

687
Sp.



LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA
TAHUN ANGGARAN 2004

**PENGARUH PENCUCIAN (SWIM UP) TERHADAP PROSES
PEMBEKUAN AIR MANI KAMBING (TYPE PELLET) DENGAN
BERBAGAI KONSENTRASI GLYCEROL**

Peneliti:

Drh. Suherni Susilowati, M.Kes.
Drh. Indah Norma Triana, M.Si.
Drh. Tatik Hernawati, M.Si.

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi
DIP Nomor : 004/XXIII/1/--/2004 Tanggal 3 Januari 2004
Kontrak Nomor : 108/P2IPT/DPPM/DM, SKW/III/2004
Ditjen Dikti, Depdiknas
Nomor Urut : 28.

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Nopember, 2004



**LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA
TAHUN ANGGARAN 2004**

**PENGARUH PENCUCIAN (SWIM UP) TERHADAP PROSES
PEMBEKUAN AIR MANI KAMBING (TYPE PELLET) DENGAN
BERBAGAI KONSENTRASI GLYCEROL**

Peneliti:

**Drh. Suherni Susilowati, M.Kes.
Drh. Indah Norma Triana, M.Si.
Drh. Tatik Hernawati, M.Si.**

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi

DIP Nomor : 004/XXIII/1/--/2004 Tanggal 3 Januari 2004

Kontrak Nomor : 108/P2IPT/DPPM/DM, SKW/III/2004

Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut : 28.

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Nopember, 2004



LEMBAGA PENELITIAN

1. Puslit Pembangunan Regional
2. Puslit Obat Tradisional
3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584)
4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)
5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720)
6. Puslit/Studi Wanita (5995722)
7. Puslit Olah Raga
8. Puslit Bioenergi
9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719)
10. Puslit Kesehatan Reproduksi

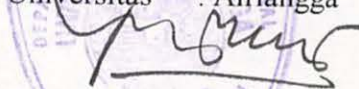
Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax (031) 5962055
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

LEMBAGA IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR
HASIL PENELITIAN DOSEN MUDA

1. a. Judul Penelitian	: PENGARUH PENCUCIAN TERHADAP PROSES PEMBEKUAN AIR MANI KAMBING (TYPE PELLET) DENGAN BERBAGAI KONSENTRASI GLISEROL
b. Kategori	: I/II/III
2. Ketua Peneliti	:
a. Nama Lengkap dan Gelar	: Suherni Susilowati, MKes, Drh.
b. Jenis Kelamin	: Perempuan
c. Pangkat/Golongan/NIP	: Pembina/IVA/131 653 734
d. Jabatan Fungsional	: Lektor Kepala
e. Fakultas/Puslit./Jurusan	: Kedokteran Hewan
f. Univ./Inst./Akademi	: Universitas Airlangga
g. Bidang Ilmu yang Diteliti	: Biologi Reproduksi
3. Jumlah Tim Peneliti	: 3 Orang
4. Lokasi Penelitian	: Lab. Inseminasi Buatan FKH UNAIR
5. Kerjasama dengan Institusi Lain	:
a. Nama Instansi	:
b. Alamat	:
6. Masa Penelitian	: 5 Bulan
7. Biaya Yang Diperlukan	: Rp. 6.000.000,00 (Enam Juta Rupiah)

Surabaya, September 2004

Mengetahui
Dekan Fak. Kedokteran Hewan
Universitas : Airlangga


Prof. Dr. Ismudiono, MS, Drh.
NIP. 130 687 297

Ketua Peneliti,


Suherni Susilowati, Mkes, Drh
NIP. 131 653 734

Menyetujui :

Ketua Lembaga Penelitian Unair,


Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S
NIP. 130 701 125

RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian : Pengaruh Pencucian Terhadap Proses Pembekuan Air Mani Kambing
(Type Pellet) Dengan Berbagai Konsentrasi Glycerol

Ketua Peneliti : Suherni Susilowati

Anggota Peneliti : Indah Norma Triana
Tatik Hernawati

Fak/Puslit : Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Sumber Biaya : DP3 M – LITMUD 2004
No. 559/JO3.2/PG/2004
Tanggal 21 Mei 2004

Semen beku adalah cara untuk menyimpan air mani dalam jangka waktu lama tanpa mengurangi kesuburannya (Evans dan Maxwell, 1987). Banyak keuntungan yang didapat dari memakai semen beku antara lain, dapat disimpan lama, memungkinkan perkawinan yang selektif dimana saja dan setiap waktu, mencegah penyakit kelamin menular pada hewan betina dan pejantan yang diperlukan diperkecil jumlahnya (Hafez, E.S.E, 1992). Semen beku mempunyai pengertian sebagai semen yang disimpan pada suhu dibawah titik beku (-79°C sampai -196°C). Semen yang telah diencerkan bila dibekukan akan terbentuk kristal-kristal es, spermatozoa yang demikian akan mengalami kematian. Oleh karena itu dalam bahan pengencer harus ditambah gliserol. Gliserol apabila ditambahkan terlampau tinggi maka akan bersifat racun bagi kehidupan spermatozoa di dalam bahan pengencer (Hardijanto dan Hardjopranto, 1994). Air mani kambing yang digunakan disini harus mempunyai kualitas yang memuaskan karena diantaranya harus progresif dan konsentrasinya lebih dari 1.000.000/ml. Air mani terdiri dari spermatozoa dan seminal plasma, maka untuk mendapatkan spermatozoa yang motil harus dipisahkan seminal plasmanya karena di dalam seminal plasma banyak mengandung bahan-bahan yang menghambat, mengandung bakteri, leukosit dan toksin. Metode pencucian merupakan metode pemisahan spermatozoa dengan seminal plasma (Arsyat dan Hayati, 1992).

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti ingin meneliti pengaruh pencucian air mani kambing pada proses pembekuan (type pellet) dengan berbagai konsentrasi gliserol.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing setelah dilakukan pencucian pada proses pembekuan dengan berbagai konsentrasi gliserol.

Manfaat penelitian ini diharapkan memperoleh semen beku yang berkualitas baik sehingga apa yang diharapkan peternak tercapai dan meningkatkan produksi dan reproduksi ternak.

Hipotesa dari penelitian ini adalah terdapat perbedaan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing setelah dilakukan pencucian pada proses pembekuan dengan berbagai konsentrasi gliserol

Dalam penelitian ini menggunakan semen atau air mani yang ditampung dari kambing jantan. Setelah ditampung dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis, kemudian dilakukan pencucian dengan menambahkan medium BO+BSA+ kafein dan disentrifus dengan kecepatan 1800 rpm selama 10 menit. Selanjutnya peletnya ditambah dengan bahan pengencer susu plus kuning telur dan ditambah dengan gliserol 7%, 10% dan 14% dan selanjutnya dibuat semen beku (type pellet), kemudian dilakukan thawing dan diperiksa kualitasnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas maupun daya tahan hidup spermatozoa kambing pada kelompok pencucian dan tanpa pencucian terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Antara kelompok perlakuan gliserol juga terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Antara kelompok pencucian dan gliserol tidak terdapat perbedaan ($p > 0,05$).

Dari hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing dipengaruhi oleh pencucian dan konsentrasi gliserol.

SUMMARY

The title of this research was the effect of washing to frozed semen of goats (Pellet Type) with kind glycerol concentration. The aim of this research was observe the motility and viability of goats sperm after washing on freeze process with kind of glycerol concentration. Collection of semen by using artificial vagina from local male goats and then observe the motility and viability of sperm. This research about washing of semen divided into two groups and glycerol concentration divided into three groups. Semen washed with BO + BSA + kafein medium, centrifuged and then plus milk egg yolk diluent and then plus gliserol 7%, 10% and 14%, then equilibration for one hour and then frozed in CO₂ solid. The result show that percentage of the motility and viability of sperm has significant different in the group washing and not washing ($p > 0,05$). The percentage of motility and viability of sperm has significant different in the group glycerol ($p > 0,05$).

KATA PENGANTAR

Pudji syukur kita panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah Nya sehingga dapat diselesaikannya penulisan hasil laporan penelitian dengan judul “Pengaruh Pencucian Terhadap Proses Pembekuan Air Mani Kambing (Type pellet) Dengan Berbagai Konsentrasi Glycerol “

Pada kesempatan ini disampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Puruhito Prof.Dr.Med.dr. atas kepercayaannya mengabdikan proposal penelitian ini.
2. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Prof.Dr.H. Sarmanu,MS, atas kelancaran administrasi mulai dari proses pengajuan proposal sampai dengan pelaporan hasil penelitian ini.
3. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof.Dr. Ismudiono,MS,Drh. atas kesempatan yang diberikan untuk melakukan penelitian ini.

Sebagai suatu karya manusia, sudah barang tentu ada beberapa kekurangan di beberapa laporan ini. Saran dan kritik yang konstruktif sangat diharapkan untuk kematangan peneliti sendiri agar laporan ini memberi manfaat kepada pihak-pihak yang berkepentingan.

Surabaya , September 2004

Peneliti

v

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Masalah	2
I.2. Rumusan Masalah	3
I.3. Hipotesa Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1. Alat Reproduksi Kambing Jantan	4
II.2. Air Mani Kambing	5
II.3. Spermatozoa	6
II.4. Metabolisme Spermatozoa	8
II.5. Semen Beku (Air mani Beku).....	8
II.6. Pencucian Spermatozoa	10
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	12
III.1. Tujuan Penelitian	12
III.2. Manfaat Penelitian	12
BAB IV METODE PENELITIAN	13
IV.1. Tempat Dan Waktu Penelitian	13
IV.2. Alat-alat Penelitian	13
IV.3. Bahan-bahan Penelitian	13
IV.4. Prosedur Penelitian	13
IV.5. Peubah Yang Diamati Setelah Perlakuan	15
IV.6. Analisa Data	15
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	16
V.1. Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis Air Mani Kambing	16
V.2. Persentase Motilitas Spermatozoa Setelah dibekukan	18
V.3. Persentase Spermatozoa Hidup Setelah Dibekukan	19
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	21
DAFTAR PUSTAKA	22

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Pemeriksaan Makroskopis Air mani	16
Tabel 2. Pemeriksaan Mikroskopis Air Mani	17
Tabel 3. Rata-rata Persentase Motilitas Spermatozoa Setelah Dibekukan	18
Tabel 4. Rata-rata Persentase Spermatozoa Hidup Setelah Dibekukan	19

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Uji F Motilitas Spermatozoa Setelah Dibekukan	24
Lampiran 2. Uji F Persentase Hidup Spermatozoa Setelah Dibekukan...	27

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Masalah

Semen beku adalah cara untuk menyimpan air mani dalam jangka waktu lama tanpa mengurangi kesuburannya (Evans dan Maxwell, 1987). Banyak keuntungan yang didapat dari memakai semen beku antara lain, dapat disimpan lama, memungkinkan perkawinan yang selektif dimana saja dan setiap waktu, mencegah penyakit kelamin menular pada hewan betina dan pejantan yang diperlukan diperkecil jumlahnya (Hafez, E.S.E, 1992). Semen beku mempunyai pengertian sebagai semen yang disimpan pada suhu dibawah titik beku (- 79° C s/d - 196° C). Semen yang diencerkan bila dibekukan akan terbentuk kristal-kristal es, spermatozoa yang demikian akan mengalami kematian (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Pengawetan semen secara kriogenik memiliki dampak yang kurang menguntungkan terhadap spermatozoa didalamnya. Berdasarkan penelitian, proses pembekuan semen tersebut akan menyebabkan kerusakan spermatozoa akibat perubahan tekanan osmotik dan pembentukan kristal es. Oleh karena itu dalam pembekuan semen, selain harus menggunakan larutan yang benar-benar mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa, ke dalam bahan pengencer tersebut harus pula ditambahkan bahan yang mampu menekan kerusakan spermatozoa seminimal mungkin pada saat mengalami pembekuan , bahan yang biasa dipakai adalah gliserol (Toelihere, 1985 ; Evans dan Maxwell, 1987). Sesuai dengan penelitian Soeparna (2004) diantara bahan krioprotektan yang diteliti yaitu gliserol, DMSO (Dymethyl Sulfoxide) dan laktosa dengan metode freezing lambat dan cepat, yang paling tinggi motilitas dan recovery

rately adalah krioprotektan gliserol dengan freezing lambat. Gliserol apabila ditambahkan terlampau tinggi maka akan bersifat racun bagi kehidupan spermatozoa di dalam bahan pengencer (Hardijanto dan Hardjopranto, 1994).

Semen kambing yang digunakan dalam penelitian ini harus mempunyai kualitas yang memuaskan karena diantaranya harus progresif dan konsentrasinya lebih dari 1.000.000 / ml. Semen atau air mani terdiri dari spermatozoa dan seminal plasma , maka untuk mendapatkan spermatozoa yang motil harus dipisahkan seminal plasmanya, karena di dalam seminal plasma banyak mengandung bahan-bahan yang menghambat, mengandung bakteri, leukosit dan toksin. Metode pencucian merupakan metode pemisahan spermatozoa dengan seminal plasma (Arsyat dan Hayati, 1992). Pada penelitian ini peneliti melakukan pencucian sperma dengan tujuan memisahkan spermatozoa yang motil dari seminal plasma karena di dalam seminal plasma mengandung substansi-substansi yang dapat mempengaruhi kemampuan fertilisasi spermatozoa (Hinting,A, 1989).Seperti yang dilaporkan oleh Dasrul (1999), hasil pencucian spermatozoa sapi dengan medium Earle's Salt Balance Solution (EBSS) yang mengandung 5% serum sapi birahi selain dapat meningkatkan motilitas spermatozoa juga dapat menginduksi terjadinya kapasitasi spermatozoa dan meningkatkan persentase oosit yang dibuahi.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti ingin meneliti pengaruh pencucian air mani kambing pada proses pembekuan (Type pellet) dengan berbagai konsentrasi gliserol.

I.2. Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat perbedaan motilitas spermatozoa pada air mani kambing yang dilakukan pencucian dan tanpa pencucian pada proses pembekuan dengan berbagai konsentrasi gliserol
2. Apakah terdapat perbedaan daya tahan hidup spermatozoa pada air mani kambing yang dilakukan pencucian dan tanpa pencucian pada proses pembekuan dengan berbagai konsentrasi gliserol.

I.3. Hipotesa Penelitian

1. Terdapat perbedaan motilitas spermatozoa pada air mani kambing yang dilakukan pencucian dan tanpa pencucian pada proses pembekuan dengan berbagai konsentrasi gliserol.
2. Terdapat perbedaan daya tahan hidup spermatozoa pada air mani kambing yang dilakukan pencucian dan tanpa pencucian pada proses pembekuan dengan berbagai konsentrasi gliserol.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Alat Reproduksi Kambing Jantan

Alat reproduksi kambing jantan terdiri dari tiga komponen, yaitu testes, kelenjar asesoris beserta salurannya, dan alat kopulatoris yaitu penis. Testes merupakan alat kelamin primer terutama berisi masa tubulus yang melingkar-lingkar dan berbentuk oval (Toelihere, 1981). Fungsi testes sebagai alat reproduksi yaitu memproduksi gamet jantan (spermatozoa) sedangkan secara endokrinologis, testes memproduksi hormon seks jantan (androgen), kedua fungsi ini saling berhubungan dan produksi spermatozoa tergantung dari produksi androgen (Evans dan Maxwell, 1987).

Testes merupakan alat reproduksi primer hewan jantan, pada hewan menyusui lokasi testes yang wajar terdapat dalam kantung di luar tubuh yang disebut skrotum. Skrotum sebagai pembungkus testes memberikan perlindungan terhadap gangguan luar. Saluran-saluran alat kelamin merupakan alat reproduksi sekunder yang berasal dari testes menuju ke vasa efferentis, epididimis, vasa deferentia dan penis dengan saluran yang merupakan saluran bersama tempat dialirkannya urine dan plasma air mani beserta spermatozoa. Kelenjar pelengkap terdiri dari kelenjar prostat, vesikula seminalis, dan kelenjar bulbourethralis atau kelenjar cowper (Toelihere, 1981).

Spermatozoa diproduksi pertama kali waktu pubertas, produksi ini terjadi di dalam pembuluh-pembuluh di testes. Sesudah melewati pembuluh testes spermatozoa yang terbentuk akan melalui rete testes, ductus efferentia dan urethra. Sekresi kelenjar asesoris yaitu prostat, vesikula seminalis dan bulbourethralis membentuk sebagian besar plasma air mani. Epididimis adalah pembuluh darah yang muncul dari bagian dorsal

testes, yang berasal dari ductus efferentia. Epididimis terdiri dari tiga bagian yaitu kepala, badan dan ekor (Salisbury dan Van Demark, 1985). Fungsi epididimis ada empat yaitu transport, konsentrasi, maturasi, penyimpanan spermatozoa sedangkan epitelnya untuk absorpsi dan sebagian sekretoris (Toelihere, 1981).

II.2. Air Mani Kambing

Air mani atau semen adalah hasil sekresi kelamin jantan secara normal yang diejakulasikan ke saluran kelamin betina sewaktu kopulasi atau ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan inseminasi buatan (Hafez, 1993). Air mani kambing terdiri dari dua bagian yaitu spermatozoa dan plasma semen. Pada kambing plasma semen mengandung gliseril fosforil kolin dalam kadar yang tinggi disbanding sapi, babi dan kuda. Semen kambing mengandung spermatozoa sebanyak sepertiga bagian dan dua bagian adalah plasma semen (Hardjopranjoto, 1981).

Plasma semen mengandung persenyawaan-persenyawaan organik termasuk fruktosa, asam sitrat, sorbitol, inositol, gliseril fosforil cholin, ergotionin, phospholipid, prostaglandin, asam amino dan asam oksalat. Fruktosa merupakan karbohidrat yang siap dicerna oleh spermatozoa dan merupakan sumber energi utama. Plasma semen kambing mengandung enzim fosfolipase A dari kelenjar bulboethralis yang dapat mengkoagulasikan lesitin dari kuning telur pada bahan pengencer (Evans dan Maxwell, 1987).

II.3. Spermatozoa

Spermatozoa merupakan sel kecil, kompak dan sangat khas, yang tidak bertumbuh atau membagi diri. Secara morfologis spermatozoa terdiri dari kepala yang membawa materi hereditas paternal, dan ekor yang mengandung sarana penggerak. Spermatozoa tidak memegang peranan apapun dalam fisiologi hewan jantan yang menghasilkan dan hanya melibatkan diri dalam pembuahan di dalam alat kelamin betina untuk membentuk individu baru yang sejenis dari mana ia berasal (Toelihere, 1981).

Menurut Frandson (1992), setiap spermatozoa terdiri dari kepala, bagian tengah (midpiece) dan ekor. Inti mempunyai ukuran kira-kira sepertiga panjang kepala mengandung bahan genetik yang dibutuhkan pada saat pembuahan ovum. Inti spermatozoa haploid (X) mengandung sebanyak separuh dari jumlah kromosom inti diploid ($2X$) pada sel somatik. Bagian tengah digambarkan sebagai pusat tenaga spermatozoa karena adanya mitokondria di dalamnya. Ekor spermatozoa menyerupai flagellum. Dua sentriol terletak dalam bagian tengah (midpiece). Dari sini fibril-fibril yang serupa dengan silia terentang dalam ekor. Terdapat dua fibril sentral yang dikelilingi oleh sebuah cincin yang terdiri dari 9 pasangan fibril perifer. Fibril-fibril ini bersifat kontraktile dan menimbulkan gerakan ekor spermatozoa. Fibril ini merupakan kerangka untuk berkontraksi dan berelaksasi, sama seperti kerjanya aktomiosin dari urat daging pada tubuh, yang menyebabkan gerakan ekor seperti cambuk dan mendorong spermatozoa bergerak di dalam cairan. Bagian leher juga mengandung sentriol proksimal sebagai pusat kinetik untuk mengawasi koordinasi kontraksi selaput fibril yang menghasilkan gerak. Bagian badan memiliki panjang 8-10 mikron, tetapi tebalnya hanya 1 mikron. Bagian badan ini banyak mengandung enzim dan bahan lipoid.

Bagian ini berakhir pada cincin sentriol yang kemungkinan berfungsi mengkoordinir rentetan kontraksi-kontraksi dari serabut-serabut fibril itu. Ekornya yang berkurang garis tengahnya secara bertahap dari sambungan dengan bagian badan dicincin sentriol ke ujungnya, kira-kira panjangnya 40-44 mikron (Rao dan Hart, 1978).

Banyak abnormalitas terdapat pada spermatozoa waktu perkembangannya secara morfologik dan waktu penanganan pada waktu dan sesudah pengambilan air mani. Bentuk-bentuk abnormalitas primer spermatozoa terdapat di dalam testes karena kesalahan spermatogenesis atau kesalahan spermiogenesis, disebabkan oleh faktor keturunan, penyakit, defisiensi makanan dan pengaruh-pengaruh lingkungan yang jelek. Kejutan yang disebabkan oleh suhu yang dingin (cold shock) dan tekanan osmosa (osmotic shock) terdapat spermatozoa yang diejakulasikan dapat menyebabkan perubahan-perubahan pada waktu pembentukan spermatozoa yang dapat menyebabkan abnormalitas primer (Mercier, 1984).

Spermatozoa yang memiliki abnormalitas morfologik, kemungkinan tidak subur, Kesuburan kambing jantan tergantung pada proporsi spermatozoa yang abnormal terhadap spermatozoa normal di dalam air mani. Meski demikian beberapa spermatozoa yang memiliki morfologi normal dapat kekurangan kandungan DNA yang menyebabkan berkurangnya kesuburan.

II.4. Metabolisme spermatozoa

Metabolisme spermatozoa didasarkan atas jalur kimiawi proses penggunaan energi yang dipakai untuk pergerakan spermatozoa. Beberapa bahan yang terdapat di dalam plasma semen merupakan pemacu metabolisme (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Motilitas dapat dijadikan patokan dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan. Ekor spermatozoa mengandung sarana untuk motilitas. Bagian tengah ekor merupakan tempat memberi energi untuk kehidupan dan pergerakan spermatozoa oleh proses-proses metabolisme yang berlangsung di dalam mitokondria. Sekurang kurangnya ditemukan empat bahan organik di dalam semen yang dapat dipakai secara langsung atau tidak langsung sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup motilitasnya. Bahan tersebut adalah fruktosa, sorbitol, gliseril fosforil kholin dan plasmalogen (Toelihere, 1985).

II.5. Semen Beku (Air Mani Beku)

Semen beku atau air mani beku mempunyai pengertian yaitu air mani yang disimpan pada suhu -79°C sampai dengan -196°C . Jika suatu larutan dibekukan , pelarutnya yaitu air akan membeku menjadi kristal es sehingga spermatozoa akan mati. Menurut Smith, kematian ini terjadi terutama pada suhu kritis yaitu antara -15°C sampai dengan -30°C air mani akan membeku pada suhu -53°C atau lebih rendah sedikit, tetapi kristal-kristal belum terbentuk secara sempurna dan akan terbentuk sempurna bila suhu diturunkan sampai kira-kira $-1,7^{\circ}\text{C}$ (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Air mani beku mempunyai keuntungan dan kerugian. Keuntungan air mani beku adalah tersedianya air mani yang dikehendaki setiap waktu dimana merupakan anugrah bagi peternak yang bercita-cita membentuk peternakan, memungkinkan penggunaan air mani seekor hewan secara maksimal selama hidupnya, biaya transportasi lebih murah, dan penyebaran bibit ternak yang baik bukan merupakan persoalan yang sulit. Adapun kerugiannya adalah pemakaian air mani beku secara besar-besaran akan membatasi jumlah pejantan yang dipakai kira-kira 30 % spermatozoanya tidak tahan terhadap pembekuan, dalam proses pembekuan antara 20% sampai dengan 80% (rata-rata 50%) spermatozoa akan mati sehingga jumlah sel-sel kelamin jantan tersebut perlu dipertinggi untuk setiap dosis inseminasinya. Air mani beku mahal harganya, jika kesehatan pejantan tidak dipertahankan maka air mani beku mempunyai potensi untuk menyebarkan penyakit viral dan bacterial (Partodihardjo, 1992).

Spermatozoa bila berada pada suhu dibawah 0°C akan terjadi kejutan dingin (cold shock), hal ini menyebabkan spermatozoa kehilangan energi gerak atau motilitasnya. Molekul-molekul intraseluler dan ion-ion serta meningkatkan permeabilitas dari membrannya. Kejadian kejutan dingin dapat dihindari dengan penambahan gliserol pada bahan pengencer sebab dapat menurunkan titik beku cairan. Penambahan ini bertujuan untuk mencegah terjadinya kristal-kristal es dan akan menurunkan konsentrasi elektrolit intraseluler air mani (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Berhasilnya proses pembekuan air mani pada suhu -79°C sampai -196°C dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain, banyaknya gliserol yang dipakai pada bahan pengencer, apabila pemberiannya terlampau tinggi maka akan bersifat racun bagi

kehidupan air mani di dalam bahan pengencer. Cara penambahan gliserol pada air mani di dalam pengencer yang berhubungan dengan waktu equilibrasi yaitu waktu yang dibutuhkan air mani untuk mengadakan keseimbangan dengan bahan pengencer yang mengandung gliserol pada jangka waktu tertentu pada suhu di atas titik beku sebelum proses pembekuan dan cara pengenceran air mani serta kecepatan proses pendinginan air mani di dalam bahan pengencer yang sesuai untuk jarak suhu yang kritis pada waktu penurunan suhu maupun pada suhu penyimpanan (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Menurut Perry (1969) salah satu bentuk air mani beku adalah bentuk pellet. Bentuk pellet menyerupai butiran-butiran kecil, dalam bentuk ini air mani membeku dalam waktu kurang lebih dua setengah menit. Air mani membeku pada balok-balok es kering (CO₂ padat) yang sebelumnya dilubangi dengan menggunakan alat sehingga terbentuk lubang-lubang.

II.6. Pencucian Spermatozoa

Menurut Berger, dkk (1989); Cohen, dkk (1985) seperti yang dikutip Hinting (1989) menyatakan bahwa plasma semen memuat bahan-bahan atau faktor-faktor yang dapat merusak daya pembuahan spermatozoa. Plasma semen dapat juga mengandung mikroorganisme yang mencemari sistem kultur dan juga limfosit yang menghasilkan sekresi beracun yang menghambat pembuahan.

Pencucian spermatozoa dilakukan pada suhu kamar dalam media fisiologis. Media fisiologis adalah media yang mempunyai sifat sebagai buffer dan mengandung

bahan sumber energi yang baik untuk metabolisme spermatozoa, misalnya Phosphate Buffer Saline (PBS) atau Na Cl fisiologis (Harrison dan White, 1972).

Metode pencucian dengan sentrifugasi yang biasa digunakan sebagai prosedur baku dalam program pembuahan in vitro terdiri atas pengenceran cairan semen 0,5 ml dengan 5 ml media fisiologis. Suspensi berupa cairan semen dan media fisiologis tersebut disentrifus pada 1800 rpm selama 10 menit dalam suhu ruangan. Selanjutnya supernatan di pisahkan dan proses ini diulangi sekali lagi dengan media fisiologis. Setelah sentrifus kedua, sedimen terakhir di lapisi dengan 1 – 2 ml media fisiologis dan lapisan atas dipisahkan setelah 30-60 menit di inkubasi dalam incubator CO₂ 5% dalam campuran gas dengan suhu 37° C (Hinting, 1989).

Pencucian secara sentrifugasi sendiri penting untuk menghasilkan sedimen yang mengandung spermatozoa dengan motilitas yang tinggi (Harrison dan White, 1972). Tujuan dilakukan sentrifugasi adalah membuang elemen plasma semen dari permukaan spermatozoa dan pada waktunya, memungkinkan terjadinya pembentukan vesikulasi pada membran kepala spermatozoa yang menghasilkan reaksi akrosom (Hunter, 1995).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

III.1. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui motilitas spermatozoa kambing setelah dilakukan pencucian pada proses pembekuan dengan berbagai konsentrasi gliserol
2. Untuk mengetahui daya tahan hidup spermatozoa kambing setelah dilakukan pencucian pada proses pembekuan dengan berbagai konsentarsi gliserol

III.2. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan memperoleh semen beku yang berkualitas baik sehingga apa yang diharapkan peternak tercapai dan meningkatkan produksi dan reproduksi ternak khususnya pada kambing.

BAB IV

METODE PENELITIAN

IV.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di laboratorium Inseminasi Buatan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, yang dilaksanakan selama 5 bulan yaitu bulan Mei sampai bulan September 2004.

IV.2. Alat –alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari : vagina buatan untuk kambing, tabung skala, tabung sentrifus, gelas obyek, gelas penutup termometer pipet, Bunsen, kertas lakmus, timbangan mikro, Haemocytometer Thoma, batang pengaduk, beker glass, tabung reaksi, Erlenmeyer, spuit disposable 2,5 ml, 5 ml, gelas ukur, alat pencetak pellet, mikroskop dan sentrifugasi.

IV.3. Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : semen kambing, air susu masak , kuning telur, medium BO, BSA dan kafein, penisilin , streptomisin, larutan eosin negrosin, Na Cl fisiologis, alcohol 70%, gliserol 100% dan CO₂ padat.

IV.4. Prosedur Penelitian

Semen atau air mani ditampung dari kambing jantan dengan menggunakan vagina buatan. Sebelum ditampung semennya, kambing jantan diadaptasikan lebih dahulu selama \pm 2 minggu.

Semen yang diperoleh diperiksa secara makroskopis meliputi : volume, bau, warna, pH dan konsistensi serta pemeriksaan mikroskopis meliputi gerakan masa, gerakan individu, persentase hidup atau mati, konsentrasi dan resistensi test. Bila kualitas semen tersebut memuaskan yaitu, P/+++/D yang artinya gerakan individu progresif, membentuk gelombang besar dan banyak serta konsentrasinya densum yang artinya konsentrasi > 1 juta/ml, maka selanjutnya semen dibagi dua yaitu semen dimasukkan ke dalam tabung sentrifus tanpa sentrifugasi dan yang satu dilakukan penambahan medium BO, BSA + kafein sebanyak 3 ml kemudian disentrifus dengan kecepatan 1800 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifus cairan bagian atas dibuang dan peletnya diperiksa meliputi motilitas dan daya tahan hidupnya kemudian ditambah dengan bahan pengencer susu plus kuning telur dengan konsentrasi gliserol 7 % (Perlakuan I), konsentrasi gliserol 10% (Perlakuan II), konsentrasi gliserol 14% (Perlakuan III) . Semen yang tanpa sentrifugasi juga ditambah dengan bahan pengencer susu plus kuning telur dengan konsentrasi gliserol 7% (Perlakuan I), konsentrasi 10% (Perlakuan II), konsentrasi gliserol 14% (Perlakuan III). Penambahan bahan pengencer yang mengandung gliserol ditambahkan secara perlahan-lahan kedalam tabung yang berisi semen pada suhu 5°C, kemudian dimasukkan lemari es selama 1 jam yang disebut dengan equilibrasi. Setelah waktu equilibrasi selesai, maka semen atau air mani ditetaskan pada CO₂ padat dan dibiarkan selama 3 menit sampai terbentuk butiran-butiran yang disebut dengan semen beku type pellet. Selanjutnya dilakukan thawing dan diperiksa motilitas dan daya tahan hidupnya.

IV.5. Peubah Yang Diamati Setelah Perlakuan

Pemeriksaan Motilitas

Cara pemeriksaan motilitas adalah dengan meneteskan semen domba diatas gelas obyek cekung kemudian ditutup dengan gelas penutup. Preparat dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Penilaian dilakukan berdasarkan persentase gerakan spermatozoa aktif (bergerak progresif) disbanding dengan seluruh spermatozoa yang tampak dalam lapangan pandang (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Pemeriksaan Persentase Hidup Spermatozoa

Cara pemeriksaan hidup mati adalah meneteskan satu tetes zat warna berupa eosin negrosin dan satu tetes semen diatas gelas obyek yang bersih. Kemudian dicampur sampai homogen kemudian dibuat preparat ulas, selanjutnya difiksasi diatas nyala api dan dilakukan pemeriksaan dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Cara penilaian adalah membandingkan spermatozoa yang berwarna merah (mati) dan yang tidak berwarna (hidup) (Salisbury dan Van Demark, 1985).

IV.5. Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan Anava pola Faktorial, apabila terdapat perbedaan di antara perlakuan maka selanjutnya diuji dengan uji BNT 5% (Santoso dan Fandy, 2001).

BAB V**HASIL DAN PEMBAHASAN****V.1. Pemeriksaan Makroskopis Dan Mikroskopis Air Mani Kambing**

Hasil pemeriksaan air mani yang ditampung dari pejantan kambing yang akan dipakai untuk semen beku dalam penelitian ini dapat dilihat pada table 1 berikut:

Tabel 1. Pemeriksaan Makroskopis

Penampungan	Volume (ml)	Warna	Bau	pH	Konsistensi
I	1,20	Krem	Khas	6,5	Kental
II	1,90	Krem	Khas	6,6	Kental
III	1,50	Krem	Khas	6,4	Kental
IV	1,70	Krem	Khas	6,5	Kental
V	1,40	Krem	Khas	6,4	Kental
VI	1,60	Krem	Khas	6,5	Kental
Rata – rata	1,55			6,5	

Volume hasil penampungan air mani dalam penelitian ini berkisar 1,20 sampai 1,90 dengan rata-rata 1,55 ml . Dalam pemeriksaan warna, bau, pH dan konsistensi tidak terdapat penyimpangan. Warna air mani adalah normal yaitu berwarna krem. Bau air mani khas untuk kambing dan tidak berbau busuk atau anyir, pH air mani berkisar 6,5 sampai 6,6 dengan rata-rata 6,48. Konsistensi air mani yang diperoleh adalah kental berarti air mani tersebut konsentrasinya tinggi.

Hasil pemeriksaan mikroskopis air mani yang ditampung dari pejantan kambing yang akan dipakai dalam penelitian ini dapat dilihat pada table 2 berikut :

Tabel 2 : Pemeriksaan Mikroskopis

Penampungan	Konsentrasi (juta/ml)	Gerakan massa	Gerakan Individu	Hidup %
I	2400	+++	p	88
II	2350	+++	p	89
III	2370	+++	p	93
IV	2550	+++	p	92
V	2380	+++	p	92
VI	2450	+++	p	90
Rata – rata	2417			90,6

Konsentrasi air mani yang didapat berkisar antara 2350 sampai 2550 juta/ml dengan rata – rata 2417 juta/ml. Gerakan massa spermatozoa sangat baik (+ + +) dan gerakan individu spermatozoa semua sampel adalah progresif (P), ini berarti spermatozoa bergerak aktif maju ke depan. Persentase spermatozoa yang hidup dari kambing dalam penelitian ini berkisar 88 – 92% dengan rata – rata 90,6%. Menurut Hafez (1993) gerakan massa yang masih layak dipakai untuk inseminasi buatan berkisar antara D/+ + +/P sampai D/+ +/P, jadi (+ + +) merupakan kualitas air mani yang baik untuk digunakan inseminasi buatan. Demikian pula dengan gerakan individunya ternyata dalam penelitian ini didapatkan progresif semuanya, ini berarti sel spermatozoanya secara individu bergerak aktif maju ke depa. Pergerakan yang baik ini memungkinkan sel spermatozoa dapat mencapai sel ovum di dalam saluran oviduk dalam waktu yang relatif singkat, sehingga memungkinkan terjadinya pembuahan yang sempurna. Pada proses pembuahan mani beku ditekankan pada gerakan (motilitas) spermatozoasetelah pengenceran.

Bila hasilnya sesuai dengan standart maka dilanjutkan untuk proses pembekuan (Anonimus, 1995). Untuk air mani kambing atau domba harus mengandung 65% - 75% spermatozoa motil sebelum pengenceran serta 25% - 45% setelah pengenceran dan equilibrasi (Evans dan Maxwell, 1987).

Persentase hidup sel spermatozoa kambing yang masih dapat digunakan untuk pelaksanaan inseminasi buatan berkisar antara 40 sampai 90%. Persentase hidup ini merupakan salah satu indikator untuk menilai baik buruknya kualitas air mani, semakin tinggi persentase hidupnya semakin baik pula kualitas air mani itu dan sebaliknya (Hafez, 1993).

Tabel 3. Motilitas spermatozoa setelah dibekukan

Perlakuan	Gliserol 7 %	Gliserol 10 %	Gliserol 14 %
P ₀	46,50 ± 1,38	43,33 ± 2,16	40,50 ± 2,43
P ₁	56,50 ± 2,59	52,83 ± 1,72	47,17 ± 2,99

Keterangan : P₀ : Tanpa pencucian

P₁ : Pencucian

Dari tabel 3 dapat dilihat bahwa persentase motilitas spermatozoa paling tinggi setelah dibekukan adalah kelompok perlakuan pencucian dengan konsentrasi gliserol 7%.

Dengan analisis statistik (Lampiran I) antara kelompok pencucian dan tanpa pencucian terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Antara kelompok perlakuan gliserol juga terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Antara kelompok pencucian dengan gliserol tidak terdapat perbedaan ($p > 0,05$).

Tabel 4 : Persentase hidup spermatozoa setelah dibekukan

Perlakuan	Gliserol 7 %	Gliserol 10 %	Gliserol 14 %
P ₀ (-)	49,00 ± 2,37	46,50 ± 1,87	41,17 ± 1,17
P ₁ (+)	53,67 ± 2,73	50,33 ± 1,75	44,00 ± 1,41

Keterangan : P₀ : Tanpa pencucian

P₁ : Pencucian

Dari table 4 dapat dilihat bahwa persentase spermatozoa hidup paling tinggi setelah dibekukan adalah kelompok perlakuan pencucian dengan konsentrasi gliserol 7%.

Dengan analisis statistik (Lampiran II) antara kelompok pencucian dan tanpa pencucian terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Antara kelompok perlakuan gliserol juga terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Antara kelompok pencucian dengan gliserol tidak terdapat perbedaan ($p > 0,05$).

Motilitas spermatozoa merupakan cirri utama dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan. Motilitas spermatozoa membantu pengangkutan spermatozoa dari tempat penyimpanannya menuju ke lokasi terjadinya konsepsi (Overstreet dkk, 1980). Persentase spermatozoa hidup merupakan salah satu indikator untuk menilai baik buruknya kualitas air mani. Spermatozoa dapat hidup karena sanggup mencernak beberapa zat yang ada di dalam cairan assesoris, cairan yang ada di dalam alat kelamin betina yang ada di dalam cairan media bahan pengencer (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Dari hasil penelitian diatas bahwa motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa dengan proses pencucian dan tanpa pencucian pada proses pembekuan terdapat perbedaan yang nyata, hal tersebut sesuai dengan pendapat (Harrison dan White, 1972)

bahwa pencucian secara sentrifugasi menghasilkan sedimen yang mengandung spermatozoa dengan motilitas yang tinggi. Sedangkan menurut Hunter (1995) bahwa tujuan sentrifugasi adalah membuang elemen plasma semen dari permukaan spermatozoa.

Metode pencucian merupakan metode pemisahan spermatozoa dengan seminal plasma (Arsyat dan Hayati, 1992). Menurut Hinting,A (1989) tujuan pencucian adalah memisahkan spermatozoa yang motil dari seminal plasma karena di dalam seminal plasma mengandung substansi-substansi yang dapat mempengaruhi kemampuan fertilisasi spermatozoa.

Dari hasil penelitian diatas bahwa motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa dengan pencucian maupun tanpa pencucian pada proses pembekuan yang paling tinggi prosentasenya adalah dengan penambahan konsentrasi gliserol 7%. Penambahan gliserol berfungsi untuk mencegah terbentuknya kristal-kristal es dan menghindari tetimbunya elektrolit intraseluler dalam spermatozoa (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994 ; Toelihere, 1981). Gliserol merupakan substansi yang langsung berdifusi ke dalam spermatozoa dan mungkin dioksidasi untuk proses energinya dan membentuk fruktosa (Salisbury dan Van Demark, 1985 : Hafez, 1993). Gliserol apabila ditambahkan terlampaui tinggi maka akan bersifat racun bagi kehidupan spermatozoa di dalam bahan pengencer (Hardijanto dan Hardjopranjoto).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa ;

1. Terdapat perbedaan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing setelah proses pencucian dan tanpa pencucian pada proses pembekuan
2. Terdapat perbedaan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing pada proses pencucian maupun tanpa pencucian pada berbagai konsentrasi gliserol.
3. Motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing pada proses pembekuan paling tinggi persentasenya dengan penambahan gliserol 7%.

Saran

Saran dari penelitian ini adalah sebaiknya pada proses pembuatan mani beku dilakukan pencucian sperma lebih dahulu dan menambahkan gliserol dengan konsentrasi 7%.

Daftar Pustaka

- Arsyat dan Hayati,L, 1992. Penuntun Laboratorium WHO. Untuk Pemeriksaan Semen Manusia dan Interaksi Sperma Getah Servik. Edisi 3. Bagian Biologi Medik. Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.
- Dasrul, 1997. Pengaruh Penambahan Serum Hewan Birahi pada Media Biakan Terhadap Pematangan Oosit Dan Pembuahan In Vitro Pada Kambing lokal. Tesis. Universitas Airlangga Surabaya.
- Evans, G dan W.M.C. Maxwell, 1987. Salomon artificial Insemination of Sheep and Goat. Departement of Animal Husbandry. Sydney.
- Fransdson, R.D, 1992. Anatomi Dan Fisiologi Ternak. Edisi Keempat. Penerjemah Srigondo dan Koen.P. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Gajah Mada University Press. P. 781-791.
- Hafez, E.S.E, 1993. Reproduction in Farm Animal 6 th ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hardijanto dan Hardjopranto, 1994. Ilmu Inseminasi Buatan. Fakultas kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Harrison, R.A.P and White, I.G, 1972. Some Method for Washing Spermatozoa from Bull Boar and Ram; A Comparison Using Biochemical and Other Criteria. Journal Reproduction Fertility. Vol 29. 271-284.
- Hinting,A, 1989. Assessment of Human Sperm Fertilizing Ability. Teses Submitted in Fullfilment of The Requirements for The Degree of Special Doctor in Reproduction Medicine. Rijksuniversiteit Gent. Belgium.
- Hunter, R.H.F, 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. Institut Teknologi bandung. Universitas Udayana.
- Mercier, D, 1984. The Distribution of Diploid Rabbit Spermatozoa in The Female Tract After Artificial Insemination. Animal Reproduction. Science.21. 245-250.
- Partodihardjo, S, 1987. Ilmu Reproduksi Hewan. Edisi III. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Rao, J.F. and Hart, C.F, 1988. Mammalian Fertilization In Vitro: sperm-induce preparation of the zona pellucida of golden hamster ova for final binding. J. Reprod. Fert.37, 433-445.
- Santoso,S dan Fandy, T, 2001. Riset Pemasaran. Konsep dan Aplikasi dengan SPSS. PT. Gramedia. Jakarta.

Salisbury, G.W dan Van Demark, N.L, 1985. Fisiologi dan inseminasi Buatan Pada Sapi. (Physiology and Artificial Insemination of Cattle) Diterjemahkan oleh Djanuar, R. Gadjah Mada University Press. Jakarta).

Soeparna, 2004. Pengaruh Jenis Krioprotektan dan Metode Pembekuan Terhadap Kualitas Semen Beku Domba Priangan. Media kedokteran Hewan . Universitas Airlangga. Vol 20.Edisi Khusus, Januari 2004.

Toelihere, M.R, 1979. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Penerbit Angkasa Bandung.

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

Lampiran 2. Uji F Persentase Hidup Spermatozoa Setelah Dibekukan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
PENCUCIA	0	18
	1	18
GLISEROL	7	12
	10	12
	14	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable: HASIL1

PENCUCIA	GLISEROL	Mean	Std. Deviation	N
0	7	49.00	2.37	6
	10	46.50	1.87	6
	14	41.17	1.17	6
	Total	45.56	3.79	18
1	7	53.67	2.73	6
	10	50.33	1.75	6
	14	44.00	1.41	6
	Total	49.33	4.55	18
Total	7	51.33	3.45	12
	10	48.42	2.64	12
	14	42.58	1.93	12
	Total	47.44	4.55	36

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HASIL1

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	609.889 ^a	5	121.978	31.820	.000
Intercept	81035.111	1	81035.111	21139.594	.000
PENCUCIA	128.444	1	128.444	33.507	.000
GLISEROL	476.389	2	238.194	62.138	.000
PENCUCIA * GLISEROL	5.056	2	2.528	.659	.524
Error	115.000	30	3.833		
Total	81760.000	36			
Corrected Total	724.889	35			

^a. R Squared = .841 (Adjusted R Squared = .815)

Post Hoc Tests GLISEROL

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HASIL1
Tukey HSD

(I) GLISEROL	(J) GLISEROL	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7	10	2.92*	.80	.003	.95	4.89
	14	8.75*	.80	.000	6.78	10.72
10	7	-2.92*	.80	.003	-4.89	-.95
	14	5.83*	.80	.000	3.86	7.80
14	7	-8.75*	.80	.000	-10.72	-6.78
	10	-5.83*	.80	.000	-7.80	-3.86

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

HASIL1

Tukey HSD ^{a,b}

GLISEROL	N	Subset		
		1	2	3
14	12	42.58		
10	12		48.42	
7	12			51.33
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3.833.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

Estimated Marginal Means

1. PENCUCIA

Dependent Variable: HASIL1

PENCUCIA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0	45.556	.461	44.613	46.498
1	49.333	.461	48.391	50.276

2. GLISEROL

Dependent Variable: HASIL1

GLISEROL	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
7	51.333	.565	50.179	52.488
10	48.417	.565	47.262	49.571
14	42.583	.565	41.429	43.738

3. PENCUCIA * GLISEROL

Dependent Variable: HASIL1

PENCUCIA	GLISEROL	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
0	7	49.000	.799	47.368	50.632
	10	46.500	.799	44.868	48.132
	14	41.167	.799	39.534	42.799
1	7	53.667	.799	52.034	55.299
	10	50.333	.799	48.701	51.966
	14	44.000	.799	42.368	45.632

Lampiran 1. Uji F Motilitas Spermatozoa Setelah Dibekukan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
PENCUCIA	0	18
	1	18
GLISEROL	7	12
	10	12
	14	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable: HASIL

PENCUCIA	GLISEROL	Mean	Std. Deviation	N
0	7	46.50	1.98	6
	10	43.33	2.16	6
	14	40.50	2.43	6
	Total	43.44	3.17	18
1	7	56.50	2.59	6
	10	52.83	1.72	6
	14	47.17	2.99	6
	Total	52.17	4.59	18
Total	7	51.50	5.58	12
	10	48.08	5.30	12
	14	43.83	4.34	12
	Total	47.81	5.89	36

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HASIL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1058.139 ^a	5	211.628	40.829	.000
Intercept	82273.361	1	82273.361	15872.674	.000
PENCUCIA	684.694	1	684.694	132.095	.000
GLISEROL	354.056	2	177.028	34.153	.000
PENCUCIA * GLISEROL	19.389	2	9.694	1.870	.172
Error	155.500	30	5.183		
Total	83487.000	36			
Corrected Total	1213.639	35			

^a. R Squared = .872 (Adjusted R Squared = .851)

Estimated Marginal Means

1. PENCUCIA

Dependent Variable: HASIL

PENCUCIA	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0	43.444	.537	42.349	44.540
1	52.167	.537	51.071	53.263

2. GLISEROL

Dependent Variable: HASIL

GLISEROL	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
7	51.500	.657	50.158	52.842
10	48.083	.657	46.741	49.426
14	43.833	.657	42.491	45.176

3. PENCUCIA * GLISEROL

Dependent Variable: HASIL

PENCUCIA	GLISEROL	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
0	7	48.500	.929	44.602	48.398
	10	43.333	.929	41.435	45.232
	14	40.500	.929	38.602	42.398
1	7	56.500	.929	54.602	58.398
	10	52.833	.929	50.935	54.732
	14	47.167	.929	45.268	49.065

Post Hoc Tests GLISEROL

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HASIL

Tukey HSD

(I) GLISEROL	(J) GLISEROL	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7	10	3.42*	.93	.003	1.13	5.71
	14	7.67*	.93	.000	5.38	9.96
10	7	-3.42*	.93	.003	-5.71	-1.13
	14	4.25*	.93	.000	1.96	6.54
14	7	-7.67*	.93	.000	-9.96	-5.38
	10	-4.25*	.93	.000	-6.54	-1.96

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

HASIL

Tukey HSD ^{a,b}

GLISEROL	N	Subset		
		1	2	3
14	12	43.83		
10	12		48.08	
7	12			51.50
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 5.183.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.
- b. Alpha = .05.