

SKRIPSI

**PENGARUH BERBAGAI BAHAN PENGECER DALAM
PROSES PEMBEKUAN TERHADAP DAYA HIDUP
SPERMATOZOA DOMBA**



Oleh :

RURY TRIANASARI
KEDIRI - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2001**

PENGARUH BERBAGAI BAHAN PENGECER DALAM
PROSES PEMBEKUAN TERHADAP DAYA HIDUP
SPERMATOZOA DOMBA

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

RURY TRIANASARI

069612266

Mengetahui

Komisi Pembimbing,



Tatik Hernawati, M.Si.,drh
Pembimbing I



Ajik Azmijah, S.U.,drh
Pembimbing II

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **Sarjana Kedokteran Hewan**

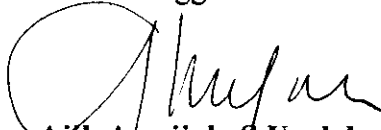
Mengetahui,
Panitia/Penguji


Dr. Wulina, M.S., drh
Ketua


Widjiati, M.Si., drh
Sekretaris



Tjuk Imam Restiadi M.Kes., drh
Anggota


Tatik Hernawati, M.Si., drh
Anggota


Ajik Azmijah, S.U., drh
Anggota

Surabaya, 17 Mei 2001

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Dr. Ismudiono M.S., drh
NIP. 130687297

**PENGARUH BERBAGAI BAHAN PENGECER DALAM
PROSES PEMBEKUAN TERHADAP DAYA HIDUP
SPERMATOZOA DOMBA**

Rury Trianasari

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh bahan pengencer kuning telur sitrat, air susu masak dan kombinasi antara kuning telur sitrat dengan air susu masak dalam proses pembekuan terhadap daya hidup spermatozoa domba. Hewan percobaan terdiri dari satu ekor domba jantan yang telah dewasa kelamin, kemudian diambil air maninya. Air mani yang diperoleh ditampung dalam vagina buatan, kemudian dilakukan pemeriksaan kualitas dan kuantitas meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Air mani yang memenuhi syarat untuk pengenceran, kemudian dibagi dalam tiga kelompok. Kelompok pertama diencerkan dengan pengencer kuning telur sitrat, kelompok kedua dengan pengencer air susu masak, kelompok ketiga dengan pengencer kombinasi antara kuning telur sitrat dengan air susu masak. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan persentase sel spermatozoa hidup dan motilitasnya. Proses selanjutnya dengan melakukan pembekuan pada air mani yang telah diencerkan tentu saja dengan serangkaian tahap-tahap tertentu. Selanjutnya air mani dibekukan dengan menggunakan tipe pellet, lalu dilakukan thawing dan diperiksa persentase spermatozoa hidup dan motilitasnya. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji F dan bila terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,01$) dilanjutkan dengan uji BNT 5%. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata pada ketiga perlakuan ($p < 0,01$) terhadap persentase motilitas spermatozoa domba sebelum dibekukan dan terdapat perbedaan yang sangat nyata pada ketiga perlakuan ($p < 0,01$) terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah dibekukan. Pada persentase spermatozoa hidup terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada keadaan sebelum dan setelah dibekukan.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur kepada Allah Baba dalam nama Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan kemampuan, kekuatan, bimbingan, penyertaan dan kasih karunia sehingga kami dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “PENGARUH BERBAGAI BAHAN PENGECER DALAM PROSES PEMBEKUAN TERHADAP DAYA HIDUP SPERMATOZOA DOMBA”, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Selanjutnya terima kasih yang tak terhingga kepada Ibu Tatik Hernawati, M.Si., Drh. selaku pembimbing pertama dan Ibu Ajik Azmijah, Su., Drh. selaku pembimbing kedua atas saran dan bimbingannya.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada bapak Tri Wahyu Suprayogi, Drh., Bapak Trilas Sardjito, Drh., Mas’ud Hariadi, M.Phil. Ph.D., Drh., serta staf pembantu laboratorium inseminasi buatan yaitu Bapak Slamet yang telah membantu penulis selama bekerja dalam penelitian ini.

Penulis juga ucapkan terima kasih kepada orang tua tercinta, kedua kakakku tercinta Mas Yudi dan Mbak Evi, teman-temanku Popowati, Desy, Eny, Meivijanti, Ita, Heru, Endah, Lina, Nina, Mbak Anna dan semua angkatan 96 atas dukungan dan bantuannya selama penulisan skripsi ini.

Tidak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada Vika, Erwin, Yulia, Fony, Aida, Mbak Sari, Mbak Susan, Marice, Herwan, Siswanto dan teman-temanku di River of Life atas dukungan doanya. God Bless You.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada semua pihak yang membantu kelancaran penelitian dan penulisan yang tidak dapat kami sebut satu per satu.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, namun semoga hasil penelitian ini dapat menambah pengetahuan di bidang inseminasi buatan serta bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Surabaya, Pebruari 2001

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Landasan Teori.....	3
1.4. Tujuan Penelitian.....	5
1.5. Manfaat Penelitian.....	5
1.6. Hipotesis.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Domba.....	6
2.2. Dewasa Kelamin Domba Jantan.....	7
2.3. Alat Reproduksi Domba Jantan.....	8
2.4. Air Mani (Semen).....	10
2.5. Bahan Pengencer.....	12
2.6. Inseminasi Buatan.....	15
2.7. Air Mani Beku (Frozen Semen).....	16

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN	20
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	20
3.2. Materi Penelitian.....	20
3.2.1.Hewan Penelitian.....	20
3.2.2.Peralatan dan Bahan Penelitian	20
3.3. Metode Penelitian.....	21
3.3.1.Penampungan Air Mani.....	21
3.3.2.Pemeriksaan Air Mani	22
3.3.3.Tahap Pengenceran Air Mani	23
3.3.4.Tahap Pemeriksaan Air Mani Setelah Diencerkan.....	23
3.3.5.Tahap Pembekuan Air Mani.....	23
3.3.6.Tahap Pembuatan dan Pembekuan Air Mani Tipe Pellet.....	24
3.3.7.Tahap Pemeriksaan Setelah Dibekukan	25
3.4. Rancangan Penelitian	25
IV. HASIL PENELITIAN.....	26
4.1. Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis.....	26
4.2. Persentase Motilitas Spermatozoa Sebelum Dibekukan	27
4.3. Persentase Spermatozoa Hidup Sebelum Dibekukan.....	29
4.4. Persentase Motilitas Spermatozoa Setelah Dibekukan.....	29
4.5. Persentase Spermatozoa Hidup Setelah Dibekukan	30

V. PEMBAHASAN.....	32
5.1. Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis.....	32
5.2. Persentase Motilitas Spermatozoa.....	34
5.3. Persentase Spermatozoa Hidup.....	38
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	41
RINGKASAN.....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pemeriksaan Makroskopis	25
2. Pemeriksaan Mikroskopis	27
3. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Spermatozoa	
Sebelum Dibekukan	27
4. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Spermatozoa Hidup	
Sebelum Dibekukan	27
5. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Spermatozoa	
Sesudah Dibekukan	28
6. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Spermatozoa	
Sesudah Dibekukan	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian.....	60
2. Mesin Pendingin (Cool Top).....	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa Domba	
Sebelum Dibekukan	47
2. Hasil Pemeriksaan Spermatozoa Hidup Domba	
Sebelum Dibekukan	50
3. Hasil Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa Domba	
Setelah Dibekukan	53
4. Hasil Pemeriksaan Spermatozoa Hidup Domba	
Setelah Dibekukan	55

BAB I

PENDAHULUAN

LATAR BELAKANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Berbagai usaha telah dilakukan untuk meningkatkan taraf hidup, kecerdasan dan kesejahteraan rakyat, untuk itu penyediaan pangan, dan gizi mempunyai peran penting. Kesadaran masyarakat akan pentingnya protein hewani didukung oleh pertumbuhan penduduk yang semakin pesat dan perbaikan pendapatan masyarakat, hal itu menyebabkan permintaan protein hewani semakin meningkat dari tahun ke tahun.

Penghasil sumber protein hewani salah satunya adalah domba. Arti ekonomis dari domba di Indonesia belum seberapa dibandingkan negara lain. Hal itu disebabkan oleh karena daging domba belum begitu disukai dan sebagai penghasil wool, di negara ini tidak cocok untuk pemeliharaannya. Namun di lain pihak domba mempunyai arti lebih atau potensi tersendiri untuk dikembangkan. Domba dapat digunakan sebagai usaha ternak rakyat karena pemeliharaannya mudah dan makanannya didapat tanpa perlu bersaing dengan manusia.

Pemerintah berusaha mengembangkan potensi ternak domba dengan penyuluhan meliputi perbaikan makanan ternak, pengendalian penyakit dan perbaikan mutu genetik dan sektor permodalan. Selama ini pemeliharaan ternak domba sebagian besar bersifat tradisional dan merupakan usaha sampingan dengan pemeliharaan sederhana.

Pembinaan produktifitas ternak dapat memperbaiki mutu genetik dengan jalan penyediaan dan penyebaran bibit unggul terutama pejantan unggul. Pola pemeliharaan dan pemilikan ternak seperti yang bagaimana membuat sulitnya untuk mengembangkan cara-cara praktis penyediaan bibit unggul yang diharapkan dapat meningkatkan mutu genetik (Hutasoii, 1978). Salah satu cara untuk memecahkan masalah mengenai peningkatan mutu genetik ternak domba maka perlu dilakukan seleksi ketat pada pejantan melalui pelaksanaan metode inseminasi buatan atau kawin suntik dan pada hewan betina perlu untuk meningkatkan kualitas sel telur.(Hardjopranjoto, 1984).

Inseminasi buatan merupakan suatu teknologi untuk mengembangbiakkan ternak dan juga merupakan cara paling cepat untuk menyebarluaskan bibit unggul di suatu wilayah, dengan memanfaatkan pejantan unggul untuk perkawinan. Bila ditinjau secara ekonomis melalui inseminasi buatan dapat menghemat biaya dan tenaga kerja karena tidak digunakannya pejantan secara langsung. Hal itu disebabkan karena setiap pancaran air mani (semen) per satuan waktu dapat digunakan untuk mengawini sejumlah betina yang tersedia (Muljo, 1981).

Teknologi untuk menyimpan air mani dalam jangka waktu lama, sekarang banyak dilakukan, yaitu dengan membuat air mani menjadi beku, tentu saja dengan melalui berbagai tahapan lebih dahulu. Cara tersebut membuat air mani dimungkinkan dapat disimpan dalam jangka waktu lama, tanpa mengurangi tingkat

kesuburannya. Pengiriman air mani baik dalam negeri maupun ke luar negeri dapat dilakukan dengan mudah dan cepat saat dibutuhkan (Evans dan Maxwell, 1987).

Berdasarkan faktor kemudahan, keamanan dalam pengiriman, maka air mani beku dikemas dalam berbagai bentuk. Kemasan tersebut antara lain : straw, ampul dan pellet. Pada penelitian ini dikemas dalam bentuk pellet. Tipe pellet yang dimaksud dengan menggunakan es kering (CO_2 padat).

Pada penelitian ini dititikberatkan pada bahan pengencer (diluter). Bahan pengencer yang dipergunakan merupakan kombinasi bahan pengencer yang ada saat ini, khususnya untuk pembuatan air mani beku. Bahan pengencer tersebut antara lain air susu masak, kuning telur sitrat dan kombinasi keduanya.

1.2. Perumusan Masalah

Memperhatikan hal tersebut di atas dapat dirumuskan permasalahan : apakah ada perbedaan antara bahan pengencer kuning telur sitrat, air susu masak, dan kombinasi keduanya dalam proses pembekuan terhadap daya hidup spermatozoa domba.

1.3. Landasan Teori

Adanya pemikiran bahwa bahan pengencer tidak hanya untuk meningkatkan volume air mani sampai berpuluh kali lipat bahkan sampai ratusan dalam satu

ejakulasi, namun air mani dapat disimpan dalam jangka waktu lama melalui pemrosesan.

Menurut penelitian terdahulu spermatozoa dapat hidup bertahun-tahun pada suhu 196° dibawah 0° C tanpa berkurang kesuburannya. Air mani beku dapat disimpan sampai melebihi umur pejantan yang menghasilkannya, misalnya karena pejantan tersebut terlanjur mati. Dalam pelaksanaan inseminasi buatan, air mani beku ini dapat dikirim dengan mudah ke tempat-tempat yang membutuhkannya.

Bermacam-macam bahan pengencer yang dipergunakan saat ini antara lain dengan bahan seperti kuning telur, air susu masak, sari buah, dan masih banyak lagi. Bahan pengencer tersebut sebagian dapat dipergunakan sebagai pengencer untuk pembuatan air mani cair (chilled semen) dan air mani beku (frozen semen) dalam inseminasi buatan.

Penilaian terhadap daya hidup air mani setelah dibekukan dititikberatkan pada jumlah spermatozoa yang hidup dan bergerak atau motil. Hal itu disebabkan untuk dapat membuahi sel telur maka spermatozoa harus menempuh perjalanan yang jauh dan diperlukan gerak yang hiperaktif yaitu gerakan progresif maju ke depan dengan cepat untuk sampai pada tujuan dan menembus getah mulut rahim. Spermatozoa dalam jumlah banyak menguntungkan sebab kemungkinan untuk mencapai sel telur lebih besar (Tadjudin, 1985).

1.4. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh bahan pengencer dari kuning telur sitrat, air susu masak, dan kombinasi keduanya dalam proses pembekuan terhadap daya hidup spermatozoa domba.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini dapat digunakannya pengencer kuning telur sitrat, air susu masak dan kombinasi keduanya untuk meningkatkan daya hidup spermatozoa post thawing.

1.6. Hipotesis

1. Bahan pengencer kuning telur sitrat dapat meningkatkan daya hidup spermatozoa domba dalam proses pembekuan.
2. Bahan pengencer air susu masak dapat meningkatkan daya hidup spermatozoa domba dalam proses pembekuan
3. Bahan pengencer kombinasi kuning telur sitrat dengan air susu masak dapat meningkatkan daya hidup spermatozoa domba dalam proses pembekuan .

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Domba

Pada hakekatnya ternak domba digolongkan sebagai ternak ruminansia kecil yang sudah memasyarakat. Di negara kita distribusinya hampir merata. Peranannya tidak dipungkiri lagi sebagai ternak yang mampu memanfaatkan berbagai macam limbah pertanian yang kandungan gizinya relatif rendah. Di samping itu, masih ada beberapa keistimewaan yang dimiliki domba yaitu ukuran badan kecil, kebutuhan protein rendah, daya pilih terhadap pakan yang tinggi terhadap lingkungannya. Ternak ini mampu hidup di daerah kering, pakan hijauan berupa dedaunan, semak-semak dan rerumputan yang tumbuh secara alami di tegalan-tegalan, pematang sawah, lahan di sekitar hutan, di tepi jalan dan di padang penggembalaan yang ada (Gatenby, 1991).

Dengan realita tersebut di atas, maka tidaklah heran apabila petani atau peternak di pedesaan khususnya suka memelihara domba karena diketahui cara pengelolaannya relatif mudah. Namun demikian keberadaannya kurang begitu populer dibandingkan dengan negara penghasil ternak domba seperti Australia dan Selandia Baru. Domba yang diternakkan di Indonesia fungsinya hampir tidak berbeda dengan kambing, yaitu dimanfaatkan dagingnya. Sementara untuk tujuan penghasil wool seperti yang dilakukan di negara sub tropis, masih kurang menarik.

Sejak akhir tahun 1993, yaitu tatkala munculnya permintaan negara Malaysia dan Timur Tengah untuk membeli 3 juta ekor domba per tahun dari Indonesia, ternak berbulu lebat ini menjadi populer (Suharno dan Nazarudin, 1994).

Klasifikasi bangsa domba yang paling umum berdasarkan jenis wool yang dihasilkan. Faktor-faktor lainnya seperti jenis daging, warna, ada tidaknya tanduk serta karakteristik kemampuan adaptasinya, diperhatikan pada tiap-tiap jenis. Klasifikasi yang luas adalah wool halus, medium, panjang, persilangan, permadani dan fur. Di dalam negeri, dikenal domba-domba asli yaitu domba lokal (domba kacang), domba priangan (domba garut), domba ekor gemuk. Selain itu, ada pula beberapa jenis domba impor seperti texel, suffolk, dorset dan merino (Blakely dan Bade, 1991).

2.2. Dewasa Kelamin Domba

Dewasa kelamin adalah suatu periode dalam kehidupan jantan dan betina di mana proses reproduksi mulai terjadi yang ditandai oleh kemampuan untuk berkopulasi dan menghasilkan sel benih disertai perubahan karakteristik kelamin sekunder (Toelihere, 1985).

Secara umum terjadinya pubertas tergantung interaksi antara umur, berat badan, kondisi tubuh dan musim (Tomaszewska dkk. 1991).

Menurut Hafez (1993) domba betina akan mencapai dewasa kelamin pada umur 6 sampai 7 bulan dan perkawinan dilakukan antara umur 12 sampai 18 bulan.

Masa pubertas domba jantan, menurut Lindsay dkk. (1982) merupakan umur dimana domba menghasilkan sel mani dan diejakulasikan untuk pertama kali. Ejakulasi pertama pada umur 4 sampai 6 bulan, sedangkan kematangan seksual yang merupakan periode dimana hewan sampai pada puncak kemampuan memproduksi air mani terjadi pada umur 18 bulan.

2.3. Alat Reproduksi Domba Jantan

Sistem reproduksi pada domba jantan terbagi menjadi tiga bagian besar yaitu: alat kelamin primer berupa gonad jantan atau testes; alat kelamin sekunder yang terdiri dari saluran-saluran alat kelamin dan kelenjar pelengkap (Gatenby, 1991).

Testes yang merupakan alat reproduksi primer hewan jantan dan 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 efferentia, epididimis, vasa deferentia dan penis dengan saluran urethra yang merupakan saluran bersama tempat dialirkannya urine, plasma air mani beserta spermatozoa. Kelenjar pelengkap terdiri dari kelenjar prostat, vesikula seminalis dan dua kelenjar bulbo uretralis atau kelenjar cowper. Alat kelamin primer, sekunder dan kelenjar pelengkap keseluruhannya disebut dengan istilah saluran reproduksi jantan atau alat kelamin jantan. Alat kelamin ini secara anatomis bersatu dengan saluran air kencing yang terdiri dari

ginjal, kandung kemih dan saluran-salurannya dengan keseluruhan alat-alat lainnya yang tergabung menjadi satu dengan nama saluran urogenetalis hewan jantan atau saluran air kencing hewan jantan.

Spermatozoa diproduksi pertama kali pada waktu pubertas, produksi ini terjadi di dalam pembuluh-pembuluh di testes. Sesudah melewati tubuli testes spermatozoa yang terbentuk akan melalui rete testes, ductus efferentia, epididymis, ductus deferentia dan urethra. Sekresi kelenjar kelengkap yaitu prostat, vesikula seminalis dan bulbo urethralis membentuk sebagian besar plasma air mani .

Epididymis adalah pembuluh yang muncul dari bagian dorsal testis , berasal dari ductus efferentia. Epididymis terdiri dari tiga bagian yaitu kepala, badan dan ekor (Salisbury dan Van Demark, 1985). Fungsi dari epididymis ada empat yaitu transpor, konsentrasi, maturasi, penyimpanan spermatozoa sedangkan epitelnya untuk absorpsi dan sebagian sekretoris (Toelihere, 1985).

Alat kelamin jantan yang digunakan untuk kopulasi adalah penis dan kebanyakan terdiri dari jaringan yang tegang. Bagian penis yang melekat tubuh disebut pangkal, bagian yang terbesar disebut badan dan bagian ujung yang bebas disebut glans penis (Salisbury dan Van Demark, 1985). Fungsi penis ada dua yaitu untuk meletakkan air mani (semen) ke dalam saluran reproduksi hewan betina dan untuk pengeluaran urine (Toelihere, 1985). Penis domba mempunyai lekukan berbentuk sigmoid di bagian belakang atas skrotum. Lekukan ini akan hilang dan penis akan menjadi lurus apabila terjadi ereksi (Tomaszweska, 1991).

Fungsi testes selain sebagai organ reproduksi juga sebagai organ hormonal yaitu dengan menghasilkan spermatozoa melalui proses *spermatogenesis* dan hormon testosteron yang dihasilkan oleh sel-sel interstitial (sel leydig) tubuli seminiferus testes. Hormon testosteron memacu perkembangan dan fungsi kelenjar pelengkap yang menyebabkan berkembangnya karakteristik kelamin sekunder. Seluruh perkembangan testes ada di bawah pengaturan kelenjar hipotalamus dan kelenjar hipofisa. Fungsi reproduksi dari testes dalam bentuk *spermatogenesis* diatur oleh hormon gonadotropin yang terdiri dari *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH). *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) mempunyai kerja sinergis dengan *Luteinizing Hormon* (LH) dalam mengatur fungsi testes (Partodihardjo, 1992).

2.4. Air Mani atau Semen

Air mani adalah sekresi kelamin jantan yang secara normal diejakulasikan ke saluran kelamin betina sewaktu kopulasi atau ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan inseminasi buatan. Air mani yang diejakulasikan merupakan kombinasi produksi testis, produksi saluran pengeluaran dan kelenjar pelengkap. Cairan ini mengandung spermatozoa dan cairan yang beraneka ragam, sekresi dari dinding sel reproduksi hewan jantan dan sekresi kelenjar yang disalurkan melewatinya (Hafez, 1993).

Air mani berupa cairan yang mengandung gamet jantan (spermatozoa) dan sekresi dari kelenjar pelengkap dari saluran reproduksi jantan. Sekresi cairan kelenjar pelengkap ini dibentuk pada waktu ejakulasi dan dinamakan plasma semen(air mani) (Hafez, 1993 ;Taylor, 1992;Nalbandov, 1990).

Plasma semen mempunyai fungsi utama sebagai media pembawa spermatozoa di saluran reproduksi hewan betina. Plasma semen mengandung bahan-bahan persenyawaan organik termasuk fruktosa, asam sitrat, sorbitol, *Gliseril Phosphoril Choline (GPC)*, ergotionin, prostaglandin dan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Toelihere, 1985). Bahan organik yang terdapat di dalam air mani yang dipakai sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitasnya adalah fruktosa, sorbitol, *glyceryl phosphoryl choline (GPC)* dan plasmalogen. Ketiga zat pertama adalah konstituen plasma semen sedangkan plasmalogen terdapat di dalam spermatozoa itu sendiri. Selain keempat substrat tersebut spermatozoa memetabolir sejumlah besar substrat serupa yang tidak terdapat dalam semen atau ada dengan konsentrasi rendah seperti asam piruvat dan asam asetat. Asam laktat yang menumpuk dalam air mani merupakan hasil metabolisme spermatozoa yang berasal dari konstituen-konstituen plasma dan bukan dari plasmalogen. Metabolisme dapat terjadi dalam kondisi aerob maupun anaerob. (Evans dan Maxwell, 1987).

2.5. Bahan Pengencer

Menurut Perry (1969) bahan pengencer air mani untuk pertama kali dicoba oleh Walton pada tahun 1933 di Inggris, sedangkan Anderson di Kenya pada tahun 1945 mempelajari hasil penelitian pengencer air mani yang mutakhir pada saat itu dan diikuti oleh Milowanov dari Rusia pada tahun 1933. Bahan pengencer pada air mani domba waktu itu dimaksudkan untuk sarana pengangkutan spermatozoa dan memperbanyak volume air mani saja.

Adapun bahan pengencer yang dahulu dipergunakan antara lain : kuning telur fosfat yang dipergunakan Phillips tahun 1939; kuning telur sitrat oleh Salisbury, Fuller dan Willet tahun 1941; air susu oleh Kolliker tahun 1856; teknik IVT (Illini Variable Temperature) yang menggunakan campuran jenuh gas CO₂ oleh Van Demark dan Sarma tahun 1957 (Hardjopranto, 1988), tris kuning telur oleh Cood dan kawan-kawan tahun 1966 dikutip oleh (Salisbury dkk. 1985).

Pengenceran air mani dilakukan dengan alasan teknis dan biologis. Alasan teknisnya adalah jika untuk inseminasi buatan maka volume yang diinseminasikan dan jumlah spermatozoa akan lebih sedikit dibandingkan dengan kawin alam, maka dengan pengenceran hal itu dapat dicegah. Alasan biologisnya bahan pengencer memberikan makanan bagi spermatozoa, mempertahankan pH, menyediakan lingkungan yang isotonis dan melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*). (Evans dan Maxwell, 1987).

Sarat-sarat bahan pengencer yang baik diantaranya mengandung zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, memiliki lipoprotein (lecitine) untuk melindungi terhadap kejutan dingin, bebas dari kuman, sebagai buffer atau penyangga untuk mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, memperbanyak volume air mani (Partodihardjo, 1992; Salisbury dan Van Demark, 1985). Selain sifat-sifat bahan pengencer seperti yang disebutkan di atas, ada beberapa sarat yang harus dipenuhi oleh bahan pengencer antara lain : Bahan pengencer hendaknya murah, sederhana dan praktis, serta mempunyai daya mengawetkan yang tinggi; bahan pengencer harus mengandung unsur-unsur yang hampir sama sifat fisik dan kimiawinya dengan air mani dan tidak mengandung zat yang bersifat racun baik terhadap spermatozoa maupun saluran kelamin betina; bahan pengencer harus tetap mempertahankan kesuburan dan tidak membatasi daya fertilisasi spermatozoa; bahan pengencer harus memberi kemungkinan penilaian spermatozoa sesudah pengenceran (Toelihere, 1985; Faulkner, 1975).

Komposisi bahan pengencer kuning telur sitrat terdiri atas : air 48,7%, protein 16,6%, lemak 32,6%, karbohidrat 1,0% dan mineral 1,1%. Unsur lemak dari kuning telur yang terpenting adalah karena *ovolesitin* mengandung *Glyseril Phosphoril Choline* (GPC). Karbohidrat dari kuning telur berupa glukosa dan gabungan karbohidrat yaitu galaktosa dan manosa yang menghasilkan energi dalam proses

metabolisme. Protein dalam kuning telur yang terpenting adalah *ovolivetin* dan *ovovitelin* karena kedua protein ini mengandung gugus fosfat (Romanoff dkk. 1963). Natrium sitrat berperan sebagai buffer yang mempertahankan keasaman bahan pengencer dan mengikat logam berat. Disamping itu natrium sitrat mampu menyebarkan butir-butir lemak sehingga spermatozoa lebih mudah diamati (Hardjopranjoto, 1984).

Air susu yang dipergunakan sebagai bahan pengencer mengandung sejumlah glukosa tertentu yang menyediakan zat karbohidrat yang tidak jelas identifikasinya, substansi pelindung lecitin dan substansi untuk proses oksidasi metabolisme, termasuk penguraian komponen lemak seperti glyserol dan asam organik. Spermatozoa tidak menghidrolisir laktosa, tetapi menggunakan glukosa dan mungkin beberapa karbohidrat yang tidak dikenal didalam susu.

Glyserol merupakan substansi yang langsung berdifusi ke dalam spermatozoa dan mungkin dioksidasi untuk proses energinya dan membentuk fruktosa. Penambahan glyserol ke dalam bahan pengencer penting untuk proses pembekuan air mani. Bagi air mani yang tidak dibekukan, penambahan glyserol menyebabkan kenaikan daya hidup semen pada penyimpanan di atas titik beku (Salisbury dan Van Demark, 1985).

2.6. Inseminasi Buatan

Inseminasi buatan adalah salah satu metode perkembangbiakan dimana air mani yang diperoleh dari pejantan dimasukkan ke dalam saluran kelamin betina dengan alat-alat buatan manusia, sehingga kontak langsung antara hewan jantan dan betina dapat dihindari (Evans dan Maxwell, 1987).

Secara teknis dalam pelaksanaan inseminasi buatan meliputi penampungan, penilaian, perlakuan dan transport spermatozoa untuk memperoleh hasil fertilisasi maksimal. Inseminasi buatan merupakan suatu teknologi reproduksi yang penting untuk meningkatkan mutu genetik ternak dengan cepat. Dari seekor pejantan unggul dapat diperoleh spermatozoa yang cukup banyak untuk diinseminasikan ke hewan betina dalam 1 tahun

Penggunaan inseminasi buatan pertama kali pada tahun 1780 oleh Spallanzani, seorang fisiolog Italia yang memperoleh anak anjing dengan inseminasi buatan. Penelitian penggunaannya pada hewan ternak baru dimulai pada abad ke 20 ini di Rusia dan kemudian di Jepang. Sampai sekarang, inseminasi buatan sudah digunakan pada ternak sapi, domba, kambing, babi, kuda dan unggas (Putro, 1991).

Di Indonesia inseminasi buatan dimulai tahun 1952 oleh profesor Seit dari Denmark dan dibantu oleh beberapa staf dari para ahli Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Profesor Seit adalah staf ahli yang ditempatkan di Lembaga Penelitian Peternakan di Bogor. Pada tahun 1953, pelaksanaan inseminasi buatan di Indonesia diperluas dengan mendirikan beberapa pusat inseminasi buatan di Grati

(Jawa Timur), Purworejo dan Ungaran (Jawa Tengah), Pengalengan (Bandung), Pokang (Madura) dan Padang (Sumatera Barat). Beberapa perguruan tinggi di Indonesia juga diijinkan melaksanakan inseminasi buatan. Balai inseminasi buatan pertama didirikan tahun 1976 di Lembang (Jawa Barat) dengan bantuan pemerintah Selandia Baru kemudian diikuti oleh pendirian Balai Inseminasi Buatan (BIB) di Singosari (Jawa Timur) tahun 1984 (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Pada waktu pertama-tama inseminasi buatan dilakukan penempatan air mani di dalam vagina, seperti pada perkawinan alam. Cara demikianlah tidak efektif karena fertilitasnya rendah dan lebih banyak spermatozoa yang diperlukan supaya sampai ke dalam saluran tempat fertilisasi. Kemajuan terjadi setelah ditemukannya spekulum untuk inseminasi, sehingga air mani dapat disemprotkan di dalam servik. Namun metode spekulum memiliki angka konsepsi 1% lebih rendah daripada metode rektovaginal, yang dipakai dimana-mana pada waktu sekarang.

Metode rektovaginal menggunakan kateter steril yang dimasukkan ke dalam vagina lalu diarahkan ke servik oleh tangan yang memakai sarung tangan karet di dalam rektum. Cara rektovaginal ini lebih sulit dipelajari dan perlu latihan, ketekunan yang banyak sebelum dapat menjadi inseminator.

2.7. Air Mani Beku (*Frozen Semen*)

Air mani beku adalah air mani yang telah diencerkan menurut prosedur biasa lalu dibekukan di bawah titik beku air (Partodihardjo, 1992). Menurut Toelihere

(1979) dan Partodihardjo (1992), air mani beku memiliki keuntungan dan kerugian. Keuntungan air mani beku adalah tersedianya air mani yang dikehendaki setiap waktu dimana merupakan anugerah bagi peternak yang bercita-cita membentuk peternakan, memungkinkan penggunaan air mani seekor hewan secara maksimal selama hidupnya, biaya transportasi menjadi 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 dan mungkin mempersempit dasar genetik suatu bangsa tertentu, beberapa pejantan kira-kira 30% spermatozoanya tidak tahan terhadap pembekuan, dalam proses pembekuan antara 20% sampai 80% (rata-rata 50%) spermatozoanya 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 bakterial.

Pembekuan air mani pertama kali dicoba oleh Devenport (1897) yang mengemukakan bahwa spermatozoa manusia tetap hidup pada suhu -17°C . Pada tahun 1950, Polge, Smith dan Parkes membuka jalan dalam penelitian tentang pengawetan air mani dengan menambahkan glyserol pada bahan pengencer untuk mencegah terjadinya kristal es di dalam air mani. Menurut penelitian glyserol mampu melindungi air mani terhadap suhu yang rendah bahkan pada suhu di bawah titik beku (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Air mani beku mempunyai pengertian yaitu air mani yang disimpan pada suhu -79°C sampai -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 -30°C . Air mani akan membeku pada suhu $-0,53^{\circ}\text{C}$ atau lebih rendah sedikit, tetapi kristal-kristal es belum terbentuk secara sempurna dan akan terbentuk sempurna bila suhu diturunkan sampai kira-kira $-1,7^{\circ}\text{C}$ (Hardjopranjoto, 1988).

Spermatozoa bila berada pada suhu di bawah 0°C akan terjadi kejutan dingin (*cold shock*), hal ini menyebabkan spermatozoa akan kehilangan energi, gerak atau motilitasnya, molekul-molekul intraseluler dan ion-ion serta meningkatkan permeabilitas dari membrannya (White dan Wales, 1960).

Kejadian kejutan dingin dapat dihindari dengan penambahan glyserol 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 (Toelihere, 1993; Salisbury dan Van Demark, 1985).

Berhasilnya proses pembekuan air mani pada suhu -79°C sampai -196°C , dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain : banyaknya glyserol yang dipakai pada bahan pengencer, apabila pemberiannya terlampau tinggi maka akan bersifat racun terhadap kehidupan air mani di dalam bahan pengencer. Cara penambahan glyserol 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 glyserol pada jangka waktu tertentu pada suhu di atas titik beku sebelum proses pembekuan dan cara pengenceran air mani serta kecepatan proses pendinginan air mani dalam bahan pengencer yang sesuai untuk jarak suhu yang kritis pada waktu penurunan suhu maupun pada suhu penyimpanan (Hardjopranto, 1988).

Salah satu metode untuk membekukan air mani adalah dalam bentuk pellet. Bentuk pellet menyerupai butiran-butiran kecil seperti tetesan air. Dalam bentuk ini air mani dapat membeku dalam waktu kurang lebih dua setengah menit. Air mani membeku pada balok-balok es kering (CO_2 padat) yang sebelumnya dilubangi dengan menggunakan alat sehingga terbentuk lubang-lubang. Alat yang digunakan untuk meneteskan air mani ke dalam balok es adalah pipet dengan berbagai ukuran sesuai dengan ukuran pellet yang kita buat (Perry, 1969).

Menurut Bearden dan Fuquay (1992) biasanya volume air mani yang diteteskan kira-kira 0,1 ml. Sesudah beku pellet dipindahkan langsung ke dalam nitrogen cair untuk disimpan. Untuk inseminasi pellet lebih dahulu dithawing dengan pengencer hangat sampai volume yang cukup untuk inseminasi.

BAB III

MATERI DAN METODE

MATERI DAN METODE PENELITIAN

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2000, bertempat di laboratorium Semen Beku, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Hewan Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan sampel air mani domba. Domba jantan yang digunakan berjumlah satu ekor, berumur ± 3 tahun dan mempunyai berat badan sekitar ± 60 kg, yang secara klinis dinyatakan sehat dan mempunyai libido yang baik. Sebagai pemancing digunakan satu ekor domba betina.

3.2.2. Peralatan dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari mesin pendingin (cool top), mikroskop, hemocytometer, pipet berskala, gelas ukur, beker glas, labu erlemeyer, termometer, objek dan cover glas, bunsen spiritus, penangas (water bath), alat penghitung.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Penampungan Air Mani

Pengambilan air mani domba dilakukan satu minggu dua kali yaitu pada hari Senin dan Kamis di kandang Fakultas Kedokteran Hewan Unair. Semua prosedur koleksi dan evaluasi air mani dilakukan secara legeartis. Sebelum pengambilan air mani, dilakukan pencucian pada preputium menggunakan sabun dan air hangat untuk membilasnya. Setiap pengambilan air mani dilakukan usaha merangsang libidonya untuk memperoleh kualitas air mani yang lebih baik dengan jalan membiarkan pejantan menaiki betina tetapi dicegah jangan sampai terjadi ejakulasi terlebih dahulu. Rangsangan tersebut dilakukan sebanyak dua sampai tiga kali menaiki baru kemudian penisnya yang terjulur karena ereksi diarahkan ke vagina buatan untuk ditampung air maninya.

Unit vagina buatan dengan suhu ruang $\pm 42^{\circ}\text{C} - 45^{\circ}\text{C}$ dan bagian dalam vagina buatan diolesi dengan vaselin sebagai pelicin sejauh kurang lebih 5 cm dari ujung depan vagina buatan. Ujung vagina buatan yang lain dipasang corong karet dan tabung berskala yang dilindungi terhadap sinar matahari langsung. Selanjutnya air mani yang terkumpul siap untuk dicampur dengan pengencer (diluter).

3.3.2. Pemeriksaan Air Mani

Untuk menentukan kualitas air mani yang diperoleh melalui vagina buatan mempunyai kualitas yang baik maka dilakukan pemeriksaan secara makroskopis meliputi volume, warna, bau, kekentalan dan derajat keasaman, sedangkan

meliputi volume, warna, bau, kekentalan dan derajat keasaman, sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi gerak massa, gerak individu atau motilitas, konsentrasi, persentase hidup dan mati, persentase abnormal dan uji resistensi.

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Kriteria penilaian menurut Evans dan Maxwell (1987) dihitung dari spermatozoa yang aktif bergerak ke depan atau progresif, paling sedikit lima lapangan pandang kemudian dirata-rata. Penilaian ini dilakukan berdasarkan persentase gerakan spermatozoa aktif dibandingkan dengan spermatozoa yang nampak dalam lapangan pandang (Asfi'i, 1997).

Jumlah spermatozoa yang hidup dihitung dengan cara meneteskan air mani pada objek glass yang bersih lalu dicampur dengan zat warna eosin negrosin kemudian dibuat preparat ulas, difiksasi diatas api. Pengamatan dilakukan atas spermatozoa yang hidup dan mati pada satu lapangan pandang kemudian dilakukan perhitungan atas 100 spermatozoa dengan perbesaran 400 kali. Penilaian persentase spermatozoa hidup:

- spermatozoa hidup terlihat transparan atau tidak berwarna, sedangkan spermatozoa yang mati kepalanya berwarna merah.
- persentase yang hidup adalah jumlah spermatozoa hidup (transparan) yang terhitung dalam persen dengan perbesaran 400 kali.

Cara pemeriksaan spermatozoa abnormal sama dengan pemeriksaan persentase yang hidup. Preparat dilihat dengan perbesaran 400 kali. Biasanya

kelainan banyak terdapat di daerah kepala, leher, ekor dan adanya *protoplasmic droplet* (Hardijanto, et. Al., 1998.)

3.3.3. Tahap Pengenceran Air Mani

Dalam penelitian ini menggunakan pengenceran dengan perbandingan 1:50 dengan catatan sudah termasuk jumlah glyserol yang digunakan untuk proses gliserolisasi. Pengencer yang dipergunakan bervolume dan dilakukan pembagian sama rata. Pada satu bagian kita tambahkan air mani dan bagian lain ditambahkan glyserol sesuai dengan perbandingan di atas.

3.3.4. Tahap Pemeriksaan Air Mani Setelah Diencerkan

Tahap ini bertujuan untuk menentukan apakah air mani yang telah diencerkan dapat di proses lebih lanjut. Pemeriksaan ini meliputi gerak yang progresif dan presentase hidup spermatozoa.

3.3.5. Tahap Pembekuan Air Mani

Pada proses gliserolisasi kita menambahkan glyserol dan pengencer ke dalam air mani dan pengencer sehingga konsentrasi glyserol menjadi 14%. Pada saat penambahan itu harus dilakukan dengan sangat hati-hati dan bertahap sebab diharapkan tidak terjadi kejutan osmosis, memberikan waktu kepada spermatozoa untuk menyesuaikan diri dengan pengencer yang berisi glyserol selama waktu yang

untuk menyesuaikan diri dengan pengencer yang berisi glyserol selama waktu yang optimal yaitu minimal 3 jam di atas titik beku sebelum pembekuan dimulai. Pada tahap pembekuan berikutnya yaitu proses equilibrasi.

3.3.6. Tahap Pembuatan dan Pembekuan Air Mani Tipe Pellet

Pembuatan dan pembekuan air mani tipe pellet dilakukan setelah spermatozoa mengalami equilibrasi dengan glyserol.

Dalam penelitian ini disiapkan es kering (CO_2 padat) dengan permukaan yang rata lalu dibuat lubang-lubang pada es kering tersebut dengan diameter dan kedalaman $\pm 0,25$ cm. Teteskan air mani yang telah melalui proses ke dalam lubang-lubang tersebut dengan memakai pipet atau alat suntik. Biarkan tetesan-tetesan tersebut membeku selama beberapa menit sampai berbentuk butiran-butiran es.

3.3.7. Tahap Pemeriksaan Setelah Dibekukan

Pemeriksaan ini bertujuan untuk menentukan persentase spermatozoa yang hidup dan motilitasnya. Pemeriksaan ini dilakukan thawing pada air mani beku dengan waktu kurang lebih 15 sampai 30 detik.

3.4. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan Uji F. Apabila terdapat perbedaan diantara perlakuan maka dilanjutkan dengan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% (Kusniningrum, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

HASIL PENGAMATAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1. Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis

Kondisi awal dan nilai air mani sangatlah penting untuk diketahui dalam penentuan kelayakan air mani untuk diproses lebih lanjut menjadi air mani beku. Nilai air mani ditetapkan melalui pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis.

Adapun pemeriksaan makroskopis meliputi volume, warna, bau, derajat keasaman bau derajat keasaman (pH) konsistensi, sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi konsentrasi spermatozoa dalam air mani, jumlah hidup dan mati, jumlah abnormal, gerakan massa dan individu, resistensi .

Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis domba dalam penelitian ini dapat dilihat dalam tabel 1 dan 2 berikut ini :

Tabel 1 . Pemeriksaan Makroskopis

Pancaran	Volume (ml)	Warna	Bau	pH	Konsistensi
I	2	Putih susu	khas	7	Kental
II	2	Putih susu	khas	6,5	Kental
III	3	Putih susu	khas	7	Kental
IV	1,5	Putih susu	khas	7	Kental
V	1,5	Putih susu	khas	6,5	Kental
VI	2	Putih susu	Khas	6,5	Kental
Total	12			40,5	
Rata-rata	2			6,75	

Tabel 2 .Pemeriksaan Mikroskopis

Pancaran	Konsentrasi (juta/ml)	SH (%)	SA (%)	Gerakan massa	Gerakan Individu	Resistensi
I	2060	87	8	+++	P	2000
II	2260	89	7	+++	P	3500
III	2370	91	6	+++	P	2500
IV	2510	79	14	+++	P	3000
V	2710	85	10	+++	P	4000
VI	2590	83	9	+++	P	3500
Total	14500	514	54			18500
Rata-rata	2416	86	9			3083

Keterangan : SH = Spermatozoa Hidup

SA = Spermatozoa Abnormal

+++ = Gelombang kecil sampai besar yang tebal dan gelombang dalam jumlah banyak dan bergerak cepat.

P = Spermatozoa bergerak secara progresif maju ke depan.(Hardijanto et. Al., 1995)

4.2.Persentase Motilitas Spermatozoa Sebelum Pembekuan

Hasil pemeriksaan motilitas spermatozoa sebelum pembekuan dapat dilihat pada tabel 3 berikut ini:

Tabel 3. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Spermatozoa Sebelum Dibekukan

Perlakuan	Persentase Motilitas Spermatozoa Sebelum Dibekukan
P3	75,83±6,72 ^a
P2	70,83±4,49 ^{ab}
P1	65,00±4,08 ^b

Keterangan : - Superskrip dengan notasi huruf yang berbeda berarti berbeda nyata ($p < 0,01$)

- P1 adalah pengencer kuning telur sitrat

- P2 adalah pengencer air susu masak

- P3 adalah pengencer kombinasi kuning telur sitrat dengan air susu masak.

Berdasarkan analisis statistik (lampiran 1) menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,01$) pada ketiga perlakuan terhadap motilitas spermatozoa domba sebelum dibekukan.

Dari hasil uji BNT 5% ternyata kelompok perlakuan 3 (P3) menghasilkan persentase motilitas spermatozoa tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sedangkan persentase terendah didapatkan pada P1 meskipun tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan P2.

4.3. Persentase Hidup Spermatozoa Sebelum Dibekukan

Hasil pemeriksaan hidup spermatozoa sebelum dibekukan dapat dilihat pada tabel 4 berikut ini :

Tabel 4. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Hidup Spermatozoa Sebelum Dibekukan

Perlakuan	Persentase Hidup Spermatozoa Sebelum Dibekukan
P3	76,50±3,30 ^a
P2	71,00±5,80 ^{ab}
P1	66,83±2,54 ^b

Keterangan : - superskrip dengan notasi huruf yang berbeda berarti berbeda nyata ($p < 0,01$).

Berdasarkan analisis statistik (lampiran 2) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada ketiga perlakuan terhadap persentase hidup spermatozoa sebelum dibekukan.

Dari hasil uji BNT 5% ternyata perlakuan pada kelompok 3 (P3) menghasilkan persentase hidup spermatozoa tertinggi dibandingkan perlakuan

lainnya, sedangkan persentase hidup terendah didapatkan pada P1 meskipun tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan P2.

4.4. Persentase Motilitas Spermatozoa Setelah Dibekukan

Hasil pemeriksaan motilitas spermatozoa sesudah dibekukan dapat dilihat pada tabel 5 berikut ini :

Tabel 5. Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Spermatozoa Setelah Dibekukan

Perlakuan	Persentase Motilitas Spermatozoa Setelah Dibekukan
P3	60,83±4,49 ^a
P1	59,17±4,49 ^a
P2	49,17±4,49 ^b

Keterangan : - Superskrip dengan notasi huruf yang berbeda berarti berbeda nyata ($p < 0,01$).

Berdasarkan analisis statistik (lampiran 3) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada ketiga perlakuan terhadap persentase motilitas spermatozoa sesudah dibekukan.

Dari hasil uji BNT 5% ternyata menunjukkan motilitas tertinggi didapatkan pada kelompok perlakuan 3 (P3) dimana tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan P1. sedangkan motilitas persentase terendah didapatkan pada P2.

4.5. Persentase Hidup Spermatozoa Setelah Dibekukan

Hasil pemeriksaan hidup spermatozoa sesudah dibekukan dapat dilihat pada tabel 6 berikut ini :

Tabel 6 . Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Hidup Spermatozoa Setelah Dibekukan.

Perlakuan	Persentase Hidup Spermatozoa Setelah Dibekukan
P3	63,17±3,98 ^a
P1	60,83±3,72 ^a
P2	51,17±4,67 ^b

Keterangan : Superskrip dengan notasi huruf berbeda berarti berbeda Nyata ($p < 0,01$)

Berdasarkan analisis statistik (lampiran 4) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada ketiga perlakuan terhadap persentase hidup spermatozoa sesudah dibekukan.

Dari hasil uji BNT 5% ternyata menunjukkan bahwa persentase hidup tertinggi didapat pada kelompok perlakuan 3 (P3) dimana tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan P1, sedangkan persentase hidup terendah didapatkan pada P2.

BAB V
PEMBAHASAN

PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

5.1. Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis

Sebelum penelitian dilakukan, terlebih dahulu air mani diperiksa baik secara makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui kualitas dan kuantitasnya. Pemeriksaan ini dilakukan untuk menentukan sampel air mani tersebut layak diproses lebih lanjut menjadi air mani beku atau tidak.

Hasil pemeriksaan dari 6 kali penampungan memberikan gambaran cukup baik dengan rata-rata volume air mani 2 ml. Sedangkan rata-rata konsentrasi air mani 2416,7 juta sel permililiter, spermatozoa hidup 84,3%, yang abnormal 10,8%. Derajat keasaman (pH) 6,75 sedangkan warna dari air mani putih susu dengan konsistensi kental dan bau khas domba.

Menurut Toelihere (1993), air mani domba normal yang dapat dipakai untuk inseminasi buatan mempunyai volume 0,8-1,2 ml, dengan konsentrasi 2000-3000 juta permililiter. Derajat keasaman berkisar 6,2-7,0 dan motilitas diatas 60%. Pada proses pembuatan mani beku ditekankan pada gerakan (motilitas) spermatozoa setelah pengenceran. Bila hasilnya sesuai dengan standar maka dillanjutkan untuk proses pembekuan (Anonimus, 1995). Untuk air mani domba harus mengandung 65%-75% spermatozoa motil sebelum pengenceran serta 25%-45% setelah pengenceran dan equilibrasi (Evans dan Maxwell, 1987). Dengan syarat-syarat di atas dimaksudkan

agar waktu pembekuan walaupun terjadi penurunan jumlah spermatozoa hidup tetapi masih dimungkinkan bisa digunakan untuk inseminasi. Apabila dilihat dari tabel 1 dan 2, kiranya air mani hewan coba masih memenuhi syarat untuk dilakukan pemrosesan lebih lanjut.

Volume air mani per ejakulat berbeda-beda tergantung kepada umur, kondisi hewan, frekwensi pengambilan, jumlah cairan yang diminum dan musim (Hafez, 1993). Hewan berukuran kecil dan berumur muda pada umumnya menghasilkan volume air mani yang rendah. Volume air mani tidak berhubungan dengan fertilitas dan sterilitas.

Bau air mani khas karena setiap domba memiliki bau yang spesifik. Hal ini dipengaruhi oleh bau cairan kelenjar pelengkap. Perubahan warna dan bau disebabkan oleh pencemaran darah, nanah, urin dan feses yang berasal dari saluran alat kelamin jantan.

Konsistensi kental berarti konsentrasi spermatozoa di dalam air mani tersebut tinggi, hal itu terlihat pada dinding tabung yang dimiringkan dan kembali tegak maka ada cairan yang menempel pada dinding tabung dan terlihat bintik kecil yang banyak seolah berdesakan turun ke bawah perlahan-lahan.

Pengukuran derajat keasaman (pH) dalam bahan pengencer penting dilakukan karena perubahan pH dapat mempengaruhi daya hidup spermatozoa. Keadaan yang terlalu basa atau asam akan menyebabkan sifat racun bagi spermatozoa, baik di dalam bahan pengencer maupun di dalam saluran alat kelamin betina. Motilitas,

persentase hidup dan fertilitas air mani akan tetap terpelihara bila berada dalam bahan pengencer yang sesuai pHnya (Hafez, 1993).

Pada tabel 2 diperoleh data gerakan massa menunjukkan +++ yang berarti gelombang kecil sampai besar yang tebal dan gelap dalam jumlah banyak dan bergerak cepat. Gerakan individu spermatozoa adalah progresif, berarti spermatozoa bergerak aktif maju ke depan. Pergerakan ini memungkinkan spermatozoa dapat mencapai sel telur di dalam saluran oviduct dalam waktu yang relatif singkat, sehingga memungkinkan terjadi pembuahan yang sempurna. Menurut Hafez (1993), spermatozoa yang masih layak digunakan untuk inseminasi buatan berkisar antara D/+++P sampai D/+-P.

5.2. Persentase Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa digunakan sebagai ukuran kesanggupan membuahi sel telur. Dalam kelompok spermatozoa cenderung bergerak bersama-sama membentuk gelombang tebal sampai dengan tipis, tergantung kepada konsentrasi spermatozoa di dalamnya. Apabila dilihat pada tabel 3 dimana motilitas spermatozoa sebelum dibekukan menunjukkan bahwa air mani yang diberi perlakuan 3 (P3) yaitu (pengencer kuning telur sitrat + air susu masak) memiliki rataan motilitas yang tinggi dibandingkan dengan air mani yang diberi perlakuan 1(P1) yaitu (pengencer kuning telur sitrat) dan perlakuan 2 (P2) yaitu (pengencer air susu masak). Pada tabel 5 terlihat bahwa motilitas spermatozoa sesudah dibekukan menunjukkan bahwa

perlakuan 3 memiliki rataan motilitas tertinggi meskipun dengan menggunakan uji BNT 5% tidak berbeda nyata dengan perlakuan 1 sedangkan motilitas terendah didapat pada perlakuan 2, secara statistik terdapat perbedaan yang sangat nyata pada ketiga perlakuan. Pada tabel 5 terjadi penurunan persentase motilitas spermatozoa domba setelah dibekukan, dari perlakuan 1 sebelum dibekukan sebesar $65,00 \pm 4,08$ dan setelah dibekukan sebesar $59,17 \pm 4,49$; dalam perlakuan 2 sebelum dibekukan $70,83 \pm 4,49$ setelah dibekukan sebesar $49,17 \pm 4,49$; dalam perlakuan 3 sebelum dibekukan sebesar $75,83 \pm 6,72$ setelah dibekukan sebesar $60,83 \pm 4,49$, hal tersebut memberikan gambaran bahwa proses pembekuan dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Berdasarkan analisa statistik tidak terdapat perbedaan yang nyata dari ketiga perlakuan tetapi terlihat ada perbedaan yang nyata setelah proses pembekuan dimana perlakuan 3 memberikan motilitas yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan 1 dan 2. Pada pengujian BNT 5% tidak terlihat perbedaan yang nyata antara perlakuan 1 dan 3.

Substrat energi yang utama dari air mani adalah fruktosa, sorbitol dan GPC yang ditemukan dalam plasma air mani (semen). Plasmalogen terdapat dalam spermatozoa itu sendiri, yang merupakan pengganti energi ketika substrat lain dalam keadaan terbatas (Bearden dan Fuquay, 1992). Keempat bahan organik ini dapat dipakai oleh spermatozoa sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitasnya. Hal ini juga disebabkan karena bahan pengencer kuning telur sitrat mengandung lemak kuning telur. Dalam lemak kuning telur terdapat fosfolipida,

sterol, serebrosida dan lemak murni. Fosfolipida terdiri dari *ovolesitin* yang mengandung GPC. Karbohidrat kuning telur berupa glukosa dan karbohidrat gabungan berupa galaktosa dan manosa yang dalam proses metabolisme akan menyediakan energi. Adanya kuning telur dalam suatu pengencer dapat mencegah kejutan dingin (*cold shock*) karena adanya *lecitine* (derivat lipoprotein) yang dapat bekerja sebagai lapisan pelindung (*protecting layer*) sehingga dapat melindungi spermatozoa dari beberapa gangguan luar. Natrium sitrat selain sebagai penyangga (buffer) dapat berfungsi untuk mengikat logam berat terutama kalsium, mendispersikan lemak dari kuning telur menjadi bentuk butiran lemak yang lebih halus dan bersama kuning telur membentuk bahan pengencer yang isotonis terhadap plasma spermatozoa.

Bahan pengencer susu masak yang digunakan adalah susu skim bubuk, digunakan susu tanpa lemak ini agar memudahkan pengamatan spermatozoa di dalam mikroskop sebab adanya butiran lemak akan menyulitkan pengamatan. Air susu yang digunakan dalam pengencer dimasak terlebih dahulu dengan tujuan untuk menghilangkan faktor-faktor beracun di dalam air susu yang dapat membunuh spermatozoa. Faktor tersebut berhubungan dengan adanya laktenin yang merupakan fraksi protein susu yang mengandung albumin, yang bersifat racun keras terhadap spermatozoa. Selain laktenin yang merupakan faktor utama yang dapat merusak spermatozoa juga mengandung enzim toksik lain yang hancur pada waktu pemanasan. Pemanasan air susu di atas 80% akan melepaskan gugusan *sulphydril*

(SH) sebagai zat reduktif yang dapat menetralsir pengaruh toksik laktenin. Umumnya pemansan yang dilakukan sekitar 92° - 98° atau rata-rata 95° selama 10 menit. Pemanasan juga berfungsi untuk mematikan mikroorganisme, mengikat ion kalsium menjadi caseinat yang mudah mengendap dan menguraikan laktosa menjadi bentuk sakarida lain yang digunakan sebagai energi-oleh spermatozoa.

Secara kimiawi air susu merupakan campuran yang kompleks dimana zat-zat makanan yang ada di dalam susu dalam tiga keadaan yang berbeda yaitu sebagai larutan sejati antara lain karbohidrat, garam-garam anorganik; sebagai larutan koloidal antara lain protein, enzim, garam-garam misel; sebagai emulsi antara lain lemak, gliserida-gliserida (Buckle dkk., 1987).

Dalam pengencer air susu terjadi pelepasan glukosa dari disakarida dan laktosa di dalam susu, jadi menyediakan zat karbohidrat yang berguna untuk menghasilkan energi bagi spermatozoa.

Dalam penelitian ini terlihat bahwa sebelum dibekukan ketiga bahan pengencer secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, ternyata ketiganya memberikan motilitas yang baik. Pada keadaan setelah dibekukan terjadi penurunan motilitas dari ketiga bahan pengencer, hal itu wajar sebab dalam proses pembekuan spermatozoa harus berada dalam suhu dibawah 0°C sehingga banyak terjadi kematian pada spermatozoa. Pada pengencer yang mengandung bahan anti *cold shock* yang mampu mempertahankan spermatozoa dari kematian akibat terjadi

penurunan suhu pada proses pembekuan dan hal itu terdapat dalam pengencer yang mengandung kuning telur.

Bahan pengencer kombinasi kuning telur sitrat dengan air susu masak merupakan bahan pengencer yang sangat baik digunakan dalam proses pembekuan air mani sebab adanya kandungan yang sangat kompleks yang mampu mempertahankan motilitas dan hidup spermatozoa. Bahan-bahan yang terdapat dalam kombinasi pengencer tersebut antara lain merupakan gabungan dari pengencer kuning telur sitrat dengan air susu masak antara lain derivat lipoprotein yaitu lecitine yang mempertahankan keadaan membran sel dari spermatozoa pada saat pembekuan, adanya karbohidrat sebagai sumber energi, protein, lemak dari kuning telur dan sitrat yang mampu mendispersikan lemak dan mengikat logam berat dalam bahan pengencer.

4.3. Persentase Hidup Spermatozoa

Persentase sel spermatozoa hidup merupakan salah satu indikator untuk menilai baik buruknya kualitas air mani. Hal ini dipengaruhi oleh cairan pelengkap yang dikeluarkan oleh kelenjar vesikula seminalis, karena cairan pelengkap mempunyai fungsi menetralkan keasaman saluran kelamin dan juga sebagai media yang mendukung kehidupan dan gerak spermatozoa (Suprayogi, 1996).

Pada tabel 4 dan 6, terjadi penurunan persentase hidup spermatozoa setelah dibekukan, dari perlakuan 3(P3) sebelum dibekukan sebesar $66,83 \pm 2,54$ setelah

dibekukan sebesar $60,83 \pm 3,72$; dalam perlakuan 2(P2) sebelum dibekukan sebesar $71 \pm 5,80$ setelah dibekukan sebesar $51,177 \pm 4,67$; dalam perlakuan 3 (P3) sebelum dibekukan sebesar $76,50 \pm 3,30$ setelah dibekukan $63,17 \pm 3,89$. Menurut Hafez (1993) persentase hidup spermatozoa yang bisa digunakan untuk pelaksanaan inseminasi buatan di atas 60%.

Penurunan persentase hidup spermatozoa setelah diencerkan disebabkan oleh penyesuaian tekanan osmotik antara air mani dengan bahan pengencer. Perubahan ini akan mengakibatkan penurunan permeabilitas membran sehingga akan terjadi lisis dan kematian (Suprayogi, 1996).

Penurunan persentase hidup spermatozoa setelah dibekukan biasa terjadi dalam suatu proses pembekuan sebab saat spermatozoa harus berada dalam suhu yang turun drastis dari keadaan yang semula, sehingga kemungkinan kerusakan 20% dari seluruhnya pada waktu pembekuan masih dianggap memuaskan. Pada proses pembekuan air mani terbentuk kristal-kristal es, terjadi penumpukan elektrolit dan bahan terlarut lainnya di dalam larutan atau sel-sel. Kristal-kristal es intraseluler dapat merusak spermatozoa secara mekanik. Konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipoprotein dinding spermatozoa dan waktu pencairan kembali (thawing), permeabilitas membrana sel akan berubah dan menyebabkan kematian spermatozoa (Toelihere, 1993).

Hal-hal yang mempengaruhi persentase hidup dari spermatozoa pada bahan pengencer yang digunakan adalah adanya derivat lipoprotein yaitu lecitine sebagai

bahan anti *cold shock*.. Bahan ini mempertahankan dan melindungi integritas selubung spermatozoa.

Dalam penelitian pada bahan pengencer yang mengandung kuning telur yang mampu mempertahankan hidup dari spermatozoa dan terdapat dalam perlakuan 1 dan 3. Dalam bahan pengencer air susu mempunyai persentase yang rendah dibandingkan dengan kedua bahan lainnya, hal ini berhubungan dengan tidak adanya *lecitine* yang menjaga dari bahaya *cold shock*. Bahan pengencer susu mampu mempertahankan hidup spermatozoa walaupun tidak setinggi dua pengencer lainnya.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian pengaruh berbagai bahan pengencer dalam proses pembekuan terhadap daya hidup spermatozoa domba, maka dapat ditarik kesimpulan dan saran sebagai berikut :

Kesimpulan :

1. Bahan pengencer kuning telur sitrat dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa domba dalam proses pembekuan.
2. Bahan pengencer air susu masak menurunkan daya hidup spermatozoa domba dalam proses pembekuan.
3. Bahan pengencer kombinasi kuning telur sitrat dengan air susu masak dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa domba dalam proses pembekuan.

Saran:

1. Disarankan penggunaan bahan pengencer kombinasi kuning telur sitrat dengan air susu masak dalam pembuatan air mani beku (frozen semen).
2. Disarankan mencari bahan pengencer lain yang dapat digunakan untuk pembuatan air mani beku (frozen semen).

RINGKASAN

RINGKASAN

RINGKASAN

Inseminasi buatan pada domba merupakan suatu upaya yang sedang dikembangkan. Pada umumnya inseminasi buatan dilakukan pada ternak besar. Pengembangan produksi dan peningkatan mutu genetik dapat diupayakan dengan peningkatan efisiensi reproduksi, salah satunya melalui inseminasi buatan.

Dalam pelaksanaan inseminasi buatan diperlukan uji kualitas dan kuantitas agar didapatkan penilaian air mani yang memenuhi syarat untuk kegiatan inseminasi buatan di lapangan. Observasi ini penting untuk menentukan kadar pengenceran air mani.

Bahan pengencer yang baik mengandung zat-zat makanan sebagai sumber energi, melindungi spermatozoa dari kejutan dingin, sebagai penyangga untuk mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmosis serta mencegah perkembangan kuman.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan daya hidup dari air mani dalam pengencer kuning telur sitrat, air susu masak dan kombinasi antara keduanya dalam air mani beku tipe pellet.

Hewan percobaan yang dipakai adalah domba jantan dewasa. Penampungan air mani menggunakan vagina buatan dengan pemeriksaan kualitas dan kuantitas air mani. Sebelumnya dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Air mani yang memenuhi syarat diencerkan dengan tiga bahan pengencer berbeda, kemudian dilakukan pemeriksaan terhadap motilitas dan hidup spermatozoa, selanjutnya

dilakukan proses pembekuan yang sebelumnya melalui proses equilibrasi dan gliserolisasi.

Rancangan penelitian yang dipakai adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan Uji F. Apabila terdapat perbedaan diantara perlakuan maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil 5% (BNT 5%).

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata pada ketiga bahan pengencer ($p < 0,05$) terhadap persentase motilitas spermatozoa domba sebelum dibekukan dan terdapat perbedaan yang sangat nyata pada ketiga bahan pengencer ($p < 0,01$) terhadap persentase motilitas spermatozoa domba setelah dibekukan. Pada pemeriksaan persentase spermatozoa hidup terdapat perbedaan yang sangat nyata pada ketiga bahan pengencer ($p < 0,01$) baik sebelum maupun setelah dibekukan.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1995. Petunjuk Penampungan, Produksi, Distribusi dan Evaluasi Semen Beku. Balai Inseminasi Buatan Singosari. 3-7
- Asfi'i, M. 1999. Penambahan Kafein Dalam Kuning Telur Sitrat Sebagai Upaya Meningkatkan Motilitas dan Lama Hidup Spermatozoa Domba. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Bearden, H.J. dan J.W. Fuquay, 1992. Applied Animal Reproduction. Third Edition. Missisipi State University. New Jersey. 67-87
- Blakely, J. dan Bade, D.H. 1991. Ilmu Peternakan. edisi 4. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Buckle, K.A.; R.A. Edward ; G.H. Fleet dan M. Wooton. 1987. Ilmu Pangan. Food Science. Edisi keempat. Purnomo, Hari dan Adiono (penterjemah) Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Evans, G. dan W.M.C. Maxwell. 1987. Salomon Artificial Insemination of Sheep and Goat. Departement of Animal Husbandry. Sydney. 85-141
- Faulkner, L.C. dan M.H. Pineda. 1975. Artificial Insemination. In: L.E. Mc Donald (Ed). Veterinary Endocrinology and Reproduction. 2nd ed. Lea and Febinger. Philadelphia. 257-319
- Gatenby, M.T. 1991. Sheep. Australia Publishing Company. Australia. 4 - 6
- Hafez, E.S.E. 1993. Sheep and Goats. In: Hafez ed Reproduction in Farm Animal, 6th ed. Lea and Febinger. Philadelphia. 330-340
- Hafez, E.S.E. 1993. Spermatozoa and Seminal Plasma In: Reproduction in Farm Animal, 6th ed. Lea and Febinger. Philadelphia. 165-187
- Hardjopranjoto, S. 1984. Fisiologi Reproduksi. Edisi III. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

- Hardjopranto, S. 1988. Ilmu Inseminasi Buatan. Cetakan VIII. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Hardjanto, Trilas Sardjito, Tatik Hernawati, Suherni Susilowati, Tri Wahyu Suprayogi 1998. Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Hermadi, H.A. 1992. Daya Fertilisasi Spermatozoa Domba dalam Pengencer Sari Buah-Pisang dengan Pengujian Metode Flushing Embrio. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Hutasoit, J.H. 1978. Spermatologi dan Kaitannya dengan Pembangunan Peternakan di Indonesia. Prosiding Simposium Spermatologi. Surabaya. 48-52
- Kusriningrum. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 53-92
- Lindsay, K.W. Entwistle dan Winantea, A. 1982. Reproduction in Domestic Livestock in Indonesia, Australia University International Development Program (AUIDP). Melbourn.
- Muljo, S.M. 1981. Inseminasi Buatan pada Sapi dan Beberapa Seluk Beluknya. Balai Inseminasi Buatan Singosari.
- Nalbandov, A.V. 1990. Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Cetakan I. Terjemahan K. Sunaryo. Universitas Airlangga. 262-263
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Edisi III. Penerbit Mutiara. Jakarta. 530, 535-536, 557-560
- Perry, E.J. 1969. The Artificial Insemination of Farm Animals. 4th ed. Oxford and Publishing co. Calcuta Bombay New Delhi. 355-357
- Putro, P.P. 1991. Inseminasi Buatan Sebagai Suatu Sarana Untuk Meningkatkan Efisiensi Pengawinan Kuda. Ikatan Penyidik Kesehatan Hewan Indonesia.
- Romanoff, A.L., and Romanoff A.J., 1963. The Avian EGG. Second Printing. John and Sons, Inc. New York.
- Salisbury, C.W. and Van Demark, N.L. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 442-472

- Salisbury, C.W. and Van Demark, N.L. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 442-472
- Suprayogi, T.W. 1996. Pengaruh Waktu Penyimpanan Bahan Pengencer Kuning Telur Sitrat Terhadap Daya Fertilisasi Sel Mani Domba. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Suharno, B. dan Nazarudin. 1994. Ternak Komersial. Penebar Swadaya. Jakarta. 2-3, 60-62
- Tadjudin, M.K., 1985. Kriteria Kesuburan Untuk Pria. Simposium Untuk Orang Awam. Jakarta.
- Taylor, R.E., 1992. Scientific Farm Animal Production. 4th ed. William, Wilkins. New York.
- Toelihere, M.R., dan M.B. Taurin. 1979. Frozen Semen. Edisi kedua. Departemen Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. 32-36
- Toelihere, M.R., 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung. 120-128
- Toelihere, M.R., 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung. 46-72
- Tomaszewska, M.W., Sutomo, I.K., Putu, I.G., Chaniago, T.D., 1991. Reproduksi, Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia. Penerbit P.T. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Watson, P.F., 1981. The Effects of Cold Shock on Sperm Cell Membrane. In Effect of Low Temperature on Biological Membrane. Academic Press. London. 189-218
- White, I.G. and Wales, R.G. 1960. The Susceptibility of Spermatozoa to Cold Shock. International Fertility. Sweden. 195-201

Lampiran 1. Hasil Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa Sebelum Dibekukan

Tabel 7. Persentase Motilitas Spermatozoa Dalam Bahan Pengencer

Pancaran	Perlakuan		
	P1	P2	P3
I	70	75	80
II	60	70	75
III	65	75	70
IV	60	65	85
V	70	75	65
VI	65	65	80

Perhitungan Statistik dengan percobaan Rancangan Acak Lengkap untuk Motilitas Spermatozoa Domba dalam Bahan Pengencer setelah ditransformasi ke dalam $\arcsin \sqrt{\text{persentase}}$

Tabel 8. Motilitas Spermatozoa Domba dalam Bahan Pengencer Sebelum Dibekukan Setelah ditransformasi ke dalam $\arcsin \sqrt{\text{persentase}}$

Pancaran	Perlakuan			Total
	P1	P2	P3	
I	56,79	60	63,44	
II	50,77	56,79	60	
III	53,73	60	56,79	
IV	50,77	53,73	67,21	
V	56,79	60	53,73	
VI	53,73	53,73	63,44	
Total	322,58	344,25	364,61	
Rata-rata	53,76	57,38	60,77	1031,44

LAMPIRAN

LAMPIRAN

FK (Faktor Koreksi)

$$= \frac{1031,44^2}{3 \times 6} = 59103,80$$

JKT (Jumlah Kuadrat Total)

$$= (56,79^2 + 50,77^2 + \dots + 63,44^2) - 59103,80$$

$$= 59456,62 - 59103,80$$

$$= 352,82$$

JKP (Jumlah Kuadrat Perlakuan)

$$= \frac{322,58^2 + 344,25^2 + 364,61^2}{6} - 59103,80$$

$$= 147,26$$

JKS (Jumlah Kuadrat Sisa)

$$= \text{JKT} - \text{JKP}$$

$$= 352,82 - 147,26$$

$$= 205,56$$

KTP (Kuadrat Tengah Perlakuan)

$$= \frac{\text{JKP}}{t - 1}$$

$$= \frac{147,26}{3 - 1}$$

$$= 73,63$$

KTS (Kuadrat Tengah Sisa)

$$= \frac{\text{JKS}}{t(n - 1)}$$

$$= \frac{205,56}{3(6 - 1)}$$

$$= 13,70$$

F Hitung

$$= \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{73,63}{13,70} = 5,37$$

Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	147,26	73,63	5,37*	3,68	6,36
Sisa	15	205,56	13,70			
Total	17	352,82				

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t_{5\%} (15) \times \sqrt{\frac{2 \times \text{KTS}}{n}} \\ &= 2,131 \times \sqrt{\frac{2 \times 13,7}{6}} \\ &= 4,55 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata Perlakuan	Beda (Selisih)		BNT 5%
		X-P1	X-P2	
P3 ^a	60,77	7,01*	3,39	4,55
P2 ^{ab}	57,38	3,62		
P1 ^b	53,76			

Lampiran 2. Hasil Pemeriksaan Spermatozoa Hidup Sebelum Dibekukan

Tabel 8. Persentase Spermatozoa Hidup Dalam Bahan Pengencer

Pancaran	Perlakuan		
	P1	P2	P3
I	67	75	78
II	70	77	80
III	69	73	77
IV	64	60	70
V	63	74	79
VI	68	67	75

Perhitungan Statistik dengan percobaan Rancangan Acak Lengkap untuk hidup Spermatozoa Domba dalam Bahan Pengencer setelah ditransformasikan dalam $\text{arc. sin } \sqrt{\text{persentase}}$

Tabel 9. Hidup Spermatozoa Domba dalam Bahan Pengencer Sebelum Dibekukan Setelah ditransformasikan ke dalam $\text{arc. sin } \sqrt{\text{persentase}}$

Pancaran	Perlakuan			Total
	P1	P2	P3	
I	59,94	60	62,03	
II	56,79	61,34	63,44	
III	56,17	58,69	61,34	
IV	53,13	50,77	56,79	
V	52,53	59,34	62,72	
VI	55,55	54,94	60	
Total	329,11	345,08	366,32	
Rata-rata	54,85	57,51	61,05	1040,51

FK (Faktor Koreksi)

$$\begin{aligned} & 1040,51^2 \\ & = \frac{\quad}{3 \times 6} \\ & = 60147,85 \end{aligned}$$

JKT (Jumlah Kuadrat Total)

$$\begin{aligned} & = 59,94^2 + 56,79^2 + \dots + 60^2 - FK \\ & = 60384,77 - 60147,85 \\ & = 236,92 \end{aligned}$$

JKP (Jumlah Kuadrat Perlakuan)

$$\begin{aligned} & \frac{329,11^2 + 345,08^2 + 366,32^2}{6} - FK \\ & = 60263,99 - 60147,85 \\ & = 116,14 \end{aligned}$$

JKS (Jumlah Kuadrat Sisa)

$$\begin{aligned} & = JKT - JKP \\ & = 236,92 - 116,14 \\ & = 120,78 \end{aligned}$$

KTP (Kuadrat Tengah Perlakuan)

$$\begin{aligned} & \frac{JKP}{t - 1} \\ & = \frac{116,14}{3 - 1} \\ & = 58,07 \end{aligned}$$

KTS (Kuadrat Tengah Sisa)

$$\begin{aligned} & \frac{JKS}{t(n - 1)} \\ & = \frac{120,78}{3(6 - 1)} \\ & = 8,05 \end{aligned}$$

F Hitung

$$\begin{aligned}
 & \text{KTP} \\
 & = \frac{\quad}{\quad} \\
 & \text{KTS} \\
 & \quad 58,07 \\
 & = \frac{\quad}{\quad} \\
 & \quad 8,05 \\
 & = 7,21
 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	116,14	58,07	7,21**	3,68	6,36
Sisa	15	120,78	8,05			
Total	17	236,92				

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5\% &= t_{5\%}(15) \times \sqrt{\frac{2 \times \text{KTS}}{n}} \\
 &= 2,131 \times \sqrt{\frac{2 \times 8,05}{6}} \\
 &= 5,72
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata Perlakuan	Beda (Selisih)		BNT 5%
		X-P1	X-P2	
P3 ^a	61,05	6,2*	3,54	5,72
P2 ^{ab}	57,51	2,66		
P3 ^b	54,85			

Lampiran 3. Hasil Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa Domba Setelah Dibekukan

Tabel 10. Persentase Motilitas Spermatozoa Dalam Bahan Pengencer

Pancaran	Perlakuan			Total
	P1	P2	P3	
I	55	45	65	
II	65	55	60	
III	65	50	55	
IV	55	45	65	
V	60	55	55	
VI	55	45	65	
Total	355	295	365	
Rata-rata	59,17	49,17	60,83	1015

FK (Faktor Koreksi)

$$\begin{aligned}
 & \frac{1051^2}{3 \times 6} \\
 & = 57234,72
 \end{aligned}$$

JKT (Jumlah Kuadrat Total)

$$\begin{aligned}
 & = 55^2 + 65^2 + \dots + 65^2 - FK \\
 & = 840,28
 \end{aligned}$$

JKP (Jumlah Kuadrat Perlakuan)

$$\begin{aligned}
 & \frac{355^2}{6} + \frac{295^2}{6} + \frac{365^2}{6} - FK \\
 & = 477,78
 \end{aligned}$$

JKS (Jumlah Kuadrat Sisa)

$$\begin{aligned}
 & = JKT - JKP \\
 & = 840,28 - 477,78 \\
 & = 362,50
 \end{aligned}$$

KTP (Kuadrat Total Perlakuan)

$$\begin{aligned} & \text{JKP} \\ & = \frac{\quad}{t-1} \\ & \quad 477,78 \\ & = \frac{\quad}{2} \\ & = 238,89 \end{aligned}$$

KTS (Kuadrat Total Sisa)

$$\begin{aligned} & \text{JKS} \\ & = \frac{\quad}{t(n-1)} \\ & \quad 362,50 \\ & = \frac{\quad}{3(6-1)} \\ & \quad 362,50 \\ & = \frac{\quad}{15} \\ & = 24,17 \end{aligned}$$

F Hitung

$$\begin{aligned} & \text{KTP} \\ & = \frac{\quad}{\quad} \\ & \quad \text{KTS} \\ & \quad 238,89 \\ & = \frac{\quad}{\quad} \\ & \quad 24,17 \\ & = 9,88 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	477,78	238,89	9,88**	3,68	6,36
Sisa	15	362,50	24,17			
Total	17	840,28				

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%)

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t_{5\%(15)} \times \sqrt{\frac{2 \times \text{KTS}}{n}} \\ &= 2,131 \times \sqrt{\frac{2 \times 24,17}{6}} \\ &= 6,11 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata Perlakuan	Beda (Selisih)		BNT 5%
		X - P2	X - P1	
P3 ^a	60,83	11,66*	1,66	6,11
P1 ^a	59,17	10*		
P2 ^b	49,17			

Lampiran 4. Hasil Pemeriksaan Spermatozoa Hidup Setelah Dibekukan

Tabel 11. Persentase Hidup Spermatozoa Dalam Bahan Pengencer

Pancaran	Perlakuan			Total
	P1	P2	P3	
I	60	46	67	
II	55	53	69	
III	66	55	58	
IV	59	44	60	
V	65	57	61	
VI	60	52	64	
Total	365	307	379	
Rata-rata	60,83	51,17	63,17	1051

FK (Faktor Kuadrat)

$$\begin{aligned} &\frac{1051^2}{3 \times 6} - \frac{1051^2}{18} \\ &= \frac{1051^2}{18} - \frac{1051^2}{18} = 61366,72 \end{aligned}$$

JKT (Jumlah Kuadrat Total)

$$\begin{aligned} &= 60^2 + 55^2 + \dots + 64^2 - \text{FK} \\ &= 790,28 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &\text{JKP (Jumlah Kuadrat Perlakuan)} \\
 &\quad 365 \quad 307 \quad 379 \\
 &= \frac{\quad}{6} + \frac{\quad}{6} + \frac{\quad}{6} - \text{FK} \\
 &= 485,78
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &\text{JKS (Jumlah Kuadrat Sisa)} \\
 &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 790,28 - 485,78 \\
 &= 304,5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &\text{KTP (Kuadrat Tengah Perlakuan)} \\
 &\quad \text{JKP} \\
 &= \frac{\quad}{t - 1} \\
 &\quad 485,78 \\
 &= \frac{\quad}{2} \\
 &= 242,89
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &\text{KTS (Kuadrat Tengah Sisa)} \\
 &\quad \text{JKS} \\
 &= \frac{\quad}{t(n - 1)} \\
 &\quad 304,50 \\
 &= \frac{\quad}{3(6 - 1)} \\
 &\quad 304,50 \\
 &= \frac{\quad}{15} \\
 &= 20,30
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &\text{F Hitung} \\
 &\quad \text{KTP} \\
 &= \frac{\quad}{\quad} \\
 &\quad \text{KTS} \\
 &\quad 242,89 \\
 &= \frac{\quad}{\quad} \\
 &\quad 20,30 \\
 &= 11,97
 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	485,78	242,89	11,97**	3,68	6,36
Sisa	15	304,50	20,30			
Total	17	790,28				

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%)

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t_{5\%(15)} \times \sqrt{\frac{2 \times \text{KTS}}{N}} \\
 &= 2,131 \times \sqrt{\frac{2 \times 20,30}{6}} \\
 &= 5,54
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata perlakuan	Beda (Selisih)		BNT 5%
		X - P2	X - P1	
P3 ^a	63,17	12*	2,34	5,54
P1 ^a	60,83	9,66*		
P2 ^b	51,17			

Lampiran 5: Pembuatan Bahan Pengencer Kuning Telur Sitrat

Ada tiga tahap pembuatan bahan pengencer ini.

1. Pembuatan larutan sitrat

larutan sitrat dibuat dengan cara memanaskan

Natrium sitrat 2,9 gr

Aquadestilata ad 100 ml

Setelah semuanya larut, Larutan sitrat tersebut dibiarkan dingin hingga mencapai suhu kamar (20°C - 27°C) sampai 32°C .

2. Pembuatan Larutan kuning telur sitrat

Telur ayam dibersihkan kulitnya dengan menggunakan alkohol 70%.

Setelah kering maka telur dipecah dan diambil kuningnya kemudian diletakkan diatas kertas saring untuk menyerap putih telur yang masih tertinggal. larutan kuning telur sitrat dibuat dengan mencampurkan 1:4 bagian yaitu satu bagian kuning telur dengan empat bagian larutan sitrat.

3. Penambahan antibiotik

Setiap satu mililiter larutan kuning telur sitrat ditambahkan satu miligram streptomycin dan 1000 IU penicillin. Aduk merata.

Lampiran 6: Pembuatan Bahan Pengencer Air Susu Masak

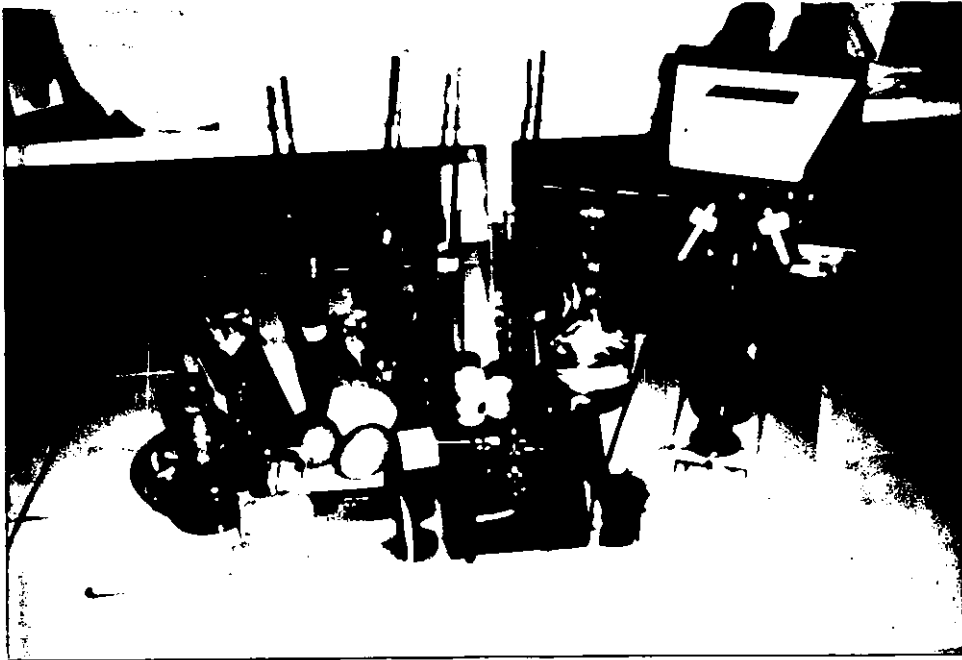
Pembuatan bahan pengencer air susu masak menggunakan susu skim bubuk merek Laktona, caranya ada lima tahap.

1. Timbang 10 mg susu skim bubuk, masukkan ke dalam labu erlenmeyer kemudian larutkan dengan aquadestilata ad 100 ml.
2. Masukkan labu erlenmeyer ke dalam bejana yang berisi air secukupnya dan panaskanlah air susu tersebut secara tidak langsung dan pasanglah termometer samapai suhunya 92°C - 95°C selama 10 menit.
3. Dinginkanlah air susu tersebut perlahan-lahan hingga mencapai suhu kamar (20°C - 27°C) sampai 32°C .
4. Lakukan penyaringan memakai kain kasa steril.
5. Penambahan antibiotik
Setiap satu mililiter air susu ditambahkan satu miligram streptomycin dan 1000 IU penicillin. Aduk merata.

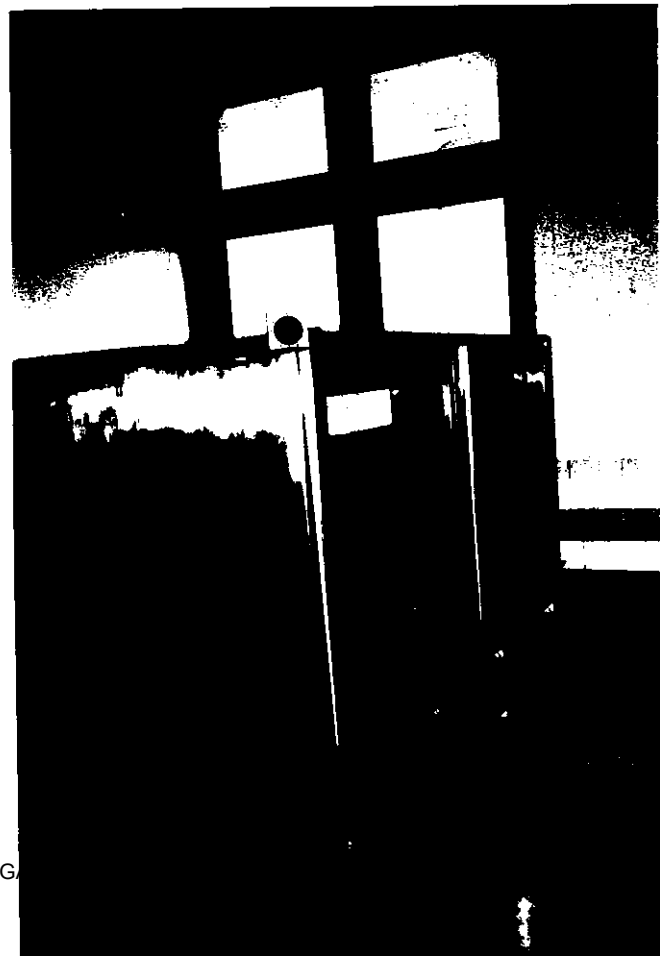
Lampiran 7. Pembuatan Bahan Pengencer Kuning Telur Sitrat dengan Air Susu Masak

Pembuatan bahan pengencer ini sama dengan lampiran di depan, hanya dengan melakukan pencampuran pada kedua bahan tersebut menggunakan perbandingan 1:1, kemudian ditambahkan antibiotik. Aduk merata.

GAMBAR



Gambar 1. Alat dan Bahan Penelitian



Gambar 2. Mesin Pendingin (Cool Top)