

**SKRIPSI**

**MOTILITAS DAN DAYA TAHAN HIDUP SPERMATOZOA  
SAPI FRIESIAN HOLSTEIN DALAM PENGECER  
SARI BUAH MELON SITRAT**



Oleh

**ENNI SAHLAINI**  
NIM 060533557

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2008**

**MOTILITAS DAN DAYA TAHAN HIDUP SPERMATOZOA SAPI  
FRIESIAN HOLSTEIN DALAM PENGECER  
SARI BUAH MELON SITRAT**

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

Oleh

ENNI SAHLAINI  
NIM 060413351

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Maslichah Mafruchati, M.Si., Drh.)  
Pembimbing Pertama



(Kadek Rachmawati, M.Kes., Drh)  
Pembimbing Kedua

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Friesian Holstein  
dalam Pengencer Sari Buah Melon Sitrat**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, Juli 2008



Enni Sahlaini  
NIM. 060533557

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 28 Juli 2008

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Tatik Hernawati, M.Si., drh  
Sekretaris : Prof. Mas'ud Hariadi, ph.D, M.Phill., drh.  
Anggota : Hana Eliyani, M.Kes., drh  
Pembimbing I : Maslichah Mafruchati, M.Si., drh.  
Pembimbing II : Kadek Rachmawati, M.Kes., drh

Telah diuji pada

Tanggal : 04 Agustus 2008

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Tatik Hernawati, M.Si., drh  
Anggota : Prof. Mas'ud Hariadi, Ph.D, M.Phil., drh.  
Hana Eliyani, M.Kes., drh  
Maslichah Mafruchati, M.Si., drh.  
Kadek Rachmawati, M.Kes., drh

Surabaya, 04 Agustus 2008

Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh.  
NIP. 130 687 305

**MOTILITY AND VIABILITY FRIESIAN HOLSTEIN COW  
SPERMATOCYTES AFTER DILUTING WITH EXTRACT ROCK MELON**

Enni Sahlaini

**ABSTRACT**

The objective of this research was investigated motility and viability Friesian Holstein semen with extract rock melon citrate. The experimental design used a completely randomized design with three types of semen dilution buffers, T1(without diluent as control), T2 (egg yolk citrate) and T3 (extract rock melon citrate). Motility and viability were analyzed every day until the third day by Univariate ANOVA. The conclusion was extract rock melon citrate capable used as alternative rock melon tresh diluent for FH semen.

***Key words:*** spermatozoa, motility, viability, melon citrate.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah Subbhanu Wata'ala atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penelitian dan penyusunan skripsi dengan judul **“Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Friesian Holstein Dalam Pengencer Sari Buah Melon Sitrat”** selesai pada waktunya.

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, PhD., Drh. atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Kepada Ibu Maslichah Mafruchati, drh., MSi. Dan Ibu Kadek Rachmawati, M.Kes., drh atas bimbingan, saran dan nasihat yang sangat berguna sekali selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Kepada Ibu Tatik Hernawati, M.Si.,drh (Ketua penilai), Prof. Mas'ud Hariadi, Ph.D,M.Phil.,drh (Sekretaris penilai), Ibu Hana Eliyani, M.Kes.,drh (Anggota), atas bimbingan, saran dan nasihat yang sangat berguna sekali selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Kepada kepala BBIB Singosari, kepala lab beserta segenap staf BBIB Singosari yang menyediakan tempat dan atas kerjasama selama penelitian ini berlangsung.

Kepada Ayah, Ibu serta abang Adi dan adik Ocha tercinta yang selalu memberikan do'a, kasih sayang, dan dukungan yang tiada henti selama ini.

Kepada Amad yang selalu dengan setia dan sabar mendampingi serta memberi support selama ini.

Keluarga besar Bapak Nur Kholis, Ibu dan adek-adek yang lucu: Nina dan Nani terima kasih atas bantuannya selama penelitian ini berlangsung.

Kak Janti dan anak-anak transferan angkatan 2005 Fiet, Dy, Nani, Ladu, Dewi, Dhina, Ida, Bunga, Ima yang selalu menghibur dan memberi semangat.

Terakhir tetapi bukan yang terkecil kepada semua saudara, sahabat dan teman-teman yang tidak dapat disebut satu persatu atas partisipasinya dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penyusun menyadari bahwa dalam penulisan proposal penelitian ini masih banyak terdapat kekurangan, sehingga memerlukan perbaikan dan penyempurnaan. Untuk itu penyusun mengharapkan saran dan kritik dari para pembaca demi kesempurnaan proposal penelitian ini. Semoga proposal penelitian ini dapat bermanfaat.

Surabaya, Juli 2008

Penyusun,

Enni Sahlaini

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN .....	ii
ABSTRACT .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG.....	xiii
	1
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	4
1.2. Rumusan Masalah .....	5
1.3. Landasan Teori.....	5
1.4. Tujuan Penelitian .....	5
1.5. Manfaat Penelitian .....	6
1.6. Hipotesis Penelitian .....	6
	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Melon.....	9
2.2 Sapi Friesen Holstein .....	10
2.3 Reproduksi Sapi Jantan .....	12
2.4 Semen Sapi .....	13
2.5 Fisiologi dan Morfologi Spermatozoa .....	17
2.6 Metabolitas Spermatozoa .....	18
2.7 Motilitas Spermatozoa .....	20
2.8 Daya Tahan Hidup Spermatozoa.....	22
2.9 Pengenceran semen.....	25
	25
BAB 3 MATERI DAN METODE .....	25
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	25
3.2. Bahan dan Materi Penelitian .....	25
3.2.1. Bahan penelitian .....	25
3.2.2. Alat Penelitian .....	25
3.3. Metode Penelitian .....	26
3.3.1. Pengambilan sampel .....	27
3.3.2. Pemeriksaan semen .....	27
3.3.3. Prosedur pembuatan pengencer sitrat-kuning telur .....	28
3.3.4. Prosedur pembuatan sari buah + Na sitrat .....	28
3.3.5. Prosedur pengenceran semen .....	29
3.3.6. Tahap pemeriksaan semen setelah pengenceran .....	29
3.3.7. Tahap penyimpanan .....	30
3.3.8. Pemeriksaan semen setelah penyimpanan .....	31

3.4. Skema Penelitian .....	32
3.5. Rancangan Penelitian dan Analisis .....	32
BAB 4 HASIL PENELITIAN .....	
4.1. Pemeriksaan air mani sapi sebelum perlakuan .....	33
4.2. Persentase Motilitas spermatozoa sapi setelah perlakuan .....	34
4.3. Persentasi Hidup Spermatozoa Sapi .....	35
BAB 5 PEMBAHASAN .....	41
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....	41
6.1. Kesimpulan .....	41
6.2. Saran .....	42
RINGKASAN.....	44
DAFTAR PUSTAKA .....	48
LAMPIRAN.....	

**DAFTAR TABEL**

Tabel		Halaman
Tabel 2.1	Kandungan dan komposisi Gizi Buah Melon tiap 100 Gram Bahan .....	8
Tabel 4.1.1	Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis semen sapi sebelum perlakuan .....	32
Tabel 4.2.1	Rata-rata dan simpangan baku motilitas spermatozoa sapi .....	33
Tabel 4.3.1	Rata-rata dan simpangan baku daya hidup spermatozoa sapi ..	34

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.5	Bentuk sperma sapi .....	16
2.8	Sperma hidup dan mati .....	21

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Cara Koleksi Air Mani .....	48
2.1 Cara Penghitungan Volume Air Mani .....	49
2.2 Cara Penentuan Konsistensi Air Mani .....	49
2.3 Bau Air Mani .....	49
2.4 Warna Air Mani .....	49
2.5 Cara Penentuan Konsentrasi Air Mani Menggunakan Cara Rusia.....	49
2.6 Cara Pengamatan Gerakan Massa Spermatozoa .....	50
2.7 Cara Pengamatan Gerakan Individu Spermatozoa .....	51
2.8 Cara Penghitungan Motilitas Spermatozoa Sapi .....	51
3 Cara Penghitungan Persentase Hidup Spermatozoa .....	52
4 Motilitas Spermatozoa .....	53
5 Daya Tahan Hidup Spermatozoa .....	54
6 Analisis data Motilitas spermatozoa hari 1 setelah pengenceran .....	55
7 Analisis data Motilitas spermatozoa hari 2 setelah pengenceran.....	58
8 Analisis data Motilitas spermatozoa hari 3 setelah pengenceran.....	61
9 Analisis data Daya Tahan Hidup spermatozoa hari 1 setelah pengenceran.....	64
10 Analisis data Daya Tahan Hidup spermatozoa hari 2 setelah pengenceran.....	67
11 Analisis data Daya Tahan Hidup spermatozoa hari 3 setelah pengenceran.....	70
12 Alat dan Bahan Penelitian.....	73
13 Pelaksanaan penampungan semen.....	74

## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

DNA	= Deoxyribo nucleic acid
ATP	= Adenosin Triphosphat
ADP	= Adenosin Diphosphat
AMP	= Adenosin Monophosphat

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Sapi adalah hewan ternak terpenting sebagai sumber seperti daging, susu, tenaga kerja dan kebutuhan lainnya (Prihatman, 2000). Makin meningkatnya kesadaran penduduk akan manfaat protein hewani dan masih tingginya laju pertumbuhan penduduk, memaksa pemerintah mengimpor daging dan ternak hidup, karena produk dalam negeri tidak mampu untuk memenuhinya. Indonesia mengimpor ternak sekitar 400-500 ribu ekor setiap tahun dari negara lain, seperti New Zealand, yang membutuhkan devisa yang tinggi (Wirdahayati, 2005).

Persoalan ini memerlukan dukungan aplikasi teknologi dalam perbaikan manajemen dan pemilihan bangsa ternak yang akan dikembangkan (Wirdahayati, 2005). Jenis sapi perah yang paling cocok dan menguntungkan untuk dibudidayakan di Indonesia adalah Friesian Holstein (Prihatman, 2000).

Upaya pemerintah dalam meningkatkan populasi ternak untuk keperluan peningkatan produksi daging dilakukan melalui penyediaan bibit ternak, khususnya ternak sapi perah, dan penerapan bioteknologi reproduksi (Direktorat Jenderal Peternakan, 2005). Generasi pertama bioteknologi reproduksi peternakan di Indonesia adalah Inseminasi buatan (Riwantoro, 2008), dan merupakan salah satu bioteknologi reproduksi yang telah diterima oleh masyarakat peternakan dalam meningkatkan produksi ternak (Hafez, 2000). Teknologi tersebut sampai sekarang masih merupakan teknologi andalan bagi pemerintah untuk

meningkatkan mutu genetik, terutama untuk sapi perah dan sapi potong (Riwantoro, 2008).

Inseminasi buatan (IB) adalah disebut juga Artificial Insemination, atau dilingkungan masyarakat yang dikenal sebagai kawin suntik Teknik modern untuk inseminasi buatan pertama kali dikembangkan oleh industri ternak untuk meningkatkan angka kebuntingan dari seekor pejantan yang bertujuan untuk meningkatkan produksi susu (Wikipedia, 2008). Pada perkawinan alami seekor sapi pejantan hanya dapat melayani 50-70 ekor sapi betina dalam waktu satu tahun, sedangkan dengan IB sapi jantan dapat mengawini 5000-7000 ekor sapi betina pertahun (Toelihere, 1993). Pejantan unggul tersebut adalah pejantan yang telah mengalami seleksi, sehingga keturunan yang dihasilkan mendapat sifat yang baik pula (Partodiharjo, 1992).

Untuk menunjang keberhasilan teknologi IB ini maka daya fertilitas spermatozoa harus dapat dipertahankan untuk beberapa lama sesudah penampungan semen (Laksmi dkk, 2006). Dalam program inseminasi buatan dibutuhkan juga penyediaan semen yang cukup secara kualitas dan kuantitas, dalam bentuk semen segar atau semen beku. Untuk keberhasilan inseminasi, selain digunakan semen yang berkualitas baik, waktu inseminasi yang tepat, faktor cervix pada hewan betina sangat memegang peranan yang sangat penting (Hafez, 2000). Kualitas semen segar lebih cepat menurun dibandingkan semen beku meskipun disimpan dalam medium pengencer maupun tanpa medium pengencer (Suyadi, 2003 dalam Madyawati, S.P, 2007).

Pengencer yang dipakai untuk mengencerkan semen harus memiliki sifat-sifat yang dapat mempertahankan kualitas semen segar atau dengan kata lain, pengencer semen memiliki sifat utama antara lain adalah meningkatkan volume semen, bersifat sebagai larutan penyangga, sebagai sumber nutrisi dan energi bagi spermatozoa serta dapat melindungi dari gangguan mikroorganisme. Disamping itu pengencer juga harus mampu mempertahankan tekanan osmotik serta keseimbangan elektrolit yang sesuai (Busono dan Chusna, 2000).

Dalam berbagai percobaan, penggunaan semen dalam pengencer-pengencer fosfat dan sitrat-kuning telur untuk inseminasi buatan menunjukkan hasil konsepsi yang sama. Namun demikian karena sifat-sifat visual yang lebih menguntungkan, maka pengencer sitrat kuning telur lebih populer dan diterima sebagai standar perbandingan terhadap pengencer-pengencer lain.

Menurut Salamon dan Maxwell (2000) *buffer* yang dapat digunakan sebagai pengencer antara lain adalah pengencer *yolk citrate*, *yolk phosphate*, *tris amino methane*, dan *skim milk*. Keempat pengencer tersebut memiliki keunggulan dan kelemahan masing-masing dan bahan pengencer *tris amino methane* merupakan bahan pengencer yang sering digunakan saat ini.

Pengencer yang digunakan dalam penelitian ini adalah sitrat kuning telur dan sari buah melon sitrat. Khasiat kuning telur terletak pada lipoprotein dan lecitin yang terkandung di dalamnya yang bekerja mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Melon termasuk salah satu jenis buah-buahan yang relatif belum lama dibudidayakan di Indonesia. Tanaman melon dapat tumbuh pada daerah tropik dan subtropik serta sangat baik bila tumbuh pada tanah berlempung dengan pH sekitar netral. Tanaman melon tumbuh pada ketinggian 300-1000 meter di atas permukaan laut dengan suhu 25°-30°C (Ashari, 1995) dan curah hujan 2000-3000 mm/thn serta kelembaban udara antara 70%-80% (Wirahkusumah, 1997)

Bahan pengencer alternatif lain sudah dicoba yaitu sari buah sitrat misalnya buah tomat, pisang, dan pepaya. Kelayakan sperma dapat hidup layak seperti dalam bahan pengencer sitrat (Hermadi dkk, 1992). Dengan menggunakan bahan pengencer sari buah sitrat sel mani dapat hidup dengan baik, karena adanya komposisi nutrisi yang lengkap seperti protein, lemak, zat hidrat arang dalam jumlah yang cukup. Menurut Toelihere 1979, zat hidrat arang yang sederhana seperti glukosa dapat dipakai sebagai sumber energi bagi sel mani. Atas dasar uraian tersebut, maka perlu diteliti perihal pengaruh diluter sari buah melon sitrat terhadap motilitas dan viabilitas *spermatozoa* sapi FH.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian dapat dirumuskan beberapa permasalahan yang perlu diteliti yakni:

1. Apakah diluter sari buah melon sitrat dapat meningkatkan motilitas *spermatozoa* sapi ?
2. Apakah diluter sari buah melon sitrat dapat meningkatkan daya hidup *spermatozoa* sapi ?

### 1.3. Landasan Teori

Buah melon dapat dijadikan sebagai bahan pengencer alternatif karena buah melon memiliki komposisi nutrisi yang lengkap seperti protein, lemak, zat hidrat arang dalam jumlah yang cukup juga karbohidrat yang penting artinya sebagai sumber energi sel spermatozoa (Maryani, 2008), sehingga dapat mempertahankan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa.

Seperti Penelitian terdahulu Sari buah melon sudah pernah dijadikan sebagai bahan pengencer alternatif spermatozoa domba garut. Kenyataannya air mani dapat hidup layak seperti dalam bahan pengencer sitrat (Herdis, 2003). Atas dasar tersebut, maka perlu diteliti perihal pengaruh diluter sari buah melon sitrat terhadap motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa sapi FH

### 1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui diluter sari buah melon sitrat dapat meningkatkan motilitas dan daya hidup spermatozoa sapi.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah :

1. Sari buah melon sitrat diharapkan dapat digunakan sebagai bahan pengencer pengganti yang dapat meningkatkan motilitas serta daya tahan hidup spermatozoa sapi .
2. Untuk selanjutnya diaplikasikan dalam program Inseminasi buatan, yang akan memberikan keuntungan kepada peternak sapi.

### **1.5. Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan landasan teori dan rumusan masalah diatas, dapat dikemukakan hipotesis sebagai berikut:

1. Sari buah melon sitrat dapat meningkatkan persentase motilitas spermatozoa sapi
2. Sari buah melon sitrat dapat meningkatkan persentase daya tahan hidup spermatozoa sapi.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### Melon

Melon termasuk salah satu jenis buah-buahan yang relatif banyak dibudidayakan di Indonesia, dan sudah mulai populer dikalangan masyarakat luas. Daya pikat buah melon bagi konsumen terletak pada cita rasanya yang enak manis, beraroma wangi dan khas, serta menyegarkan (Setiadi, 1994)

Tanaman melon dapat tumbuh pada daerah tropik dan subtropik serta sangat baik bila tumbuh pada tanah berlempung dengan pH sekitar netral. Tanaman melon tumbuh pada ketinggian 300-1000 m diatas permukaan air laut dengan suhu 25-30 °C (Ashari, 1995) dan curah hujan 2000-3000 mm/thn serta kelembaban udara antara 70-80% (Wirakusumah, 1997).

Menurut Rukmana (1994) kedudukan tanaman melon dalam sistematika tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

- Divisio : Spermatophyta
- Sub-divisio : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledonae
- Ordo : Cucurbitales
- Famili : Cucurbitaceae
- Genus : Cucumis
- Spesies : *Cucumis melo*

Tabel 2.1. Kandungan dan komposisi Gizi Buah Melon tiap 100 Gram Bahan:

<b>Komposisi gizi</b>	<b>Banyaknya (jumlah)</b>
Energi	22.00 cal
Protein	0.60 gr
Lemak	0.10 gr
Karbohidrat	5.30 gr
Serat	0.30 gr
Abu	0.50 gr
Kalsium	12.00 mg
Fosfor	30,00 mg
Kalium	183.00 mg
Zat besi	0.50 mg
Natrium	6.00 mg
Vitamin A	2.140.00 SI
Vitamin B1	0.03 mg
Vitamin B2	0.02 mg
Vitamin C	35.00 mg
Niacin	0.80 mg

Sumber: Puslitbang Pelayanan dan Teknologi Kesehatan Surabaya, 2008.

Varietas melon yang diproduksi oleh perusahaan benih cukup banyak macamnya (Samadi, 2000). Berdasarkan penampilan kulit buahnya, dalam penelitian ini jenis melon yang digunakan adalah varietas *Sky Rocket*, adapun ciri-cirinya (Samadi, 2000):

- Asal benih : Known You Seed, Taiwan
- Jenis : Hibrida F1
- Bentuk buah : Bulat

- Kulit buah : Hijau kekuningan dan berjaring bagus
- Daging buah : Hijau muda, tebal, serat halus dan rasaya manis, kadar gula berkisar 14%-15%
- Berat buah : 1,5-2 Kg
- Ketahanan : Tahan terhadap penyakit tepung dan tepung palsu
- Adaptasi : Cocok ditanam pada musim kemarau dan musim penghujan
- Umur panen : 45-50 hari setelah berbunga

### **Sapi Friesian Holstein**

Sapi perah yang paling banyak dikembangkan di Indonesia adalah jenis Friesian Holstein atau yang disebut juga Fries Holland (FH), dengan klasifikasi sebagai berikut:

- Famili : Bovidae
- Sub famili : Bovinae
- Genus : Bos
- Sub genus : Bos
- Spesies : *Bos taurus*
- Sub spesies : *Taurus-taurus*

Sapi perah ini mulai berkembang biak di propinsi Friesland, Negara Belanda. Sapi FH murni pada umumnya ditanakkan di dataran tinggi (Prihatman, 2000). Sapi FH mempunyai kemampuan merumput tinggi, produksi susu tinggi dan susunya dapat dimanfaatkan untuk pembuatan keju. Sapi Perah di Indonesia

mayoritas diimpor dari Australia, New Zealand, dan peternakan Holstein di Amerika Serikat (Wahyuddin dkk, 1997).

Karakteristik sapi FH adalah warna bulu belang hitam putih, ekor dan kaki dibawah persendian siku/lutut berwarna putih, khusus pada daerah dahi berwarna putih dengan pola segitiga, tanduk mengarah ke depan dan membengkok ke dalam dan badan menyerupai baji. Sapi betina bersifat jinak dan tenang sehingga mudah dikuasai, sedangkan sapi jantan agak galak dan ganas (Syarief dan Sumoprastowo, 1985). Berat badan betina dewasa mencapai 570-730 kg sedangkan jantan dewasa 700-1000 kg. Sapi FH berbadan besar sehingga mempunyai kapasitas makan yang banyak dan kemampuan produksi susu lebih tinggi dari pada bangsa sapi perah yang lainnya. Produksi susu rata-rata 5925 liter/laktasi dengan kadar lemak 3,7 % (Prihatman, 2000).

### **2.3. Reproduksi Sapi Jantan**

Alat kelamin jantan dibagi menjadi alat kelamin primer berupa testis, dan alat kelamin sekunder berbentuk saluran-saluran yang menghubungkan testis dengan dunia luar yaitu vas eferen, epididimis, vas deferens, dan penis yang di dalamnya terdapat uretra, dipakai untuk menyalurkan air mani dan cairan asesoris ke luar pada waktu ejakulasi (Hardjopranjoto, 1995).

Testis adalah kelenjar kelamin jantan yang dibungkus dengan skrotum (Wikipedia, 2008). Testis sebagai organ kelamin utama mempunyai dua fungsi: (1) fungsi reproduksi (2) fungsi endokrinologi (Ismudiono, 2007). Spermatozoa dibentuk dari sel-sel induk yang diploid, yaitu spermatogonia tipe A yang terletak

pada membran basalis. Proses spermatogenesis merupakan proses yang kompleks meliputi pembelahan dan deferensiasi sel.

Selama proses tersebut, jumlah kromosom direduksi dari diploid ( $2n=60$ ) pada sapi, menjadi haploid ( $n$ ) pada setiap sel, demikian juga terjadi reorganisasi komponen-komponen inti sel dan sitoplasma secara meluas (Ismudiono, 2007).

Epididimis merupakan saluran berkelok-kelok yang menghubungkan testis dengan vas deferens. Menurut Hardjopranjoto (1995), Epididimis terbagi menjadi tiga bagian yaitu bagian kepala (kaput epididimis), bagian badan (korpus epididimis), bagian ekor (kauda epididimis).

Menurut Hardjopranjoto (1995), fungsi lain dari epididimis adalah memberikan sekresi cairan yang diproduksi oleh sel-sel epitelnya untuk menjadi media bagi sel mani pada saluran tersebut. Cairan ini sangat penting untuk menambah daya hidup sel mani di dalam penyimpanannya pada saluran alat kelamin. Fungsi terpenting dari epididimis adalah terjadinya proses pendewasaan sel mani di dalam rongganya sehingga menambah gerakannya. Proses pendewasaan ini juga disertai perubahan bentuk fisik sitokimia dari sel mani tersebut sehingga menambah kemampuan sel mani dalam pergerakannya di dalam alat kelamin betina dan daya membuahi sel telur.

Spermatozoa diproduksi pertama kali pada waktu pubertas. Produksi ini terjadi di dalam pembuluh-pembuluh di testis. Pada hewan jantan, produksi spermatozoa hanya terjadi pada suhu beberapa derajat di bawah suhu badan, yang diatur oleh posisi skrotum terhadap badan. Udara dingin menyebabkan skrotum melekat ke badan karena kontraksi urat-urat daging dikelilingi skrotum dan urat-

urat daging ini akan mengendor pada waktu udara panas. Kemampuan untuk berkontraksi dan mengendor karena pengaruh suhu dingin dan panas tergantung pada kondisi hormon jantan (Widyawati, 2005).

#### 2.4. Semen sapi

Semen adalah sekresi alat kelamin jantan yang secara normal diejakulasikan ke dalam saluran alat kelamin betina sewaktu kopulasi (Toelihere, 1993). Semen terdiri dari dua bagian yaitu bagian yang berupa sel disebut spermatozoa atau sel-sel kelamin jantan dan bagian yang tidak bersel disebut plasma semen berupa cairan atau medium semi-gelatinous (Partodihardjo, 1992).

Volume semen sapi per ejakulasi berbeda-beda menurut bangsa, umur, ukuran, bobot badan, tingkat makanan, frekuensi penampungan, dan besar testis. Warna semen dari hasil ejakulasi normal adalah berwarna krem atau putih susu (Bearden and Fuquay, 1992). Volume semen sapi yang diejakulasikan secara normal berkisar antara 5-8 ml (Hafez, 1993) sedangkan menurut Partodihardjo (1992) adalah 4-5 ml, semen sapi memiliki volume yang kecil dengan konsentrasi spermatozoa yang tinggi sehingga memberikan warna putih kekuningan

Perbedaan anatomik kelenjar kelamin asesoris pada berbagai jenis hewan menyebabkan perbedaan volume dan komposisi. Konsentrasi spermatozoa adalah 1200 juta /mL, sedangkan jumlah spermatozoa per ejakulasi adalah 6000 juta dengan volume 4-6 ml (Partodihardjo, 1992), namun menurut Herfez (2000) setiap ml semen terdapat  $1,8 \times 10^9$  spermatozoa.

## 2.5. Fisiologi dan Morfologi Spermatozoa

Spermatozoa merupakan sel kecil, kompak, sangat khas, dihasilkan secara terus menerus di dalam testis dan berfungsi untuk pembuahan ovum. Spermatozoa dihasilkan di dalam tubuli seminiferi (Hafez, 2000). Spermatozoa berasal dari spermatogoni epitel germinal. Pertumbuhan sel-sel ini dengan cara pembelahan sel kearah lumen tubulus seminiferus.

Spermatozoa dibentuk di dalam testis (Junqueira *et al.*, 1997; Yatim, 1994), yaitu di dalam tubulus seminiferus selama kehidupan seksual aktif akibat adanya rangsangan hormon gonadotropin hipofisis anterior (Guyton dan Hall, 1997) melalui spermatogenesis. Terdapat tiga fase spermatogenesis, yaitu spermatositogenesis, meiosis, dan spermiogenesis (Junqueira *et al.*, 1997; Yatim, 1994).

### 1. Spermatositogenesis

Spermatositogenesis (*sperma* = benih; *kytos* = sel; *genesis* = pembentukan) disebut juga sebagai tahap proliferasi atau perbanyakan. Sel spermatogonia primitif berkumpul di tepi membran basal dari epitel germinal yang disebut spermatogonia tipe A (*gone* = turunan). Sebagian dari sel ini membelah secara mitosis menjadi bentuk sel yang lebih berbeda yang disebut spermatogonia (Wikipedia, 2008)

### 2. Meiosis

Setelah melewati beberapa minggu, terjadi tahap berikutnya yaitu meiosis. Selama fase ini spermatosit primer mengalami dua kali pembelahan secara meiosis berurutan, yaitu setiap spermatosit primer membelah untuk

membentuk dua buah spermatosit sekunder, yang kemudian membelah lagi membentuk empat buah spermatid, yang disertai dengan mereduksi jumlah kromosom dan jumlah DNA sampai setengah pada setiap selnya menjadi haploid (Guyton dan Hall, 1997; Junqueira *et al.*, 1997).

### 3. Spermiogenesis

Pada fase spermiogenesis, setiap spermatid kemudian berubah dengan lambat dan mengalami proses diferensiasi yang rumit sampai beberapa minggu kemudian menjadi spermatozoa. Beberapa sitoplasma mulai menghilang, kemudian benda kromatin pada intinya mulai bereorganisasi membentuk bagian kepala serta sisa sitoplasma dan membran sel terkumpul pada salah satu ujung sel untuk membentuk ekor (Guyton dan Hall, 1997; Junqueira *et al.*, 1997).

Semua tahap dari pembelahan sel hingga menjadi sperma terjadi dalam kontak dengan sel-sel Sertoli, yang memiliki fungsi khusus dalam menyediakan sumber energi dan mengatur proses spermatogenesis (Guyton dan Hall, 1997). Sel Sertoli terletak di antara spermatogonia, tegak pada lamina basalis dan puncaknya mencapai lumen. Di bawah mikroskop electron, sel Sertoli nampak banyak mengandung retikulum endoplasma halus, dan sedikit terdapat retikulum endoplasma kasar. Badan Golgi besar, banyak mitokondria dan lisosom. Inti lonjong, bersegi tiga dan karyotheka, kromatin kurang jelas dan nukleus besar (Yatim, 1994).

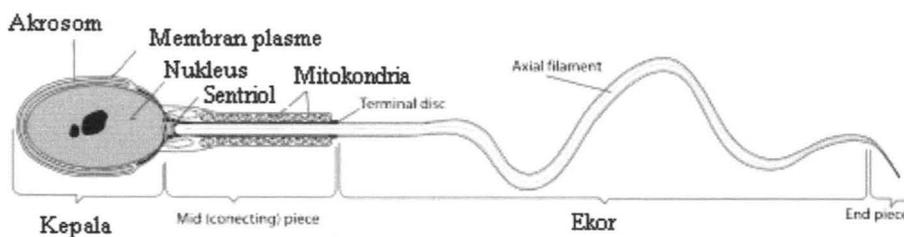
Seluruh proses spermatogenesis berlangsung selama 40-45 hari dan kontrol oleh hormon FSH (*Folicle Stimulating Hormone*), yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior (Hardjopranjoto, 1995).

Spermatozoa sebagian besar tersusun oleh komponen sebagai berikut:

1. Deoxyribonucleoprotein: Terdapat di dalam nukleus yang terletak di kepala spermatozoa. *Nucleoprotein* dalam inti spermatozoa terdapat pada semua spesies, terbentuk oleh asam *deoxyribonucleus* yang terikat pada protein.
2. Muco – polysaccharide: terikat pada molekul-molekul protein yang terdapat di dalam akrosom. Polysaccharide ini mengandung 4 macam gula-gula yaitu: Fruktose, galaktose, manose, hexosamine. Diduga memiliki fungsi sebagai pengisi struktur spermatozoa, didasarkan atas kenyataan bahwa apabila spermatozoa itu mengalami pendinginan yang mendadak maka terjadilah penggembungan dari spermatozoa itu.
3. Plasmalogen: Merupakan lemak aldehidogen terdapat pada bagian leher, badan, dan ekor spermatozoa, merupakan bahan yang dipergunakan sebagai respirasi endogen.
4. Protein yang menyerupai keratin: merupakan selubung tipis yang meliputi seluruh badan, kepala, dan ekor spermatozoa. Protein ini mempunyai unsur zat tanduk yaitu S (sulfur) dan banyak ditemukan pada membran sel dan fibril-fibril, sehingga kemungkinan protein ini bertanggung jawab terhadap sifat elastisitas permukaan sel.
5. Enzim dan koenzim: spermatozoa mengandung berbagai macam enzim dan co-enzim yang pada umumnya digunakan dalam proses hidrolisis dan

oksidasi. Spermatozoa juga mengandung hyaluronidase yang diduga berada dekat sekali dengan permukaan sel, sehingga setiap saat dapat dilepaskan ke medium sekitarnya.

Spermatozoa normal terdiri dari kepala, badan, dan ekor (Salisbury dan Vandemark, 1985). Menurut Partodihardjo (1992) kepala spermatozoa normal berbentuk bulat lonjong, gepeng dengan panjang 9  $\mu\text{m}$  dan tebal 1-2  $\mu\text{m}$ , bagian ekor spermatozoa normal berbentuk bulat, panjang dan diameter  $\frac{1}{2}$  -  $\frac{1}{4}$   $\mu\text{m}$  dan panjang 44-50  $\mu\text{m}$ .



Gambar 2.5. Bentuk sperma sapi  
(Sumber: Wikipedia, 2008)

Kepala spermatozoa normal mengandung nukleus yang tersusun rapat oleh kromatin, sedangkan bagian ekor terdapat alat pelengkap untuk pergerakan atau motilitas (Hafez, 2000). Pada bagian posterior kepala spermatozoa terdapat kumpulan mitokondria (*Mitochondria sheath*) yang bertugas mensuplai energi untuk aktivitas spermatozoa. Sumber energi yang dibutuhkan spermatozoa untuk pergerakannya adalah dalam bentuk ATP (*Adenin Tri phosphate*). ATP diperoleh melalui proses hidrolisis enzimatik, suatu proses yang bersifat spontan dalam

menghasilkan energi (Hartanto, 1991). Hampir setengah bagian anterior kepala spermatozoa dibungkus oleh akrosom yang memiliki struktur seperti kantong berdinding rangkap dan mengandung bahan-bahan seperti enzim *acrosin*, *hyaluronidase*, *hydrolase*, *esterase* yang berperan untuk menembus dinding sel telur pada saat fertilisasi (Toelihere, 1981; Garner dan Hafez, 2000).

Tempat sambungan dasar akrosome dan kepala disebut cincin nukleus. Diantara kepala dan badan terdapat sambungan pendek, yaitu leher, yang berisi centriol proksimal, kadang-kadang dinyatakan sebagai pusat kinetik aktifitas spermatozoa. Bagian badan dimulai dan berlanjut ke cincin centriole. Bagian badan dan ekor mampu bergerak bebas, meskipun tanpa kepala. Ekor, berupa cambuk, membantu mendorong spermatozoa untuk bergerak maju (Salisbury dan Vandemark, 1985)

## 2.6. Metabolitas spermatozoa

Energi yang digunakan untuk metabolisme spermatozoa berasal dari perombakan ATP (*Adenosin Triphosphat*) di dalam selubung mitokondria melalui reaksi penguraiannya menjadi ADP (*Adenosin Diphosphat*) dan AMP (*Adenosin Monophosphat*). Spermatozoa membangun kembali ATP dari ADP maupun AMP dari ATP adalah dengan penambahan gugus phosphoril yang dapat diperoleh dari karbohidrat dan lemak (Toelihere, 1981).

Kehidupan sel spermatozoa di dalam semen sangat bergantung pada besarnya kadar fruktosa sebagai sumber energi yang utama. Dalam keadaan anaerobik, sel spermatozoa memakai karbohidrat sebagai sumber energi. Bila sel

spermatozoa disimpan dalam keadaan anaerobik, maka kadar fruktosa dalam semen akan berkurang sedangkan kadar asam laktat akan bertambah. Dalam keadaan aerobik, sumber energi sel spermatozoa diperoleh dengan jalan mengadakan oksidasi asam laktat menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

## 2.1. Motilitas Spermatozoa

Bagian yang paling berperan dalam motilitas adalah ekor, selain itu juga dibantu oleh kontraksi otot silia organ reproduksi betina. Ekor sebagai alat gerak utama terdiri dari tiga bagian, yaitu *principle piece*, *middle piece*, dan *end piece*. Dari ketiga bagian itu yang paling berperan adalah *middle piece*, karena pada bagian ini banyak mengandung mitokondria yang berfungsi sebagai penghasil energi (ATP) untuk pergerakan spermatozoa (Bresnick, 2003). Motilitas spermatozoa dan kecepatan fruktolisis mempunyai korelasi positif. Fruktosa dapat digunakan sebagai sumber energi oleh spermatozoa baik dalam keadaan anaerobik maupun aerobik (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994)

Umumnya metode yang digunakan untuk menilai motilitas spermatozoa terutama secara visual, dan hasilnya biasanya dinyatakan secara perbandingan dari pada secara mutlak. Tidak ada cara yang lebih baik untuk menilai motilitas tiap-tiap sel yang tersebar di seluruh sampel air mani. Karena itu usaha untuk menilai sifat-sifat motilitas spermatozoa pada keseluruhan sampel air mani atau rata-rata dari populasi. Setiap perkiraan secara visual dipengaruhi oleh konsentrasi sel, kecuali jika dilakukan pencegahan terjadinya kekaburan (Salisbury dan

Vandemark, 1985). Penilaian semen dilapangan dapat pula dilakukan dengan memanaskan gelas obyek di atas suatu botol datar berisi air hangat pada suhu tubuh. Pendinginan semen dari suhu badan ke suhu lemari es menyebabkan sperma kehilangan motilitas secara gradual sampai pergerakan terhenti sama sekali (Toelihere, 1993). Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh suhu, mikroorganisme, unsur-unsur kimia (ion-ion organik, ATP, lemak, protein), faktor pengocok, sentrifugasi, dan pencucian (Syafei, 1988).

Spermatozoa dalam suatu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama sama ke satu arah merupakan gelombang yang tebal atau tipis, bergerak cepat atau lambat tergantung dari konsentrasi sperma hidup di dalamnya. Gerakan massa dilihat dengan jelas di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x

Kecepatan bergerak spermatozoa dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan suhu. Pada suhu 37°C, kecepatannya 100 mikron/detik. Motilitas telah sejak lama dikenal sebagai alat untuk memindahkan spermatozoa melalui saluran reproduksi hewan betina (Bearden dan Fuqua, 1992).

Sebelum spermatozoa bisa menembus pembungkus sel telur (sel corona dan sel cumulus) dan khususnya melalui membrana pelindung sel telur (zona pelucida), spermatozoa itu harus mengalami perubahan fisiologis yang dapat meningkatkan motilitas dan kemampuan melepaskan enzim proteolisis dari bagian akrosom di kepalanya. Menurut defenisi, perubahan fisiologi yang disebut dengan kapasitas ini terjadi selama spermatozoa berada dalam saluran kelamin betina (Hunter, 1995).

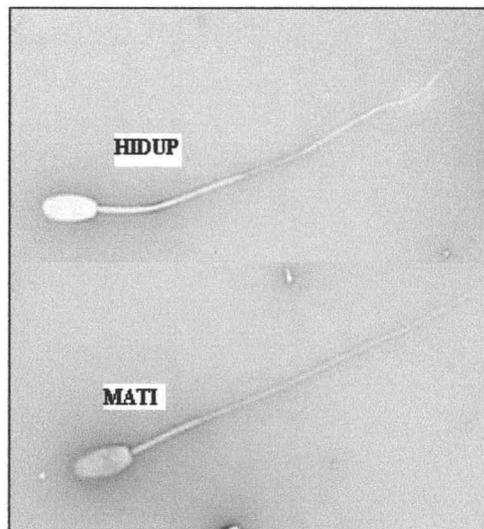
## 2.8. Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Rentang hidup spermatozoa yang diejakulasikan dalam alat reproduksi betina sangat pendek dan secara *in vitro* jarang melebihi beberapa hari bila disimpan dalam kondisi optimal. Sebaliknya sebelum ejakulasi spermatozoa dapat bertahan hidup dengan waktu yang lama dalam epididimis (Nalbandov, 1990). Sel sertoli dihasilkan oleh tubulus seminiferus, berfungsi fagosit terhadap spermatozoa yang telah mati dan mengalami degenerasi, selain sel ini memberi sumber energi spermatozoa muda (Hardjopranjoto, 1994)

Kemampuan sel spermatozoa untuk tetap aktif bergerak setelah inkubasi pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar normal setelah disimpan pada suhu yang rendah disebut ketahanan hidup. Sering kali dalam seri satu sampel semen dari konsentrasi sel spermatozoa yang sama, dengan sel spermatozoa yang bebas dari abnormalitas morfologik dan memiliki motilitas yang mula-mula sama, menunjukkan perbedaan besar dalam kemampuan sel untuk mempertahankan hidupnya dalam penyimpanan yang tidak diencerkan (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Spermatozoa sangat aktif dan tahan hidup lama pada pH 7. Spermatozoa domba dan sapi menghasilkan asam laktat dalam jumlah tinggi dari metabolisme fruktosa sehingga penting untuk menambah unsur-unsur penyanggah atau buffer ke dalam medium untuk mempertahankan pH. Spermatozoa tetap hidup untuk waktu lama di dalam media isotonik. Pada kondisi hipertonik ataupun hipotonik spermatozoa akan cepat rusak (Toelihere, 1979)

Penentuan persentase spermatozoa hidup dapat dilakukan dengan cara meneteskan satu titik zat warna dan satu titik semen diatas gelas obyektif kemudian secepat mungkin kedua larutan tersebut dicampur hingga homogen kemudian dibuat preparat ultras tipis mungkin dan dipanaskan diatas nyala api. Pengerjaan ini harus kurang dari 15 detik. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan dan penghitungan dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x (Rahmawati, 2005), cara lain menurut Salisbury dan Vandemark (1985), zat warna diteteskan pada gelas obyek yang bersih, dan tetesan mani yang lebih kecil dicampurkan dengan zat warna. Preparat ultras dibuat dengan menempatkan gelas obyek bersih yang lainnya di atasnya dan ditarik tanpa tekanan. Preparat ultras selanjutnya dikeringkan pada temperatur 40 °C lalu diperiksa dibawah mikroskop. Presentase spermatozoa yang mati ditentukan dengan menghitung 500 sel mani dan dicatat jumlah sel yang berwarna dari jumlah total sel mani itu (Salisbury dan Vandemark, 1985).



Gambar 2.8. Sperma hidup dan mati  
(Wikipedia, 2008)

Spermatozoa yang mati permeabilitas membran selnya meningkat, terutama di daerah *post-nuclear cups*. Sehingga sel spermatozoa yang mati akan menyerap warna dari zat warna yang dipakai. Sedangkan sel spermatozoa yang hidup tetap jernih (Hardijanto dkk, 2003)

## 2.9. Pengenceran Semen

Meskipun volume ejakulasi dapat dipergunakan untuk melaksanakan inseminasi lebih dari satu sapi betina, penemuan bahan pengencer yang sesuai dengan kebutuhan telah memungkinkan pemanfaatan secara meluas mengenai inseminasi buatan. Pada waktu sekarang setiap ejakulasi dapat dipakai untuk menginseminasi beberapa ratus ekor sapi betina dan secara rutin dapat dikirimkan ke tempat-tempat yang jauh, terutama dengan ditemukannya penyimpanan air mani di dalam temperatur yang sangat rendah sebagai air mani beku dengan tujuan untuk mempertahankan fertilitas air mani dalam waktu yang lama (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Sebelum tahun 1939 pengencer yang tersedia hanya ditujukan untuk memperbanyak volume air mani sehingga dapat dipakai untuk menginseminasi sejumlah sapi betina (Salisbury dan Vandemark, 1985). Pengencer yang baik, mempunyai fungsi menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, melindungi spermatozoa terhadap *cold shock*, menyediakan suatu penyanggah untuk mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat dari hasil metabolisme sperma, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai, mencegah pertumbuhan kuman (Toelihere, 1993).

Syarat-syarat pengencer yang baik adalah harus memenuhi syarat-syarat seperti diantaranya Bahan pengencer hendaknya murah, sederhana dan praktis dibuat, dan tahan lama; pengencer juga harus tetap mempertahankan unsur-unsur yang hampir sama sifat fisik dan kimiawi dengan semen dan tidak boleh mengandung zat-zat yang toksik atau bersifat racun baik terhadap sperma maupun terhadap saluran kelamin hewan betina. Pengencer harus tetap mempertahankan dan tidak membatasi daya fertilisasi sperma. Pengencer tidak boleh terlalu kental sehingga menghalangi pertemuan antara sperma dan ovum dan menghambat fertilisasi. Pengencer harus memberi kemungkinan penilaian sperma sesudah pengenceran. Sebaiknya sesudah pengenceran, pergerakan sperma masih dapat terlihat dengan mudah agar dapat ditentukan nilai semen (Toelihere, 1993).

Sesuai dengan pengetahuan pada dewasa ini tidak ada pengencer yang dapat memenuhi semua persyaratan tersebut diatas. Lebih banyak lagi yang harus dipelajari, terutama mengenai pengendalian kimiawi dan biologi yang terlibat dalam proses kehidupan spermatozoa, pada waktu fertilisasi, dan pada waktu implantasi, dan pada waktu implantasi sebelum bahan pengencer yang memenuhi persyaratan ini dapat disempurnakan (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Dalam berbagai percobaan, penggunaan semen dalam pengencer-pengencer fosfat dan sitrat-kuning telur untuk inseminasi buatan menunjukkan hasil konsepsi yang sama. Namun demikian karena sifat-sifat visual yang lebih menguntungkan, maka pengencer sitrat kuning telur lebih populer dan diterima sebagai standar perbandingan terhadap pengencer-pengencer lain.

Khasiat kuning telur terletak pada lipoprotein dan lecithin yang terkandung di dalamnya yang bekerja mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa. Kuning telur juga mengandung glukosa, yang lebih suka dipergunakan oleh sel-sel sperma sapi untuk metabolismenya dari pada fruktosa yang terdapat didalam semen.

Berbagai protein dan vitamin-vitamin yang larut dalam air maupun yang larut dalam minyak, dan memiliki viskositas yang mungkin mengintungkan spermatozoa. Kuning telur mengandung asam-asam amino L-tyrosin, L-tryptophan, dan L-phenylalanine, yang menghasilkan hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) pada deaminasi oksidatif. Akan tetapi pada kondisi tanpa udara (anaerobik), seperti penyimpanan semen pada tabung pendingin, hal ini tidak terjadi (Toelihere, 1993).

Syarat penting yang harus dimiliki setiap bahan pengencer yakni harus mengandung zat makanan sebagai sumber energi bagi sel mani ( Toelihere, 1981). Buah-buahan misalnya pisang, tomat, dan pepaya memungkinkan dapat dipakai sebagai bahan pengencer untuk penyimpanan air mani domba bila dicampur dengan citrat sebagai buffer (Susilowati dan Hernawati, 1989).

Seperti juga halnya dengan buah melon karena buah melon memiliki kandungan karbohidratnya yang tinggi dapat digunakan sebagai sumber energi bagi spermatozoa dan terdapat komposisi yang lengkap seperti protein, lemak, karbohidrat, vitamin yang cukup.

## **BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN**

### **3.1. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Inseminasi Buatan Singosari, Malang.

Penelitian ini dilakukan mulai tanggal 1 Agustus sampai 30 Agustus 2007.

### **3.2. Bahan dan Materi Penelitian**

#### **3.2.1. Bahan penelitian**

Sampel yang digunakan berupa semen segar sapi perah Friesian Holstein, larutan eosin 1%, larutan NaCl, Na sitrat, alkohol 70 %, kapas, aquades, sari buah melon, kuning telur, 1 Vial penisilin 3.000.000, dan 1 Vial streptomisin 5 g.

#### **3.2.2. Alat penelitian**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vagina buatan, mikroskop, tabung reaksi, cover gelas, obyek gelas, pipet pasteur, kertas saring, mortir, gelas ukur, gelas pengaduk, lemari pendingin, *aluminium foil*.

### **3.3. Metode Penelitian**

#### **3.3.1. Pengambilan sampel**

Dalam penelitian ini menggunakan semen segar sapi perah FH. Pengambilan semen dilakukan dengan metode penampungan semen menggunakan vagina buatan. Penampungan sperma dilakukan setiap satu minggu sekali yaitu hari selasa pukul 09.00 WIB. Penampungan sperma menggunakan metode vagina buatan. Penampungan sperma dilakukan dengan mengisi vagina

buatan yang telah steril dan diisi air panas dengan suhuan antara  $50^{\circ}\text{C}$  sampai  $60^{\circ}\text{C}$ , gelas penampung dipasang dan sepertiga bagian depan vagina buatan diberi pelicin vaselin steril menggunakan *stick glass*. Temperatur dalam vagina buatan dicek sehingga dapat dipastikan bahwa suhunya mencapai  $42^{\circ}\text{C}$  sampai  $45^{\circ}\text{C}$ . Pejantan didekatkan pada induk pemancing dan biarkan pejantan menaiki pemancing 1 sampai 2 kali dan ditahan supaya tidak terjadi kopulasi. Tangan kanan memegang vagina buatan dengan posisi vagina buatan membentuk sudut  $45^{\circ}\text{C}$  dengan garis horizontal. Pada saat pejantan menaiki induk, vagina buatan diarahkan diujung penis dan saat terjadi ejakulasi sempurna, vagina buatan ditegakkan (vertikal) lalu semen turun ke dalam tabung penampung. Segera tabung penampung dilepas dan dimasukkan ke dalam kain hitam, agar tidak terkena sinar matahari langsung dan dibawa ke laboratorium untuk diperiksa.

### 3.3.2. Pemeriksaan semen

Pemeriksaan semen segar dilakukan segera setelah semen tertampung dan selesai sebelum 30 menit setelah tertampung. Pemeriksaan semen meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis sperma segar dan setelah diencerkan.

Pemeriksaan makroskopis terdiri dari pemeriksaan volume, warna, bau, pH, dan konsistensi sedangkan pemeriksaan mikroskopis terdiri atas pemeriksaan konsentrasi yang diukur dengan alat *spectrofotometer*. Pemeriksaan mikroskopis kedua adalah motilitas (gerakan massa) yaitu dengan meneteskan satu tetes semen yang belum diencerkan diletakkan di atas *object glass* dan ditutup dengan *cover glass*, dilihat dibawah mikroskopis dengan perbesaran 10x kemudian dilihat serta dinilai gerakan gelombangnya, setelah itu dilanjutkan dengan pemeriksaan

persentase kematian sperma dengan cara membuat preparat apus. Satu tetes sperma diteteskan di atas obyek glass lalu ditambah satu tetes *eosin-negrosin*, dicampur hingga merata betul dan kemudian dibuat preparat apus yang tipis, kemudian dibuat preparat ulas dan difiksasi diatas api bunsen. Sperma dihitung dengan mikroskop dengan pembesaran 400x, jumlah sperma yang dihitung sebanyak 200 sperma.

### **3.3.3. Prosedur pembuatan pengencer sitrat-kuning telur**

1. Na-sitrat ditimbang sebanyak 2,9 gram, kemudian dilarutkan ke dalam 100 ml aquadestillata. Panaskan sampai dengan 92° C kemudian dinginkan pada suhu kamar.
2. Kulit telur dibersihkan dengan kapas yang dibasahi alkohol 70 %, lalu dibuka dengan menggunakan pinset di dalam ruangan yang bebas debu. Kuning telur yang sudah diambil diletakkan diatas kertas saring agar cairan putih telur terserap.
3. Selaput vitelin kuning telur dipecahkan, kemudian dialirkan kedalam gelas ukur, lalu ditambahkan larutan Na-sitrat dengan perbandingan 1: 4 sampai homogen.
4. Kemudian larutan tersebut ditambahkan penicillin 1000 IU/ml dan streptomycine 1mg/ml diluter, lalu diaduk sampai rata.

### **3.3.4. Prosedur pembuatan sari buah + Na-sitrat**

- 1 Na-sitrat ditimbang sebanyak 2,9 gram, kemudian dilarutkan ke dalam 100 ml aquadestillata. Panaskan sampai dengan 92° C kemudian dinginkan pada suhu kamar.

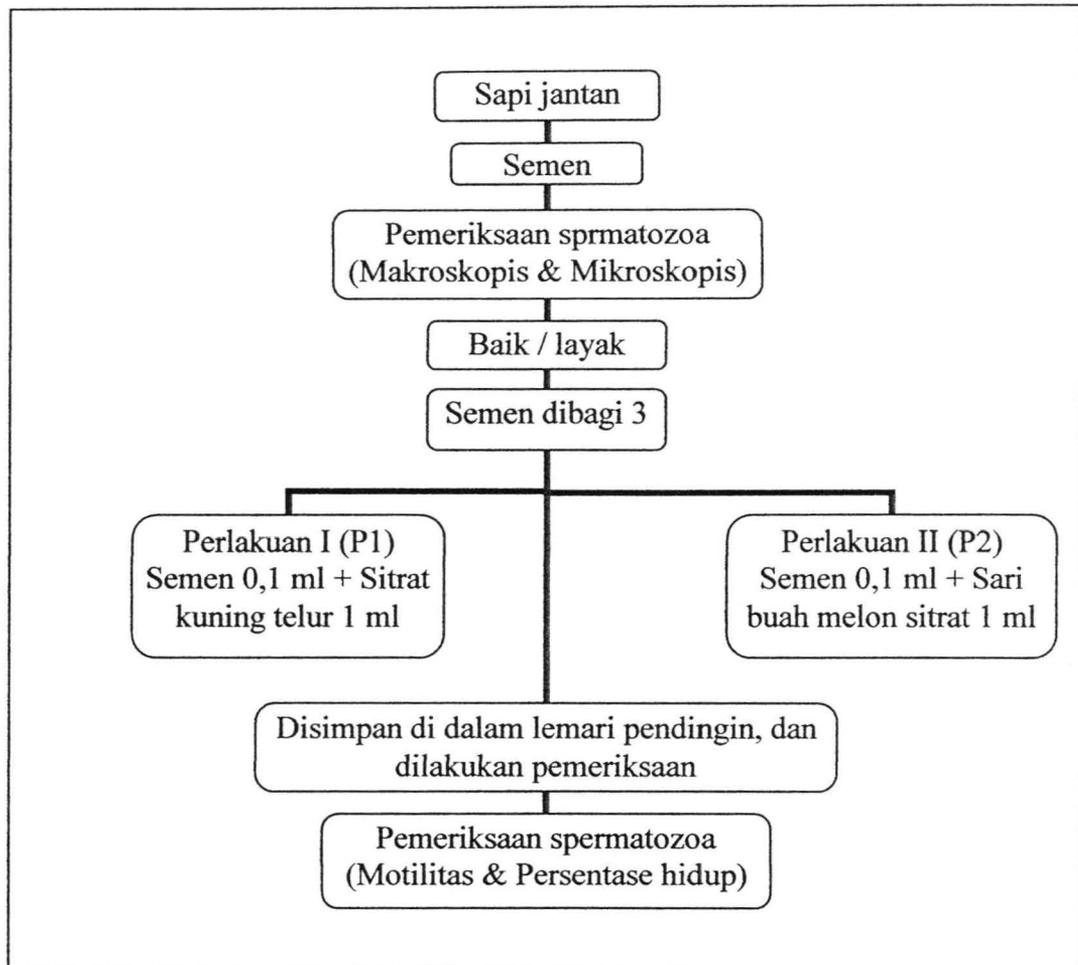
sperma diteteskan di atas obyek glass lalu ditambah satu tetes *eosin-negrosin*, dicampur hingga merata betul dan kemudian dibuat preparat apus yang tipis, kemudian dibuat preparat ulas dan difiksasi diatas api bunsen. Sperma dihitung dengan mikroskop dengan pembesaran 400x, jumlah sperma yang dihitung sebanyak 200 sperma. Dari hasil pemeriksaan motilitas maupun daya tahan hidup spermatozoa diperoleh hasil dalam bentuk satuan persen.

### **3.3.7. Tahap penyimpanan**

Masing- masing perlakuan dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditutup dengan kertas aluminium foil, lalu disusun dalam rak tabung reaksi. Penyimpanan dilakukan pada lemari pendingin dengan suhu 5°C.

### **3.3.8. Pemeriksaan semen setelah penyimpanan**

Semen dari masing-masing perlakuan yang telah disimpan dilakukan pemeriksaan setiap hari selama enam hari. Pemeriksaan ini bertujuan untuk menentukan persentase spermatozoa hidup dan motilitasnya.

**Skema Penelitian**

Penelitian ini menggunakan uji t, yaitu untuk membandingkan hanya dua macam perlakuan. Dalam hal ini perlakuan tersebut adalah penggunaan diluter sitrat kuning telur (sebagai perlakuan A) dan sari buah melon sitrat (sebagai perlakuan B). Sampel dalam penelitian ini berasal dari sapi FH Balai Inseminasi Buatan Singosari Malang.

Untuk menyatakan mana yang benar, apakah  $H_0$  atau  $H_a$  harus diuji dengan uji t.  $t_{hitung}$  yang didapat dibandingkan dengan t dari daftar  $t_{tabel}$  5% (Kusriningrum, 2008).

## BAB 4 HASIL PENELITIAN

### 4.1. Pemeriksaan air mani sapi sebelum perlakuan

Semen sapi sebelum perlakuan terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan semen sangat penting artinya sebelum melakukan proses lebih lanjut terhadap semen tersebut. Pemeriksaan tersebut meliputi volume, konsistensi, bau, warna, pH, konsentrasi, gerakan massa, gerakan individu. Hasil pemeriksaan semen sapi sebelum perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.1.1.

Tabel 4.1.1. Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis semen sapi sebelum perlakuan

No	Makroskopis					Mikroskopis		
	V	K	B	W	pH	GM	GI	Kon ( $\times 10^6$ )
1	11,4	Encer	Khas	PS	6,4	2+	70	683.0
2	9,2	Sedang	Khas	PS	6,2	2+	65	1.132.0
3	9,8	Encer	Khas	PS	6,4	2+	70	562.0
4	11,6	Encer	Khas	PS	6,4	2+	70	766.0
5	7	Sedang	Khas	PS	6,2	2+	70	1.176.0
6	6,4	Sedang	Khas	PS	6,4	2+	70	1.201.0
7	6,4	Pekat	Khas	PS	6,4	2+	75	1.616.0
8	8	Pekat	Khas	PS	6,2	2+	75	1.724.0

Keterangan :

V = Volume

K = Konsistensi

B = Bau

W = Warna

Kon = Konsentrasi

GM = Gerakan Massa

GI = Gerakan Individu

2+ = Sangat baik

#### 4.2. Persentase Motilitas spermatozoa sapi setelah perlakuan

Berdasarkan hasil analisis data dengan menggunakan uji t pada tabel 4.2.1 pada hari pertama dan kedua menunjukkan nilai a pada masing-masing perlakuan yang berarti bahwa pemberian sitrat kuning telur dan pemberian sari buah melon sitrat tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap motilitas spermatozoa, tetapi tidak dengan hari ketiga karena pada hari ketiga terdapat perbedaan antara pemberian sitrat kuning telur dan sari buah melon sitrat. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.2 berikut ini :

Tabel 4.2.1 Rata-rata dan standar deviasi motilitas spermatozoa sapi setelah pengenceran

HariS	Perlakuan	Motilitas spermatozoa (%)± SD
1	P1	56,79 <sup>a</sup> ± 0,00
	P2	56,79 <sup>a</sup> ± 0,00
2	P1	22,79 <sup>a</sup> ± 0,00
	P2	22,79 <sup>a</sup> ± 0,00
3	P1	97,32 <sup>a</sup> ± 2,8
	P2	9,9 <sup>b</sup> ± 0,00

Ketrangan: P1 (Semen+Sitrat kuning telur)

P2 (Semen+Sari buah melon sitrat)

### 4.3. Persentasi Daya Hidup Spermatozoa Sapi

Berdasarkan hasil analisis data dengan menggunakan uji t pada tabel 4.3.1 pada hari pertama dan kedua menunjukkan nilai a pada masing-masing perlakuan yang berarti bahwa pemberian sitrat kuning telur dan pemberian sari buah melon sitrat tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap daya tahan hidup spermatozoa, tetapi tidak dengan hari ketiga karena pada hari ketiga terdapat perbedaan antara pemberian sitrat kuning telur dan sari buah melon sitrat. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.3.1 berikut ini :

Tabel 4.3.1 Rata-rata dan simpangan baku daya hidup spermatozoa sapi setelah perlakuan

Hari	Perlakuan	Daya hidup Spermatozoa % $\pm$ SD
1	P1	61,61 <sup>a</sup> $\pm$ 4,37
	P2	63,33 <sup>a</sup> $\pm$ 2,6
2	P1	57,84 <sup>a</sup> $\pm$ 6,76
	P2	41,74 <sup>a</sup> $\pm$ 2,90
3	P1	54,00 <sup>a</sup> $\pm$ 2,99
	P2	39,80 <sup>b</sup> $\pm$ 2,45

Keterangan: P1 (Semen+Sitrat kuning telur)

P2 (Semen+Sari buah melon sitrat)

## BAB 5 PEMBAHASAN

Kualitas dan kuantitas semen dipengaruhi oleh pakan hewan (protein, mineral, vitamin), temperatur dan musim, frekuensi pengambilan semen, perlakuan terhadap pejantan, penyakit, transportasi, umur, herediter dan latihan (Hardijanto dan Harjopranto, 1994).

Menurut Hafez (1993) volume semen per ejakulat berbeda-beda tergantung umur, kondisi hewan, frekuensi pengambilan, musim dan jumlah cairan yang diminum. Teknik dan metode penampungan serta persiapan alat penampungan juga akan mempengaruhi volume air mani (Toelihere, 1993). Pada hewan muda atau terlalu tua, gemuk dan yang sudah lama tidak diambil semennya akan menghasilkan volume yang rendah (Hafez, 1993).

Hasil pemeriksaan mikroskopis spermatozoa sapi FH sebelum pengenceran menunjukkan bahwa semen sapi FH yang digunakan dalam penelitian ini memberikan hasil yang baik, yaitu motilitas sebesar 65% sampai 70%. Pada pemeriksaan makroskopis semen sapi didapatkan hasil sebagai berikut; volume semen antara 6,4 ml sampai dengan 11,6 ml, pH 6,2 sampai 6,4, konsentrasi  $683 \times 10^6$  sampai  $1764 \times 10^6$ , warna putih susu, bau khas untuk semen sapi, dan konsistensi sedang sampai pekat.

Penurunan motilitas spermatozoa sapi FH mulai tampak di hari kedua pada masing-masing perlakuan dan tidak terdapat perbedaan diantara perlakuan sitrat kuning telur dengan sari buah melon sitrat. Dihari ketiga terdapat perbedaan antara sitrat kuning telur dengan sari buah melon sitrat. Hal ini menunjukkan

bahwa penggunaan sitrat kuning telur dan sari buah melon sitrat tidak dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sapi FH.

Penurunan hidup mati spermatozoa sapi FH mulai terjadi dihari kedua pada tiap-tiap perlakuan. Begitu juga dengan hari ketiga terjadi penurunan hidup mati spermatozoa dan perlakuan sitrat kuning telur berbeda nyata dengan sari buah melon sitrat. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan sari buah melon sitrat sebagai diluter masih dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa sapi FH sampai hari ke 3, tetapi hanya mencapai 40 %.

Dari hasil keterangan-keterangan di atas menunjukkan bahwa sari buah melon sitrat yang dicampur semen sapi dengan perbandingan 1:10 dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa sapi sampai hari ketiga. Tetapi dengan motilitas yang diperoleh dalam penelitian ini motilitas yang bagus hanya pada hari pertama, hari kedua dan ketiga motilitas yang diperoleh sudah mengalami penurunan yang sangat drastis.

Penilaian jumlah sel spermatozoa hidup berdasarkan banyaknya jumlah sel spermatozoa yang tidak menyerap zat warna eosin negrosin. Spermatozoa yang mati permeabilitas membran selnya meningkat, terutama pada daerah *post nuclear caps* sehingga sel spermatozoa yang mati akan menyerap zat warna eosin negrosin. Sedangkan sel spermatozoa yang hidup mempunyai kondisi membran yang baik sehingga zat warna kesulitan untuk menembus membran, akibatnya sel spermatozoa tetap berwarna jernih (Hardijanto dkk, 2002). Persentase spermatozoa hidup secara keseluruhan pada setiap perlakuan juga mengalami penurunan dibandingkan dengan semen segar. Penurunan ini kemungkinan

disebabkan oleh adanya kerusakan sel spermatozoa akibat adanya perpindahan larutan intra dan ekstraseluler sel spermatozoa pada saat proses pengenceran dimana pada proses tersebut kemungkinan terjadi kerusakan membran sel yang menyebabkan kematian sel.

Maxell dan Watson (1996) menyatakan bahwa proses berlangsungnya pengenceran semen dapat merusak membran sel spermatozoa sehingga mengakibatkan spermatozoa mati. Semen sapi yang diencerkan dengan sari buah melon dengan perbandingan 1:10 menunjukkan hasil spermatozoa sapi hidup kurang dari 60-80%. Hal ini disebabkan zat-zat yang terkandung didalam pengencer sari buah melon sitrat tidak dapat menunjang kehidupan sel spermatozoa. Selain itu faktor lain kemungkinan adalah lemak dan protein yang terkandung didalam buah-buahan tersebut tidak dapat bergabung membentuk lipoprotein yang dapat bertindak sebagai lapisan pelindung pada sel spermatozoa sapi sehingga mengalami *cold shock*.

Motilitas spermatozoa yang baik dinilai dengan melihat gerakan progresif dari spermatozoa tersebut (Hardijanto dkk, 2003). Kemampuan spermatozoa mendorong dirinya sendiri menuju ke depan karena adanya substansi kontraktil pada bagian tengah spermatozoa diteruskan ke seluruh bagian ekor. Motilitas spermatozoa normal memperlihatkan gerakan-gerakan spermatozoa maju kedepan secara serempak disebabkan oleh gerakan ekor yang mengarah ke kiri dan ke kanan. Gerakan ekor yang cepat dan kuat mampu mendorong spermatozoa masuk ke dalam ovarium ( Salisbury dan VanDemark, 1985). Temperatur lingkungan juga sangat berpengaruh pada pergerakan spermatozoa. Pada penelitian ini

spermatozoa didiamkan pada lemari pendingin dengan suhu 5°C akibatnya motilitas individu pada semen yang telah diencerkan menunjukkan adanya penurunan. Penurunan ini dapat disebabkan oleh penurunan suhu mulai dari kondisi dari dalam tubuh sapi jantan menuju suhu lingkungan dimana semen disimpan dalam suhu 5°C. Disamping itu juga terjadi perubahan lingkungan yang berbeda dari kondisi lingkungan cair hasil sekresi kelenjar kelamin janta menuju cairan pengencer yang digunakan serta kondisi proses keseimbangan sel-sel spermatozoa selama proses pengenceran. Keadaan ini dapat mengakibatkan terjadi *shock* pada sel-sel spermatozoa sehingga motilitas individu menurun. Evans dan Maxwell (1987) menyatakan bahwa penurunan temperatur akan menurunkan metabolisme spermatozoa yang berakibat pada menurunnya produksi energi yang dapat dipergunakan sebagai energi mekanik (pergerakan) atau sebagai energi kimiawi (Biosintesis).

Supriatna (1993) menyatakan bahwa akibat proses adaptasi sel spermatozoa terhadap konsentrasi bahan pengencer dapat mengakibatkan gangguan permeabilitas membran. Menurunkan aktivitas metabolisme sel, kerusakan sel dan menurunkan motilitas individu spermatozoa. Dalam menjalankan aktifitas metabolisme dihasilkan asam laktat, bila tidak tersedia energi untuk merombak kembali asam laktat menjadi energi yang dibutuhkan untuk aktifitas gerak spermatozoa maka akan menyebabkan penumpukan asam laktat yang dapat menurunkan pH (Butterwoth dan Heinemann, 1993). Menurut Toelihere (1993), kadar asam laktat yang cukup tinggi akan menghambat aktifitas metabolisme spermatozoa dan juga merupakan racun bagi spermatozoa.

Banyak sekali faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa baik yang bersifat endogen maupun eksogen. Faktor endogen merupakan keadaan individu spermatozoa itu sendiri yang erat kaitannya dengan umur spermatozoa, tingkat maturasi spermatozoa meliputi morfologi, faali dan sifat-sifat biokimia, juga faktor yang menyangkut pengadaan energi misalnya transport melalui membran spermatozoa. Faktor eksogen adalah faktor lingkungan yang berbeda diluar membran spermatozoa, antara lain faktor biofisika dan faali meliputi viskositas, pH, temperatur, dan komposisi ion dalam media yang ada disekelilingnya (Hernawati, 1998).

Spermatozoa yang motil selalu hidup, tetapi spermatozoa yang hidup belum tentu motil. Hal ini disebabkan karena sumber energi untuk kehidupan spermatozoa pada waktu pengukuran 1 jam masih cukup banyak dibandingkan dengan pengukuran setelah beberapa hari kemudian, sedangkan metabolisme fruktosa hasil akhirnya adalah asam laktat merupakan racun bagi kehidupan spermatozoa sehingga membawa kematian bagi sperma. Akumulasi asam laktat akan menyebabkan perubahan pH sehingga daya hidup sperma berkurang (Evan dan Maxwell, 1998).

Herdis dkk (2003) menyatakan bahwa sari buah melon dapat digunakan sebagai diluter pengganti karena diluter mengandung protein dan lemak yang cukup sehingga dapat mempertahankan kualitas sperma, begitu juga dengan Suherni dan Tatik (1993) menyatakan bahwa bahan pengencer ekstrak buah pisang, tomat, dan pepaya mengandung protein dan lemak yang mencukupi sehingga memungkinkan membentuk lipoprotein.

Sari buah melon sitrat dapat digunakan sebagai pengencer alternatif untuk semen segar karena dilihat dari syarat kualitas semen untuk inseminasi buatan masih memenuhi syarat tetapi penggunaannya hanya bisa satu hari, sebab daya hidup spermatozoa pada hari kedua dan ketiga sudah tidak mencapai 50 %.

## **BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN**

### **6.1. Kesimpulan**

Dari hasil analisis data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa sari buah melon sirat dapat digunakan sebagai bahan diluter semen segar, dan penggunaannya hanya bisa satu hari saja, karena daya tahan hidup spermatozoa hari kedua dan ketiga sudah tidak mencapai 50 %.

### **6.2. Saran**

1. Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji daya fertilisasi di lapangan.
2. Serta perlu penelitian lanjut apakah sari buah melon sirat dapat digunakan sebagai pengencer untuk pembuatan semen beku sapi FH.

## RINGKASAN

Buah melon saat ini sudah merupakan buah yang digemari oleh masyarakat kita, dan sudah banyak dibudidayakan di Indonesia. Daya pikat buah melon tidak hanya terletak pada cita rasanya yang enak, manis, beraroma wangi dan khas, serta menyegarkan tetapi keunggulan buah melon lainnya adalah kandungan gizi yang ada didalam buah tersebut cukuplah banyak diantaranya: Energi, protein, lemak, karbohidrat, serat, abu, kalsium, fosfor, kalium, zat besi, natrium, vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, vitamin C, niacin yang sangat bermanfaat untuk mempertahankan kualitas sperma.

Telah dilakukan penelitian mengenai penggunaan sari buah melon sitrat sebagai bahan pengencer semen sapi FH dengan menggunakan suhu penyimpanan 5°C. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Singosari dengan waktu sekitar satu bulan.

Penelitian ini menggunakan sampel semen sapi FH dari Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari. Penelitian ini terdiri dari tiga perlakuan dengan masing-masing delapan kali ulangan. Perlakuan pertama (P1) berisi semen sapi, Perlakuan kedua (P2) berisi semen yang ditambah dengan pengencer sitrat kuning telur, dan Perlakuan ketiga (P3) berisi semen yang ditambah dengan pengencer sari buah melon sitrat, untuk melihat adanya pengaruh pengencer sari buah melon sitrat terhadap motilitas spermatozoa sapi dan daya tahan hidup spermatozoa sapi.

Penelitian ini menggunakan desain rancangan acak lengkap. Data dianalisis dengan Anova yang dilanjutkan dengan menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sari buah melon sitrat tidak menunjukkan peningkatan motilitas tetapi dapat mempertahankan daya tahan hidup spermatozoa sapi FH sampai hari ke 3. Berdasarkan hasil penelitian ini maka pemberian sari buah melon sitrat dapat digunakan sebagai diluter semen segar sapi FH, serta perlu penelitian lanjutan untuk mengetahui apakah sari buah melon sitrat dapat dijadikan sebagai bahan pengencer untuk semen beku.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Laksmiarti T dan Herti M 2008. Tetap Sehat di Usia Lanjut Dengan Gizi Sehat. Puslitbang Pelayanan dan Teknologi Kesehatan Surabaya. [12-02-08]
- Ashari, S. 1995. Holtikultura Aspek Budidaya. Penerbit Universitas Indonesia. Hal 360
- Bearden, H.J. and J.W. Fuquari. 1992. Applied Animal Reproduction. 3<sup>rd</sup> Ed. Prentice Hall. Englewood Cliffs. New Jersey. 341-345
- Bresnick, S., 2003. Intisari Biologi. Hipokrates. Jakarta.
- Butterwort and Heinemann, 1993. In Vitro Cultifation of Animal Cell. Linacre House. Jordan Hill. Oxford.
- Busono, W dan Chusna, F. 2000. Pengaruh Berbagai Konsentrasi DMSO Terhadap Kualitas Semen Ayam Kedu Setelah Pengenceran Secara Bertahap. Habitat Vol 11 No 113. <http://www.brawijaya.co.id> [15-05-2008]
- Direktorat Jenderal Peternakan, 2005. Panduan lomba dan kontes Ternak Nasional dalam rangka pekan Peternakan Unggulan Nasional 2005. Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian Hal 1.
- Evan, G dan W.M.C. Maxwell. 1987. Salamon's Artificial Insemination off sheep and Goats. Butterworths Ptg Limited. Sidney.
- Guytonn, A. C., dan J. E. Hall., 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. edisi 9, Alih bahasa oleh Irawati Setiawan, LMA. Ken Ariata Tengadi, Alex Santoso. EGC, Jakarta.
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. Reproduction in Farm animal. 7<sup>th</sup> Rd. Lippicott Williams & wilkins. Philadelphia. USA. 165-444
- Hafez, E.S.E. 1993. Preservation and Cryopreservation of Gamete Emryos. In: E.S.E. Hafez (E.d). Reproduction in Farm Animal. 6<sup>th</sup> ed. Lea and Febriger. Philadelphia. 96-109
- Hardijanto dan S. Hardjopranojoto. 1994. Diktat Kuliah Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Surabaya. 18-20, 25, 44-52, 70-78.

- Hardijanto, T. Sardjito, T. Hernawati, S.Susilowati dan T.W. Suprayogi. 2003. Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan, Airlangga. Surabaya. 9-13, 18-44, 58-64, 70-86.
- Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran Pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya. 55-69.
- Hermadi. A.H, dkk. 1992. Daya Fertilisasi Spermatozoa Domba Dalam Pengencer Sari Buah Pisang Sitrat Dengan Pengujian Metoda Flushing mbryo. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Surabaya. 2-3.
- Hernawati, T. 1993. Penggunaan Larutan Buah Sebagai Pengencer Dan Penyimpan Air Mani Ayam. Fakultas Kedokteran Hewan. Surabaya.
- Herdis, dkk. 2003. Pemanfaatan Sari Buah Melon Sebagai Media Pengencer Semen Cair Alternatif Spermatozoa Domba Garut. Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia, V5.N5. Hal 126-131
- Hunter, R.H.F. 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik (Physiology and Technologi of Reproduction in Female Domestic Animal). Diterjemahkan Oleh D.K Haryaputra. Edisi Pertama. Penerbit Institut Teknologi Bandung. 124, 172-179, 272-274
- Ismudiono, dkk. 2007. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Bagian Reproduksi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Junqueira, L. C., Jose, C., Robert, O. K., 1997. Histologi Dasar. edisi 8, alih bahasa oleh Jan Tambayong, EGC, Jakarta.
- Jurnal Veterinery, 2006. Pengaruh Pengencer Ekstrak Buah Pisang, Tomat, dan Pepaya Untuk Pengencer Semen Ayam Hutan Hijau (*Gallus varius*) Terhadap Fertilitas Telur Ayam Kampung (*Gallus domesticus*). Hal 126
- Kusriningrum, R. 2008. Perencanaan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya. 43-82
- Madyawati S.P, 2007. Ringkasan disertasi "Suplementasi Tirosin Kinase Spermatozoa Sapi FH Terhadap Kualitas Semen Beku ". Program Pascasarjana. Universitas Airlangga. Surabaya
- Maryani dkk, 2008. <http://www.Skripsi/Melon.htm>. [12-03-2008]
- Maxwell, W.M.C and Watson. 1996. Recent Progress in The Preservation of Ram Semen. Animal Reproduction Research and Practice. 13<sup>th</sup> International Cogres on Animal Reproductio. Ston and Evan (Eds). Elsevier. Sydney. Australia.

- Nalbandov, A. V., 1990. Fisiologi Reproduksi Mamalia dan Unggas. edisi 3, UI Press, Jakarta.
- Partodiharjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Jurusan Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Penerbit Mutiara Sumber Widya. Jakarta. 519-571.
- Prihatman k, 2000. Proyek Pengembangan Ekonomi Masyarakat Pedesaan, Bappenas. <http://www.ristek.go.id>. [10-01-2008]
- Riwantoro, 2008. <http://www.Bangnak.ditjennak.go.id> [12-02-2008]
- Rukmana, R. 1994. Budidaya Melon Hibrida. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hal 13-15, 18, 26.
- Salamon S., and Maxwell W.M.C. 2000. Storage of Ram Semen. Animal Reproduction Science. Sidney. Australia
- Salisbury, G.W. and N.L Vandemark. 1985. Fosiologi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi ( Physiology and Artificial Insemination of Cattle). Diterjemahkan Oleh Januar, R. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Samadi, B. 2000. Usaha Tani Melon. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal 1-12
- Setiadi. 1994. Bertanam Melon. Penerbit Kanisius, Yogyakarta. Hal 15, 18
- Susiliwati, S dan Hernawati, T. 1989. Sari Buah Sebagai Diluter Air Mani Domba (Suatu Study Pendahuluan). Fakultas Kedokteran hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Supriatna, I. 1993. Metode Dasar Dalam Pembekuan Embrio Mamalia. Penerbit ITB. Bandung.
- Syafei, S. 1988. Pemisahan Spermatozoa X dan Y Dengan Menggunakan Kolom Percoll. Jurnal A.A. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang.
- Syarief, M.Z. dan M. Sumoprastowo. 1985. Ternak Perah. C.V. Yasaguna. Jakarta. 16-18.
- Toelihere, M.R. 1993. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M.R. 1981. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.

- Toelihere, M.R. 1979. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung
- Wahyuddin, P.S.B. Siregar, N. Hidayati, dan T. Sugiarti. 1993. The Production Performanc of Holstein – Friesen Dairy Cattle in West Java. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. Vol 2(3).
- Wirdahayati, R.B. 2005. Membangun Sumatera Barat Sebagai Sentral Bibit sapi. Harian Umum Independen Singgalang. Sumatera Barat
- Wirakusumah, E.S. 1997. Buah dan Sayur Untuk Terapi. PT. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal 54
- Wikipedia, 2008. [http://wikipedia.org/wiki/Inseminasi\\_Buatan](http://wikipedia.org/wiki/Inseminasi_Buatan) [05-02-2008]
- Yatim, W, 1994. Histologi. Penerbit Tarsito, Bandung.

### Lampiran 1. Cara Koleksi Air Mani

Frekuensi pengambilan air mani dilakukan 2 kali dalam 1 minggu agar diperoleh semen yang baik (Salisbury dan vandmark, 1978).

Pemeriksaan semen diawali dengan penampungan air mani yang meliputi tahapan:

Menurut Hardijanto dkk, 2006, pengumpulan sperma:

1. Sapi jantan pemancing diikat di kandang jepit tempat penampungan semen sapi
2. Sapi jantan yang akan diambil semennya didekatkan dengan sapi jantan pemancing, tetapi diusahakan agar pejantan yang akan diambil semennya tidak menaiki sapi pemancing. Kemudian sapi pejantan didekatkan dan dijauhkan dari sapi pemancing 2-3 kali yang tujuannya untuk merangsang libido sapi pejantan sehingga volume semen yang diperoleh banyak.
3. Operator yang akan menampung semen terlebih dahulu melakukan pemeriksaan suhu vagina buatan dimana suhu vagina buatan adalah 42-45 °C, operator berdiri diposisi belakang tepat sebelah kanan sapi pemancing. Kemudian tangan kanan operator memegang vagina buatan dan sedikit dimiringkan keatas dengan kemiringan sekitar 45 ° dengan garis horisontal.
4. Vagina buatan diarahkan tepat dipangkal penis dengan menggunakan tangan kiri, tepat pada saat sapi pejantan menaiki sapi pemancing dan melakukan gerakan ejakulasi.
5. Setelah selesai penampungan tabung gelas penampung yang ada pada vagina buatan dilepaskan dan sesegera mungkin ditutup dengan kain yang berwarna gelap agar tidak kena cahaya matahari karena dapat membunuh spermatozoa, atau dapat disimpan dalam termos diatas pecahan es yang diberi alas handuk dengan suhu sekitar 5 °C.

## **Lampiran 2. 1 Cara Penghitungan Volume air mani**

Volume semen dapat dihitung dengan cara melihat pada sekala tabung yang digunakan untuk menampung semen (Hardijanto dkk, 2006).

### **2.2 Cara Penentuan Konsistensi Air Mani**

Konsistensi semen dapat diketahui dengan cara memiringkan tabung penampung semen dan kembali ditegakkan. Semen dikategorikan pekat atau kental jika ada cairan menempel pada dinding tabung dan terlihat bintik kecil yang banyak seolah berdesakan turun kebawah tabung perlahan-lahan. Semen yang pekat atau kental menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa dalam semen tersebut tinggi . Semen yang encer tidak meninggalkan cairan yang membekas pada dinding tabung (Hardijanto dkk, 2006).

### **2.3 Bau Air Mani**

Bau semen adalah khas dengan bau merangsang. Bau yang tidak normal, misalnya bau busuk dapat digunakan sebagai indikasi adanya radang pada saluran reproduksi hewan jantan. Semen yang berbau urin dapat diduga bahwa semen tersebut bercampur dengan urin yang menyebabkan kualitas serta kuantitas semen meburun (Hardijanto dkk, 2006).

### **2.4 Warna Air Mani**

Semen dari setiap hewan yang normal mempunyai karakteristik warna tertentu. Penentuan warna semen dapat dilihat saat semen masih di dalam gelas penampung (Evans dan Maxwell, 1987).

### **2.5 Cara Penentuan Konsentrasi Air Mani Menggunakan Cara Rusia**

Menurut Hardijanto dkk, (2006), cara penentuan konsentrasi spermatozoa adalah melalui tahapan sebagai berikut:

1. Teteskan satu tetes semen diatas gelas obyek
2. kemudian ditutup dengan gelas penutup
3. diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x

Beberapa kriteria yang membedakan konsentrasi spermatozoa:

1. Densum (D): yaitu bila jarak antara kepala spermatozoa yang satu dengan yang lain kurang dari panjang kepala satu spermatozoa. Berarti ada lebih dari 1.000.000 spermatozoa
2. Semi Densum (SD): yaitu bila jarak antara kepala spermatozoa yang satu dengan yang lain lebih dari panjang kepala satu spermatozoa. Berarti bahwa setiap milliliter semen mengandung antara 500.000-1.000.000 spermatozoa.
3. Rarum (R): yaitu bila jarak antara kepala spermatozoa satu dengan yang lain hampir sama dengan panjang satu spermatozoa (kepala dan ekor). Berarti bahwa setiap mililiter semen tersebut mengandung kurang dari 500.000 spermatozoa.
4. Anzoospermia (A): yaitu bila tidak ditemukan atau hanya sedikit spermatozoa di dalam semen.

## 2.6 Cara Pengamatan Gerakan Massa Spermatozoa

Alat: Gelas obyek, mikroskop, pipet

Menurut Hardijanto dkk (2006), cara pengamatan gerakan massa spermatozoa dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Satu tetes semen diletakkan diatas gelas obyek
2. Pengamatan gerakan massa dilakukan di bawah mikroskopis dengan pembesaran 100x

Penilaian:

1. Sangat baik (+++): merupakan gelombang kecil sampai besar yang tebal, banyak dan bergerak cepat.
2. Baik (++) : merupakangelombang tipis, jarang dan gerakannya lamban
3. Sedang (+): tidak terlihat gelombang, gerakan spermatozoa sendiri-sendiri
4. Buruk (0) atau N: hanya sedikit atau tidak ada sama sekali gerakan individu.

Evans dan Maxwell (1987) juga menyampaikan cara pengamatan gerakan massa yang sama seperti yang telah disampaikan oleh Hardijanto dkk, 2006, yaitu dengan mengamati gerakan gelombang yang ditimbulkan oleh gerakan spermatozoa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Selain itu, gerakan massa spermatozoa juga dapat diamati langsung pada gelas penampung semen.

## **2.7 Cara Pengamatan Gerakan Individu Spermatozoa**

Menurut Hardijanto dkk (2006), cara pengamatan gerakan individu spermatozoa dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Satu tetes larutan NaCl fisiologis diletakkan di atas gelas obyek kemudian di tambahkan satu tetes semen dan kemudian diaduk hingga homogen.
2. Gelas obyek ditutup menggunakan gelas penutup dan dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x.

Penilaian:

- P : gerakan progresif, merupakan gerakan aktif maju ke depan.  
O(V) : gerakan oscilatoris atau vibratoris, merupakan gerak ayun, berputar dan lamban.  
C : gerakan circular, merupakan gerakan melingkar  
R : gerakan reverse, merupakan gerakan mundur  
N : necrospermia, yaitu tidak ada gerakan

Penghitungan dilakukan secara subyektif, yaitu berdasarkan persentase gerakan spermatozoa aktif (bergerak progresif) dibandingkan dengan seluruh spermatozoa yang tampak dalam satu lapang pandang (Asfi'i, 1997)

## **2.8 Cara Penghitungan Motilitas Spermatozoa Sapi**

Cara pemeriksaan motilitas adalah secara natif dengan meneteskan semen sapi di atas gelas obyek kemudian ditutup dengan gelas penutup. Preparat dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Penilaian dilakukan secara subyektif berdasarkan gerakan spermatozoa aktif (bergerak progresif) dibanding dengan seluruh spermatozoa yang tampak dalam lapangan pandang

### **Lampiran 3. Cara Penghitungan Persentase Hidup Spermatozoa**

Berdasarkan standar WHO untuk pewarnaan eosin-nigrosin, spermatozoa yang mati, kepalanya akan menyerap zat warna merah atau gelap dari zat warna eosin-nigrosin, sedangkan spermatozoa hidup tidak menyerap warna eosin-nigrosin sehingga kepalanya tidak terwarnai (putih). Nigrosin bertindak sebagai latar pewarnaan yang kontras.

Berdasarkan keterangan yang disampaikan Hardijanto dkk (2006), cara penghitungan persentase spermatozoa hidup adalah melalui tahapan sebagai berikut:

Cara pembuatan preparat ulas:

1. Satu tetes zat warna eosin-nigrosin dan satu tetes semen diletakkan berdampingan di atas gelas obyek yang bersih
2. Secepat mungkin kedua larutan tersebut dicampurkan hingga homogen kemudian dibuat preparat ulas setipis mungkin kemudian dipanaskan di atas nyala api
3. Pemeriksaan dan penghitungan dilakukan setelah preparat mengering dan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x

Penilaian dan penghitungan :

Sel spermatozoa yang mati kepalanya berwarna merah, sedangkan yang hidup tidak berwarna atau berwarna putih. Jumlah persentase sel spermatozoa yang mati dan yang hidup dihitung dalam dua kali penghitungan 100 sel spermatozoa.

**Lampiran 4. Motilitas Spermatozoa****Motilitas Spermatozoa**

Ulangan	Hari					
	1		2		3	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2
1	70 %	70 %	15 %	15 %	5 %	0 %
2	70 %	70 %	15 %	15 %	0 %	0 %
3	70 %	70 %	15 %	15 %	5 %	0 %
4	70 %	70 %	15 %	15 %	5 %	0 %
5	70 %	70 %	15 %	15 %	0 %	0 %
6	70 %	70 %	15 %	15 %	5 %	0 %
7	70 %	70 %	15 %	15 %	5 %	0 %
8	70 %	70 %	15 %	15 %	5 %	0 %

## Keterangan

P1 : Perlakuan 1 (Sitrat kuning telur)

P2 : Perlakuan 2 ( Sari buah melon sitrat)

**Lampiran 5. Daya Tahan Hidup Spermatozoa****Daya Tahan Hidup Spermatozoa**

Ulangan	Hari					
	1		2		3	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2
1	85 %	83 %	57 %	43 %	70 %	41 %
2	85 %	84 %	76 %	48 %	64 %	38 %
3	70 %	83 %	73 %	44 %	69 %	37 %
4	79 %	81 %	61 %	45 %	66%	37 %
5	78 %	74 %	77 %	33 %	70 %	41 %
6	79 %	79 %	57 %	48 %	59 %	50 %
7	73 %	77 %	61 %	47 %	57 %	43 %
8	68 %	78 %	77 %	47 %	68 %	41 %

**Keterangan**

P1 : Perlakuan 1 (Sitrat kuning telur)

P2 : Perlakuan 2 ( Sari buah melon sitrat)

**Lampiran 6. Analisis Data Motilitas Hari Pertama Spermatozoa sapi setelah pengenceran**

Perlakuan	Ulangan	Motilitas hari 1 (%)	Motilitas Ars.Sin V (%)
1	1	70	56,79
	2	70	56,79
	3	70	56,79
	4	70	56,79
	5	70	56,79
	6	70	56,79
	7	70	56,79
	8	70	56,79
Rata-rata			56,79
2	1	70	56,79
	2	70	56,79
	3	70	56,79
	4	70	56,79
	5	70	56,79
	6	70	56,79
	7	70	56,79
	8	70	56,79
Rata-rata			56,79

## Lampiran Lanjutan

Perlakuan	Ulangan	Motilitas Ars.Sin V (%)	(xi-x)	(xi-x)
1	1	56,79	0,00	0,00
	2	56,79	0,00	0,00
	3	56,79	0,00	0,00
	4	56,79	0,00	0,00
	5	56,79	0,00	0,00
	6	56,79	0,00	0,00
	7	56,79	0,00	0,00
	8	56,79	0,00	0,00
Rata-rata		56,79	0,00	0,00
2	1	56,79	0,00	0,00
	2	56,79	0,00	0,00
	3	56,79	0,00	0,00
	4	56,79	0,00	0,00
	5	56,79	0,00	0,00
	6	56,79	0,00	0,00
	7	56,79	0,00	0,00
	8	56,79	0,00	0,00
Rata-rata		56,79	0,00	0,00

$$\begin{aligned}
 \text{SD} &= \sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{n-1}} \\
 &= 0
 \end{aligned}$$

**Lampiran lanjutan**

Perhitungan Uji t

Perhitungan nilai S

$$S = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)[\Sigma(x_a - \bar{x}_1)^2/n_1] + (n_2 - 1)[\Sigma(x_b - \bar{x}_2)^2/n_2]}{(n_1 + n_2) - t}}$$

$$= 0$$

Perhitungan nilai t hitung

$$t \text{ hitung} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$= 0$$

Nilai t tabel = 2,145

Nilai t hitung < nilai t tabel, jadi  $H_0$  diterima yang berarti bahwa tidak ada perbedaan pengaruh antara pengencer sitrat kuning telur dan sari buah melon sitrat

**Lampiran 7. Analisis Data Motilitas Hari Kedua spermatozoa sapi setelah pengenceran**

Perlakuan	Ulangan	Motilitas hari ke 2 ( %)	Motilitas Ars.Sin V (%)
1	1	15	22,79
	2	15	22,79
	3	15	22,79
	4	15	22,79
	5	15	22,79
	6	15	22,79
	7	15	22,79
	8	15	22,79
Rata-rata			22,79
2	1	15	22,79
	2	15	22,79
	3	15	22,79
	4	15	22,79
	5	15	22,79
	6	15	22,79
	7	15	22,79
	8	15	22,79
Rata-rata			22,79

**Lampiran Lanjutan**

Perlakuan	Ulangan	Motilitas Ars.Sin V (%)	(xi-x)	(xi-x)
1	1	56,79	0,00	0,00
	2	56,79	0,00	0,00
	3	56,79	0,00	0,00
	4	56,79	0,00	0,00
	5	56,79	0,00	0,00
	6	56,79	0,00	0,00
	7	56,79	0,00	0,00
	8	56,79	0,00	0,00
Rata-rata		56,79	0,00	0,00
2	1	56,79	0,00	0,00
	2	56,79	0,00	0,00
	3	56,79	0,00	0,00
	4	56,79	0,00	0,00
	5	56,79	0,00	0,00
	6	56,79	0,00	0,00
	7	56,79	0,00	0,00
	8	56,79	0,00	0,00
Rata-rata		56,79	0,00	0,00

$$SD P1 = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= 0$$

$$SD P2 = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= 0$$

**Lampiran lanjutan**

## Perhitungan Uji t

Perhitungan nilai S

$$S = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)[\Sigma(x_a - \bar{x}_1)^2/n_1] + (n_2 - 1)[\Sigma(x_b - \bar{x}_2)^2/n_2]}{(n_1 + n_2) - 2}}$$

$$= 0$$

Perhitungan nilai t hitung

$$t \text{ hitung} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$= 0$$

Nilai t tabel = 2,145

Nilai t hitung < nilai t tabel, jadi  $H_0$  diterima yang berarti bahwa tidak ada perbedaan pengaruh antara pengencer sitrat kuning telur dan sari buah melon sitrat

**Lampiran 8. Analisis Data Motilitas Hari Ketiga spermatozoa sapi setelah pengenceran**

Perlakuan	Ulangan	Motilitas hari 3 (%)	Motilitas Ars.Sin V (%)
1	1	5	12,92
	2	0	9,9
	3	5	12,92
	4	5	12,92
	5	0	9,9
	6	5	12,92
	7	5	12,92
	8	5	12,92
Rata-rata			97,32
2	1	0	9,9
	2	0	9,9
	3	0	9,9
	4	0	9,9
	5	0	9,9
	6	0	9,9
	7	0	9,9
	8	0	9,9
Rata-rata		0	9,9

**Lampiran Lanjutan**

Perlakuan	Ulangan	Motilitas Ars.Sin V (%)	(xi-x)	(xi-x)
1	1	12,92	-84,4	7,12
	2	9,9	-87,42	7,64
	3	12,92	-84,4	7,12
	4	12,92	-84,4	7,12
	5	9,9	-87,42	7,64
	6	12,92	-84,4	7,12
	7	12,92	-84,4	7,12
	8	12,92	-84,4	7,12
Rata-rata		97,32		58
2	1	9,9	0,00	0,00
	2	9,9	0,00	0,00
	3	9,9	0,00	0,00
	4	9,9	0,00	0,00
	5	9,9	0,00	0,00
	6	9,9	0,00	0,00
	7	9,9	0,00	0,00
	8	9,9	0,00	0,00
Rata-rata		9,9	0,00	0,00

$$SD P1 = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{58}{8-1}}$$

$$= 2,8$$

$$SD P2 = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= 0$$

**Lampiran Lanjutan**

Perhitungan Uji t

Perhitungan nilai S

$$\begin{aligned}
 S &= \sqrt{\frac{(n_1-1)[\Sigma(x_a - \chi_1)^2/n_1] + (n_2-1)[\Sigma(x_b - \chi_2)^2/n_2]}{(n_1+n_2)-t}} \\
 &= \sqrt{\frac{(8-1)[7,25] + (8-1)[0]}{(8+8)-2}} \\
 &= \sqrt{\frac{50,75}{14}} \\
 &= 1,9
 \end{aligned}$$

Perhitungan nilai t hitung

$$\begin{aligned}
 t \text{ hitung} &= \frac{\chi_1 - \chi_2}{S\sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \\
 &= \frac{97,32 - 9,9}{1,9\sqrt{\frac{1}{8} + \frac{1}{8}}} \\
 &= \frac{87,42}{0,95} \\
 &= 92,02
 \end{aligned}$$

Nilai t tabel = 2,977

Nilai t hitung < nilai t tabel, jadi  $H_0$  diterima yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan yang sangat nyata antara pemberian diluter sitat kuning telur dengan sari buah melon (Kusriningrum, 2008).

**Lampiran 9. Analisis Data Daya tahan hidup Spermatozoa setelah pengenceran**

Perlakuan	Ulangan	Daya Tahan Hidup hari 1 ( %)	Motilitas Ars.Sin V (%)
1	1	85	67,21
	2	85	67,21
	3	70	56,79
	4	79	62,72
	5	78	62,03
	6	79	62,72
	7	73	58,69
	8	68	55,55
Rata-rata			61,61
2	1	83	65,65
	2	84	66,42
	3	83	65,65
	4	81	64,16
	5	74	58,69
	6	79	62,72
	7	77	61,34
	8	78	62,03
Rata-rata			63,33

Perlakuan	Ulangan	Daya Tahan Hidup Ars.Sin V (%)	(xi-x)	(xi-x)
1	1	67,21	5,6	31,36
	2	67,21	5,6	31,36
	3	56,79	-4,82	23,23
	4	62,72	1,11	1,23
	5	62,03	0,42	0,17
	6	62,72	1,11	1,23
	7	58,69	-2,92	8,52
	8	55,55	-6,06	36,72
Rata-rata		61,61		133,82
2	1	65,65	2,32	5,38
	2	66,42	3,09	9,54
	3	65,65	2,32	5,38
	4	64,16	0,83	0,68
	5	58,69	-4,64	21,52
	6	62,72	-0,61	0,37
	7	61,34	-1,99	3,96
	8	62,03	-1,3	1,69
Rata-rata		63,33		48,52

$$SD P1 = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{133,82}{8-1}}$$

$$= 4,37$$

$$SD P2 = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{48,52}{8-1}}$$

$$= 2,6$$

**Lampiran lanjutan**

Perhitungan Uji t

Perhitungan nilai S

$$\begin{aligned}
 S &= \sqrt{\frac{(n1-1)[\Sigma(x_a - \chi_1)^2/n1] + (n2-1)[\Sigma(x_b - \chi_2)^2/n2]}{(n1+n2)-t}} \\
 &= \sqrt{\frac{(8-1)[16,7275] + (8-1)[6,065]}{(8+8)-2}} \\
 &= \sqrt{\frac{117,00925 + 42,455}{14}} \\
 &= 3,375
 \end{aligned}$$

Perhitungan nilai t hitung

$$\begin{aligned}
 t \text{ hitung} &= \frac{\chi_1 - \chi_2}{S \sqrt{\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2}}} \\
 &= \frac{61,61 - 63,33}{3,375 \sqrt{\frac{1}{8} + \frac{1}{8}}} \\
 &= \frac{-1,72}{1,6875} \\
 &= -1,01
 \end{aligned}$$

Nilai t tabel = 2,145

Nilai t hitung < nilai t tabel, jadi  $H_0$  diterima yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan yang sangat nyata antara pemberian diluter sitat kuning telur dengan sari buah melon (Kusriningrum, 2008).

**Lampiran 10. Analisis Data Daya tahan hidup Spermatozoa setelah pengenceran**

Perlakuan	Ulangan	Daya Tahan Hidup hari ke 2 ( %)	Daya Tahan Hidup Ars.Sin V (%)
1	1	57	49,02
	2	76	60,67
	3	73	58,69
	4	61	51,35
	5	77	61,34
	6	57	69,02
	7	61	51,35
	8	77	61,34
Rata-rata			57,84
2	1	43	40,98
	2	48	43,85
	3	44	41,55
	4	45	42,13
	5	33	35,06
	6	48	43,85
	7	47	43,28
	8	47	43,28
Rata-rata			41,74

Perlakuan	Ulangan	Daya tahan hidup Ars.Sin V (%)	(xi-x)	(xi-x)
1	1	49,02	-8,82	77,79
	2	60,67	2,83	8,00
	3	58,69	0,85	0,72
	4	51,35	-6,49	42,12
	5	61,34	3,5	12,25
	6	69,02	11,18	124,99
	7	51,35	-6,49	42,12
	8	61,34	3,5	12,25
Rata-rata		57,84		320,24
2	1	40,98	-0,76	0,57
	2	43,85	2,11	4,45
	3	41,55	-0,19	0,03
	4	42,13	0,39	0,15
	5	35,06	-6,68	44,6
	6	43,85	2,11	4,45
	7	43,28	1,54	2,37
	8	43,28	1,54	2,37
Rata-rata		41,74		58,99

$$SD P1 = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{320,24}{8-1}}$$

$$= 6,76$$

$$SD P2 = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{58,99}{8-1}}$$

$$= 2,90$$

**Lampiran Lanjutan**

Perhitungan Uji t

Perhitungan nilai S

$$\begin{aligned}
 S &= \sqrt{\frac{(n1-1)[\Sigma(x_a - \chi_1)^2/n1] + (n2-1)[\Sigma(x_b - \chi_2)^2/n2]}{(n1+n2)-t}} \\
 &= \sqrt{\frac{(8-1)[40,03] + (8-1)[7,37]}{(8+8)-2}} \\
 &= \sqrt{\frac{280,21 + 51,59}{14}} \\
 &= 4,8
 \end{aligned}$$

Perhitungan nilai t hitung

$$\begin{aligned}
 t \text{ hitung} &= \frac{\chi_1 - \chi_2}{S \sqrt{\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2}}} \\
 &= \frac{57,84 - 41,74}{4,8 \sqrt{\frac{1}{8} + \frac{1}{8}}} \\
 &= \frac{16,1}{2,4} \\
 &= 6,7
 \end{aligned}$$

Nilai t tabel = 2,977

Nilai t hitung > nilai t tabel, jadi  $H_0$  ditolak yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata antara pemberian diluter sitat kuning telur dengan sari buah melon (Kusriningrum, 2008).

**Lampiran 11. Analisis Data Daya tahan hidup Spermatozoa hari ketiga setelah pengenceran**

Perlakuan	Ulangan	Daya Tahan Hidup hari ke 3( %)	Daya Tahan Hidup Ars.Sin V (%)
1	1	70	56,79
	2	64	53,13
	3	69	56,17
	4	66	54,33
	5	70	56,79
	6	59	50,18
	7	57	49,02
	8	68	55,55
Rata-rata			54
2	1	41	39,82
	2	38	38,06
	3	37	37,47
	4	37	37,47
	5	41	39,82
	6	50	45,00
	7	43	40,98
	8	41	39,82
Rata-rata			39,80

Perlakuan	Ulangan	Daya tahan hidup Ars.Sin V (%)	(xi-x)	(xi-x)
1	1	56,79	2,79	7,7
	2	53,13	-0,87	0,75
	3	56,17	2,17	4,7
	4	54,33	0,33	0,10
	5	56,79	2,79	7,7
	6	50,18	-3,82	14,59
	7	49,02	-4,98	24,80
	8	55,55	1,55	2,40
Rata-rata		54		62,74
2	1	39,82	0,02	0,0004
	2	38,06	-1,74	3,02
	3	37,47	-2,33	5,42
	4	37,47	-2,33	5,42
	5	39,82	0,02	0,0004
	6	45,00	5,2	27,04
	7	40,98	1,18	1,39
	8	39,82	0,02	0,0004
Rata-rata		39,80		42,29

$$SD P1 = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{62,74}{8-1}}$$

$$= 2,99$$

$$SD P2 = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{42,29}{8-1}}$$

$$= 2,45$$

**Lampiran Lanjutan**

Perhitungan Uji t

Perhitungan nilai S

$$\begin{aligned}
 S &= \sqrt{\frac{(n1-1)[\Sigma(x_a - \chi_1)^2/n1] + (n2-1)[\Sigma(x_b - \chi_2)^2/n2]}{(n1+n2)-t}} \\
 &= \sqrt{\frac{(8-1)[7,84] + (8-1)[5,28]}{(8+8)-2}} \\
 &= \sqrt{\frac{54,88 + 36,96}{14}} \\
 &= 2,5
 \end{aligned}$$

Perhitungan nilai t hitung

$$\begin{aligned}
 t \text{ hitung} &= \frac{\chi_1 - \chi_2}{S \sqrt{\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2}}} \\
 &= \frac{54 - 39,80}{2,5 \sqrt{\frac{1}{8} + \frac{1}{8}}} \\
 &= \frac{14,2}{1,25} \\
 &= 11,36
 \end{aligned}$$

Nilai t tabel = 2,977

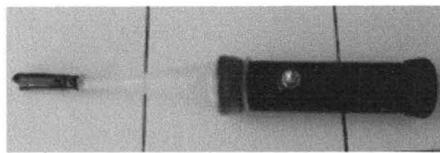
Nilai t hitung > nilai t tabel, jadi  $H_0$  ditolak yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata antara pemberian diluter sitat kuning telur dengan sari buah melon (Kusriningrum, 2008).

**Lampiran 12. Gambar alat dan Bahan Penelitian**

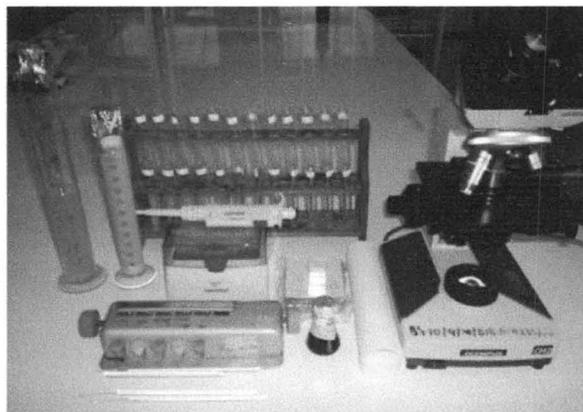
**Alat dan Bahan Penelitian**



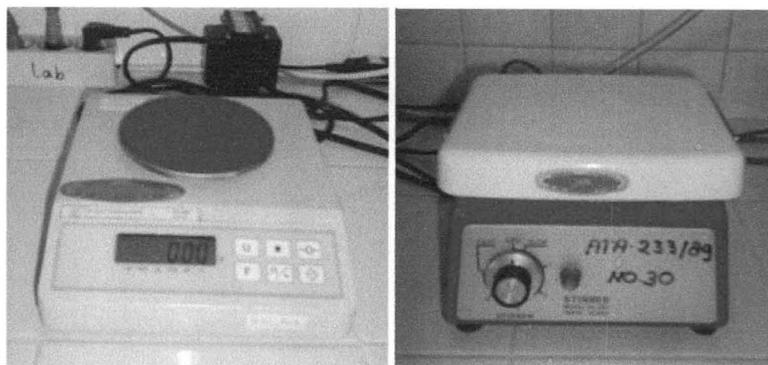
Natrium sitrat, Fruktosa, Aquades, Eosin negrosin



Vagina buatan



Melon sitrat, kuning telur sitrat, tabung reaksi, mikropipet, pengaduk, alat penghitung, objek glass, cover glass, mikroskop, tissue.



Timbangan, mekanik vibrator

**Lampiran 13. Pelaksanaan Penampungan Semen**

