

## BAB IV

## PENAMPUNGAN DAN PEMERIKSAAN AIR MANI ✓

Kelinci merupakan binatang yang mudah dilatih untuk menggunakan vagina buatan sebagai pengganti perkawinan alam dengan syarat kelinci tersebut baru pertamakali melakukan perkawinan alam (Hafez, 1970).

Cara yang biasa dipakai untuk mengumpulkan air mani kelinci jantan adalah dengan vagina buatan, dapat juga memakai elektro ejaculator tetapi kurang ekonomis disamping mutu air mani yang kurang baik karena seringnya tercemar oleh kotoran-kotoran yang berasal dari preputium (Hardjo - pranyoto. 1976).

Alat-alat yang dipakai untuk menampung air mani terdiri dari selongsong karet tebal yang panjangnya kurang lebih 3,5 cm sebanyak dua buah. Selongsong karet ini berbeda garis tengahnya, yang satu dengan garis tengah bagian dalam 2,5 cm dan satunya lagi bentuknya lebih kecil, garis tengah bagian luar 2,7 cm sedangkan bagian dalam 1,8 cm. Juga diperlukan selaput karet yang tipis dengan garis tengah 2 cm yang panjangnya 11 cm, karet pengikat, gelas penampung berskala dan batang gelas untuk memberi bahan pelicin kedalam vagina buatan. (Hafez, 1970).

Cara memasang vagina buatan adalah sebagai berikut, masukkan selongsong karet tebal yang ukurannya kecil -

kedalam selaput karet tebal yang lebih besar. Kedalaman-nya disesuaikan dengan jenis pejection yang akan diambil air maninya, kemudian dimasukkan selaput karet tipis secara memanjang kedalam selongsongsong karet tebal sampai sisa di kedua ujungnya sama, lalu lipat keluar ujung-ujung karet tersebut pada kedua ujung karet yang tebal. Kemudian harus diperiksa agar jangan ada lipatan-lipatan didalam vagina buatan, baru kemudian kedua ujung vagina buatan di ikat erat-erat. Pada salah satu ujung vagina buatan yang kecil dipasang tabung berskala sebagai tempat penampungan air mani. Bila pemasangan vagina buatan telah dilakukan dengan baik dapat dilakukan pengisian dengan air panas atau diethylene glycol. Hafez (1970), menyebutkan pengisian vagina buatan dengan diethylene glycol, kemudian dimasukkan air panas dengan suhu  $60^{\circ}\text{C}$  atau dimasukkan inkubator pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Hardjopranyoto. (1976) menyebutkan dapat diisi dengan air panas yang suhunya  $50^{\circ} - 55^{\circ}\text{C}$ , diharapkan nantinya suhu didalam vagina buatan menjadi  $40^{\circ}\text{C}$ , harus diperhatikan suhu didalam vagina buatan pada saat penampungan tidak boleh melebihi  $45^{\circ}\text{C}$ , karena dapat mempengaruhi mutu dari air mani (Hafez, 1970). Juga disebutkan tekanan didalam vagina buatan dapat dirubah dan disesuaikan dengan jenis kelinci yang akan ditampung air maninya.

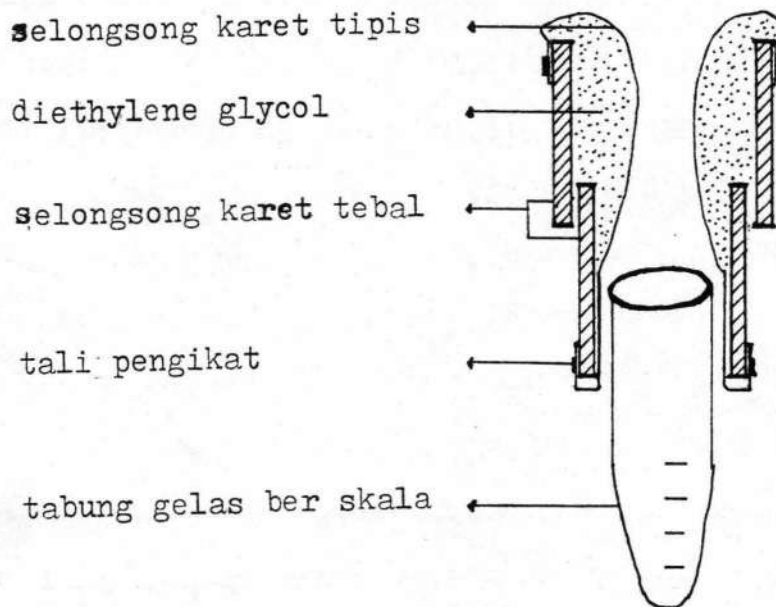
Sebelum vagina buatan yang siap pakai tadi digunakan

perlu ditambahkan kedalamnya bahan pelicin. Pemberian pelicin dimulai dibagian belakang vagina buatan tidak boleh terlalu masuk kebagian depan agar air mani tidak tercampur dengan bahan pelicin yang dapat mempengaruhi kualitas air mani.

Dalam pengambilan air mani kelinci hal-hal yang perlu diperhatikan adalah sebagai berikut : Preputium harus dibersihkan dulu dari kotoran yang melekat, sehingga air mani tidak kotor. Vagina buatan dan alat-alat yang dipakai untuk menampung air mani harus bersih, agar kualitas air mani tetap baik. Jarak waktu pengambilan air mani dalam satu minggu paling banyak dilakukan dua kali, walaupun kenyataannya penampungan dapat dilakukan setiap hari dalam setiap tahunnya tanpa mengganggu libido. Namun demikian menurut Hafez (1970) produksi air mani dan libido akan menurun bila pejantan dipakai berlebihan. Pada tabel 3 dapat dilihat pengaruh banyaknya ejakulasi dengan jumlah air mani yang dihasilkan pada kelinci.

Bentuk vagina buatan yang dipakai untuk menampung air mani dapat dilihat pada gambar 1.

Gambar 1.



Gambar vagina buatan model Bredderman dkk (1964), yang dikutip dari Hafez (1970).

Tabel 3. Pengaruh banyaknya ejakulasi terhadap jumlah air mani yang dipancarkan pada kelinci.

jumlah ejakulasi perminggu	volume air mani(ml).	Jumlah sel mani( $10^6$ )	
		per ml	per ejakulasi
1 kali	0,57	463	273
4 kali: pertama	0,51	285	-
kedua	0,41	505	-
ketiga	0,29	448	543
keempat	0,19	389	-
2 kali: pertama	0,49	168	-
kedua	0,34	349	619

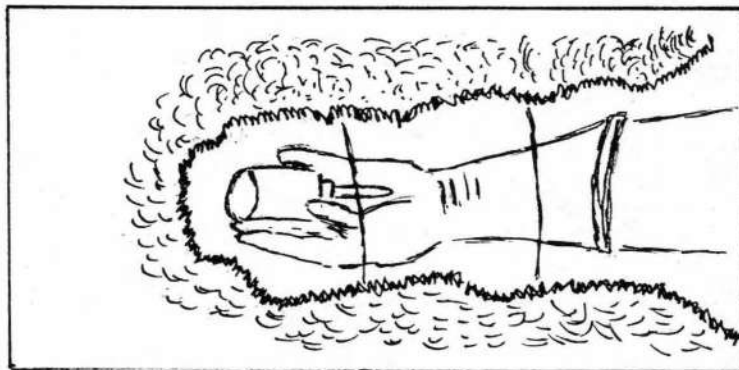
Sumber: Desjardin dkk., 1968. J. Reprod. Fertil. 15 : 27  
yang dikutip dari Hafez (1970).

#### Pelaksanaan Pengambilan Air Mani.

Panjang vagina buatan, tekanan dan suhu di dalam vagina buatan harus disesuaikan dengan jenis kelinci. Sebagai be-  
tina pemancing dapat digunakan kulit kelinci atau kelinci  
buatan (Hafez, 1970). Pegang vagina buatan dengan lubang  
vagina buatan searah jari pada tangan yang telah dibungkus  
kulit kelinci. Pejantan tidak diperbolehkan langsung naik

pada betina pemancing tetapi dibiarkan dulu agar berahinya meningkat dengan mendekatkan pada betina pemancing sehingga air mani yang dikumpulkan dapat mencapai hasil maksimal. Setelah pejantan naik, penisnya diarahkan pada mulut vagina buatan. Setelah terjadi ejakulasi tabung penampungan air mani dilepaskan kemudian masukkan dalam air dingin dan hindarkan dari sinar matahari.

Gambar 2. Cara memakai kulit kelinci dan cara memegang vagina buatan.



Sumber : Hafez. (1970).

### Pemeriksaan Air Mani.

Pemeriksaan harus dilakukan dengan cepat untuk mendapat data yang teliti dari air mani. Bila pemeriksaan tertunda hasil yang didapat akan berbeda, hal ini disebabkan karena adanya penurunan PH, habisnya persediaan makanan dan kelelahan yang dialami sel mani. Pemeriksaan terhadap air mani meliputi pemeriksaan : makroskopis, mikroskopis, biologis dan biokimia (Hardjopranyoto. 1976).

Pemeriksaan makroskopis mengenai volume, bau, warna, kekentalan dan derajat keasaman. Volume, sangat bervariasi menurut jenis kelinci, berkisar antara 0,4 - 1,5 ml. Kekentalan, untuk memeriksanya diperlukan sinar tidak langsung yang menyinari tabung dari arah depan. Air mani mempunyai nilai pekat jika dalam tabung nampak bintik-bintik kecil dan terlihat adanya gelombang. Bau air mani sangat khas, dan setiap hewan mempunyai kekhususan sendiri-sendiri. Warna air mani juga mempunyai ciri tersendiri untuk masing-masing hewan, untuk kelinci normalnya putih susu agak kekuningan. Derajat keasaman (PH) air mani kelinci berkisar antara 6,59 - 7,5 (Cole dan Cupps. 1969).

Pemeriksaan mikroskopis meliputi pemeriksaan : konsentrasi, gerakan massa, gerak individu, jumlah mati dan jumlah hidup sel mani. Cara yang dipakai dalam perhitungan untuk menentukan konsentrasi ada dua macam, cara Rusia dan-

cara Thoma. Cara Rusia ini memerlukan alat-alat : obyek gelas, gelas penutup dan mikroskop. Cara kerjanya, pada obyek gelas diteteskan air mani kemudian tutup dengan gelas penutup dan dilihat dibawah mikroskop, perhatikan jarak kepala sel mani yang satu dari kepala sel mani yang lain. Penilaian disebut Densum, bila jarak kepala sel mani satu dengan kepala sel mani lain lebih kecil dari satu kepala, disini tiap satu mili liter air mani mengandung lebih dari satu juta sel mani. Semi Densum jika jarak antara kepala sel mani dengan kepala sel mani lain lebih besar dari pada panjang satu kepala sel mani. Ini berarti setiap satu mili liter air mani mengandung 500.000 sampai 1.000.000. sel mani. Rarum, jika jarak kepala sel mani dengan kepala sel mani lain hampir sama dengan panjang seluruh sel mani. Ini berarti tiap satu mili liter air mani mengandung kurang dari 500.000. sel mani. Azoospermia, jika hanya ada sedikit sel mani atau bahkan tidak ada sama sekali didalam satu lapangan pandang mikroskop. Pada cara Thoma, alat yang dipakai terdiri dari pipet erythrocyte, kotak hitung dari Thoma, NaCl 3%, dan methilen blue. Dengan pipet erythrocyte dihisap air mani sampai tanda 0,5 kemudian tambahkan NaCl 3% yang telah dicampur dengan eosin atau methilen blue, kemudian hisap terus sampai tanda 101 dengan demikian telah dilakukan pengenceran sebanyak 200 kali. Kotak hitung Thoma mempunyai panjang satu mili meter



lebar satu mili meter dan dalamnya 0,1 mili meter. Didalam kotak hitung Thoma ada 16 kotak besar dan seluruh kotak hitung Thoma didalamnya terdapat 400 kotak kecil. Dalam perhitungan yang dihitung hanya 5 kotak besar, 4 kotak terletak dalam garis diagonal ditambah satu kotak lain sehingga kotak yang kita periksa jumlahnya 80 kotak kecil. Jika dalam perhitungan kita dapatkan sel mani sejumlah Y, maka dalam satu mili meter kubiknya mengandung :

$$\frac{400}{80} \times 200 \times 10 \times Y = 10.000 Y \text{ sel mani.}$$

Pemeriksaan gerakan sel mani dilakukan dalam suhu kamar, ada dua gerakan yang dapat diperiksa gerakan massa dan gerak individu sel mani. Gerakan massa adalah gerakan sel mani yang bersama sama membentuk gelombang. Penilaiannya adalah : Positip tiga (+++) bila gelombangnya besar dan banyak, ini menandakan air mani banyak mengandung sel mani yang hidup dan bergerak aktif. Positip dua (++) , gelombang yang dibuat besar tetapi jarang ini menunjukkan air kurang pekat atau sel maninya banyak tetapi banyak pula yang lemah atau mati. Positip satu (+), bila gelombang yang dibentuk kecil dan jarang, air mani tidak mengandung sel mani. Gerak individu sel mani adalah gerakan dari sel mani yang meliputi gerak lurus kedepan atau progresip, gerak berputar atau oscilatoris, gerak di tempat, tidak bergerak atau necrospermia dan gerak sel mani yang arahnya mundur kebelakang. Menghitung persentase sel mani yang hidup dan mati adalah untuk menentukan

persentase hidup matinya. sel mani yang hidup mempunyai lapisan lemak sedangkan sel mani yang mati tidak, sehingga dengan pewarnaan yang cepat sel mani yang mati dapat diwarnai sehingga dapat dibedakan dari yang hidup yang tidak berwarna. Alat yang dipergunakan terdiri dari pembakar bunsen, obyek gelas, pipet, batang gelas, zat warna eosin negrosin dan mikroskop. Zat warna eosin negrosin dibuat dengan mencampur eosin 1% dengan negrosin 5% dan natrium sitrat 2,5 % dalam aquadest. Cara kerja adalah sebagai berikut bersihkan lebih dahulu obyek gelas dari lemak dengan memanaskan diatas api atau dicuci dengan alkohol. Teteskan setetes besar zat warna eosin pada obyek gelas - dan teteskan pula setetes kecil air mani disampingnya, kemudian dicampur sampai rata. Buat preparat ulas tipis - tipis dan secepatnya dikeringkan diatas nyala api. Proses pembuatan preparat sampai pemanasan harus sudah selesai dalam waktu lima belas detik, hal ini untuk menjaga kematian sel mani yang masih hidup akibat zat warna. Preparat kemudian dilihat dibawah mikroskop. Sel mani yang mati kepalanya akan berwarna merah dan sel mani yang hidup kepalanya tidak berwarna. Dihitung sel mani yang mati dan yang hidup sebanyak 100 ekor lalu dibuat persentasenya. Pada pewarnaan ini dapat pula dilihat bentuk abnormal dari sel - mani. biasanya abnormalitas sel mani terdapat pada kepala, leher, ekor atau adanya protoplasmik droplet.

Pemeriksaan biologis meliputi tes daya ketahanan dan tes katalase. Tes daya ketahanan sel mani adalah menguji daya tahan sel mani terhadap larutan NaCl 1%. Alat dan zat yang diperlukan : buret, erlenmeyer 200 ml, pipet kecil, mikroskop, NaCl 1% dan air mani. Cara kerja : air mani diambil dengan pipet, sebanyak 0,02 ml, dimasukkan kedalam gelas erlenmeyer dan ditambahkan 10 ml NaCl 1% dicampur dan diaduk pelan-pelan dengan batang gelas. Pada obyek gelas ditetesi dengan campuran tadi dan diperiksa dibawah mikroskop pada pembesaran 10 kali. Selanjutnya kalau sel mani masih bergerak progresip ditambahkan lagi kedalam campuran tadi NaCl 1% sebanyak 10 ml, demikian terus dilakukan sampai sel mani tidak bergerak lagi atau bergerak melingkar. Angka resistensi adalah banyaknya larutan NaCl 1% yang dipakai (ml) dibagi jumlah air mani yang dipakai. Tes katalase adalah untuk mengetahui kebersihan air mani dari mikro organisme yang dapat membentuk enzim-katalase. Alat yang digunakan : tabung katalase, tutup karet yang berlubang ditengahnya,  $H_2O_2$  3% dan Bromthymol Blue 2%. Cara kerja : ambil 1 ml air mani masukkan kedalam gelas katalase, tambahkan beberapa tetes Bromthymol Blue 2% dan tambahkan  $H_2O_2$  3% sampai pada cincin tabung katalase. Tutup tabung katalase dengan penutup karet, kocok kuat-kuat sebanyak 4 kali, lubang pada tutup ditutup ibu jari, kemudian tempatkan tabung katalase dengan posisi terbalik -

dan diamkan, setiap 5 menit tabung dikocok dan ditunggu sampai 20 menit. Penilaian angka katalase adalah banyaknya udara yang dibebaskan oleh hydrogen peroksida yang terurai akibat adanya enzim katalase setelah didiamkan 20 menit. Semakin tinggi angka katalase mutu air mani makin jelek.

Pemeriksaan biokimia dilakukan dengan mengadakan tes dehydrogenasi, tes ini berdasarkan bahwa sel mani yang baik dapat mengeluarkan enzim yang dengan cepat dapat merubah warna biru dari methylenblue. Alat-alat yang digunakan penangas air, tabung tes, termometer, tabung dehydrogenasi dan tutupnya, air mani dan campuran gelatin dengan methylenblue 1% dalam perbandingan 10 banding 1. Cara kerja : penangas air diisi dan suhu dipertahankan tetap 40°C selama percobaan berlangsung. Ambil tabung berskala masukkan kedalamnya gelatin 10 mililiter dan 1 mililiter methylenblue 1% kemudian masukkan penangas. Tabung dehydrogenasi diisi setengah mililiter air mani kemudian tambahkan campuran gelatin methylenblue dengan hati-hati supaya air mani tidak bercampur, sumbat tabung dehydrogenasi dengan sumbat yang betul-betul sesuai kemudian taruh ke dalam penangas air. Perhatikan perubahan warna pada tabung dehydrogenasi dan bandingkan dengan larutan standard. Penilaian adalah waktu yang dipergunakan untuk merubah warna biru dari methylenblue, semakin cepat waktu yang digunakan

menandakan jumlah sel mani didalam setiap milimeterkubik air mani semakin banyak.

Hal yang perlu diperhatikan dalam melakukan pemeriksaan air mani adalah : air mani yang telah di tampung dari pejantan tidak boleh terkena sinar matahari secara langsung, tempat penampungan ataupun alat pemeriksaan yang kontak langsung dengan air mani tidak boleh terbuat dari logam, air mani tidak tercemar oleh: bahan kimia, air kencing dan air.

pengocokan yang terlalu keras dapat membunuh sel mani, sehingga mutu air mani rendah (Hardjopranyoto. 1976).

#### Besar pengenceran.

Hafez (1970) melaporkan bahwa peningkatan besarnya pengenceran tidak akan menurunkan angka kebuntingan asalkan jumlah sel mani yang terkandung dalam tiap Inseminasi tidak kurang dari 20 - 50 juta sel mani yang hidup. Dapat disimpulkan seperti halnya hasil penelitian pada sapi yang dilakukan oleh Willet dan Larson (1952), Salisbury (1961) keduanya dikutip oleh Hardjopranyoto. (1976), bahwa besarnya pengenceran tidak memegang peranan penting terhadap fertilitas air mani. Yang penting adalah jumlah sel mani yang hidup untuk setiap Inseminasi.

#### Penambahan Antibiotika dan Sulfa.

Air mani pada semua hewan ternak secara normal mengandung sejumlah mikro organisme. Hardjopranyoto. (1976) menyebutkan asal mikro organisme dapat dari rambut pada preputium, dari preputium sendiri, atau alat-alat yang dipakai dalam penampungan air mani tidak steril. Dapat juga mikro organisme ini berasal dari pejantan yang menderita penyakit kelamin menular seperti Brucellosis, Trichomoniasis atau Vibriosis. Bila mikro organisme ini cukup banyak jumlahnya, dapat mengganggu kehidupan sel mani.

pengocokan yang terlalu keras dapat membunuh sel mani, sehingga mutu air mani rendah (Hardjopranyoto, 1976).

#### Besar pengenceran.

Hafez (1970) melaporkan bahwa peningkatan besarnya pengenceran tidak akan menurunkan angka kebuntingan asalkan jumlah sel mani yang terkandung dalam tiap Inseminasi tidak kurang dari 20 - 50 juta sel mani yang hidup. Dapat disimpulkan seperti halnya hasil penelitian pada sapi yang dilakukan oleh Willet dan Larson (1952), Salisbury (1961) keduanya dikutip oleh Hardjopranyoto. (1976), bahwa besarnya pengenceran tidak memegang peranan penting terhadap fertilitas air mani. Yang penting adalah jumlah sel mani yang hidup untuk setiap Inseminasi.

#### Penambahan Antibiotika dan Sulfa.

Air mani pada semua hewan ternak secara normal mengandung sejumlah mikro organisme. Hardjopranyoto. (1976) menyebutkan asal mikro organisme dapat dari rambut pada preputium, dari preputium sendiri, atau alat-alat yang dipakai dalam penampungan air mani tidak steril. Dapat juga mikro organisme ini berasal dari pejantan yang menderita penyakit kelamin menular seperti Brucellosis, Trichomoniasis atau Vibriosis. Bila mikro organisme ini cukup banyak jumlahnya, dapat mengganggu kehidupan sel mani.

Hardjopranyoto (1976) menyebutkan bahwa penelitian terhadap pemakaian sulfanilamide dan antibiotika lain pada bahan pengencer air mani pada sapi, sudah dimulai sejak tahun 1942. Penelitian dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh penambahan bahan tersebut terhadap lama hidup sel mani dan kesuburannya, maupun keracunan yang ditimbulkannya pada sel mani dan juga dalam pencegahan terhadap kemungkinan penularan penyakit kelamin melalui Inseminasi Buatan.

Dosis antibiotika dan sulfa yang diberikan harus sedemikian rupa sehingga tidak mengganggu kehidupan sel mani tetapi cukup kuat untuk menghambat bahkan membunuh mikroorganisme yang ada. Hasil penelitian salisbury dkk (1961) yang dikutip oleh Hardjopranyoto (1976), menyebutkan bahwa penambahan sulfanilamid pada bahan pengencer untuk air mani sapi dapat meningkatkan kesuburan sebesar 4,8%. Foote dan Bratton (1950) yang dikutip oleh Hardjopranyoto (1976) melaporkan adanya peningkatan kesuburan air mani sapi dalam bahan pengencer kuning telur sitrat bila ditambahkan 1000 I.U. Penicillin dan 1 mg Streptomycin untuk setiap mili liter bahan pengencer.

#### Macam Bahan Pengencer. ✓

Bahan pengencer untuk air mani dikenal pertamakali di Rusia. Milawanov adalah orang Rusia yang berjasa dalam mengembangkan bahan pengencer. Mula-mula bahan pengencer hanya dibuat



untuk meningkatkan volume air mani yang kemudian segera diinseminasikan pada hewan betina tanpa dilakukan penyimpanan. Kemudian peneliti dari negara lain seperti : Sorenson dari Denmark, Phillips, Lardy, Salisbury ketiganya dari Amerika-Serikat, A. Walton dari Inggris; para peneliti ini terus mengembangkan kegunaan bahan pengencer pada air mani, kalau dulu hanya untuk menambah volume sekarang juga untuk menambah kesuburan, mengawetkan agar tahan disimpan lama dan mencegah penularan penyakit kelamin yang sangat merugikan peternak (Hardjopranyoto. 1976).

Bahan pengencer untuk air mani kelinci yang pernah dicoba oleh Beatty (1957) dan Napier (1960) seperti yang dikutip oleh Napier (1963) adalah memakai pengencer NaCl dengan konsentrasi 0,9%. Fox dan Burdick (1963) seperti yang dikutip oleh Hafez (1970) telah membuat mani beku dengan pengencer campuran dari ethylene glycol dengan glycerol dalam perbandingan 4 dibanding 100, dimana pencampurannya dilakukan pada suhu 37°C dan kemudian didinginkan sampai suhu 5°C. Osnea dan Wales (1969) yang juga dikutip oleh Hafez (1970) telah membuat bahan pengencer yang terdiri dari 4 bagian larutan yang mengandung 7,5 % bubuk susu bawah, ditambah fruktosa 77 mg dan larutan Dimethyl Sulphoxide 15,5 %. Bahan-bahan ini dicampur pada suhu kamar dan disimpan selama 2 jam pada suhu 5°C, kemudian setelah 2 jam dicampur dengan volume yang sama dengan larutan kedua

yang terdiri dari campuran yang mengandung 11,1% bubuk susu bawah yang terlarut dalam aquades, ditambah fruktosa sebanyak 77 mg dan di methil Sulphoxide 5,6%.

Hafez (1970) telah mencoba memakai pengencer glukosa kuning telur sitrat dengan ditambah 1000 I.U. Penicillin dalam setiap 100 ml larutan dan hasilnya cukup memuaskan bila dipakai untuk mengencerkan air mani kelinci.