (3251)}{60}}{\sqrt{189015 - \frac{(2715)^2}{60} \cdot 180298,75 - \frac{(3251)^2}{60}}}$$

$$r = \frac{-147107,75}{16567,63} = -8,87$$

Lampiran 8. Analisis Regresi Spermatozoa Bergerak Progresif.

waktu thawing (menit)	Sperma Gerak Progresif						
x_i	y_i	$x_i y_i$	x_i^2	X_i	Y_i	$X_i Y_i$	X_i^2
1	1	3	4				
1	55,00	55,00	1	90	25,00	2250	8100
1	55,00	55,00	1	90	20,00	1900	8100
1	50,00	50,00	1	90	25,00	2250	8100
1	55,00	55,00	1	90	20,00	1800	8100
1	50,00	50,00	1	90	25,00	2250	8100
1	55,00	55,00	1	90	25,00	2250	8100
1	55,00	55,00	1	90	20,00	1800	8100
1	55,00	55,00	1	90	25,00	2250	8100
1	55,00	55,00	1	90	25,00	2250	8100
1	50,00	50,00	1	90	20,00	1800	8100
1	55,00	55,00	1	90	25,00	2250	8100
1	55,00	55,00	1	90	20,00	1800	8100
1	55,00	55,00	1	90	25,00	2250	8100
1	50,00	50,00	1	90	20,00	1800	8100
1	55,00	55,00	1	90	25,00	2250	8100
30	45,00	1350	900				
30	40,00	1200	900	Jumlah	2715	2305,00	80050
30	45,00	1350	900				189015
30	40,00	1200	900				
30	45,00	1350	900				
30	45,00	1350	900				
30	45,00	1350	900				
30	45,00	1350	900				
30	45,00	1350	900				
30	45,00	1350	900				
30	45,00	1350	900				
30	45,00	1350	900				
30	45,00	1350	900				
30	40,00	1200	900				
30	35,00	1050	900				
30	45,00	1350	900				
30	45,00	1350	900				
60	35,00	2100	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	35,00	2100	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	35,00	2100	3600				
60	35,00	2100	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	35,00	2100	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	30,00	1800	3600				
60	35,00	2100	3600				

$$\sum X_i = 2715 ; \sum Y_i = 2305 ; \sum X_i Y_i = 80050 ; \sum X_i^2 = 189015$$

$$a = \frac{(\sum Y_i) (\sum X_i^2) - (\sum X_i) (\sum X_i Y_i)}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$b = \frac{n \sum X_i Y_i - (\sum X_i) (\sum Y_i)}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$a = \frac{(2305) (189015) - (2715) (80050)}{(60) 189015 - (2715)^2}$$

$$a = \frac{222124125}{3969675} = 55,95$$

$$b = \frac{(60) 80050 - (2715) (2305)}{60 \cdot 189015 - (2715)^2}$$

$$b = \frac{- 1509375}{3969675} = - 0,38$$

Persamaan regresi $Y = a + b X$

$$Y = 55,95 - 0,38 X$$

Penghitungan Korelasi

$$r = \frac{\sum X Y - \frac{(\sum X) (\sum Y)}{n}}{\sqrt{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} \cdot \sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n}}}$$

$$r = \frac{80050 - \frac{(2715) (2305)}{60}}{\sqrt{189015 - \frac{(2715)^2}{60} \cdot 95525 - \frac{(2305)^2}{60}}}$$

$$r = - 1,13$$