

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Semen Beku Taman Ternak Pendidikan (*Teaching Farm*) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Gresik-Surabaya. Penelitian ini dimulai bulan Agustus 2014 sampai dengan Oktober 2014.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah berupa semen segar dari satu ekor sapi Simental yang mempunyai *recording* yang jelas, dalam keadaan yang sehat, mempunyai alat kelamin normal dan libido baik. Sapi yang digunakan adalah satu ekor sapi Simental jantan dan satu ekor betina sebagai pemancing agar libido sapi jantan meningkat maksimal dan pengambilan semennya dapat berjalan dengan lancar. Sapi diberikan pakan dua kali sehari, pada pagi hari berupa rumput segar 15 kg, kecambah 1kg, kulit kecambah 1kg, konsentrat 4 kg, dan minum secara *ad libitum*.

3.2.2. Peralatan Penelitian

Pengambilan sampel menggunakan seperangkat vagina buatan lengkap dengan tabung berskala, termos, *waterbatth*, termometer skala 0-100°C, gelas ukur, gelas beker, erlenmeyer, kertas pH indikator universal, rak tabung, tabung reaksi, gelas obyek, gelas penutup, pemanas bunsen, blender, panci pengaduk,

pipet pasteur, alat penghitung, spuit, tuberculin, mikroskop cahaya, timbangan mikro, kertas saring, alumunium foil, kertas label, kasa penyaring, cooltop, alarm, container.

3.2.3. Bahan Penelitian

Semen segar sapi simental, vaselin, susu skim, kuning telur, Penisilin-G-Meiji 3000.000 IU, Streptomycin Sulfate Meiji, Labu Kuning (*Cucurbita moschata*), glukosa, fruktosa, gliserol, larutan pewarna *Eosin-Negrosin*, air hangat, alkohol 70%, nitrogen cair dalam *container*, aquades.

3.2.4. Pembuatan sari buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata*)

Sari buah ialah larutan inti daging buah yang diencerkan, sehingga mempunyai cita rasa yang sama dengan aslinya. Buah yang akan diolah menjadi sari buah dipilih yang matang penuh dan sehat (Satuhu, 2004). Menurut Standar Industri Indonesia, sari buah didefinisikan sebagai cairan yang diperoleh dengan memeras buah, baik disaring maupun tidak, yang mengalami fermentasi dan dimaksudkan untuk minuman segar yang langsung dapat diminum.

Sari buah merupakan salah satu minuman yang cukup disukai, karenapraktis, enak dan menyegarkan, serta bermanfaat bagi kesehatan mengingat kandungan vitamin secara umum tinggi.

Adapun langkah-langkah dalam pembuatan sari buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) adalah sebagai berikut : untuk membuat sari buah labu kuning (*Cucurbita moschata*) dengan konsentrasi 10 %, timbang buah labu kuning sebanyak 10 gram, kemudian masukkan dalam blander buah dan

tambahkan aquades sampai mencapai volume 100 ml. Blander selama 15 menit atau sampai labu kuning (*Cucurbita moschata*) sampai tercampur merata. kemudian saring larutan tersebut dengan kertas saring dan tampung hasil saringan di dalam botol steril, sari buah labu kuning (*Cucurbita moschata*) konsentrasi 10% siap digunakan.

Pembuatan sari buah labu kuning (*Cucurbita moschata*) dengan konsentrasi 20 % dan 30 % sama dengan uraian di atas. Penggunaan sari buah labu kuning (*Cucurbita moschata*) adalah konsentrasi masing-masing 10 %, 20 %, 30 %.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Pemeriksaan Semen Simental Sapi Sebelum Perlakuan



Gambar 3.1. Pengambilan semen sapi Simental (Dokumen pribadi)

Penelitian ini diawali dengan pengamatan awal keadaan fisik dan memandikan sapi Simental yang akan digunakan untuk penelitian, kemudian dilakukan pengambilan semennya menggunakan vagina buatan yang telah

dipersiapkan sebelumnya. Selanjutnya dilakukan uji makroskopis dan mikroskopis sebelum semen diencerkan dan diberi perlakuan.

Segera setelah penampungan semen dari sapi Simental, dilakukan pemeriksaan makroskopis yang meliputi : evaluasi volume, konsentrasi, bau, warna dan pH semen. Pemeriksaan mikroskopis semen meliputi : gerakan masa, gerakan individu spermatozoa, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa (Hardijanto dkk., 2010).

Semen yang telah memenuhi syarat pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis dicampur dengan diluter A (lampiran) sebanyak $\frac{1}{2}$ volume akhir sesuai perlakuan. Semen yang sudah dicampur dengan diluter A dimasukkan dalam cooltop berikut diluter B (lampiran) dengan volume yang sama, setelah *cooltop* mencapai suhu 5°C tambahkan diluter B ke diluter A secara bertahap dengan selang waktu 15 menit sebanyak $\frac{1}{4}$ volume diluter B, komposisi keempat perlakuan tersebut adalah :

1. Kontrol ($K0^{-}$) : semen + susu skim + kuning telur + antibiotik + fruktosa+ glukosa + gliserol.
2. kontrol ($K0^{+}$) : semen + susu skim + kuning telur + antibiotik + fruktosa+ glukosa + gliserol + aquades 1 ml.
3. Perlakuan 1 (P1) : semen + susu skim + kuning telur + antibiotik + fruktosa+ glukosa + gliserol + sari buah labu kuning (*Cucurbita moschata*) konsentrasi 10 % sebanyak 1 ml.
4. Perlakuan 2 (P2) : semen + susu skim + kuning telur + antibiotik + fruktosa+

glukosa + gliserol + sari buah labu kuning (*Cucurbita moschata*) konsentrasi 20 % sebanyak 1 ml.

5. Perlakuan 3 (P3) : semen + susu skim + kuning telur + antibiotik + fruktosa + glukosa + gliserol + sari buah labu kuning (*Cucurbita moschata*) konsentrasi 30 % sebanyak 1 ml.

Waktu equilibrasi kurang lebih 1 jam setelah penambahan selesai dilanjutkan dengan pemeriksaan motilitas *before freezing* minimal 55% untuk mengetahui layak atau tidaknya semen yang akan dibekukan. Proses selanjutnya adalah *filling* atau pengisian semen dalam mini straw kemasan 0,25 ml, *sealing* atau penutupan straw dan pada tahap terakhir dilakukan *pra-freezing* diatas permukaan Nitrogen cair 1-2 cm pada suhu -140° C sebelum straw dibekukan pada suhu -196°C dalam nitrogen cair (Hardijanto dkk., 2010).

3.3.2. Pemeriksaan Presentase Hidup Spermatozoa sapi simental *Post Thawing*.

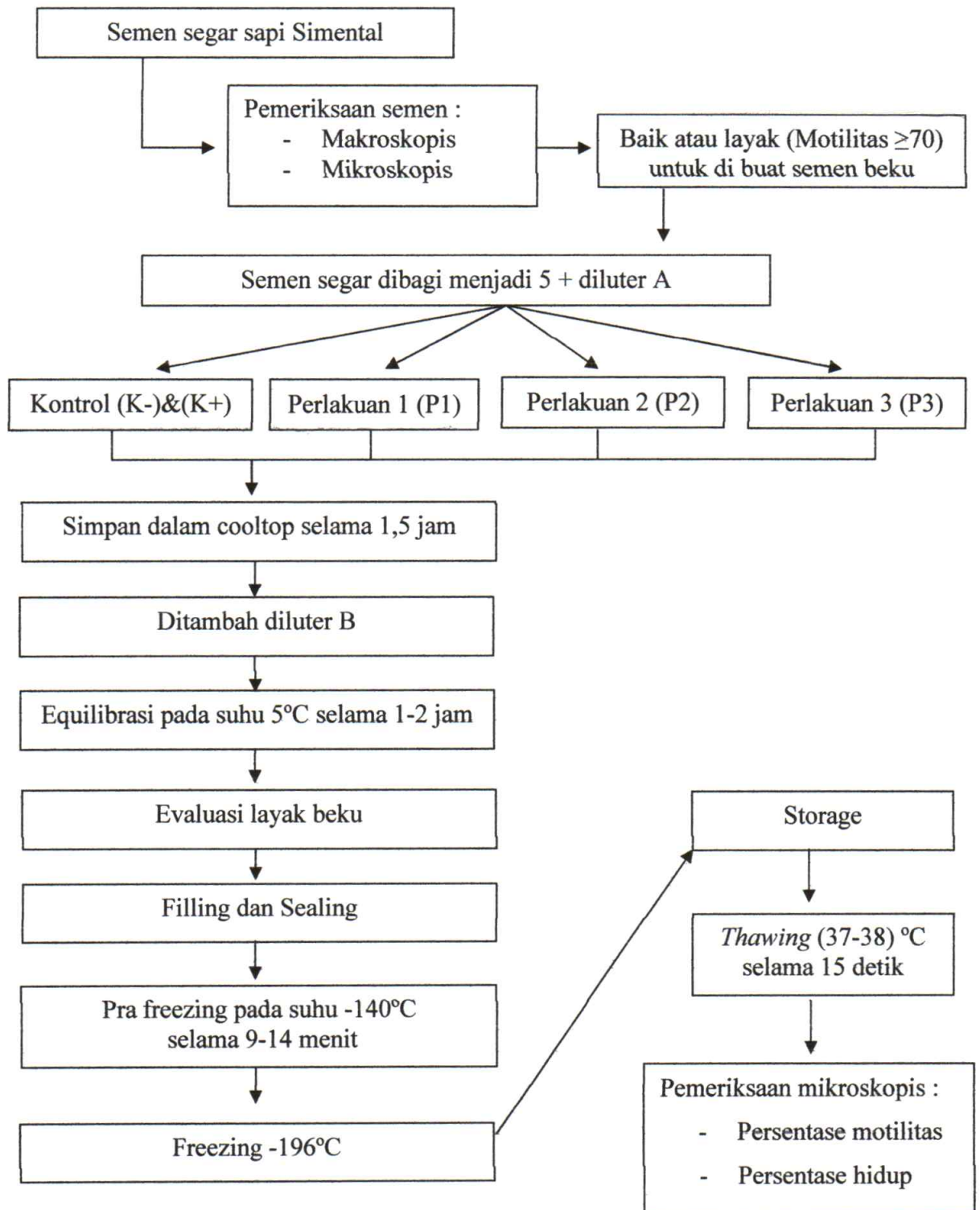
Pemeriksaan persentase hidup spermatozoa *post thawing* dengan membuat preparat ulas *Eosin Negrosin*. Straw yang akan diperiksa dimasukkan ke dalam air hangat pada suhu (37-38)°C didalam gelas beker selama 15 detik. Gunting straw pada ujungnya dan sedikit bagian tengahnya. Teteskan semen dan *Eosin Negrosin* masing-masing satu tetes ke atas obyek glas yang telah kita bersihkan dengan alkohol 70%, secepat mungkin kedua larutan tersebut dicampur hingga homogen kemudian dibuat preparat ulas setipis mungkin dan dipanaskan diatas nyala api maksimal 15 detik. Setelah kering diperiksa pada mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Penilaian jumlah sel spermatozoa hidup berdasarkan banyaknya jumlah

sel yang tidak menyerap zat warna *Eosin Negrosin*. semen dengan nilai fertilitas yang baik dan layak untuk diinseminasikan harus mengandung minimal 55% spermatozoa hidup, Jumlah spermatozoa yang di hitung minimal 100 spermatozoa (Hardijanto dkk., 2010).

3.3.3 Pemeriksaan Presentase Motilitas Spermatozoa sapi Simental *Post Thawing*.

Pemeriksaan presentase motilitas spermatozoa *post thawing* dilakukan dengan memasukkan straw ke dalam air pada suhu (37-38)°C didalam gelas beker selama 15 detik. Gunting straw pada ujungnya dan sedikit bagian tengahnya. Teteskan satu tetes ke atas obyek glas yang telah kita bersihkan dengan alkhol 70%, kemudian di tutup dengan cover glas dan di periksa pada mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Semen dengan nilai fertilisasi yang baik dan layak untuk diinseminasikan harus mengandung minimal 40% spermatozoa motil (Hardijanto dkk., 2010).

3.4. Skema Jalannya Penelitian



3.5. Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah pre-post test control group. Semua perolehan data yang terdiri dari data presentse hidup dan motilitas spermatozoa disusun dalam bentuk tabel, kemudian dianalisis dengan Uji Anova satu arah, Bila terjadi perbedaan yang bermakna pada perlakuan maka dilakukan uji lanjutan menggunakan Uji Jarak Duncan (Kusriningrum, 2012). Penghitungan statistik dilakukan dengan menggunakan SPSS 15.0 *for windows*.