

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN KAFEIN PADA MEDIUM
KAPASITASI BO (*Brackett and Oliphant's*) plus BSA (*Bovine Serum
Albumin*) TERHADAP MOTILITAS DAN DAYA HIDUP
SPERMATOZOA DOMBA**



Oleh :

NOVI EKA FATMAWATI
NGANJUK – JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**

**PENGARUH PEMBERIAN KAFEIN PADA MEDIUM
KAPASITASI BO (*Brckett and Oliphant's*) plus BSA (*Bovine Serum
Albumin*) TERHADAP MOTILITAS DAN DAYA HIDUP
SPERMATOZOA DOMBA**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
Pada
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh :

NOVI EKA FATMAWATI

060233109

Menyetujui,
Komisi Pembimbing,



Hj. Eka Pramytha H., M.Kes., Drh
Pembimbing Pertama



Dr. Bambang Poernomo S., Drh., MS.
Pembimbing Kedua

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**.

Menyetujui,
Panitia Penguji



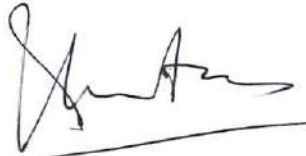
Drh. Rimayanti, M.Kes
Ketua



Dr. Wurlina, MS., Drh.
Sekretaris



Drh. Tatik Hernawati, M.Kes.
Anggota



Hj. Eka Pramytha H., M.Kes., Drh.
Anggota

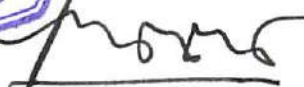


Dr. Bambang Poernomo S., M.S., Drh.
Anggota

Surabaya, 29 April 2005



Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh.
NIP. 130 687 297

**PENGARUH PEMBERIAN KAFEIN PADA MEDIUM
KAPASITASI BO (*Brckett and Oliphant's*) plus BSA (*Bovine
Serum Albumin*) TERHADAP MOTILITAS DAN
DAYA HIDUP SPERMATOZOA DOMBA**

Novi Eka Fatmawati

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan penggunaan medium kapasitas BO plus BSA dan medium kapasitas BO plus BSA plus kafein terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa.

Penelitian ini terdiri dari 2 perlakuan yaitu P1 dengan pemberian medium kapasitas BO plus BSA, sedangkan untuk P2 dengan pemberian medium kapasitas BO plus BSA plus kafein, masing-masing perlakuan terdiri dari 6 ulangan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen segar domba yang telah diperiksa di laboratorium dan menunjukkan kualitas yang baik, kemudian dibagi menjadi dua tabung sentrifuse. Pada tabung 1 (P1) diisi dengan 2 ml medium kapasitas BO plus BSA dan pada tabung 2 (P2) diisi dengan 2 ml medium kapasitas BO plus BSA plus kafein, kedua tabung tersebut disentrifuse dengan kecepatan 1800 rpm selama 10 menit. Kemudian dilakukan pemeriksaan motilitas dan daya hidup spermatozoa.

Data yang diperoleh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa dianalisa dengan menggunakan Uji t setelah data ditransformasikan. Hasil yang diperoleh dari penelitian terhadap motilitas spermatozoa pada P1 sebesar $8,80 \pm 0,23$ dan pada P2 sebesar $9,35 \pm 0,28$. Untuk daya hidup spermatozoa pada P1 sebesar $8,84 \pm 0,29$ dan pada P2 sebesar $9,40 \pm 0,25$. Dengan Uji t taraf signifikan 5 % diperoleh hasil antara perlakuan menunjukkan perbedaan yang sifatnya sangat nyata.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur Alhamdulillah kepada Allah SWT, atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat melakukan penelitian ini yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN KAFEIN PADA MEDIUM KAPASITASI BO (*Brackett and Oliphant’s*) plus BSA (*Bovine Serum Albumin*) TERHADAP MOTILITAS DAN DAYA HIDUP SPERMATOZOA DOMBA”**

Pesatnya perkembangan bioteknologi pada saat ini sejalan dengan tingkat kebutuhan manusia di berbagai bidang, khususnya di bidang peternakan. Penggunaan bioteknologi di bidang peternakan dapat berguna untuk meningkatkan produksi peternakan, misalnya untuk keperluan fertilisasi *in vitro*. Bioteknologi ini juga bermanfaat bagi kehidupan manusia dalam meningkatkan kesejahteraan dan perbaikan hidupnya. Oleh karena itu dengan dilakukan penelitian ini kami dapat memberi masukan positif untuk dapat meningkatkan kualitas spermatozoa sehingga dapat memenuhi kebutuhan akan ternak dan hasilnya.

Pada kesempatan ini dengan penuh rasa hormat, penulis mengucapkan terima-kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
2. Ibu Hj. Eka Pramytha H., M.Kes., Drh dan Bapak Dr.Bambang Poernomo S., Drh., MS. selaku dosen pembimbing, yang telah sabar membimbing penulis untuk menyelesaikan skripsi.

3. Ibu Rimayanti, M.Kes., Ibu Dr. Wurlina, M.S., Drh, dan Ibu Tatik Hernawati, M.Kes., Drh selaku dosen penguji, yang telah sabar membantu penulis untuk dapat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.
4. Kedua orang tuaku (Ayahanda Ir. Mu'adi dan Ibunda Patmirah, S.Pd) yang telah memberi do'a restu dan cinta kasihnya buat ananda untuk mencapai cita-cita.
5. Adikku yang tercinta (Wahyu Herwati Cahyo dan Anisca Fajar Ulum Mei) terimakasih atas do'anya.
6. Keluarga besar Papiku (R. Ismoenardi) dan mamiku (Rr. Soeryaningwulan) terimakasih atas do'a dan bantuan kepada ananda.
7. Buat seseorang yang selalu sabar, selalu mencintai dan menyayangi ananda terimakasih atas do'a dan cintanya, Aa'ku R. Adi Cahyo Wibowo.
8. Heni, Darusman, Nurul, dan semua sahabatku angkatan '99 dan adik-adikku angkatan '01 terimakasih atas bantuan dan kekompakkannya dan tak lupa kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa masih ada kekurangan dalam penulisan penelitian ini. Oleh karena itu, kritik dan saran dari semua pihak sangat kami harapkan demi sempurnanya penulisan penelitian ini. Akhirnya penulis hanya dapat mendo'akan semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada kita.

Surabaya,30 April 2005

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Permasalahan	1
I.2. Perumusan Masalah	4
I.3. Landasan Teori	4
I.4. Tujuan Penelitian	5
I.5. Manfaat Penelitian	6
I.6. Hipotesis Penelitian	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
II.1. Tinjauan Tentang Medium Kapasitas BO (<i>Brackett and Oliphant's</i>) dan BSA (<i>Bovine Serum Albumin</i>).....	7
II.2. Tinjauan Tentang Kafein	8
II.3. Domba.....	9
II.3.1. Anatomi Alat Kelamin Jantan.....	9
II.3.2. Spermatozoa.....	11
II.3.3. Spermatogenesis	13
II.3.4. Plasma Semen.....	14
II.4. Metode Pencucian Spermatozoa Dengan Sentrifuge.....	15
II.5. Motilitas Spermatozoa	16

II.6. Daya Hidup Spermatozoa	16
BAB III. MATERI DAN METODE	18
III.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	18
III.2. Bahan dan Materi Penelitian.....	18
III.2.1. Hewan Penelitian	18
III.2.2. Bahan Penelitian	18
III.2.3. Alat Penelitian.....	18
III.3. Metode Penelitian	18
III.3.1. Persiapan Alat dan Bahan	18
III.3.2. Penampungan Semen Domba	19
III.3.3. Perlakuan Terhadap Semen Domba.....	20
III.3.4. Pemeriksaan Semen Domba	21
III.4. Peubah Yang Diamati	22
III.5. Rancangan Penelitian Dan Analisis Data	22
BAB IV. HASIL PENELITIAN.....	24
BAB V. PEMBAHASAN	27
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	31
VI.1. Kesimpulan	31
VI.2. Saran	31
RINGKASAN.....	32
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN.....	38

DAFTAR TABEL

No.	Uraian	Halaman
Tabel 1.	Rataan Motilitas Spermatozoa Domba.....	24
Tabel 2.	Rataan Daya hidup Spermatozoa Domba.....	25

DAFTAR GAMBAR

No.	Uraian	Halaman
Gambar 1.	Bagian-Bagian Spermatozoa	12
Gambar 2.	Bagan Spermatogenesis.....	13
Gambar 3.	Kerangka Operasional Penelitian	23
Gambar 4.	Foto Spermatozoa Domba	26

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Uraian	Halaman
Lampiran 1.	Komposisi Medium Kapasitas BO (<i>Brackett and Oliphant's</i>) plus BSA (<i>Bovine Serum Albumin</i>)	38
Lampiran 2.	Analisis Statistik Motilitas Spermatozoa Domba Dengan Uji t	40
Lampiran 3.	Analisis Statistik Daya Hidup Spermatozoa Domba Dengan Uji t	41
Lampiran 4.	Diagram Batang Rata-rata Motilitas Spermatozoa Domba.....	42
Lampiran 5.	Diagram Batang Rataan Daya Hidup Spermatozoa Domba	43

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang Permasalahan

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi telah mendorong para ahli untuk membuat terobosan-terobosan baru di bidang pertanian, perikanan, pengobatan, kesehatan dan peternakan. Hal itu sangat penting bagi manusia untuk dapat meningkatkan kesejahteraan dan perbaikan hidupnya. Salah satu contoh terobosan baru adalah di bidang kedokteran hewan, khususnya pada usaha peternakan. Usaha-usaha yang menunjang keberhasilan reproduksi ternak harus terus dikembangkan demi kemajuan dunia peternakan. Berbagai teknologi telah diciptakan dan dipergunakan untuk dapat meningkatkan efisiensi reproduksi ternak, misalnya untuk fertilisasi *in vitro* dan Inseminasi Buatan (IB) (Nalley, 2001).

Menurut Hernawati (1998), fertilisasi secara *in vitro* adalah salah satu teknologi untuk memproduksi embrio secara buatan di luar tubuh induk ternak dengan cara memanfaatkan oosit dari ovarium induk betina. Dengan memanfaatkan oosit ovarium domba betina yang dipotong dari Rumah Potong Hewan (RPH).

Proses fertilisasi *in vitro* diawali dengan proses pematangan oosit, kapasitasi spermatozoa, pembuahan dan pemupukan embrio dalam media biakan yang disimpan. Fertilisasi *in vitro* merupakan salah satu sarana agar biaya transfer embrio menjadi lebih murah. Proses fertilisasi *in vitro* berlangsung pada saat

terjadi pertemuan antara sel spermatozoa dan sel telur sehingga membentuk satu individu baru yang disebut zigot. Kedua sel gamet jantan dan sel gamet betina harus dalam keadaan normal dan sehat untuk menghasilkan embrio yang baik dan sehat. Namun, banyak faktor yang dapat menyebabkan kegagalan dalam proses fertilisasi. Salah satu faktor keberhasilan fertilisasi *in vitro* tergantung pada kualitas spermatozoa dalam membuahi sel telur.

Penentuan kualitas spermatozoa salah satunya melalui penilaian motilitas spermatozoa. Motilitas atau daya gerak spermatozoa umumnya digunakan sebagai ukuran kesanggupan spermatozoa dalam membuahi sel telur. Gerakan spermatozoa terlalu lambat atau gerakan yang tidak menentu arahnya maka pembuahan sulit berlangsung (Hunter, 1995). Sampel yang berkisar antara 80% - 100% motilitasnya baik sekali, 60% - 80% nilai motilitasnya baik, 40% - 60% cukup baik, 20% - 40% jelek, 20% - 0% sangat jelek. Sedangkan untuk penilaian daya hidup, perbedaan afinitas menghisap zat warna antara sel spermatozoa yang mati dan yang hidup memberi kemungkinan untuk menaksirkan jumlah spermatozoa yang hidup lebih objektif (Partodihardjo, 1982).

Menurut Mirajuddin (1997), untuk mempertahankan sel spermatozoa agar motilitas dan daya hidup tidak menurun, maka diperlukan media fisiologis atau medium kapasitas sebagai pengganti plasma semen. Plasma semen tidak berperan penting sebagai medium kapasitas karena banyak mengandung bakteri dan bahan toksik yang akan mengganggu proses fertilisasi *in vitro*. Pemisahan plasma semen dilakukan dengan cara pencucian spermatozoa dengan menggunakan alat sentrifus. Pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan plasma

semen yang mengandung bahan toksik dan mikroorganisme yang dapat mencemari sistem kultur sehingga dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa.

Menurut Yanagimachi (1988), penambahan medium BO ke dalam semen dapat meningkatkan motilitas spermatozoa domba menjadi 70-80% dalam waktu 2-4 jam. Di samping dapat meningkatkan motilitas spermatozoa, medium BO juga dapat meningkatkan kematangan hidup spermatozoa domba. Medium BO banyak mengandung mineral (kalsium, magnesium), glukosa, piruvat yang berfungsi sebagai bahan nutrisi spermatozoa dibutuhkan bagi kelangsungan hidup spermatozoa. Selain itu, medium kapasitas BO juga berfungsi sebagai sumber energi melalui proses glikolisis (Rimayanti, dkk. 1998). Pencucian spermatozoa dengan menggunakan medium kapasitas BSA dapat menghasilkan spermatozoa motil 85% - 90% (Mahaputra, 2000). Medium BSA berfungsi sebagai bahan nutrisi spermatozoa dan mempunyai sifat sebagai buffer.

Menurut Suhartati (2003), penambahan kafein dapat meningkatkan kualitas spermatozoa. Kafein merupakan suatu zat yang mempunyai sifat yang inhibitor fosfodiesterase. Menurut Ganiswhara (1995), hal ini dapat menyebabkan kerja enzim fosfodiesterase yang berfungsi untuk menguraikan siklik adeno monophosphat (cAMP) menjadi 5'AMP terhambat. Penghambatan ini menyebabkan konsentrasi cAMP dalam sel meningkat sehingga dapat memicu motilitas spermatozoa. Hal inilah yang mendorong penulis untuk meneliti tentang pengaruh kafein pada medium kapasitas BO *plus* BSA terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa domba.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka dapat dirumuskan permasalahannya yaitu “Apakah penggunaan medium kapasitas BO (*Brckett and Oliphant's*) plus BSA (*Bovine Serum Albumin*) plus kafein dapat memberikan motilitas dan daya hidup spermatozoa domba yang lebih baik dibandingkan dengan medium kapasitas BO (*Brckett and Oliphant's*) plus BSA (*Bovine Serum Albumin*).

1.3 Landasan Teori

Teknik pemisahan spermatozoa untuk mendapatkan spermatozoa yang terpisah dari plasma semen perlu diupayakan dengan baik untuk keperluan fertilisasi *in vitro* (Mahaputra, 2000). Pemisahan spermatozoa dapat dilakukan dengan cara pencucian spermatozoa. Pencucian spermatozoa bertujuan untuk mengurangi kontaminasi spermatozoa dari urin dan feses saat dilakukan fertilisasi *in vitro* (Hinting, 1989).

Pencucian spermatozoa dengan menggunakan medium BSA dapat menghasilkan spermatozoa motil 85-90% (Mahaputra, 2000). Medium BSA berfungsi sebagai bahan nutrisi spermatozoa dan mempunyai sifat sebagai buffer. Menurut Yanagimachi (1988), penambahan medium BO ke dalam semen dapat meningkatkan motilitas spermatozoa domba menjadi 70-80% dalam waktu 2-4 jam. Di samping dapat meningkatkan motilitas spermatozoa, medium BO juga dapat meningkatkan kematangan hidup spermatozoa domba. Medium BO banyak mengandung mineral (kalsium, magnesium), glukosa, piruvat yang berfungsi

sebagai bahan nutrisi spermatozoa yang dibutuhkan bagi kelangsungan hidup spermatozoa. Selain itu, medium kapasitasi BO juga berfungsi sebagai sumber energi melalui proses glikolisis (Rimayanti, dkk. 1998).

Menurut Suhartati (2003), penambahan kafein dapat meningkatkan kualitas spermatozoa. Kafein merupakan suatu zat yang mempunyai sifat yang inhibitor fosfodiesterase. Menurut Ganiswhara (1995), hal ini dapat menyebabkan kerja enzim fosfodiesterase yang berfungsi untuk menguraikan siklik adeno monophosphat (cAMP) menjadi 5'AMP terhambat. Penghambatan ini menyebabkan konsentrasi cAMP dalam sel meningkat sehingga dapat memicu motilitas spermatozoa.

I.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui perbedaan medium kapasitasi BO (*Brackett and Oliphant's*) plus BSA (*Bovine Serum Albumin*) dan BO plus BSA plus kafein terhadap motilitas spermatozoa domba.
2. Mengetahui perbedaan medium kapasitasi BO (*Brackett and Oliphant's*) plus BSA (*Bovine Serum Albumin*) dan BO plus BSA plus kafein terhadap daya hidup spermatozoa domba.

I.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah dalam bidang bioteknologi reproduksi tentang penggunaan medium kapasitas yang baik dan sesuai terutama untuk fertilisasi *in vitro* pada domba.

I.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan permasalahan tersebut di atas maka hipotesis penelitian yang dapat diajukan adalah sebagai berikut :

1. Terdapat perbedaan antara medium kapasitas BO (*Brackett and Oliphant's*) plus BSA (*Bovine Serum Albumin*) dengan BO plus BSA plus kafein terhadap motilitas spermatozoa pada domba.
2. Terdapat perbedaan antara medium kapasitas BO (*Brackett and Oliphant's*) plus BSA (*Bovine Serum Albumin*) dengan BO plus BSA plus kafein terhadap daya hidup spermatozoa pada domba.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Tentang Medium Kapasitasi BO (*Brackett and Oliphant's*) dan BSA (*Bovine Serum Albumin*).

Penggunaan media fisiologis atau medium kapasitas pencucian spermatozoa berorientasi pada motilitas dan daya hidup spermatozoa. Syarat-syarat media fisiologis atau medium kapasitas spermatozoa yang baik, diantaranya mengandung zat makanan sebagai pengganti kehilangan sejumlah plasma semen, mampu mempertahankan pH, menyediakan lingkungan yang isotonis. Selain itu, bahan pencuci spermatozoa tidak mengandung zat yang bersifat racun terhadap spermatozoa, sehingga tidak merusak daya fertilisasi spermatozoa.

Salah satu contoh bahan pencuci spermatozoa adalah medium BO *plus* BSA. Medium BO banyak mengandung mineral (kalsium dan magnesium), glukosa, piruvat yang berfungsi sebagai bahan nutrisi spermatozoa serta asam amonia yang sangat dibutuhkan bagi kelangsungan hidup spermatozoa. Penambahan medium BO ke dalam spermatozoa dapat meningkatkan motilitas spermatozoa domba menjadi 70-80% dalam waktu 2-4 jam. Medium BO selain dapat meningkatkan motilitas spermatozoa, juga dapat meningkatkan kematangan hidup spermatozoa domba (Yanagimachi, 1988). Selain itu, medium kapasitas BO juga berfungsi sebagai sumber energi melalui proses glikolisis (Rimayanti, dkk. 1998).

Pencucian spermatozoa dengan menggunakan medium BSA dapat menghasilkan spermatozoa motil 85-90% (Mahaputra, 2000). Medium BSA berfungsi sebagai bahan nutrisi spermatozoa dan mempunyai sifat sebagai buffer.

II.2 Tinjauan tentang Kafein

Kafein merupakan derivat xantin yang mengandung gugus metil. Xantin merupakan dioksimurin yang mempunyai struktur mirip dengan asam urat, selain itu juga terdapat tiga macam xantin yang sering digunakan dalam dunia farmasi yaitu theophilin, theobromine dan kafein (Krantz and Jelleff, 1996). Kafein (1,3,7 trimetil xantin) dengan rumus kimia $C_8H_{10}N_4O_2$, mempunyai titik leleh $236 - 337^{\circ}C$, berbentuk kristal atau bubuk putih yang tidak berbau (Sunaryo, 1995 ; Anonimus, 1998).

Kafein merupakan suatu zat yang mempunyai sifat yang inhibitor fosfodiesterase. Menurut Ganiswhara (1995) hal ini dapat menyebabkan kerja enzim fosfodiesterase yang berfungsi untuk menguraikan siklik adeno monophosphat (cAMP) menjadi 5'AMP terhambat. Penghambatan ini menyebabkan konsentrasi cAMP dalam sel meningkat. Penumpukan cAMP ini dapat memicu motilitas spermatozoa.

Kafein saat ini mudah ditemukan dalam berbagai macam makanan dan minuman seperti pada tumbuhan kopi, teh dan coklat, dan masih banyak lagi tanaman yang mengandung kafein (Tarnopolsky, 1994 ; Sunaryo, 1995). Kafein digunakan untuk menambah aktifitas motorik, serta dapat digunakan untuk produk minuman dan obat flu (Anonimus, 1998).

II.3 Domba

Ternak domba sudah dikenal di Indonesia, tetapi keberadaannya kurang begitu populer dibanding ternak kambing. Domba yang ditenakkan di Indonesia dimanfaatkan dagingnya. Domba untuk tujuan penghasil wol yang dilakukan di negara subtropis dirasakan masih sangat kurang.

Klasifikasi bangsa domba yang pada umumnya berdasarkan jenis wool, daging, warna bulu, ada tidaknya tanduk serta karakteristik kemampuan adaptasinya. Di dalam negeri dikenal beberapa jenis domba yaitu domba lokal (domba kacang), domba priangan (domba garut) dan domba ekor gemuk, selain itu ada pula beberapa jenis domba import seperti toxel, suffolk, dorset, merino (Blakely dan Bade, 1985)

Memilih domba pejantan diperlukan beberapa syarat antara lain harus berbadan besar, tegap, kakinya kuat dan gerakannya yang aktif. Pejantan yang baik harus mempunyai alat kelamin yang baik, misalnya antara lain mempunyai dua buah testis yang sama besar (Suharno dan Nazarudin, 1994).

II.3.1 Anatomi Alat Kelamin Jantan

Alat Reproduksi jantan domba terdiri atas sepasang testis yang sering disebut sebagai alat kelamin utama. Saluran reproduksi dilengkapi dengan kelenjar asesoris dan alat kelamin luar yang terdiri atas penis yang terbungkus preputium (Partodihardjo, 1982). Testis dari beberapa spesies hewan agak berbeda dalam hal bentuk dan ukuran, walaupun struktur penyusun utamanya sama. Testis terbungkus dalam kantong skrotum yang berisi dua lobi testis, yang masing-

masing lobi mengandung satu testis. Suhu testis lebih rendah dari suhu badan. Hal ini berperan untuk proses spermatogenesis normal yang terjadi di dalam testis (Salisbury dan Vande mark, 1985).

Testis sebagai alat kelamin primer mempunyai dua fungsi yaitu memproduksi spermatozoa dan memproduksi hormon jantan. Hormon ini disebut hormon testosteron yang bertanggung jawab terhadap libido dan pengembangan sifat kelamin sekunder (Salisbury dan Vandermark, 1985). Spermatozoa dihasilkan di dalam tubuli seminiferus oleh pengaruh *Follicle Stimulating Hormone* (FSH), sedangkan hormon jantan dihasilkan oleh sel-sel interstitial atau sel leydig akibat pengaruh *Interstitial Cell Stimulating Hormone* (ICSH) (Hardjopranjoto, 1995).

Epididimis terletak di belakang testis melekat pada tunika albugenia, merupakan saluran berkelok-kelok yang menghubungkan testis ke arah luar. Epididimis terbagi menjadi tiga bagian yaitu kaput, korpus dan kauda epididimis. Adapun fungsi epididimis adalah sebagai alat transportasi, pendewasaan dan penimbunan spermatozoa (Hafez, 1993). Saluran epididimis mempunyai dua lapis yaitu lapis luar dan lapis dalam, keduanya mengandung urat daging yang licin dan melingkar memanjang. Melalui kontraksi urat daging licin saluran epididimis, maka spermatozoa dapat masuk dalam saluran Vas deferens. Kedua saluran Vas deferens berjalan berdampingan, kemudian bersatu di ujungnya dan membentuk saluran yang lebar yaitu ampula. Di tempat ini semua spermatozoa akan disimpan untuk sementara sebelum diejakulasikan. Melalui saluran ampula ini sel spermatozoa akan dikeluarkan melalui uretra pada saat terjadi kopulasi. Sel

spermatozoa diejakulasikan bersama cairan dari beberapa kelenjar asesoris yang mengencerkannya. Campuran tersebut sering disebut sebagai air mani atau semen yang terdiri dari sel spermatozoa dan plasma semen. Alat kopulasi yang mengalirkan sel spermatozoa masuk ke dalam alat kelamin betina disebut penis (Hardijanto, 1992).

II.3.2 Spermatozoa

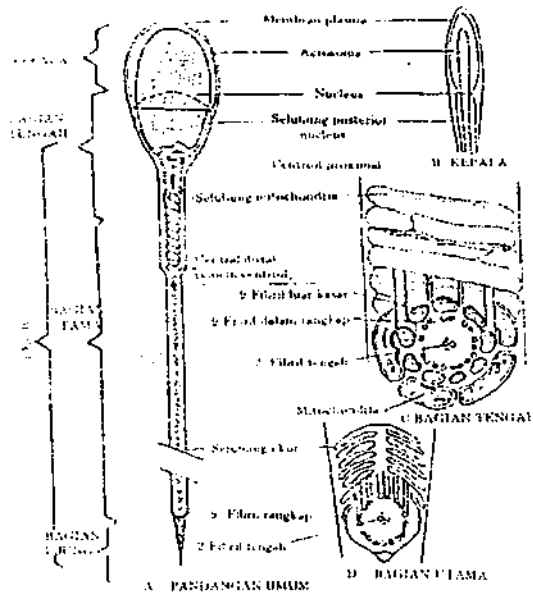
Komponen yang terpenting dari air mani adalah spermatozoa yang fungsinya untuk membuahi ovum. Semen yang dikeluarkan oleh berbagai macam hewan terdiri dari 2 bagian yaitu bagian yang padat banyak mengandung sel spermatozoa dan bagian cairan semen yang sebagian besar berasal dari kelenjar asesoris (Hardijanto dan Hardjopranojoto, 1994).

Spermatozoa normal terdiri dari kepala, leher, bagian tengah dan ekor. Bagian kepala spermatozoa tertutup oleh tudung protoplasmik atau disebut juga akrosom dan mempunyai bentuk bervariasi pada masing-masing individu. Bagian leher mengandung sentriol proximal sebagai pusat kinetik untuk mengawali koordinasi kontraksi selaput fibril yang menghasilkan gerak. Bagian badan banyak yang mengandung enzim dan bahan lipid (Salisbury and Vandemark, 1985).

Menurut Dieleman *et.al.* (1992), bagian tengah spermatozoa terdapat mitokondria sebagai tempat berlangsungnya proses metabolisme spermatozoa dalam menghasilkan energi bagi kehidupan dan pergerakan spermatozoa.

Sekurang-kurangnya ada empat bahan organik di dalam semen yang berfungsi sebagai bahan sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitasnya. Bahan tersebut adalah fruktosa, sorbitol, plasmogen dan gliceryl phosperyl choline (GPC) (Toelihere, 1981).

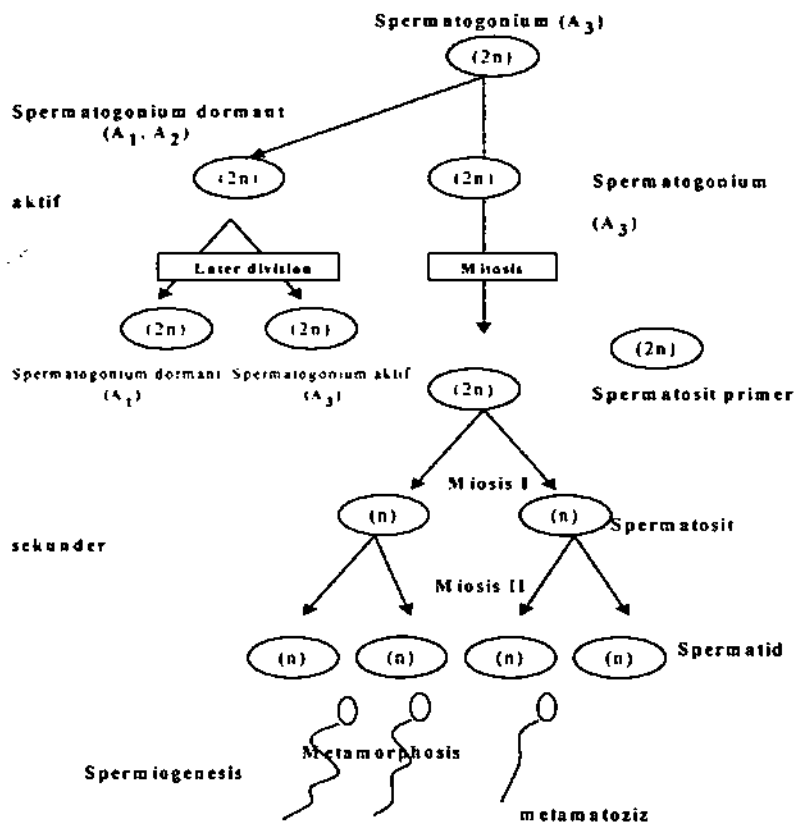
Bagian kepala spermatozoa panjangnya 8-10 mikron, lebar 4-5 mikron, tebal 0,3-0,5 mikron dan mengandung materi genetik. Bagian leher dengan panjang 0,3-1,5 mikron menghubungkan dasar kepala dengan bagian tengah dan mengandung sentra proximal. Bagian tengah panjang 8-10 mikron dengan diameter 0,64-0,85 mikron. Bagian ekor panjangnya 45-50 mikron dan semakin mengecil dengan diameter sebesar 0,50 - 0,25 mikron (Salisbury and Vandemark, 1985).



Gambar 1. Bagian-bagian spermatozoa
Sumber : Toelihere, 1985

II.3.3 Spermatogenesis

Proses pembentukan sel spermatozoa disebut spermatogenesis. Proses ini mengalami dua tahapan yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis. Spermatositogenesis meliputi perkembangan awal sel spermatogonia secara pembelahan mitosis, disusul dengan perkembangan spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder melalui pembelahan secara meiosis yang menjadikan jumlah kromosom tinggal separuhnya yaitu diploid menjadi haploid (60 kromosom menjadi 30 kromosom). Spermatocytogenesis ini berakhir dengan pembentukan spermatid yang berasal dari spermatosit skunder. Tahap kedua disebut Spermiogenesis yaitu spermatid mengalami metamorfose dan berubah bentuk sehingga menghasilkan spermatozoa yang sempurna (Salisbury dan Vandemark, 1985).



Gambar 2. Bagan Spermatogenesis
Sumber : Ismudiono, 1999

II.3.4 Plasma Semen

Sebagian besar dari volume semen terdiri dari plasma semen. Fungsi utama plasma semen adalah sebagai suatu media pembawa spermatozoa dari saluran reproduksi hewan jantan ke dalam saluran reproduksi hewan betina. Fungsi ini dapat dijalankan karena plasma semen mengandung bahan penyangga dari makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Ismudiono, 1999).

Plasma semen mengandung bahan pengencer yang sangat berfungsi untuk motilitas dan metabolisme spermatozoa dalam epididimis dan juga sebagai bahan pelindung pada kapasitas melawan keadaan asam dalam vagina (Hafez, 1993).

Menurut Ismudiono (1999), plasma semen banyak mengandung bermacam-macam zat organik, anorganik dan air. Zat organik yang terdapat pada plasma semen terdiri dari phosphoril kholine, glyceryl phosphoryl choline, asam sitrat, fruktosa, inositol, sorbitol, ergothionine. Zat-zat anorganik adalah K, Ca dan bikarbonat.

Pada domba, sapi, babi, dan kuda, zat organik yang terdiri dari fruktosa, sorbitol, asam sitrat dan inositol dihasilkan oleh kelenjar-kelenjar vesikuleris. Konsentrasi fruktosa dalam semen sapi dan domba sangat tinggi dan merupakan makanan utama bagi spermatozoa. Sorbitol dioksidasi menjadi fruktosa oleh sel spermatozoa untuk dikonsumsi kemudian, asam sitrat dan inositol tidak dimetabolisis oleh spermatozoa (Ismudiono, 1999).

II.4 Pencucian Spermatozoa (Washing Spermatozoa) dengan Sentrifugasi

Sentrifugasi sel spermatozoa adalah pemusingan dengan alat sentrifus dengan kecepatan tertentu. Tujuan dilakukannya sentrifugasi adalah membuang plasma semen dari permukaan spermatozoa. Dan pencucian secara sentrifugasi sendiri penting dilakukan untuk menghasilkan sedimen yang mengandung spermatozoa dengan motilitas yang tinggi (Hunter, 1995)

Menurut Hinting (1989), menyatakan bahwa plasma semen memuat bahan-bahan atau faktor-faktor yang dapat merusak daya pembuahan spermatozoa. Seminal plasma semen dapat juga mengandung mikroorganisme yang mencemari sistem kultur dan juga limfosit yang menghasilkan sekresi beracun yang menghambat fertilisasi.

Cara pencucian sperma dengan menggunakan sentrifuge merupakan suatu teknik untuk memisahkan plasma semen yang terdapat pada sel spermatozoa. Setelah dilakukan pencucian, diharapkan hanya spermatozoa domba dengan kemampuan hidup dan motilitas tinggi yang didapat. Hal ini sangat penting agar spermatozoa dapat membuahi sel telur dikarenakan spermatozoa harus menempuh perjalanan jauh dan diperlukan gerak hiperaktif dan kemampuan hidup lebih tinggi.

Pencucian spermatozoa dilakukan dalam media fisiologis. Media fisiologis adalah media yang mempunyai sifat sebagai buffer dan mengandung bahan sumber energi yang baik untuk metabolisme spermatozoa (Hinting, 1989).

II.5 Motilitas Spermatozoa

Motilitas adalah gerakan maju sel spermatozoa dalam satu lapang pandang. Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan dalam suhu kamar agar sel spermatozoa mempunyai pergerakan yang optimal. Pergerakan yang baik memungkinkan sel spermatozoa dapat mencapai sel telur di dalam saluran oviduk dalam waktu yang relatif singkat. Sehingga memungkinkan terjadinya pembuahan yang sempurna.

Menurut Toelihere (1981), ciri utama spermatozoa adalah motilitas atau daya geraknya yang dijadikan patokan atau cara yang paling sederhana dalam penilaian semen untuk fertilisasi *in vitro*. Seekor pejantan normal mampu men ejakulasikan semen dengan sejumlah spermatozoa yang motil sebanyak 70% sampai dengan 90% dan hanya 5% sampai dengan 25% spermatozoa yang abnormal (Bearden and Fuquay, 1992).

II.6 Daya Hidup Spermatozoa

Daya hidup spermatozoa adalah jumlah sel spermatozoa yang hidup berdasarkan hasil perwarnaan pada preparat ulas dengan menggunakan zat warna *eosin negrosin*. Menurut Salisbury and Vandemark (1985) pada tahun 1942 Lasley, Easley dan McKenzie melaporkan bahwa presentase hidup dan mati spermatozoa dapat dibedakan dari reaksi spermatozoa terhadap pewarnaan.

Penentuan daya hidup spermatozoa dapat dilakukan dengan cara pencampuran semen segar dengan zat pewarna tertentu, misalnya *eosin negrosin*, maka spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna dan akan tetap jernih.

Berbeda dengan sel spermatozoa yang mati, sel spermatozoa tersebut dapat menyerap zat warna merah eosin dengan latar belakang gelap dari negrosin sehingga di bawah pemeriksaan mikroskop terlihat jelas perbedaannya dengan spermatozoa yang hidup (Hafez, 1993).

Sel spermatozoa yang mati permeabilitas membran selnya meningkat sehingga sel spermatozoa yang mati akan menyerap warna dari zat warna yang dipakai. Menurut Hardjopranjoto (1995), sel spermatozoa yang telah mati akan hilang lapisan lipid bilayer pada dinding sel spermatozoa maka zat pewarna sangat mudah menembus masuk ke dalam sel spermatozoa, sedangkan sel spermatozoa yang hidup akan tetap jernih.

BAB III
MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE

III.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Inseminasi Buatan (IB) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya yang dimulai pada tanggal 8 September sampai 31 Oktober 2004.

III.2 Bahan dan Materi Penelitian

III.2.1 Bahan Percobaan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari semen segar domba, medium BO *plus* BSA dan medium BO *plus* BSA *plus* kafein, zat pewarna *eosin negrosin*.

III.2.2 Alat Percobaan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vagina buatan, tabung sentrifuse, pipet pasteur, tisu, gelas obyek, cover glass, gelas ukur, sentrifuse, mikroskop, lemari es, api bunsen.

III.3 Metode Penelitian

III.3.1 Persiapan Alat dan Bahan

Hal pertama yang dilakukan sebelum penelitian adalah penyediaan alat-alat dan bahan. Vagina buatan dipersiapkan untuk menampung spermatozoa

domba. Unit vagina buatan ini tersusun dari beberapa komponen yang masing-masing dapat dipisahkan untuk dibersihkan atau disimpan pada waktu penyimpanan. Komponen-komponen tersebut terdiri dari selongsong karet tebal (*heavy rubber cylinder*) lubang pengisi air bertutup pentil, selaput karet tipis (*innerliner*), gelas berskala, penampung air mani, corong karet (*rubber funnel*) berlubang, karet pengikat (*rubber band*), batang plastik (*plastic rod*) untuk memberi pelicin. Setelah semua disusun menjadi vagina buatan maka suhu di dalamnya diatur hingga mencapai suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya bagian dalam dari vagina buatan diolesi vaselin sebagai pelicin sejauh $\pm 5\text{cm}$ dari ujung depan vagina buatan.

Persiapan medium kapasitas BO, medium BSA dan kafein dilakukan sebelum pengambilan semen. Keduanya disimpan dalam lemari es agar tidak cepat rusak. Komposisi medium kapasitas dapat dilihat pada lampiran 1.

III.3.2 Penampungan Semen

Penampungan semen dengan menggunakan vagina buatan. Sebelum ditampung semennya, pejantan dipersiapkan dulu dengan mencukur bulu dan mencuci daerah sekitar preputium agar semen terhindar dari kontaminasi kuman. Setelah itu pejantan dirangsang dengan berjalan-jalan mengelilingi hewan betina pemancing agar dapat menambah libidonya. Pejantan akan menaiki betina pemancing dan akan berejakulasi pada saat penis dimasukkan kedalam vagina buatan untuk ditampung semennya. Semen yang ditampung pada tabung berskala

dihindarkan dari sinar matahari langsung untuk menjaga kualitasnya supaya tetap baik.

III.3.3 Pemeriksaan Semen

Pemeriksaan dan evaluasi harus meliputi keadaan umum semen yaitu volume, konsentrasi dan motilitas atau daya geraknya. Observasi ini perlu untuk penentuan kualitas semen dan daya reproduksi pejantan. Semen yang diperoleh melalui vagina buatan segera dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis. Pemeriksaan mikroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, motilitas, gerakan massa, gerakan individual, pengamatan motilitas dan daya hidup spermatozoa.

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Penilaian ini dilakukan berdasarkan persentase spermatozoa yang bergerak aktif pada gelas obyek (Asfi'i, 1999). Untuk pengamatan daya hidup dan mati spermatozoa dihitung dengan cara membuat preparat ulas yaitu dengan meneteskan semen ke gelas obyek lalu ditetesi dengan zat pewarnaan *eosin negrosin*, kemudian difiksasi diatas api bunsen. Setelah itu diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Penilaian terhadap daya hidup dan mati spermatozoa adalah :

- a) Spermatozoa yang hidup, kepalanya terlihat transparan atau berwarna jernih.
- b) Spermatozoa yang mati, kepalanya berwarna merah.

III.3.4 Perlakuan terhadap Semen Domba

Setelah semen terkumpul dan mendapatkan semen segar \pm 1 ml dengan 1 kali ejakulasi, langsung dibawa ke laboratorium untuk diperiksa motilitas dan daya hidup spermatozoa. Kemudian semen dibagi menjadi 2 tabung untuk 2 perlakuan, masing-masing perlakuan mendapatkan 6 ulangan. Kedua perlakuan tersebut adalah sebagai berikut :

Perlakuan 1 (P1) : Diberikan 0,5 ml semen + 2 ml medium kapasitas BO
plus BSA.

Perlakuan 2 (P2) : Diberikan 0,5 ml semen + 2 ml medium kapasitas BO
plus BSA *plus* kafein.

Setelah pemberian medium kapasitas pada masing-masing tabung sentrifuse, lalu di sentrifuse dengan kecepatan 1800 rpm selama 10 menit. Kemudian dibuang supernatannya dan disisakan pelletnya, selanjutnya pellet diambil dengan menggunakan pipet dan diletakkan di obyek gelas. Kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x untuk dilihat motilitas dan untuk pengamatan daya hidup spermatozoa dihitung dengan cara membuat preparat ulas yaitu dengan meneteskan semen ke gelas obyek lalu ditetesi dengan zat warna *eosin negrosin*, kemudian di buat ulasan setipis mungkin dan difiksasi dengan api bunsen. Selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x untuk melihat daya hidup spermatozoa domba.

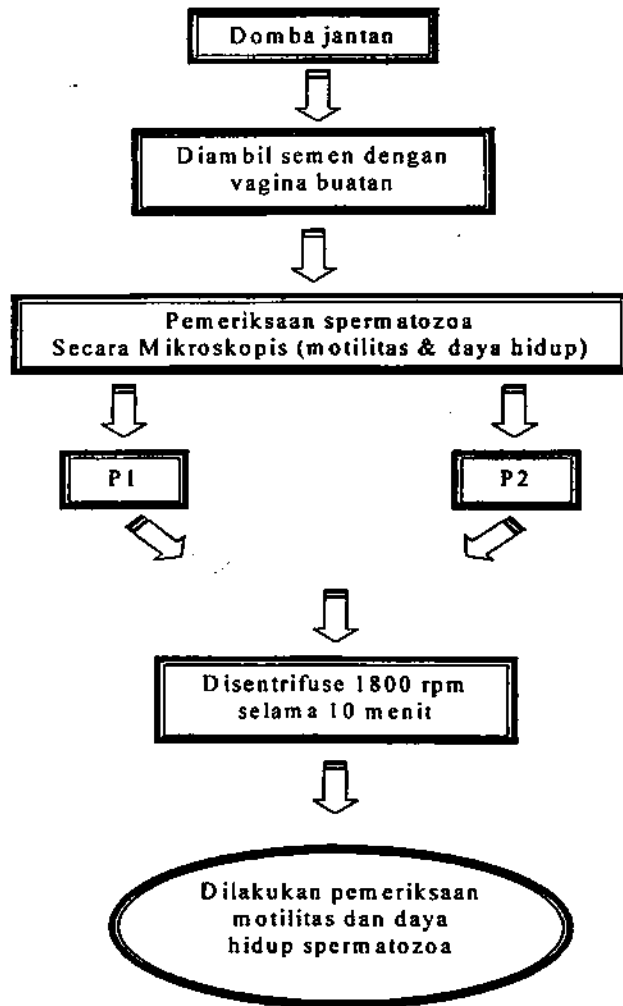
III.4 Peubah yang Diamati

Dalam penelitian ini peubah yang diamati adalah :

1. Motilitas spermatozoa domba. Spermatozoa dengan gerakan maju (progresif) yang tampak jelas secara mikroskopis menunjukkan angka motilitas yang terbaik.
2. Daya hidup spermatozoa domba. Daya hidup spermatozoa dapat dibedakan dari reaksi spermatozoa terhadap pewarnaan, kepala spermatozoa yang mati berwarna merah, sedangkan kepala spermatozoa hidup tampak lebih jernih/tidak berwarna.

III.5 Analisis Data

Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk deskriptif berupa persentase spermatozoa yang motil dan spermatozoa yang hidup. Kemudian data berupa persentase ditransformasikan sebelum data dianalisis dengan menggunakan Uji t independen dengan taraf signifikan 5 %. Analisis data menggunakan SPSS (*Statistical Program for Social Science*) (Singgih, 2001).



Gambar 3. Kerangka Operasional Penelitian

BAB IV
HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

IV.1 Pemeriksaan Terhadap Motilitas Spermatozoa Domba

Hasil penelitian terhadap motilitas spermatozoa domba yang telah mengalami pencucian dengan menggunakan medium kapasitas BO *plus* BSA dan BO *plus* BSA *plus* kafein berupa persentase, maka data yang diperoleh perlu ditransformasikan sebelum data tersebut dianalisis dengan menggunakan Uji t. Hasil penelitian sebagai berikut :

Tabel 1. Rataan Motilitas Spermatozoa Domba

Perlakuan	Ulangan	Rataan Motilitas (%) \pm SD	
		Sebelum di Transformasi	Sesudah di Transformasi
P 1	6	77,50 \pm 4,18 ^a	8,80 \pm 0,23 ^a
P 2	6	87,50 \pm 5,24 ^b	9,35 \pm 0,28 ^b

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p > 0,05$).

P 1 : Medium kapasitas BO *plus* BSA

P 2 : Medium kapasitas BO *plus* BSA *plus* kafein

Rata-rata motilitas spermatozoa domba yang telah mengalami pencucian dengan P1 sebesar 8,80 \pm 0,23 % dan pada P2 sebesar 9,35 \pm 0,28 %.

Berdasarkan Uji t dengan taraf signifikan 5 % menunjukkan bahwa rataan persentase motilitas spermatozoa domba yang telah mengalami pencucian dengan menggunakan BO *plus* BSA *plus* kafein atau P2 lebih baik dibandingkan

dengan P1 dan memberikan hasil yang sifatnya berbeda nyata ($p>0,05$). Analisis statistiknya dapat dilihat pada Lampiran 1.

IV.2 Pemeriksaan Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Domba

Hasil penelitian terhadap daya hidup spermatozoa domba yang telah mengalami pencucian dengan menggunakan medium kapasitas BO *plus* BSA dan BO *plus* BSA *plus* kafein berupa persentase, maka data yang diperoleh perlu ditransformasikan sebelum data tersebut dianalisis dengan menggunakan Uji t. Hasil penelitian sebagai berikut :

Tabel 2. Rataan Daya Hidup Spermatozoa Domba

Perlakuan	Ulangan	Rataan daya hidup (%) \pm SD	
		Sebelum di Transformasi	Sesudah di Transformasi
P 1	6	78,33 \pm 5,24 ^a	8,84 \pm 0,29 ^a
P 2	6	88,50 \pm 4,88 ^b	9,40 \pm 0,25 ^b

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p>0,05$).

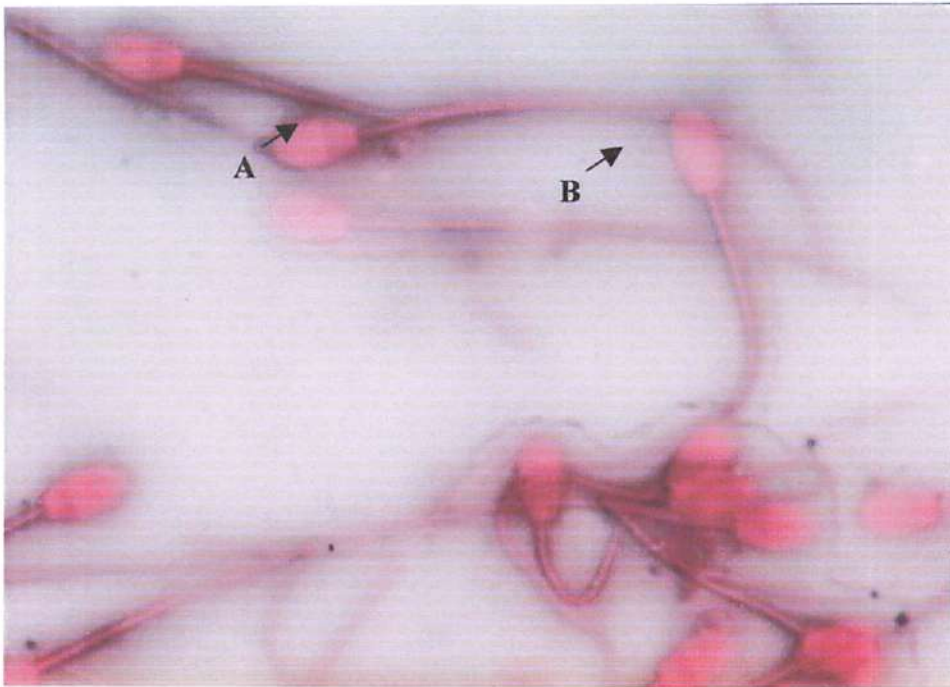
P 1 : Medium kapasitas BO *plus* BSA

P 2 : Medium kapasitas BO *plus* BSA *plus* kafein

Rata-rata daya hidup spermatozoa domba yang telah mengalami pencucian dengan P1 sebesar 8,84 \pm 0,29 % dan pada P2 sebesar 9,40 \pm 0,25 %.

Berdasarkan Uji t dengan taraf signifikan 5 % menunjukkan bahwa rataan persentase daya hidup spermatozoa domba yang telah mengalami pencucian dengan menggunakan BO *plus* BSA *plus* kafein atau P2 lebih baik

dibandingkan dengan P1 dan memberikan hasil yang sifatnya berbeda nyata ($p>0,05$). Analisis statistiknya dapat dilihat pada Lampiran 2.



Gambar 4. Foto spermatozoa Domba

Keterangan :

A : Spermatozoa Mati

B : Spermatozoa Hidup

BAB V
PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

Pencucian spermatozoa menggunakan media-media fisiologis yang mempunyai sifat seperti buffer dan yang mengandung bahan sumber energi untuk metabolisme spermatozoa merupakan salah satu hal yang amat penting untuk mendukung suatu keberhasilan fertilisasi *in vitro* (Hinting, 1989). Spermatozoa yang diejakulasikan biasanya masih bercampur dengan plasma semen, sel-sel spermatozoa yang hidup dan mati, leukosit dan juga kontaminasi bakteri. Dengan demikian pencucian spermatozoa dalam bentuk pemisahan spermatozoa dengan komponen yang terdapat dalam cairan plasma semen sangat penting untuk dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa, sekaligus menghindari kontaminasi bakteri serta membuang sel-sel leukosit yang dapat menurunkan kualitas spermatozoa (Mirajuddin, 1997).

Pencucian spermatozoa dengan sentrifugasi pada penelitian ini bertujuan untuk membuang elemen plasma semen dari permukaan spermatozoa sehingga pada waktu yang memungkinkan terjadinya pembentukan vesikula pada bagian anterior dari bagian kepala spermatozoa yang menghasilkan reaksi akrosome (Hunter, 1995). Menurut Hinting (1989), spermatozoa perlu dipisahkan dari plasma semen, karena plasma semen mengandung bahan yang dapat menghambat proses fertilisasi *in vitro*.

Menurut Hunter (1995) salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan fertilisasi *in vitro* adalah motilitas spermatozoa dengan tingkat gerak

maju yang baik. Motilitas dihitung mulai 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Angka ini menunjukkan adanya hubungan jumlah motilitas progresif dari spermatozoa. Sampel yang dianggap baik antara 70% - 90% spermatozoa yang motil dengan pergerakan progresif. Menurut Irawan (2000) sampel yang berkisar antara 80% - 100% motilitasnya baik sekali, 60% - 80% nilai motilitasnya baik, 40% - 60% cukup baik, 20% - 40% jelek, 20% - 0% sangat jelek. Sedangkan untuk penilaian daya hidup. perbedaan afinitas menghisap zat warna antara sel spermatozoa yang mati dan yang hidup memberi kemungkinan untuk menaksirkan jumlah spermatozoa yang hidup lebih objektif (Partodihardjo, 1982).

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah BO *plus* BSA (P1) dan BO *plus* BSA *plus* kafein (P2). Medium kapasitas BO banyak mengandung kalsium, magnesium, glukosa, piruvat yang berfungsi sebagai bahan nutrisi spermatozoa. Pada Medium kapasitas BSA yang berfungsi sebagai bahan nutrisi spermatozoa dan dapat bertindak sebagai media buffer atau keseimbangan asam-basa, sehingga spermatozoa mampu bertahan hidup lebih lama (Rimayanti, dkk. 1998).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel spermatozoa yang motil dan jumlah sel spermatozoa yang hidup antara P1 dan P2. Pengamatan terhadap motilitas spermatozoa setelah data ditransformasikan, pada P1 sebesar $8,80 \pm 0,23$ % dan pada P2 sebesar $9,35 \pm 0,28$ %. Sedangkan pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa setelah data ditransformasikan, pada P1 sebesar $8,84 \pm 0,29$ % dan pada P2 sebesar $9,40 \pm 0,25$ %.

Penambahan derivat metilxanthin diantaranya kafein pada medium kapasitasi BO *plus* BSA mempunyai efek stimulan pada sel spermatozoa. Meningkatnya motilitas dan persentase hidup spermatozoa berhubungan erat dengan peningkatan jumlah energi yang dihasilkan oleh spermatozoa (Sinha and Singh, 2000).

Kafein merupakan zat yang bekerja sebagai inhibitor adenosin dan fosfodiesterase (Harper et.al., 1995). Penghambatan adenosin tersebut akan menyebabkan penumpukan adenil siklase. Adenil siklase merupakan enzim yang bekerja merangsang pembentukan cAMP dari ATP, sehingga apabila adenil siklase yang terbentuk semakin banyak maka ATP yang diubah menjadi cAMP akan menjadi lebih banyak. Selain itu, kafein juga menghambat kerja enzim fosfodiesterase yang berfungsi mengubah cAMP menjadi 5'AMP. Sehingga cAMP yang seharusnya diubah menjadi 5'AMP oleh enzim fosfodiesterase tidak dapat berlangsung. Kedua proses di atas akan menyebabkan konsentrasi cAMP dalam sel meningkat. Peningkatan cAMP akan merangsang proses produksi energi (Katzung, 1995).

ATP merupakan sumber energi bagi kelangsungan hidup spermatozoa, sehingga semakin banyak ATP yang terbentuk maka energi yang tersedia untuk pergerakan atau motilitas spermatozoa juga akan meningkat (Satmoko dan Soeradi, 1992). Selain itu kafein juga memiliki efek pada metabolisme, sehingga apabila kafein ditambahkan pada spermatozoa akan menyebabkan peningkatan jumlah energi untuk pergerakan spermatozoa.

Pemberian medium kapasitas BO *plus* BSA yang ditambah dengan kafein dapat meningkatkan motilitas dan daya hidup spermatozoa domba ($p>0,05$). Menurut Rees *et.al.* (1990), kafein yang ditambahkan pada media fisiologis lebih dapat meningkatkan motilitas spermatozoa dibandingkan dengan kafein secara langsung tanpa dicampur dengan media fisiologis.

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Adanya peningkatan motilitas spermatozoa domba pada pencucian dengan menggunakan medium kapasitasi BO *plus* BSA *plus* kafein dibandingkan dengan medium kapasitasi BO *plus* BSA.
2. Adanya peningkatan daya hidup spermatozoa domba pada pencucian dengan menggunakan medium kapasitasi BO *plus* BSA *plus* kafein dibandingkan dengan medium kapasitasi BO *plus* BSA.

VI.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, bahwa penambahan kafein pada medium kapasitasi BO *plus* BSA lebih baik dibanding BO *plus* BSA maka penulis menyarankan dalam melakukan fertilisasi *in vitro* sebaiknya menggunakan medium kapasitasi BO *plus* BSA *plus* kafein.

RINGKASAN

Novi Eka Fatmawati. Pengaruh Pemberian Kafein Pada Medium Kapasitas BO (*Brackett and Oliphant's*) plus BSA (*Bovine Serum Albumin*) Terhadap Motilitas Dan Daya Hidup Spermatozoa Domba, dibawah bimbingan Ibu Hj. Eka Pramytha H., M.Kes., Drh selaku pembimbing pertama dan Bapak Bambang Poernomo S., Drh., MS. selaku pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan penggunaan medium kapasitas BO *plus* BSA dan medium kapasitas BO *plus* BSA *plus* kafein terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Inseminasi Buatan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Penelitian ini terdiri dari 2 perlakuan yaitu P1 dengan pemberian medium kapasitas BO *plus* BSA, sedangkan untuk P2 dengan pemberian medium kapasitas BO *plus* BSA *plus* kafein, masing-masing perlakuan terdiri dari 6 ulangan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen segar domba yang telah diperiksa di laboratorium dan menunjukkan kualitas yang baik, kemudian dibagi menjadi dua tabung sentrifuse. Pada tabung 1 (P1) diisi dengan 2 ml medium kapasitas BO *plus* BSA dan pada tabung 2 (P2) diisi dengan 2 ml medium kapasitas BO *plus* BSA *plus* kafein, kedua tabung tersebut disentrifuse dengan kecepatan 1800 rpm selama 10 menit. Supernatan dari tabung sentrifuse 1 dan 2 dibuang dengan cara perlahan-lahan dengan menggunakan alat pipet dan

disisakan pelletnya. Kemudian dilakukan pemeriksaan motilitas dengan cara dilihat pergerakan progresifnya dan pemeriksaan daya hidup spermatozoa dengan cara membuat preparat ulas dengan pewarnaan *eosin negrosin*. Untuk spermatozoa yang hidup berwarna jernih dan untuk spermatozoa yang mati berwarna merah karena membrannya menyerap zat warna.

Data yang diperoleh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa dianalisa dengan menggunakan Uji t setelah data ditransformasikan. Hasil yang diperoleh dari penelitian terhadap motilitas spermatozoa pada P1 sebesar $8,80 \pm 0,23$ dan pada P2 sebesar $9,35 \pm 0,28$. Untuk daya hidup spermatozoa pada P1 sebesar $8,84 \pm 0,29$ dan pada P2 sebesar $9,40 \pm 0,25$. Dengan Uji t taraf signifikan 5 % diperoleh hasil antara perlakuan menunjukkan perbedaan yang sifatnya sangat nyata.

Penambahan kafein dalam media pencucian bertujuan untuk meningkatkan motilitas dan daya hidup spermatozoa. Hal ini disebabkan karena kafein mempunyai efek stimulan sehingga energi dalam sel meningkat.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1998. Web 1. Caryaacademic. Org/ chemistry/ rustim / student project/ compoundwebsite / 1998 / caffen / caffen. htm. Diakses tanggal 10 Oktober 2001.
- 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. Surabaya.
- Bearden, J.H. and Fuquay, J. 1992. Applied Animal Reproduction. Prentice Hall Company. Reston. Virginia. 63.
- Blakely, J. and D. H. Bade. 1985. The Science of Animal Husbandry. 6th ed. Prentice Hall Career and Technology, Englewood Cliffs. New Jersey.
- Devendra, C. and Burns, M. 1994. Produksi Kambing Di daerah Tropis. ITB Bandung dan Universitas Udayana.
- Dieleman, S. J., Brander, B. C. and Booman, P. 1992. Clinical Trend and Basic Research in Animal Reproduction. Elsevier. Amsterdam, London. New York.
- Djanuar, R. Haryati. Rachmawati, C. Tagama, dan Taswin R. 1990. Dasar-dasar Inseminasi Buatan Pada Ternak Sapi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 53-69.
- Evans, G. and Maxwell, W.M.C. 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworths. Sydney, Boston, London.
- Fischel, S. and Symond, E.M. 1986. *In vitro* Fertilisation, Past, Present, Future. IRL Press Oxford. Washington D.C.
- Ganiswhara, S.G. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi 4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Hafez, E. S. E. 1993. Reproduction in Farm Animal. 6th ed. Lea and Febiger. Philadelphia. P. 96-105.
- Hardijanto dan Hardjopranto. 1994, Ilmu Inseminasi Buatan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

- Hardijanto. 1992. Inseminasi Buatan. Laboratorium Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Hardijanto, Sardjito, T. Hernawati, T. Susilowati, S. dan Suprayogi, T.W. 1999. Penuntun Praktikum Inseminai Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Hardjoprano. S. 1987. Pembuahan In Vitro dan Transfer Embrio. Pidato Pengukuhan Pada Peresmian Penerimaan Jabatan Guru Besar dalam mata kuliah Ilmu Reproduksi Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Hardjoprano.S. 1995. Ilmu Kemajiran Pada Ternak. Airlangga University Press.
- Harper, H.A., Murray. R. K., Granner. D. K, Mayes, P. A. and Rodwell, V. M. 1995. Biokimia Harper. 22nd ed. Diterjemahkan Oleh Andry Hartono. Penerbit Buku Kedokteran. ECG. Jakarta.
- Hernawati, T. 1998. Peranan Heparin dan Hipotaurin dalam Media Kapasitasi Terhadap Persentase Hidup dan Motilitas Spermatozoa dan Pembuahan *Invitro* Pada Sapi Perah. Tesis. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Hinting, A. 1989. Assessment of Human Sperm Fertilizing Ability. Tesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of special doctor in reproduction medicine. Rijksuniversiteit Gent. Belgium.
- Hinting, A. dan Marlina, A. 1981. Beberapa Obat Yang Meningkatkan Energi Spermatozoa. Editor Arsyad, K.M. Prosiding Seminar Spermatogenesis. Pengurus Besar Perkumpulan Andrologi Indonesia, Surabaya.
- Hunter, R.H.F.1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. Institut Teknologi Bandung. Universitas Udayana.
- Irawan, D. 2000. Pemisahan Sel Spermatozoa Sapi Madura Kromosom Seks X dan Y dengan Tehnik Sentrifugasi Menggunakan Kolom Percoll. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ismudiono. 1999. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Edisi ke 2. Fakultas Kedokteran Hewan . Universitas Airlangga. Surabaya.
- Katzung, G.B. 1995. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi ke 6, Alih bahasa Azwar Agoes. Penerbit Buku Kedokteran ECG.

- Krantz, J. C. Jr. and Jellef, C. 1996. *Pharmacologic Principles of Medical practice*. 7th ed. The Williams and Wilkins Company. Baltimore.
- Lopez, F. J. 2000. Effect of Added Caffeine on Results following Artificial Insemination With Fresh and Refrigerated Rabbit Semen. Department Production Animal. Madrid.
- Mahaputra, L. 2000. Pembuatan Embrio Jantan dan Betina secara terpisah serta Pengembangan Cell-Line Sebagai Pemicu Pertumbuhan Dengan Pengetrapan Teknologi Bayi Tabung Pada Sapi. Laporan penelitian Hibah Bersaing VII/satu Perguruan Tinggi. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Mirajuddin, 1997. Pengaruh Preparasi Sperma Dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Kolom Percoll Dan *Swim-Up* Terhadap Kualitas Spermatozoa dan Angka Konsepsi Pada Kambing Peranakan Etawa. Tesis. Penelitian Eksperimental Laboratorik. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. Edisi ke 5. Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Nalley, W.M. 2001. Tinjauan Filosofis Bioteknologi. Makalah Filsafat Sains. Program Pasca Sarjan (S3). Institut Pertanian Bogor. http://www.hayati.ipb.com/users/rudyc/indiv2001/wm_nalley.htm.
- Partodihardjo, S. 1982. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara. Jakarta.
- Rees, J. M., Ford, W. J. and Hull, M. G. 1990. Effect of Caffeine and Pentoxifylline on the Motility and Metabolism of Human Spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 90 : 147-156.
- Rimayanti, Budi U., Tatik H., Suherni S., Herry A.H., 1998. Pengaruh Pengenceran Media EBSS dan BO pada Semen Beku Kambing Etawa Terhadap Kejadian Kebuntingan Kambing Lokal. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Salisbury, G.W. and Vandemark, N.L. 1985. *Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. (Physiology and Artificial Insemination of Cattle). Diterjemahkan oleh Januar, R. Gadjah Mada University Press. Jakarta.
- Satmoko dan Soeradi, O. 1992. Studi Kafein terhadap Kualitas Spermatozoa Manusia In-vitro. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.

- Singgih, S. 2001. *Mengolah Data Secara Profesional. SPSS Versi 10*. PT. Elex Komputindo. Kelompok Gramedia. Jakarta. 573 p.
- Sinha, M.P. Singh, B.K. 2000. *Effect of Methylxanthine on Motility and Fertility of Frozen-Thawed Goat Semen*. Department of Gynaecology Ranchi Veterinary College. Bihar.
- Suharno, B dan Nazarudin. 1994. *Ternak Komersial*. Penebar Swadaya.
- Suhartati, M. 2003. *Pengaruh Penambahan Kafein Dalam Media Pencucian Terhadap Presentase Hidup Dan Motilitas Spermatozoa Pada Domba*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sunaryo. 1995. *Perangsang Susunan Saraf Pusat*. Seksi 3 Farmakologi Dan Terapi. UI Press. Jakarta.
- Tarnopolsky, M.A. 1994. *Caffeine and endurance performance*. *Sport. Med.* 18 (2) : 109-125.
- Toelihere, M.R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Yanagimachi, R. 1988. *Mammalia Fertilization* In: Knobil E. Neil. J. D. *The Physiology of Reproduction*. Raven Press. Ltd. New York. 5 : 138-152.

LAMPIRAN

**Lampiran 1. Komposisi medium kapasitas BO (*Brackett and Oliphant's*) +
BSA (*Bovine Serum Albumin*)**

MEDIUM A (500 ml)

1. NaCl	4.3092 g
2. KCl	0.1974 g
3. CaCl ₂ . 2H ₂ O	0.2171 g
4. NaH ₂ PO ₄ . 2H ₂ O	0.0840 g
5. MgCl ₂ . 6H ₂ O	0.0697 g
6. Pheno 1 Red 0.5%	0.1 ml
7. Distilled Water	500.0 ml

❖ Disimpan dalam botol tertutup rapat (dengan tutup putar).

MEDIUM B (200 ml)

1. NaHCO ₃	2.5873 g
2. Pheno 1 Red 0.5%	0.04 ml
3. Distilled Water	200.0 ml

❖ Digassing dengan mengalirkan CO₂ dalam medium B selama 30 menit.

❖ Disimpan dalam botol dengan tutup putar (rapat).

BO MEDIUM

1. Medium A	76.0 ml
2. Medium B	24.0 ml
3. Glukosa	0.15 g
4. Sod. Pyruvate	0.0137 g
5. Gentamycin	

❖ Difiltrasi dengan mikrofilter 0.22 um.

❖ Disimpan dalam water bath 37⁰ C.

MEDIUM PENCUCI SPERMA / 2.5 Mm KAFFEIN- BO MEDIUM

1. BO Medium	50.0 ml
2. Kafein Sod. Benzoat	0.04855 mg

❖ Dicampur sampai merata dan filtrasi dengan mikrofilter 0.22 uM

❖ Disimpan dalam water bath 37⁰ C

MEDIUM PENGECERAN / BO MEDIUM : 2% BSA

1. BO Medium	10.0	ml
2. BSA	0.2	g
3. Heparin	36.0	ul

❖ BSA dicampur secara perlahan-lahan (jangan dikocok-kocok).

Lampiran 2. Analisis Statistik Motilitas Spermatozoa Domba Dengan Uji t

Case Summaries^a

				Motil 0 jam	Trans V motil 0 jam	
Medium	BOBSA	1		75	8.66	
		2		75	8.66	
		3		80	8.94	
		4		75	8.66	
		5		85	9.22	
		6		75	8.66	
		Total	N	6	6	
			Sum	465	52.80	
			Mean	77.50	8.8008	
			Std. Deviation	4.183	.23450	
		BOBSA + Kafein	1		85	9.22
			2		85	9.22
	3			90	9.49	
	4			80	8.94	
	5			95	9.75	
	6			90	9.49	
	Total	N	6	6		
		Sum	525	56.10		
		Mean	87.50	9.3506		
		Std. Deviation	5.244	.28055		
	Total	N	12	12		
		Sum	990	108.91		
		Mean	82.50	9.0757		
		Std. Deviation	6.908	.37845		

a- Limited to first 100 cases.

T-Test

Group Statistics

Medium	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Trans V motil 0 jam BOBSA	6	8.8008	.23450	.09573
BOBSA + Kafein	6	9.3506	.28055	.11453

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Trans V motil 0 jam	Equal variances assumed	.236	.638	-3.683	10	.004	-.54983	.14927
	Equal variances not assumed			-3.683	9.695	.004	-.54983	.14927

Lampiran 3. Analisis Statistik Daya Hidup Spermatozoa Domba Dengan Uji t

Case Summaries^a

			Daya hdp 0 jam	Trans V daya hdp 0 jam	
Medium	BOBSA	1	75	8.660	
		2	74	8.602	
		3	84	9.165	
		4	76	8.718	
		5	86	9.274	
		6	75	8.660	
		Total	N	6	6
			Sum	470	53.079
			Mean	78.33	8.84657
			Std. Deviation	5.241	.293097
		BOBSA - Kafein	1	87	9.327
			2	85	9.220
			3	93	9.644
			4	82	9.055
			5	95	9.747
	6		89	9.434	
	Total	N	6	6	
		Sum	531	56.427	
		Mean	88.50	9.40446	
		Std. Deviation	4.889	.259717	
	Total	N	12	12	
		Sum	1001	109.506	
		Mean	83.42	9.12551	
		Std. Deviation	7.179	.393182	

a. Limited to first 100 cases.

T-Test

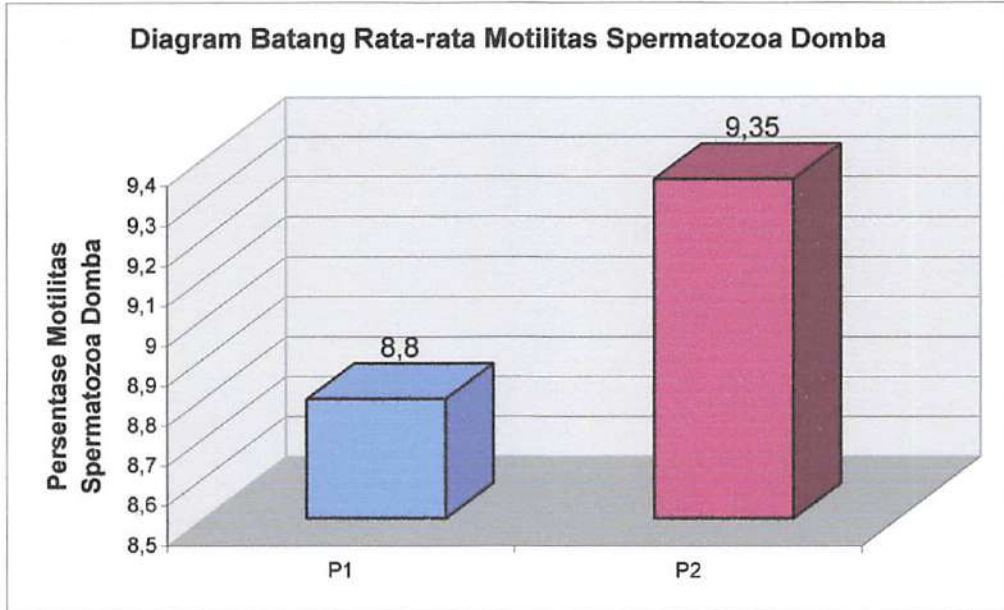
Group Statistics

	Medium	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Trans V daya hdp 0 jam	BOBSA	6	8.84657	.293097	.119656
	BOBSA + Kafein	6	9.40446	.259717	.106029

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Trans V daya hdp 0 jam	Equal variances assumed	.410	.536	-3.490	10	.006	-.557889	.159874
	Equal variances not assumed			-3.490	9.857	.006	-.557889	.159874

Lampiran 4. Diagram Batang Rata-rata Motilitas Spermatozoa Domba



Lampiran 5. Diagram Batang Rata-rata Daya Hidup Spermatozoa Domba

