

**SKRIPSI**

**RASIO SPERMATOZOA X DAN Y SAPI PERAH SETELAH  
PEMAPARAN SINAR *ULTRAVIOLET***



Oleh :

**AHMAD WAHYUDIN**  
**LAMONGAN - JATIM**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2005**

**RASIO SPERMATOZOA X DAN Y SAPI PERAH SETELAH  
PEMAPARAN SINAR *ULTRAVIOLET***

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

**Sarjana Kedokteran Hewan**

Pada

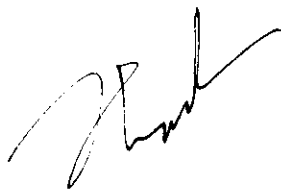
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

**AHMAD WAHYUDIN**  
**NIM 060012726**

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



---

Herry Agoes Hermadi, M.Si, Drh

Pembimbing Pertama



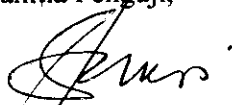
---

Sri Mulyati, M.Kes, Drh

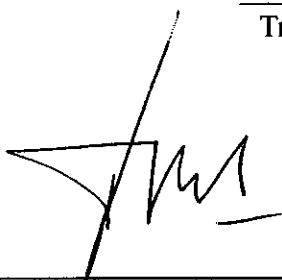
Pembimbing Kedua

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

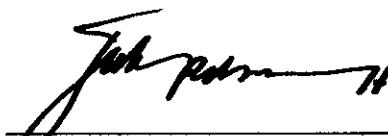
Menyetujui  
Panitia Penguji,



Tri Wahyu Suprayogi, M.Si, drh.  
Ketua



Dr. Wurlina Meles, M.S, drh.  
Sekretaris



Tjuk Imam Restiadi, M.Si, drh.  
Anggota

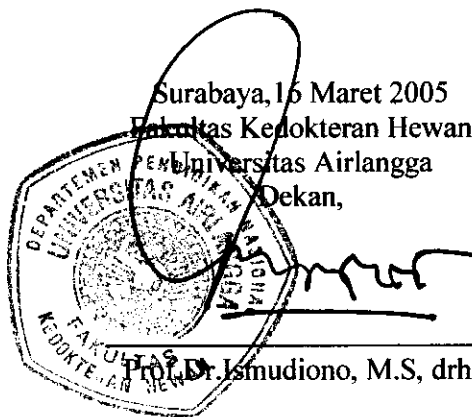


Herry Agoes Hermadi, M.Si, drh  
Anggota



Sri Mulyati, M.Kes, drh.  
Anggota

Surabaya, 16 Maret 2005  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S, drh.

## KATA PENGANTAR

*Alhamdulillah* pagi hari ini di Surabaya, Jum'at 1 April 2005 bertepatan dengan 22 Rabi'ul Awwal 1426 H, penulis akhirnya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Shalawat dan Salam atas Nabi Muhammad SAW.

Banyak sekali teman, kerabat, dan pihak-pihak yang berjasa pada penyelesaian skripsi ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu. Beberapa nama harus penulis cantumkan tanpa mengurangi peranan nama-nama yang lain yang tidak penulis sebutkan. Pertama, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Ismudiono, M.S, drh selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Bapak Herry Agoes Hermadi, M.Si, drh dan Ibu Sri Mulyati, M.Kes, drh selaku dosen pembimbing, Bapak Tri Wahyu Suprayogi, M.Si, drh dan Bapak Trilas Sardjito, M.Si, drh selaku penanggungjawab *Teaching Farm* FKH Unair, Bapak Abdul Samik, M.S, drh selaku Pimpinan Proyek Due-Like, dan Ibu Dr. Wurlina Meles, M.S, drh dan Bapak Tjuk Imam Restiadi, M.Si, drh selaku dosen penguji.

Selanjutnya penulis juga ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada keluarga besar penulis: Ayahanda Amar dan Ibunda Muflihah, yang menyayangi dan mengasihi penulis sepanjang hayat, Adinda Dini Permatasari, istri sekaligus sahabat sejati penulis dalam menyempurnakan perjalanan ibadah kepada Allah SWT, Bapak Drs, Abdul Chamid, Ibu Susi Wuriyanti, Mbak Nur, Mbak Ani, Cak Pul, Kak Mif, Aji, Rafi, Puput, Hana,

Mbak Didin, Mas Iwan, Mas Erik, Mbak Enik, Dik Erlin Bunder, Faiz, Najah, Owie, dan seluruh keluarga besar penulis di Paciran dan Surabaya.

Tentu saja tidak bisa dilupakan jasa teman-teman kuliah penulis. Miko, terimakasih atas penthol-penthol dan ps-nya, Abe Badudu, Cak Erwin, Anang, Qirom, Pandu, Wawan, Sigit, Bowo, Agung, Rivo, Mbah Geri Hadi, Riffan, Bagus, Tine, Dian, Chimonx, Mak Epa, Mbak Bening, terimakasih pinjaman mobil pengantennya, teman-teman Sanur 152, dan teman-teman FKH 2000.

Kepada Allah, penulis bermohon kiranya skripsi ini dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang bioteknologi kedokteran hewan serta tercatat di sisi-Nya sebagai amal baik yang menjadi saksi pendukung di akhirat kelak. *Amin Ya Rab al-'Amin.*

Surabaya, April 2005

Penulis

## **RASIO SPERMATOZOA X DAN Y SAPI PERAH SETELAH PEMAPARAN SINAR *ULTRAVIOLET***

Ahmad Wahyudin

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jarak penyinaran sinar *ultraviolet* (UV) terhadap rasio spermatozoa X dan Y, motilitas dan daya hidup spermatozoa sapi perah *Friesian Holstein*.

Bahan utama penelitian berupa semen segar sapi perah yang diperoleh dari Taman Ternak Pendidikan (*Teaching Farm*) FKH Unair Surabaya. Bahan pengencer yang digunakan adalah *PBS Dulbeccos* dengan perbandingan 1:1.

Sampel dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok P0 sebagai kontrol (tanpa penyinaran sinar UV), kelompok perlakuan I (P1) dengan jarak penyinaran 15 cm, kelompok perlakuan II (P2) dengan jarak penyinaran 20 cm, dan kelompok perlakuan III (P3) dengan jarak penyinaran 25 cm. Penyinaran sinar UV dilakukan pada masing-masing kelompok perlakuan selama 5 menit. Pengamatan motilitas dilakukan secara natif menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400X. Penghitungan persentase spermatozoa hidup dan ukuran kepala spermatozoa dilakukan dengan membuat preparat ulas memakai zat warna *eosin negrosin*. Identifikasi spermatozoa X dan Y didasarkan atas ukuran (panjang kali lebar) kepala spermatozoa. Spermatozoa X adalah spermatozoa yang mempunyai ukuran kepala lebih besar atau sama dengan ukuran kepala rata-rata dari 100 hitungan spermatozoa hidup. Spermatozoa Y adalah spermatozoa yang mempunyai ukuran kepala lebih kecil dari ukuran kepala rata-rata dari 100 hitungan spermatozoa hidup.

Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk deskriptif berupa persentase spermatozoa motil, persentase spermatozoa hidup, dan rasio spermatozoa X dan Y. Data tersebut dianalisis dengan ANOVA satu arah menggunakan *SPSS 10.0 for Windows*.

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan motilitas ( $p < 0,05$ ) dan daya hidup spermatozoa ( $p < 0,05$ ) pada masing-masing kelompok perlakuan. Semakin dekat jarak penyinaran, semakin besar penurunan motilitas dan daya hidup spermatozoa. Hasil pemeriksaan ukuran kepala spermatozoa menunjukkan persentase spermatozoa X lebih besar daripada spermatozoa Y, namun diantara jarak penyinaran (kelompok perlakuan I, II, dan III) tidak terdapat perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ).

*filtrasi sephadex*, teknik *swim-up*, teknik *aside migration*, *flow cytometry*, teknik arus permukaan spermatozoa, kolom *albumin*, dan teknik *antigen H-Y* (Hafez, 2000). Pemanfaatan sel spermatozoa yang telah diketahui jenis kromosom seksnya tersebut pada teknik *in vitro* akan membuka peluang tersedianya bank embrio yang telah terseleksi jenis kelaminnya yang siap untuk diaplikasikan pada peternakan rakyat maupun peternakan komersial. Sebagai hasilnya, harapan peternak untuk mendapatkan pedet dengan jenis kelamin sesuai dengan keinginan mereka akan dapat direalisasikan (Mulyati dkk., 2002).

Alternatif lain dalam usaha pemisahan spermatozoa adalah melalui pemaparan radiasi sinar UV seperti yang dilakukan oleh Ismudiono dkk (2001). Penelitian yang memapar semen sapi perah dengan radiasi sinar UV dengan berbagai konsentrasi tersebut menyimpulkan bahwa terdapat perubahan rasio spermatozoa X dan Y, dimana rasio spermatozoa X lebih besar daripada spermatozoa Y.

## 1.2. Landasan Teori

Spermatozoa X dan Y masing-masing berbeda dalam ukuran, berat, besar kepala, densitas, motilitas, kandungan DNA, dan kandungan biokimia pada permukaannya. Perbedaan-perbedaan ini menyebabkan spermatozoa X dan Y memungkinkan untuk dipisahkan (Hafez, 1993).

Spermatozoa X mengandung 2,8 % DNA lebih banyak daripada spermatozoa Y. Spermatozoa X mempunyai kandungan kromatin yang lebih banyak dan memadat sehingga ukuran kepala spermatozoa X lebih besar daripada

spermatozoa Y. Hal ini berpengaruh terhadap perbedaan luas permukaan kepala spermatozoa dimana luas permukaan kepala spermatozoa X lebih besar 7 % daripada spermatozoa Y (Adimoelja, 1995).

*Ultraviolet (UV)* adalah gelombang elektromagnetik yang panjang gelombangnya berada diantara 100 - 400 nm. Panjang gelombang ini menempatkan UV di luar spektrum cahaya yang dapat terlihat oleh mata. Sinar UV sendiri dibagi menjadi 4 spektrum yaitu, *Vacuum UV (ultraviolet yang tidak dapat melewati atmosfer bumi)*, UV-A, UV-B, UV-C (Anonimus, 2002).

Radiasi UV dengan panjang gelombang tertentu dapat mengubah rasio spermatozoa X terhadap spermatozoa Y. Sesuai dengan penelitian Ismudiono dkk (2001) yang menyatakan bahwa, radiasi UV dapat mengubah rasio spermatozoa X dan Y sehingga rasio spermatozoa X menjadi lebih besar. Fatchiyah (1992) menyatakan bahwa, radiasi UV dapat mengubah rasio seks anak mencit yang lahir dan mengakibatkan penurunan jumlah kelahiran anak mencit jantan.

### **1.3. Perumusan Masalah**

Masalah yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah penyinaran dengan sinar UV mampu mengubah rasio spermatozoa X dan Y sapi perah ?
2. Apakah jarak penyinaran sinar UV berpengaruh terhadap rasio spermatozoa X dan Y pada sapi perah ?
3. Apakah jarak penyinaran sinar UV berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa sapi perah ?



#### **1.4. Hipotesis Penelitian**

Hipotesa yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Penyinaran dengan sinar UV mampu mengubah rasio spermatozoa X dan Y sapi perah
2. Jarak penyinaran sinar UV berpengaruh terhadap rasio spermatozoa X dan Y sapi perah.
3. Jarak penyinaran sinar UV berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa sapi perah.

#### **1.5. Tujuan penelitian**

Penelitian ini dirancang dengan dua tujuan, yaitu tujuan jangka pendek untuk mengetahui pengaruh jarak penyinaran sinar UV terhadap motilitas, daya hidup, dan rasio spermatozoa X dan Y sapi perah. Sedangkan tujuan jangka panjangnya adalah untuk memproduksi semen beku pilih kelamin melalui pemisahan spermatozoa X dan Y dengan sinar UV.

#### **1.6. Manfaat penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai teknik pemisahan spermatozoa X dan Y sapi perah dengan penyinaran sinar UV dan bermanfaat dalam merintis produksi semen beku pilih kelamin.

## **BAB II**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Tinjauan Tentang Spermatozoa**

##### **2.1.1. Karakteristik Spermatozoa**

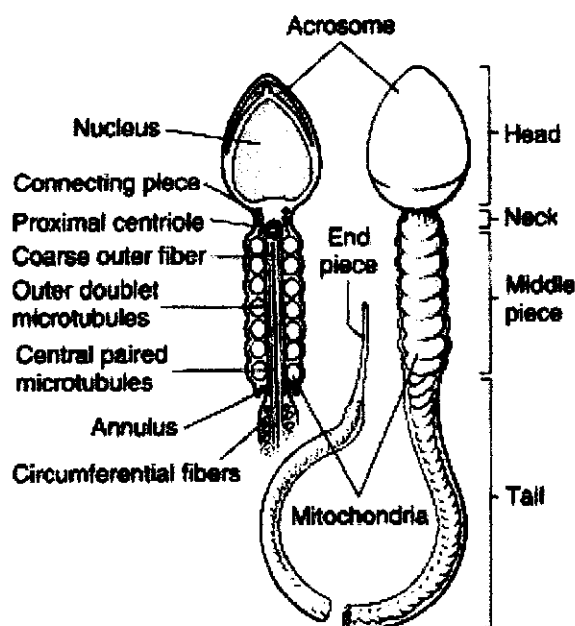
Semen atau air mani adalah cairan semigelatin seluler yang mengandung gamet jantan (spermatozoa) dan sekresi dari organ aksesoris saluran reproduksi jantan berupa seminal plasma (Hafez, 1993). Semen dari suatu spesies hewan mempunyai perbedaan dalam sifat-sifatnya dengan spesies lain. Perbedaan itu terletak pada volume, kekentalan, pH, konsentrasi, warna, dan bau. Volume semen dalam satu kali ejakulasi pada ternak babi dan kuda mempunyai volume yang besar, disebabkan semen tersebut bercampur dengan cairan aksesoris dalam jumlah yang besar sehingga semen tersebut sangat encer. Sebaliknya pada sapi dan domba, volume semen relatif lebih sedikit karena kelenjar aksesoris pada saluran kelamin mengeluarkan cairan dalam jumlah yang kecil (Hardjopranto, 1995). Air mani sapi normal, yang dihasilkan dalam jumlah yang meningkat (sampai rata-rata 6 – 7 ml tiap ejakulasi) sesuai dengan peningkatan umur dan pertambahan besar tubuh sapi jantan, dapat mengandung sebanyak 2 – 3 milyar spermatozoa tiap mililiter. Konsentrasi spermatozoa yang semakin padat akan mempengaruhi kekentalan air mani (Salisbury and Vandemark, 1985).

Spermatozoa pertama dikeluarkan pada waktu pubertas. Sebelum hewan mengalami pubertas, ada dua tipe sel yang terdapat di tubulus seminiferus yaitu

sel spermatogonia (*Primary Sex Cell*) dan sel sertoli (Hardjopranjoto, 1995). Proses pembentukan spermatozoa disebut spermatogenesis. Proses ini berlangsung di dalam tubulus seminiferus. Spermatogenesis dapat dibagi menjadi dua fase, yaitu spermatositogenesis yang merupakan rangkaian perubahan spermatogonia menjadi spermatid, dan spermiogenesis dimana spermatid mengalami metamorfosis menjadi spermatozoa (Bearden and Fuquay, 1992). Proses spermatogenesis pada mamalia terdiri dari empat tahap, yaitu : tahap proliferasi, tahap tumbuh, tahap masak, dan tahap metamorfosis. Perubahan bentuk dari bentuk spermatid menjadi bentuk spermatozoa terjadi pada tahap metamorfosa. Tahap ini ditandai dengan : badan golgi menjadi tudung anterior atau akrosom, inti spermatid menjadi kepala spermatozoa, dari sentriol keluar ekor dan plasma membran dan menjadi selubung tubuh spermatozoa, dan mitokondria akan berkumpul pada bagian posterior dari kepala spermatozoa, kemudian membentuk selaput yang membungkus benang aksial (*axial filament*) (Hardjopranjoto, 1995).

Spermatozoa terdiri atas empat bagian pokok, yaitu : kepala yang mengandung kromosom, leher, badan yang banyak mengandung mitokondria penghasil energi untuk metabolisme dan motilitas spermatozoa, serta ekor yang berguna dalam pergerakan spermatozoa (Hardjopranjoto, 1995). Bagian kepala spermatozoa berbentuk oval memanjang (lonjong) dengan inti yang tersusun rapat oleh kromatin. Setengah bagian anterior kepala spermatozoa terbungkus oleh akrosom yang memiliki struktur seperti kantong yang berdinding rangkap yang mengandung bahan-bahan, seperti : enzim *akrosin*, *hyaluronidase*, *esterase*, dan

asam *hidrolase* yang berperan untuk menembus dinding sel telur dalam proses fertilisasi (Hafez, 1993). Bagian tengah spermatozoa merupakan pusat tenaga karena adanya mitokondria di daerah ini. Mitokondria mengandung sistem yang menggerakkan siklus asam trikarboksilat (siklus kreb), transpor elektron, serta fosforilasi oksidatif yang menghasilkan energi dalam bentuk ATP untuk pergerakan spermatozoa (Salisbury and Vandemark, 1985). Bagian ekor menyerupai *flagellum* yang di dalamnya terdapat dua *fibril central* yang dikelilingi *fibril perifer*. Fibril-fibril ini bersifat kontraktile dan menimbulkan gerakan ekor spermatozoa (Hafez, 1993).



**Gambar 1.** Morfologi Spermatozoa (Sumber : Zeneveld, 1985)

### 2.1.2. Spermatozoa X dan Y dan Usaha Pemisahannya

Secara garis besar, spermatozoa mengandung dua kromosom yang berbeda yaitu kromosom X dan Y. Disebut kromosom X dan Y karena masing-masing bentuknya menyerupai huruf-huruf tersebut. Spermatozoa yang berkromosom X jika bertemu sel telur akan menghasilkan suatu individu yang mengandung kromosom XX. Karena sel telur itu mengandung kromosom X, maka jadilah bayi berkelamin perempuan. Sedangkan kalau spermatozoa Y bertemu dengan sel telur akan menghasilkan individu yang berkromosom XY, jadilah bayi berkelamin laki-laki (Hafez, 2000).

Berdasarkan perbedaan seks kromosom pada spermatozoa ini kemudian diketahui spermatozoa X dan Y mempunyai sifat-sifat yang berbeda. Spermatozoa X dan Y berbeda dalam hal karakteristik motilitas, kecepatan berenang, densitas sel, dan laju pengendapan (Windsor *et al.*, 1993). Berdasarkan sifat-sifat spermatozoa inilah spermatozoa dipisahkan. Apabila menginginkan keturunan betina, maka yang diinseminasikan ke betina adalah spermatozoa yang berkromosom X, begitu juga sebaliknya (Adimoelja, 1995).

Secara morfologis, spermatozoa Y berukuran lebih kecil di bagian kepalanya, lebih ringan, lebih pendek, serta mampu bergerak lebih cepat dibandingkan dengan spermatozoa X. Spermatozoa X mengandung 2,8 % DNA lebih banyak daripada spermatozoa Y. Spermatozoa X mempunyai kandungan kromatin yang lebih banyak dan memadat sehingga ukuran kepala spermatozoa X yang lebih besar daripada spermatozoa Y. Keadaan ini berpengaruh terhadap

perbedaan luas permukaan kepala spermatozoa dimana luas permukaan kepala spermatozoa X lebih besar 7 % daripada spermatozoa Y (Adimoelja, 1995).

**Tabel 1.** Perbedaan Spermatozoa X dan Y

<b>Parameter</b>	<b>Perbedaan</b>
Kandungan DNA	Lebih sedikit pada spermatozoa Y
Ukuran	Spermatozoa X lebih besar
Identifikasi	Spermatozoa Y memancarkan <i>fluorescent</i>
Motilitas	Spermatozoa Y lebih cepat
Tegangan permukaan	Spermatozoa X bergerak ke arah katoda
Kemotaksis*	Spermatozoa X lebih tahan pada suasana asam

Sumber : Hafez, 2000

\*Mahaputra (1989)

Ukuran panjang kali lebar kepala spermatozoa berkisar antara 32 – 45 mikrometer (Toelihere, 1981). Ukuran panjang kali lebar kepala spermatozoa X pada sapi perah *Fries Holland* adalah  $\geq 36,5$  mikrometer dan spermatozoa Y adalah  $< 36,5$  mikrometer (Nurul, 1994). Ukuran kepala spermatozoa domba adalah spermatozoa X :  $\geq 50$  mikrometer, sedangkan spermatozoa Y :  $< 50$  mikrometer (Mahaputra dkk., 1989).

Secara proporsional alami jumlah spermatozoa X dan Y, baik pada hewan maupun pada manusia, umumnya mempunyai proporsi atau rasio yang sama. Proporsi tersebut pada domba, yang didasarkan pada ukuran (panjang kali lebar) kepala, adalah : 49 % spermatozoa Y dan 51 % spermatozoa X (Mahaputra dkk., 1989). Rasio spermatozoa X dan Y pada sapi *Fries Holland* adalah : 52 % spermatozoa X, dan 48 % spermatozoa Y. Saat fertilisasi,

spermatozoa X dan Y mempunyai peluang yang sama untuk membuahi kromosom dari ovum (Ismudiono dkk., 2001).

Menurut Hafez (2000), ada berbagai teknik yang telah dikembangkan hingga saat ini untuk memisahkan spermatozoa X dan Y, antara lain : colom *percoll*, filtrasi *sephadex*, colom albumin, teknik elektroforesis, teknik *antigen H-Y*, teknik arus permukaan, teknik *aside migration*, *swim up*, dan *flow cytometry*.

Keberhasilan pemisahan spermatozoa X dan Y tergantung dari adanya beberapa perbedaan dasar antara kedua tipe sel tersebut, antara lain : arus permukaan membran plasma, perbedaan densitas, perbedaan morfologi nukleus dan kepala, karakter pergerakan atau motilitas, kandungan DNA, sensitifitas pH, dan H-Y antigen (Mulyati dkk., 2002).

## **2.2. Tinjauan Tentang Sinar Ultraviolet**

### **2.2.1. Karakteristik Sinar Ultraviolet**

*Ultraviolet* (UV) adalah gelombang elektromagnetik yang panjang gelombangnya berada diantara 100 - 400 nm. Panjang gelombang ini menempatkan UV di luar spektrum cahaya yang dapat terlihat oleh mata. Sinar UV sendiri dibagi menjadi 4 spektrum yaitu, *Vacuum UV* (*ultraviolet* yang tidak dapat melewati atmosfer bumi), UV-A, UV-B, dan UV-C (Anonimus, 2002).

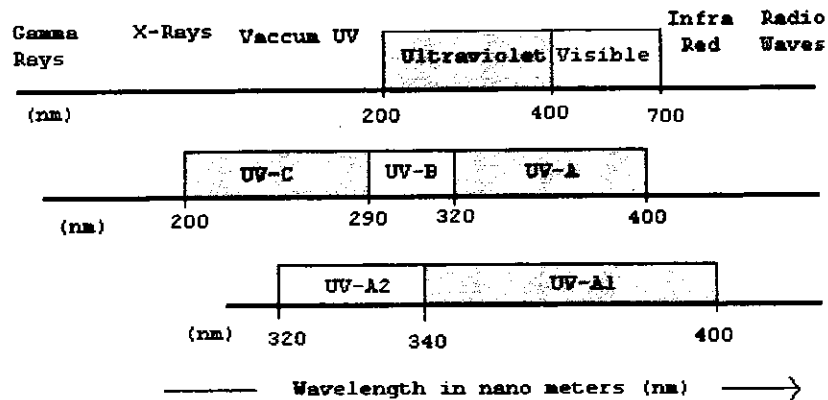
Sinar UV dapat dihasilkan langsung dari radiasi sinar matahari maupun dari sinar UV buatan dengan panjang gelombang yang dapat ditentukan sesuai dengan keinginan. Masing-masing panjang gelombang mempunyai daya radiasi yang berbeda (Wong *et al.*, 1997).



Menurut Beehler (1992), sinar UV terbagi atas tiga bagian berdasarkan panjang gelombangnya, yaitu sinar UV panjang gelombang pendek (*Short Wave*), disebut UV-C, dengan spektrum panjang gelombang antara 180 – 280 nm dengan puncak 254, sinar UV panjang gelombang menengah (*medium wave*), disebut UV-B, dengan spektrum panjang gelombangnya antara 280 – 320 nm dengan puncak 312 nm, dan sinar UV panjang gelombang panjang (*long wave*), disebut UV-A, dengan spektrum panjang gelombangnya antara 320 – 380 nm dengan puncak 365 nm.

UV-A memiliki tingkat daya bunuh paling tinggi terhadap bakteri, protozoa maupun virus. Berdasarkan kemampuannya maka UV dalam spektrum ini digunakan sebagai desinfektan. UV-B yang berada di antara 280 – 320 nm terdapat dalam sinar matahari. Sinar ini juga dapat menjadi desinfektan jika waktunya cukup lama. Efek lain dari sinar ini adalah membuat kulit menjadi lebih gelap, itu sebabnya jika kita berjemur cukup lama kulit kita menjadi bertambah hitam. Sedangkan UV-C, juga terdapat dalam sinar matahari, namun hampir tidak memiliki kemampuan desinfeksi (Anonimus, 2002).

Kekuatan sinar UV ditentukan oleh panjang gelombang yang dimiliki. Semakin rendah panjang gelombang maka semakin kecil daya desinfeksi yang dimiliki. Perbedaan panjang gelombang yang sangat mencolok dari sinar UV dapat dipergunakan dalam berbagai macam bentuk teknologi tepat guna (Longstreth, 1991).



**Gambar 2.** Pembagian Panjang Gelombang Sinar UV dalam Spektrum Elektromagnetik yang Dihasilkan Oleh Paparan Sinar Matahari (Sumber : Diffey, 1991)

Salah satu sifat sinar UV adalah daya penetrasi yang sangat rendah, sehingga selapis kaca tipis pun sudah mampu menahan sebagian besar sinar UV. Sinar UV hanya dapat efektif untuk mengendalikan mikroorganisme pada permukaan yang terpapar langsung oleh sinar UV atau mikroba berada di dekat permukaan medium yang transparan. Absorpsi maksimal sinar UV di dalam sel terjadi pada asam nukleat, maka diperkirakan mekanisme utama kerusakan sel oleh sinar UV pada ribosom, sehingga mengakibatkan terjadinya mutasi atau kematian sel (Suwahyono, dkk, 2002).

### 2.2.2. Efek Radiasi Sinar *Ultraviolet*

Radiasi merupakan suatu proses pelepasan energi dari atom-atom. Berdasarkan klasifikasinya, radiasi terbagi menjadi : radiasi korpuskuler dan radiasi elektromagnetis. Radiasi korpuskuler merupakan suatu pancaran dari atom-atom yang mampu memindahkan gerakannya (energi kinetis) ke bahan-bahan

yang melewatinya. Radiasi elektromagnetis adalah pancaran gelombang (medan listrik dan magnetis) yang dapat menyebabkan perubahan struktur atom karena bahan (medium) yang dilewatinya (Santoso dkk., 2001).

Radiasi merambat dalam bentuk gelombang. Para ilmuwan menggunakan panjang gelombang untuk mendefinisikan energi radiasi. Para astronom menamakan panjang ukuran ini dengan angstrom (1 angstrom = 0,000 000 0001 meter). Selembar kertas diperkirakan berketebalan sejuta angstrom. Bagian ultraviolet pada spektrum yang dipelajari Astro-2 meliputi bagian spektrum sekitar 900 angstrom sampai sekitar 3.000 angstrom dan meliputi jangkauan dari 4.000 sampai 8.000 angstrom (Rahman, 2002).

Radiasi UV merupakan golongan radiasi elektromagnetis dengan panjang gelombang besar ( $> 100 \text{ \AA}$ ) non ionisasi. Sinar UV adalah bentuk radiasi yang tidak terlihat mata manusia. Radiasi energi atau radiasi pancaran diberikan oleh banyak benda seperti lampu pijar, letupan api, dan bintang. Radiasi ini disalurkan sebagai pancaran sinar. Tipe radiasi pancaran di pengaruhi oleh suhu benda yang memberikan radiasi itu. Radiasi arang merah yang terbakar jauh lebih kecil dari sinar kuning matahari yang lebih kecil dari cahaya putih bintang (Rahman, 2002).

Sinar UV merupakan salah satu sinar dengan daya radiasi yang dapat bersifat letal bagi mikroorganisme. Karena mempunyai efek letal terhadap sel-sel mikroorganisme, maka radiasi UV sering digunakan di tempat-tempat yang menuntut kondisi aseptik seperti laboratorium, ruang operasi rumah sakit dan ruang produksi industri makanan dan minuman, serta farmasi. Sinar UV dengan

panjang gelombang 365 nm memiliki efisiensi tertinggi untuk pengendalian mikroorganisme (Suwahyono, dkk. 2002).

Sinar UV yang memiliki kemampuan tertinggi dalam membunuh bakteri atau virus adalah sinar UV yang memiliki panjang gelombang diantara 200-290 nm. Hasil percobaan para ahli mendapati bahwa sinar UV yang paling efektif untuk membunuh bakteri adalah sinar UV dengan panjang gelombang 253.7 nm, karena bakteri menyerap sinar UV ini (panjang gelombang 253.7 nm) dengan baik. Sinar UV yang diserap membuatnya kehilangan kemampuan untuk bereproduksi sehingga bakteri atau virus tersebut menjadi tidak aktif, yang artinya bakteri atau virus tersebut tidak lagi membahayakan bagi kita. Sinar UV yang dikeluarkan lampu untuk waktu tertentu akan menjadi dosis yang mematikan bagi bakteri (Anonimus, 2002).

Faktor-faktor yang menentukan dosis yang dibutuhkan untuk mematikan mikroorganisme dengan radiasi UV adalah Intensitas UV, waktu kontak, dan kualitas obyek radiasi. Intensitas diukur dalam  $\text{mw.s. /cm}^2$  (mili-watt detik per centimeter persegi). Karena cara kerja UV merusak kemampuan reproduksi mikroorganisme, maka tiap organisme membutuhkan dosis yang berbeda-beda (Anonimus, 2002).

Sinar UV sangat berbahaya bagi tubuh manusia dan hewan, khususnya sel tubuh (*autosome*) maupun sel kelamin (*genosome*). Radiasi UV mampu merusakkan membran sel sehingga menyebabkan sel yang terpapar mati (Ackerman *et al.* 1988). Radiasi UV dapat menyebabkan kanker kulit, katarak, dan mempengaruhi sistem imunitas tubuh. Pengaruh radiasi UV yang utama

adalah pada kulit dan mata, sebab kedua organ tersebut mampu menyerap dengan baik radiasi UV secara langsung (Gabriel, 2001).

Radiasi UV pada spermatozoa mampu merusak gen-gen yang melengkapi spermatozoa. Namun dikatakan pula bahwa spermatozoa yang terkena radiasi UV masih mampu mengaktifkan dan membentuk pronuklei jantan serta mensintesis DNA, akan tetapi tidak dapat mendukung pembelahan dan perkembangan embrio secara *in vitro* (Beehler, 1992).

Radiasi UV dapat mengubah rasio spermatozoa X dan Y. Sesuai dengan penelitian Ismudiono dkk (2001) yang menyatakan bahwa radiasi UV dapat mengubah rasio spermatozoa X dan Y sehingga rasio spermatozoa X menjadi lebih besar. Fatchiyah (1992) menyatakan bahwa, radiasi UV dapat mengubah rasio seks anak menciit yang lahir dan mengakibatkan penurunan jumlah kelahiran anak menciit jantan.

Kemampuan sinar UV dalam menggeser seks rasio kromosom tidak lepas dari sifat sinar tersebut, yaitu mampu menembus sel tubuh (*autosome*) dan sel kelamin (*genosome*). Mudahnya sinar UV diserap oleh sel-sel tubuh dan kelamin dapat membuat efek teratogen, yaitu perubahan susunan kimiawi dan biologi dari sel-sel tersebut (Diffey, 1991).

Sinar UV merupakan salah satu dari jutaan penyebab terjadinya mutasi gen yang ada di muka bumi ini. Kemampuan sinar UV yang mampu menembus dan diserap oleh sel hidup, termasuk asam nukleat atau basa dari asam deoksiribonukleat (DNA), mampu memutus rangkaian nukleotida dari utas DNA. Sinar UV pada radiasi tingkat rendah mampu menghalangi kerja enzim yang

berperan dalam proses transkripsi atau replikasi DNA. Beberapa penelitian tentang testes yang diberi perlakuan penyinaran dengan sinar UV mengakibatkan rangkaian sel spermatogenik mengalami perubahan nekrotik dan kromosom menjadi abnormal. Bila penyinaran dengan intensitas rendah, yang terjadi adalah penghambatan mitosis secara tidak lengkap dan masih terdapat beberapa spermatozoa. Keadaan ini disebut semisteril (Ackerman *et al.*, 1988).

Mutasi gen yang diakibatkan radiasi sinar UV pertama kali dilaporkan terjadi pada lalat *Drosophila melanogaster* yang disinari oleh sinar X sehingga diperoleh mutan mata putih. Radiasi akan menembus bagian tertentu dari gen sehingga menyebabkan perubahan bahan DNA, dan akibat dari radiasi ini akan menimbulkan perubahan secara tidak langsung pada susunan nukleotida (Crowder, 1988).

# **BAB III**

## **MATERI DAN METODE**

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

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

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Semen Beku Taman Ternak Pendidikan (*Teaching Farm*) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan berlangsung selama bulan September sampai dengan bulan Desember 2004.

#### **3.2. Materi Penelitian**

##### **3.2.1. Bahan Penelitian**

Bahan yang dipakai adalah : semen segar sapi perah *Friesian Holstein* yang diperoleh dari Taman Ternak Pendidikan (*Teaching Farm*) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, *PBS Dulbeccos* sebagai bahan pengencer, vaselin dan air hangat untuk bahan pengambilan semen, dan *eosin-negrosin* untuk pewarnaan preparat ulas.

##### **3.2.2. Alat Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari : lampu UV-C (panjang gelombang 254 nm ) 15 Watt produksi *Philips*, mikroskop cahaya, lensa okuler berskala mikrometer, cawan petri, tabung reaksi beserta raknya, timer, label, kertas tisu, pipet pasteur, gelas obyek, cover gelas, bunsen, , vagina buatan, dan pipet standar



### **3.3. Metode Penelitian**

#### **3.3.1. Pengambilan Sampel**

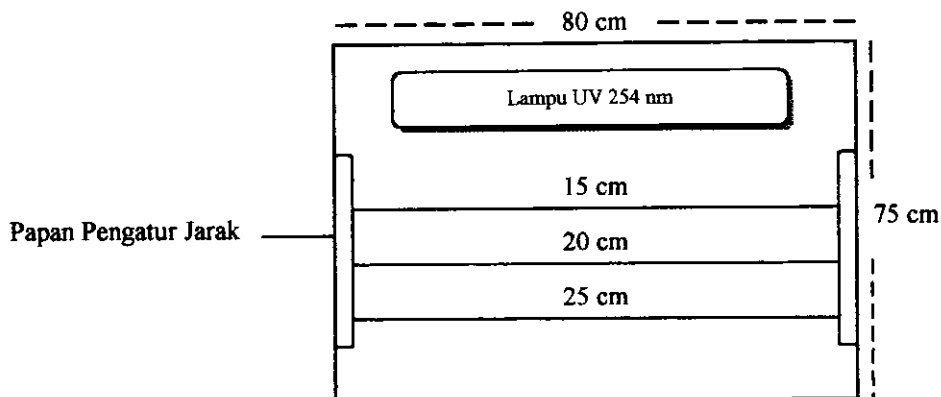
Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen segar sapi perah *Friesian Holstein* yang ditambahkan bahan pengencer *PBS Dulbeccos* dengan perbandingan 1 : 1. Pengambilan semen dilakukan sebanyak enam kali dengan metode penampungan semen menggunakan vagina buatan (Hardijanto, dkk. 2002).

#### **3.3.2. Prosedur Penelitian**

Sampel semen segar sapi perah *Friesian Holstein* yang didapat dievaluasi. Evaluasi semen segar meliputi pemeriksaan makroskopis dan pemeriksaan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis, meliputi : warna, volume, pH, konsistensi, dan bau. Pemeriksaan mikroskopis meliputi pemeriksaan motilitas, konsentrasi, dan pemeriksaan hidup mati spermatozoa (Hardijanto, dkk. 2002).

Sampel semen segar sapi perah yang sudah dievaluasi kemudian ditambahkan bahan pengencer *PBS Dulbeccos* dengan perbandingan 1 : 1. Sampel diambil dengan pipet pasteur dan diteteskan ke dalam cawan petri pada masing-masing kelompok perlakuan sebanyak 1 – 2 ml, kemudian diletakkan di dalam kotak penelitian yang telah terpasang lampu UV-C (panjang gelombang 254 nm). Sebelum dilakukan penyinaran, lampu UV tersebut dinyalakan selama 15 – 30 menit untuk mensterilkan kotak penelitian. Cawan petri yang telah berisi sampel dari masing-masing kelompok perlakuan diletakkan tepat di bawah lampu UV. Kelompok perlakuan I (P1) dipapar dengan jarak paparan 15 cm, kelompok

perlakuan II (P2) dipapar dengan jarak paparan 20 cm, dan kelompok perlakuan III (P3) dipapar dengan jarak paparan 25 cm, dan P0 sebagai kontrol (tanpa paparan sinar UV). Masing-masing kelompok perlakuan tersebut dipapar selama 5 menit (Purwanto, 2004).



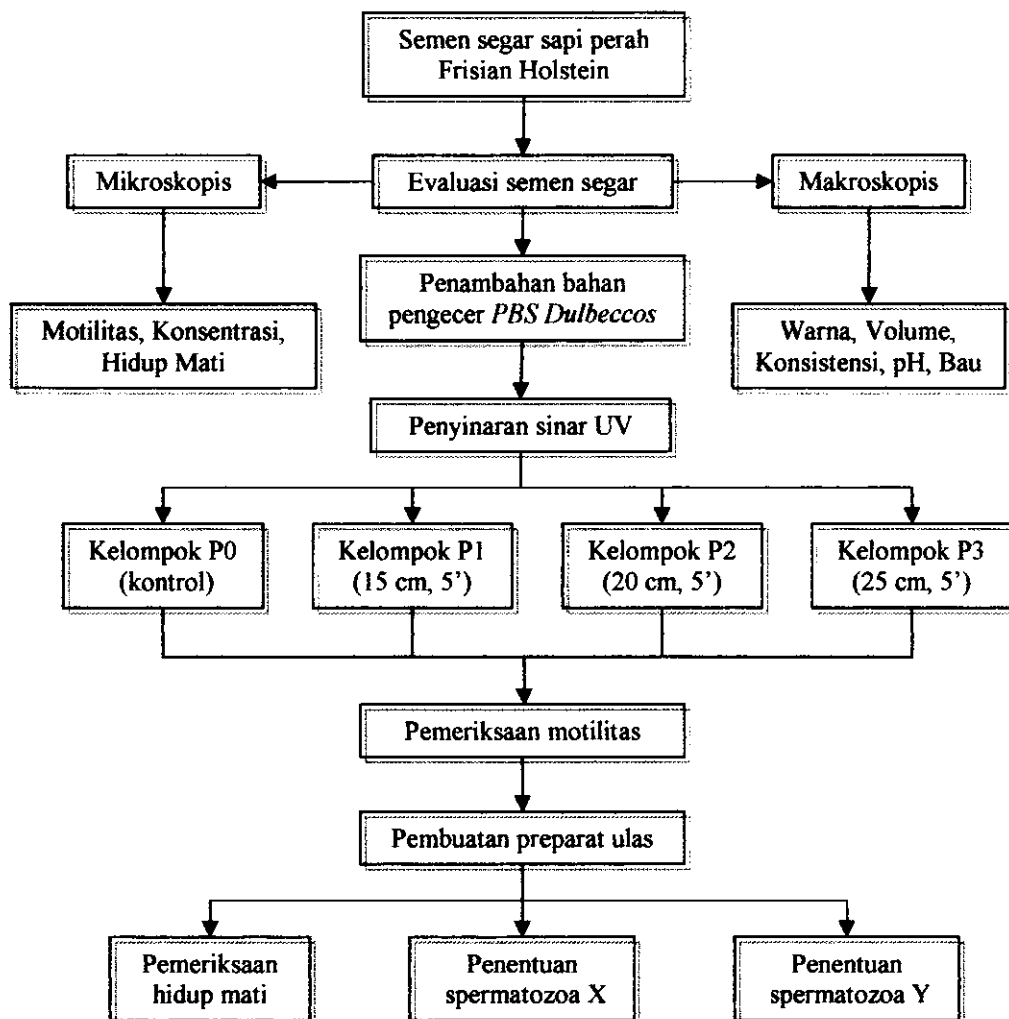
**Gambar 3.** Gambar Kotak Penelitian

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan dengan pemeriksaan natif di atas gelas obyek. Satu tetes sampel ditetaskan pada gelas obyek kemudian ditutup dengan cover gelas dan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400X (Hardijanto, dkk. 2002).

Pemeriksaan hidup mati spermatozoa dilakukan dengan cara membuat preparat ulas menggunakan zat warna *eosin-negrosin*. Satu tetes sampel ditetaskan pada obyek gelas kemudian ditetaskan beberapa tetes *eosin-negrosin* kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400X. Spermatozoa hidup adalah spermatozoa yang tetap jernih atau tidak menyerap zat warna sedangkan spermatozoa mati berwarna merah karena menyerap zat warna *eosin-negrosin* (Hardijanto, dkk. 2002).

Pemeriksaan spermatozoa X dan Y didasarkan pada ukuran (panjang kali lebar) kepala spermatozoa rata-rata dari 100 hitungan spermatozoa hidup dari preparat ulas yang mewakili masing-masing perlakuan. Spermatozoa X adalah spermatozoa yang memiliki ukuran kepala lebih besar atau sama dengan ukuran kepala rata-rata spermatozoa ( $\geq 34,67$ ), sedangkan yang lebih kecil dari rata-rata ( $< 34,67$ ) dikategorikan spermatozoa Y (Ismudiono, dkk. 2001).

Prosedur penelitian secara skematis dapat dilihat pada gambar berikut :



**Gambar 4.** Skema Prosedur Penelitian

### 3.4. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dan terdiri dari empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol (P0), kelompok perlakuan I (P1), kelompok perlakuan II (P2), dan kelompok perlakuan III (P3). Masing-masing kelompok perlakuan mendapatkan enam ulangan (Kusriningrum, 1989).

### 3.5. Variabel Pengamatan

Variabel atau peubah yang diamati pada pemeriksaan motilitas spermatozoa yaitu jumlah spermatozoa yang mempunyai pergerakan progresif (maju), bergerak cepat, dan lurus.

Variabel atau peubah yang diamati pada pemeriksaan hidup mati spermatozoa yaitu jumlah spermatozoa yang hidup yang ditandai dengan tidak adanya kerusakan membran sel spermatozoa sehingga zat warna *eosin-negrosin* tidak dapat masuk ke dalam kepala spermatozoa (kepala terlihat berwarna jernih).

Variabel atau peubah yang diamati pada pemeriksaan spermatozoa Y yaitu jumlah spermatozoa yang mempunyai ukuran kepala lebih kecil dari ukuran kepala rata-rata ( $<34,67$ ) dari 100 hitungan spermatozoa hidup. Sedangkan peubah yang diamati pada pemeriksaan spermatozoa X yaitu jumlah spermatozoa yang mempunyai ukuran kepala lebih besar atau sama dengan ukuran kepala rata-rata ( $\geq 34,67$ ) dari 100 hitungan spermatozoa hidup.

### **3.6. Analisis Data**

Data hasil penelitian dianalisis dengan uji statistik ANOVA satu arah menggunakan program statistik *SPSS (Statistical Progame for Social Science) 10.0 for Windows* (Notobroto, 2001).

## **BAB IV**

# **HASIL PENELITIAN**

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

Data hasil evaluasi semen segar sebelum perlakuan secara lengkap dapat dilihat pada tabel 2 dan 3 berikut :

**Tabel 2.** Pemeriksaan Makroskopis Semen Segar Sapi Perah

n	Volume / Ejakulasi (ml)	Warna	Bau	Konsistensi	pH
1	3,5	Putih krem	Khas	Kental	7
2	4,5	Putih	Khas	Sedang	7
3	4	Putih krem	Khas	Sedang	6,8
4	4	Putih krem	Khas	Kental	6,8
5	4	Putih krem	Khas	Sedang	6,8
6	4	Putih krem	Khas	Sedang	6,8

**Tabel 3.** Pemeriksaan Mikroskopis Semen Segar Sapi Perah

Pengambilan	Konsentrasi	Hidup (%)	Motilitas (%)
1	Densum	80	75
2	Semi Densum	72	70
3	Semi Densum	80	70
4	Densum	75	70
5	Semi Densum	80	70
6	Semi Densum	80	70

**Keterangan :**

- Densum : jarak antar kepala spermatozoa kurang dari panjang satu kepala spermatozoa (>1 juta spermatozoa / ml semen)
- Semi Densum : jarak antar kepala spermatozoa lebih dari panjang satu kepala spermatozoa (<1 juta spermatozoa / ml semen)

#### 4.1. Motilitas Spermatozoa

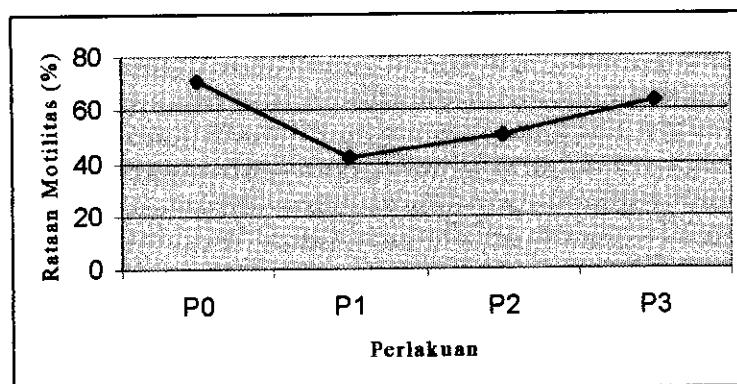
Data hasil analisis statistik ANOVA satu arah (lampiran 5) terhadap motilitas spermatozoa setelah mengalami perlakuan paparan sinar UV selama 5 menit dengan jarak paparan 15 cm pada kelompok perlakuan I (P1), jarak paparan

20 cm pada kelompok perlakuan II (P2), dan jarak paparan 25 cm pada kelompok perlakuan III (P3) menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II. Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan III tidak terdapat perbedaan yang nyata. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4 berikut :

**Tabel 4.** Data Rataan dan Simpangan Baku Motilitas Spermatozoa Sapi Perah

Jarak Paparan Sinar UV	$X \pm SD$ (%)
Kontrol (P0)	$70,8333^a \pm 2,0412$
15 cm (P1)	$41,6667^b \pm 7,5277$
20 cm (P2)	$50,0000^c \pm 8,9443$
25 cm (P3)	$63,3333^a \pm 5,1640$

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ )



**Gambar 5.** Pengaruh Radiasi UV Terhadap Motilitas Spermatozoa

#### 4.2. Persentase Spermatozoa Hidup

Data hasil analisis statistik ANOVA satu arah (lampiran 6) terhadap persentase spermatozoa hidup setelah mengalami perlakuan paparan sinar UV selama 5 menit dengan jarak paparan 15 cm pada kelompok perlakuan I (P1), jarak paparan 20 cm pada kelompok perlakuan II (P2), dan jarak paparan 25 cm pada kelompok perlakuan III (P3), menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

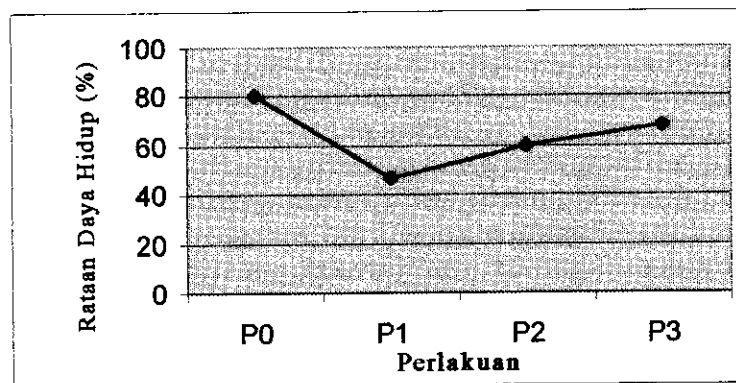


diantara kelompok perlakuan. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5 berikut :

**Tabel 5.** Data Rataan dan Simpangan Baku Spermatozoa Hidup Sapi Perah

Jarak Paparan Sinar UV	X ± SD (%)
Kontrol (P0)	80,0000 <sup>a</sup> ± 0,0000
15 cm (P1)	46,6667 <sup>b</sup> ± 8,1650
20 cm (P2)	60,0000 <sup>c</sup> ± 8,9443
25 cm (P3)	68,3333 <sup>d</sup> ± 4,0825

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ )



**Gambar 6.** Pengaruh Radiasi UV Terhadap Daya Hidup Spermatozoa

#### 4.3. Rasio Spermatozoa X dan Y

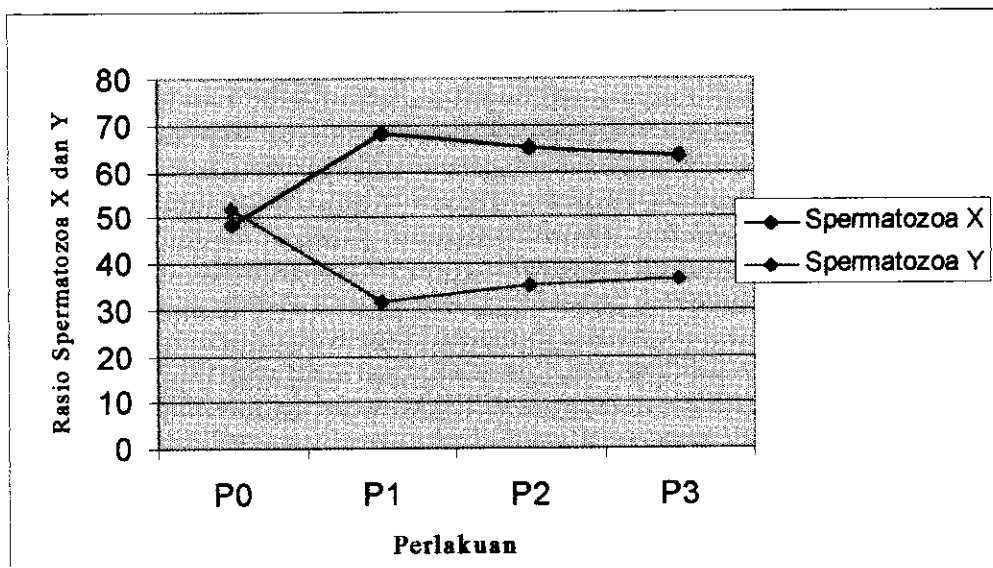
Data hasil analisis statistik ANOVA satu arah (lampiran 7, 8, dan 9) terhadap rasio spermatozoa X dan Y setelah mengalami perlakuan paparan sinar UV selama 5 menit dengan jarak paparan 15 cm pada kelompok perlakuan I (P1), jarak paparan 20 cm pada kelompok perlakuan II (P2), dan jarak paparan 25 cm pada kelompok perlakuan III (P3), menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan I, II, dan III. Antara kelompok perlakuan I, kelompok perlakuan II, dan kelompok perlakuan III tidak terdapat

perbedaan yang nyata ( $p>0,05$ ). Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 6 berikut :

**Tabel 6.** Data Rataan dan Simpangan Baku Spermatozoa X dan Y Sapi Perah.

Jarak Paparan Sinar UV	X $\pm$ SD Spermatozoa X (%)	X $\pm$ SD Spermatozoa Y (%)
Kontrol (P0)	48,33 <sup>a</sup> $\pm$ 7,53	51,67 <sup>a</sup> $\pm$ 7,53
15 cm (P1)	68,33 <sup>b</sup> $\pm$ 7,53	31,67 <sup>b</sup> $\pm$ 7,53
20 cm (P2)	65,00 <sup>b</sup> $\pm$ 5,48	35,00 <sup>b</sup> $\pm$ 5,48
25 cm (P3)	63,33 <sup>b</sup> $\pm$ 8,16	36,67 <sup>b</sup> $\pm$ 8,16

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P<0,05$ )



**Gambar 7.** Pengaruh Radiasi UV Terhadap Rasio Spermatozoa X dan Y

# **BAB V**

## **PEMBAHASAN**

## BAB V

### PEMBAHASAN

#### 5.1. Motilitas spermatozoa

Metode visual digunakan pada penelitian motilitas spermatozoa untuk menilai motilitas spermatozoa yang mewakili tiap-tiap sampel semen. Motilitas dihitung mulai 40%, 50%, 60%, 70% dan seterusnya. Angka ini menunjukkan adanya hubungan jumlah motilitas progresif dari spermatozoa. Sampel yang dianggap bagus berkisar antara 70% – 90 % spermatozoa motil dengan gerakan progresif (maju, cepat, dan lurus) (Salisbury and Vandemark, 1985).

Proses kapasitasi spermatozoa memerlukan pasokan metabolisme yang melimpah dimana ATP (*Adenosin Triphosphat*) selama metabolisme akan dirombak dan menghasilkan energi yang diperlukan untuk kontraksi fibril-fibril spermatozoa. Ada korelasi positif antara jumlah ATP di dalam spermatozoa dengan gerakan progresif (Noiles *et al.*, 1997).

Kerusakan membran spermatozoa akan mempengaruhi kualitas spermatozoa. Kerusakan membran spermatozoa menyebabkan pasokan energi yang berasal dari perombakan ATP tidak optimal sehingga akan menurunkan motilitas spermatozoa (Aurich *et al.*, 1997).

Data hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan persentase motilitas spermatozoa seiring dengan semakin dekatnya jarak penyinaran sinar UV. Hal ini dapat dilihat dari perbandingan persentase rata-rata antara kelompok kontrol ( $70,8333 \pm 2,0412$ ) dengan kelompok perlakuan I ( $41,6667 \pm 7,5277$ );

kelompok perlakuan II ( $50,0000 \pm 8,9443$ ); dan kelompok perlakuan III ( $63,3333 \pm 5,1640$ ).

Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Purwanto (2004) yang menyatakan bahwa, radiasi sinar UV mampu mempengaruhi jumlah sel yang bergerak progresif. Menurut Noiles *et al.* (1997), kerusakan membran menyebabkan gangguan metabolisme yang menyebabkan pasokan energi berkurang dan akibatnya jumlah sel spermatozoa yang bergerak progresif menjadi berkurang.

Membran bagian kepala berfungsi sebagai alat penetrasi, sedangkan membran bagian ekor berfungsi untuk mendapatkan substrat yang digunakan sebagai alat gerak (Zeneveld, 1985). Menurut Purwanto (2004), pemaparan dengan menggunakan radiasi sinar UV menyebabkan gangguan keseimbangan protein dan fosfolipida baik yang ada di dalam membran maupun yang ada di luar membran spermatozoa sehingga mengakibatkan penurunan motilitas spermatozoa.

Tingkat kerusakan yang diakibatkan oleh radiasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain : jenis sumber radiasi, lama penyinaran, jarak sumber radiasi terhadap obyek, serta ada tidaknya penghalang antara sumber radiasi dengan obyek radiasi. Semakin dekat jarak antara sumber radiasi dengan obyek radiasi, makin parah tingkat kerusakan yang terjadi (Suwahyono dkk., 2002).

## **5.2. Persentase Spermatozoa Hidup**

Penilaian jumlah spermatozoa yang hidup berdasarkan banyaknya jumlah spermatozoa yang tidak menyerap zat warna *eosin*. Spermatozoa yang mati

permeabilitas membran selnya meningkat terutama pada daerah *post-nuclear cups* sehingga spermatozoa yang mati akan menyerap warna merah dari zat warna *eosin*. Spermatozoa yang hidup mempunyai kondisi membran yang baik sehingga zat warna kesulitan menembus membran spermatozoa, akibatnya spermatozoa yang hidup tetap jernih (Hardijanto dkk., 2002).

Data hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan persentase spermatozoa hidup seiring dengan semakin dekatnya jarak penyinaran sinar UV. Penurunan persentase spermatozoa hidup ini dapat dilihat berdasarkan perbandingan persentase rata-rata antara kelompok kontrol ( $80,0000 \pm 0,0000$ ) dengan kelompok perlakuan I ( $46,6667 \pm 8,1650$ ); kelompok perlakuan II ( $60,0000 \pm 8,9443$ ); dan kelompok perlakuan III ( $68,3333 \pm 4,0825$ ).

Radiasi sinar UV mampu merusakkan membran sel sehingga menyebabkan sel yang terpapar mati (Ackerman *et al.* 1988). Pemaparan dengan menggunakan radiasi sinar UV menyebabkan gangguan keseimbangan protein dan fosfolipida baik yang ada di dalam membran maupun yang ada di luar membran spermatozoa (Purwanto, 2004). Kerusakan membran menyebabkan gangguan metabolisme yang menyebabkan pasokan energi berkurang dan akibatnya jumlah sel spermatozoa yang bergerak progresif menjadi berkurang bahkan menyebabkan kematian (Noiles *et al.* 1997).

Menurut Aurich *et al.* (1997), kerusakan membran spermatozoa akan mempengaruhi kualitas spermatozoa. Kerusakan membran spermatozoa menyebabkan pasokan energi yang berasal dari perombakan ATP tidak optimal sehingga akan menurunkan daya hidup spermatozoa.

Tingkat kerusakan yang diakibatkan oleh radiasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain : jenis sumber radiasi, lama penyinaran, jarak sumber radiasi terhadap obyek, serta ada tidaknya penghalang antara sumber radiasi dengan obyek radiasi. Semakin dekat jarak antara sumber radiasi dengan obyek radiasi, makin parah tingkat kerusakan yang terjadi (Suwahyono dkk., 2002).

### 5.3. Rasio Spermatozoa X dan Y

Sinar ultra violet (UV) diketahui merupakan salah satu sinar dengan daya radiasi yang dapat bersifat letal bagi mikroorganisme. Sinar UV mempunyai panjang gelombang mulai 4 nm hingga 400 nm dengan efisiensi tertinggi untuk pengendalian mikroorganisme adalah pada 365 nm. Karena mempunyai efek letal terhadap sel-sel mikroorganisme, maka radiasi UV sering digunakan di tempat-tempat yang menuntut kondisi aseptik seperti laboratorium, ruang operasi rumah sakit dan ruang produksi industri makanan dan minuman, serta farmasi (Suwahyono, dkk. 2002).

Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan rasio spermatozoa X setelah perlakuan penyinaran sinar UV. Perbedaan yang nyata ditunjukkan antara kelompok kontrol ( $48,33 \pm 7,53$ ) dengan kelompok perlakuan I ( $68,33 \pm 7,53$ ); kelompok perlakuan II ( $65,00 \pm 5,48$ ); dan kelompok perlakuan III ( $63,33 \pm 8,16$ ). Namun, antara kelompok perlakuan I (jarak paparan 15 cm), kelompok perlakuan II (jarak paparan 20 cm), dan kelompok perlakuan III (jarak paparan 25 cm) tidak terdapat perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ) diantara perlakuan.

Sesuai dengan hasil penelitian dari Fatchiyah (1992), radiasi UV sangat berpengaruh terhadap seks rasio anak mencit. Seks rasio jantan dan betina dalam keadaan normal adalah 50 : 50, dan seks rasio ini akan berubah pada kelompok mencit yang mendapat perlakuan radiasi UV selama satu jam dan tiga jam, yaitu anak mencit jenis kelamin betina lebih banyak dibandingkan dengan yang berjenis kelamin jantan. Sama halnya dengan penelitian yang dilakukan oleh Ismudiono, dkk. (2001) menyatakan bahwa radiasi UV dapat mengubah seks rasio spermatozoa sehingga diperoleh rasio spermatozoa X lebih besar daripada spermatozoa Y.

Menurut Hafez (2000), ada perbedaan potensial antara spermatozoa X dan Y, yaitu kandungan DNA spermatozoa Y lebih sedikit serta ukurannya lebih kecil daripada spermatozoa X, sehingga berpengaruh pula terhadap luas permukaan yang teradiasi. Menurut Adimoelja (1995), spermatozoa X yang mempunyai ukuran kepala lebih besar 7 % daripada spermatozoa Y, yang terkandung di dalamnya benang-benang kromatin yang lebih memadat dengan materi DNA yang lebih banyak sehingga lebih tahan terhadap efek *heat shock* paparan radiasi. Menurut Aurich *et al.* (1997), efek *head sock* akan mengakibatkan kerusakan membran spermatozoa. Kerusakan membran spermatozoa akan mempengaruhi kualitas spermatozoa sehingga spermatozoa akan mengalami penurunan motilitas dan bahkan mengakibatkan kematian. Spermatozoa Y yang mempunyai ukuran kepala lebih kecil cenderung lebih peka terhadap efek *heat shock* paparan radiasi sehingga mempunyai daya hidup rendah.



Menurut Suwahyono dkk. (2002), tingkat kerusakan yang diakibatkan oleh radiasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain : jenis sumber radiasi, lama penyinaran, jarak sumber radiasi terhadap obyek, serta ada tidaknya penghalang antara sumber radiasi dengan obyek radiasi. Semakin dekat jarak antara sumber radiasi dengan obyek radiasi, makin parah tingkat kerusakan yang terjadi.

Sesuai dengan teori kuantum optik yang menyatakan bahwa hubungan antara energi photon ( $Q$ ) dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) dari sumber radiasi gelombang elektromagnetik menyatakan bahwa panjang gelombang ( $\lambda$ ) berbanding terbalik dengan energi photon ( $Q$ ). Semakin kecil panjang gelombang ( $\lambda$ ) sumber radiasi, semakin besar energi photon ( $Q$ ) yang dimiliki oleh sumber radiasi tersebut. Oleh karena itu, selain radiasi yang terpancar dari sinar UV panjang gelombang pendek, energi photon yang besar juga mempengaruhi peningkatan panas (*heat*) dari radiasi tersebut sehingga menimbulkan efek *heat shock* (Ryer, 1997).

# **BAB VI**

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Penyinaran dengan sinar UV mampu mengubah rasio spermatozoa X dan Y sapi perah
2. Jarak penyinaran UV dalam penelitian ini (15 cm, 20, dan 25 cm) tidak berpengaruh terhadap rasio spermatozoa X dan Y sapi perah.
3. Jarak penyinaran UV berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa sapi perah. Semakin dekat jarak penyinaran maka motilitas dan daya hidup spermatozoa semakin menurun.

#### 6.2. Saran

Untuk lebih mengetahui perubahan seks rasio spermatozoa, dapat dilakukan pemeriksaan sitogenik melalui pemeriksaan *karyotyping*. Selain itu, diperlukan juga analisis mengenai kerusakan yang diakibatkan oleh radiasi sinar UV-C terhadap membran akrosom kepala spermatozoa dan perubahan susunan DNA spermatozoa.

## RINGKASAN

**AHMAD WAHYUDIN.** Rasio Spermatozoa X dan Y Sapi Perah Setelah Pemaparan Sinar *Ultraviolet*, di bawah bimbingan Herry Agoes Hermadi, M.Si, drh. dan Sri Mulyati, M.Kes, drh.

Pemisahan spermatozoa X dan Y adalah suatu bioteknologi molekuler yang dikembangkan di seluruh dunia dewasa ini. Berbagai teknik pemisahan spermatozoa X dan Y yang telah dikembangkan, antara lain : *kolom percoll*, *filtrasi sephadex*, teknik *swim-up*, teknik *aside migration*, *flow cytometry*, teknik arus permukaan spermatozoa, kolom *albumin*, dan teknik *antigen H-Y*

Radiasi UV dapat mengubah rasio spermatozoa X terhadap spermatozoa Y menjadi lebih besar. Sesuai dengan penelitian Ismudiono dkk (2001), yang menyatakan bahwa, radiasi UV dapat mengubah rasio spermatozoa X dan Y sehingga rasio spermatozoa X menjadi lebih besar. Fatchiyah (1992) menyatakan bahwa, radiasi UV dapat mengubah rasio seks anak mencit yang lahir sehingga mengakibatkan penurunan jumlah kelahiran anak mencit jantan.

Penelitian ini dirancang dengan dua tujuan, yaitu tujuan jangka pendek untuk mengetahui pengaruh jarak penyinaran UV terhadap motilitas, daya hidup, dan rasio spermatozoa X dan Y sapi perah. Sedangkan tujuan jangka panjangnya adalah untuk memproduksi semen beku pilih kelamin melalui pemisahan spermatozoa X dan Y dengan sinar UV.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol (P0), kelompok perlakuan I

(P1), kelompok perlakuan II (P2), dan kelompok perlakuan III (P3). Masing-masing kelompok perlakuan mendapatkan enam ulangan.

Bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah semen segar sapi perah *Friesian Holstein* yang diperoleh dari Taman Ternak Pendidikan (*Teaching Farm*) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dengan penambahan bahan pengencer *PBS Dulbeccos* dan *eosin-negrosin* untuk pewarnaan preparat ulas.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : lampu UV-C (panjang gelombang 254 nm ) 15 Watt produksi *Philips*, mikroskop cahaya, lensa okuler berskala mikrometer, cawan petri, tabung reaksi beserta raknya, timer, label, kertas tisu, pipet pasteur, gelas obyek, cover gelas, bunsen, vagina buatan, dan pipet standar.

Semen segar sapi perah *Friesian Holstein* yang didapat dievaluasi. Evaluasi semen segar meliputi pemeriksaan makroskopis dan pemeriksaan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis, meliputi : warna, volume, pH, konsistensi, dan bau. Pemeriksaan mikroskopis meliputi pemeriksaan motilitas, konsentrasi, dan persentase spermatozoa hidup.

Semen segar sapi perah kemudian ditambahkan bahan pengencer *PBS Dulbeccos* dengan perbandingan 1 : 1. Semen segar yang telah ditambahkan bahan pengencer diambil dengan pipet pasteur dan diteteskan ke dalam cawan petri pada masing-masing kelompok perlakuan sebanyak 1 – 2 ml, kemudian diletakkan di dalam kotak penelitian yang telah terpasang lampu UV panjang gelombang 254 nm (UV-C). Sebelum dilakukan penyinaran, lampu UV tersebut dinyalakan selama 15 – 30 menit untuk mensterilkan kotak penelitian. Cawan

petri yang telah berisi sampel dari masing-masing kelompok perlakuan diletakkan tepat di bawah lampu UV. Kelompok perlakuan I (P1) dipapar dengan jarak paparan 15 cm, kelompok perlakuan II (P2) dipapar dengan jarak paparan 20 cm, dan kelompok perlakuan III (P3) dipapar dengan jarak paparan 25 cm, dan P0 sebagai kontrol (tanpa paparan sinar UV). Masing-masing kelompok perlakuan tersebut dipapar selama 5 menit.

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan dengan pemeriksaan natif di atas gelas obyek. Satu tetes sampel ditetaskan pada gelas obyek kemudian ditutup dengan cover gelas dan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400X.

Pemeriksaan hidup mati spermatozoa dilakukan dengan cara membuat preparat ulas menggunakan zat warna *eosin-negrosin*. Satu tetes sampel ditetaskan pada obyek gelas kemudian ditetaskan beberapa tetes *eosin-negrosin* kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400X. Spermatozoa hidup adalah spermatozoa yang tetap jernih atau tidak menyerap zat warna sedangkan spermatozoa mati berwarna merah karena menyerap zat warna *eosin-negrosin*.

Pemeriksaan spermatozoa X dan Y didasarkan pada ukuran (panjang kali lebar) kepala spermatozoa rata-rata dari 100 hitungan spermatozoa hidup dari preparat ulas yang mewakili masing-masing perlakuan. Spermatozoa X adalah spermatozoa yang memiliki ukuran kepala lebih besar atau sama dengan ukuran kepala rata-rata spermatozoa ( $\geq 34,67$ ), sedangkan yang lebih kecil dari rata-rata ( $< 34,67$ ) dikategorikan spermatozoa Y.

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan motilitas spermatozoa setelah penyinaran. Terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) antara kelompok

kontrol dan kelompok perlakuan I, II, dan III. Antara kelompok kontrol (P0) dan kelompok perlakuan III (P3) tidak terdapat perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ). Hasil penghitungan persentase spermatozoa hidup setelah penyinaran menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) antara masing-masing perlakuan. Semakin dekat jarak penyinaran maka daya hidup spermatozoa semakin menurun. Berdasarkan pemeriksaan ukuran kepala spermatozoa setelah penyinaran, didapatkan persentase spermatozoa X lebih besar daripada spermatozoa Y. Namun, tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan I, II, dan III.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah, penyinaran dengan sinar UV dapat mengubah rasio spermatozoa X dan Y sapi perah. Jarak penyinaran UV berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa sapi perah. Semakin dekat jarak penyinaran maka motilitas dan daya hidup spermatozoa semakin menurun. Perubahan rasio spermatozoa X dan Y sapi perah setelah penyinaran UV pada jarak penyinaran 15 cm, 20, dan 25 cm tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

## DAFTAR PUSTAKA



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2002. *Pengenalan Teknologi UV*. [//http://www.netfirm.com](http://www.netfirm.com).
- Ackerman, E., L.B.M. Ellis and L.E. William. 1988. *Ilmu Biofisika*. Terjemahan Redjani dan A. Basir. Airlangga University Press. Surabaya.
- Adimoelja, A. 1995. *Separation of X Spermatozoa With Sephadex Gel Filtration Method for Female Sex Preselection*. Thesis. Universitas Airlangga.
- Aurich, J.E., V. Schonheer, H. Hoppe, and N.C. Aurich. 1997. *Effect of Antioxidants on Motility and Membrane Integrity of Chilled-Stored Stallion Semen*. *Journal Theriogenology*. 48 : 185 – 192.
- Bearden, H. J. and J.W. Fuquay. 1992. *Applied Animal Reproduction 3<sup>rd</sup> Ed.* Prentice Hall. Englewood Cliffs. New Jersey. 341 – 345.
- Beehler, D.N. 1992. *Kapita Selektologi Patologi Klinik*. Terjem. Andrianto G. dan Gunawan. J.E.G.C. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Crowder, L.V. 1988. *Plant Genetics*. Terjemahan L. Kusdiarto. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Diffey, B. L. 1991. *Solar Ultraviolet Radiation Effects on Biological Systems*. *Review in Physics in Medicine and Biology*. 36 : 299 – 328.
- Fatchiyah. 1992. *Pengaruh Induksi Radiasi Sinar Ultra Violet terhadap Reproduktivitas, Hepar, dan Kromosom Mencit Jantan (Mus musculus)*. Thesis. Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Program Pasca Sarjana Unair. Surabaya.
- Gabriel, J. F. 2001. *Fisika Lingkungan*. Hipokrates. Jakarta. 293 – 294.
- Hardijanto, T. Sarjito, T. Hernawati, S. Susilowati dan T.W. Suprayogi. 2002. *Penuntun Praktikum Teknik Reproduksi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 7 – 13.
- Hardjopranjoto, S. 1995. *Ilmu Kemajiran Pada Ternak*. Cetakan I. Airlangga University Press. Surabaya. 65 – 66.
- Hafez, E.S.E. 1993. *X and Y Chromosome-Bearing Spermatozoa In Reproduction in Farm Animals*. 6<sup>th</sup>. Ed. In. E.S.E. Hafez (Ed). Lea & Febrieger. Philadelphia. 440 – 445.

- Hafez, E. S. E and B. Hafez. 2000. *Reproduction in Farm Animal 7<sup>th</sup> Ed.* Lippicott Williams & Wilkins. Philadelphia. USA. 390 – 394.
- Ismudiono, P. Srianto dan S. P. Madyawati. 2001. *Penyinaran dengan Sinar Ultra Violet Pada Semen Beku Sapi Perah Setelah Thawing Sebagai Upaya Pemisahan Kromosom Seks X dan Y.* Lemlit Unair. Fakultas Kedokteran Hewan Unair. Surabaya. 2 – 22.
- Kusriningrum, R. 1989. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap.* Universitas Airlangga. Surabaya.
- Longstreth, J. D. 1991. *Anticipated Public Health Consequences of Global Climate Change.* Enviromental Health Perspective. 139 – 144.
- Mulyati, S., I. Mustofa dan S. Utama. 2002. *Efektifitas Pemisahan Sel Mani Sapi Berkromosom X dan Y Dengan Teknik Sephadex, Percoll, Swim Up, Dan Aside Migration.* Lemlit Unair. Fakultas Kedokteran Hewan Unair. Surabaya. 4 – 12.
- Mahaputra, L., Wurlina, TD. Sulistyati dan S. Mulyati. 1989. *Pemisahan Sel Spermatozoa Domba dengan Sephadex Collum G-20.* Media Kedokteran Hewan. Vol. 5 No. 1. 31 – 38.
- Notobroto, H. B. 2001. *Statistika Deskriptif dan Statistika Parametrik dalam SPSS for Windows.* Pelatihan Metodologi Penelitian Statistika dan Komputer bagi Calon Peneliti Kabupaten Manggarai. Lemlit Unair. Surabaya.
- Noiles, E. E., K. A. Thomson and B. T. Storey. 1997. *Water Permeability, L. P. of The Mouse Sperm Plasma Membrane and its Activation Energy are Strongly Dependent on Interaction of The Plasma Membrane With The Sperm Cytoskeleton.* Journal Cryobiology. 35 : 79 – 92.
- Nurul, I. 1994. *Pemisahan Spermatozoa X dan Y pada Sapi Friestian Holland dengan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll.* Jurnal Universitas Brawijaya. Vol. 6. No. 2 Hal : 68 – 74.
- Purwanto, K. A. 2004. *Pengaruh Lama Waktu Paparan Radiasi UV-C Terhadap Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas, dan Permeabilitas Membran Spermatozoa Sapi Perah.* Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Unair. Surabaya.
- Ryer, A. D. 1997. *Light Measurement Handbook.* Newburyport, MA: International Light, Inc.

- Rahman, A. 2002. *Plasma sebagai Zat Bentuk Keempat*. Kompas Cyber Media. [//http.www.kompas.com](http://www.kompas.com).
- Salisbury, G.W. and N.L. Vandemark. 1985. *Fisiologi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi (Physiology and Artificial Insemination of Cattle)*. Diterjemahkan Oleh Januar, R. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Santoso, G., I. Ekawati, I. Kriswandari, dan Sugiharto. 2001. *Radiasi Dosis Rendah dan Pengaruhnya Terhadap Kesehatan*. Thesis. Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suwahyono, U., P. Wahyudi, dan F.G.K. Laksmi. 2005. *Pengaruh Pemaparan Sinar Ultraviolet Terhadap Pertumbuhan Trichoderma Harzianum dan Kemampuan Mikoparasitiknya Terhadap Fusarium Oxysporum*. Jurnal Sainst dan Teknologi. [//http.www.IPTEKnet.com](http://www.IPTEKnet.com).
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M.R. 1981. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Windsor, D. P., G. Evans and I. G. White. 1993. *Sex Predetermination by Seperation of X and Y Chromosome-bearing Sperm : A Review*. *Reprod. Fertil. Dev.* 5 : 155 – 171.
- Wong, C.F., A.V. Parisi, and G.I. Moore. 1997. *Assessment of The Exposure to Biologically Effective UV Radiation Using a Dosimetric Technique to Evaluate The Solar Spectrum*. *Phys Med Biol.* 42 : 77 – 78.
- Zeneveld, L.J.D. 1985. *The Biology of Spermatozoa*. Presented in : Kongres National III Pandi. Jakarta. 15 – 39.

# LAMPIRAN

Lampiran 1. Persentase Hidup, Motilitas, dan Ukuran Panjang x Lebar Kepala Spermatozoa Sapi Perah Pada P0 (Kontrol).

n	Persentase Permatozoa		Ukuran Spermatozoa Panjang x Lebar (Satuan Kotak Kecil Mikrometer Okuler)			<X ( $\Sigma Y$ )	$\geq X$ ( $\Sigma X$ )
	Hidup (%)	Motil (%)	6 x 4 (24)	8 x 4 (32)	8 x 6 (48)		
1	80	75	30	30	40	60	40
2	72	70	40	10	50	50	50
3	80	70	40	10	50	50	50
4	75	70	20	30	50	50	50
5	80	70	30	10	60	40	60
6	80	70	30	30	40	60	40
<b>X</b>	80,00	70,83	<b>34,67</b>			51,67	48,33
<b>SD</b>	0,00	2,04				7,53	7,53

Lampiran 2. Persentase Hidup, Motilitas, dan Ukuran Panjang x Lebar Kepala Spermatozoa Sapi Perah Pada P1 (Jarak Paparan 15 cm).

n	Persentase Permatozoa		Ukuran Spermatozoa Panjang x Lebar (Satuan Kotak Kecil Mikrometer Okuler)			<X ( $\Sigma Y$ )	$\geq X$ ( $\Sigma X$ )
	Hidup (%)	Motil (%)	6 x 4 (24)	8 x 4 (32)	8 x 6 (48)		
1	50	30	20	10	70	30	70
2	40	30	20	10	70	30	70
3	50	50	10	20	70	30	70
4	50	40	30	10	60	40	60
5	50	40	10	10	80	20	80
6	50	50	20	20	60	40	60
<b>X</b>	46,67	41,67	<b>34,67</b>			31,67	68,33
<b>SD</b>	8,17	7,53				7,53	7,53

Lampiran 3. Persentase Hidup, Motilitas, dan Ukuran Panjang x Lebar Kepala Spermatozoa Sapi Perah Pada P2 (Jarak Paparan 20 cm).

n	Persentase Permatozoa		Ukuran Spermatozoa Panjang x Lebar (Satuan Kotak Kecil Mikrometer Okuler)			<X ( $\Sigma Y$ )	$\geq X$ ( $\Sigma X$ )
	Hidup (%)	Motil (%)	6 x 4 (24)	8 x 4 (32)	8 x 6 (48)		
1	50	40	20	10	70	30	70
2	50	50	20	20	60	40	60
3	60	60	0	30	70	30	70
4	70	40	10	30	60	40	60
5	60	50	10	30	60	40	60
6	70	60	10	20	70	30	70
<b>X</b>	60,00	50,00	<b>34,67</b>			35,00	65,00
<b>SD</b>	8,94	8,94				5,48	5,48

Lampiran 4. Persentase Hidup, Motilitas, dan Ukuran Panjang x Lebar Kepala Spermatozoa Sapi Perah Pada P3 (Jarak Paparan 25 cm).

n	Persentase Permatozoa		Ukuran Spermatozoa Panjang x Lebar (Satuan Kotak Kecil Mikrometer Okuler)			<X ( $\Sigma Y$ )	$\geq X$ ( $\Sigma X$ )
	Hidup (%)	Motil (%)	6 x 4 (24)	8 x 4 (32)	8 x 6 (48)		
1	70	60	10	10	80	20	80
2	60	60	10	30	60	40	60
3	70	70	20	20	60	40	60
4	70	60	10	30	60	40	60
5	70	60	10	30	60	40	60
6	70	70	10	30	60	40	60
<b>X</b>	68,33	63,33	<b>34,67</b>			36,67	63,33
<b>SD</b>	4,08	5,16				8,16	8,16

Lampiran 5. Hasil Analisis Statistik ANOVA terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Perah

Summarize

Case Processing Summary <sup>a</sup>

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
MOTIL * jarak	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

Oneway

ANOVA

MOTIL					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3086.458	3	1028.819	24.569	.000
Within Groups	837.500	20	41.875		
Total	3923.958	23			

Post Hoc Tests

Descriptives

MOTIL								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
P0	6	70.8333	2.0412	.8333	68.6912	72.9755	70.00	75.00
P1	6	41.6667	7.5277	3.0732	33.7668	49.5665	30.00	50.00
P2	6	50.0000	8.9443	3.6515	40.6136	59.3864	40.00	60.00
P3	6	63.3333	5.1640	2.1082	57.9141	68.7526	60.00	70.00
Total	24	56.4583	13.0617	2.6662	50.9429	61.9738	30.00	75.00

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MOTIL

LSD

(I) jarak	(J) jarak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	29.1667*	3.7361	.000	21.3733	36.9600
	P2	20.8333*	3.7361	.000	13.0400	28.6267
	P3	7.5000	3.7361	.058	-.2933	15.2933
P1	P0	-29.1667*	3.7361	.000	-36.9600	-21.3733
	P2	-8.3333*	3.7361	.037	-16.1267	-.5400
	P3	-21.6667*	3.7361	.000	-29.4600	-13.8733
P2	P0	-20.8333*	3.7361	.000	-28.6267	-13.0400
	P1	8.3333*	3.7361	.037	.5400	16.1267
	P3	-13.3333*	3.7361	.002	-21.1267	-5.5400
P3	P0	-7.5000	3.7361	.058	-15.2933	.2933
	P1	21.6667*	3.7361	.000	13.8733	29.4600
	P2	13.3333*	3.7361	.002	5.5400	21.1267

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

**Case Summaries<sup>a</sup>**

			MOTIL	
jarak	P0	1	75.00	
		2	70.00	
		3	70.00	
		4	70.00	
		5	70.00	
		6	70.00	
		Total	N	6
			Mean	70.8333
			Sum	425.00
			Std. Deviation	2.0412
	P1	1	30.00	
		2	40.00	
		3	50.00	
		4	40.00	
		5	40.00	
6		50.00		
	Total	N	6	
		Mean	41.6667	
		Sum	250.00	
		Std. Deviation	7.5277	
P2	1	40.00		
	2	50.00		
	3	60.00		
	4	40.00		
	5	50.00		
	6	60.00		
	Total	N	6	
		Mean	50.0000	
		Sum	300.00	
		Std. Deviation	8.9443	
P3	1	60.00		
	2	60.00		
	3	70.00		
	4	60.00		
	5	60.00		
	6	70.00		
	Total	N	6	
		Mean	63.3333	
		Sum	380.00	
		Std. Deviation	5.1640	
Total	N		24	
	Mean		56.4583	
	Sum		1355.00	
	Std. Deviation		13.0617	

a. Limited to first 100 cases.



Lampiran 6. Hasil Analisis Statistik ANOVA terhadap Persentase Spermatozoa Hidup Sapi Perah.

Summarize

Case Processing Summary<sup>a</sup>

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
HIDUP * jarak	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

Oneway

Descriptives

HIDUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
P0	6	80.0000	.0000	.0000	80.0000	80.0000	80.00	80.00
P1	6	46.6667	8.1650	3.3333	38.0981	55.2353	30.00	50.00
P2	6	60.0000	8.9443	3.6515	50.6136	69.3864	50.00	70.00
P3	6	68.3333	4.0825	1.6667	64.0490	72.6176	60.00	70.00
Total	24	63.7500	13.7722	2.8112	57.9345	69.5655	30.00	80.00

ANOVA

HIDUP

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3545.833	3	1181.944	28.946	.000
Within Groups	816.667	20	40.833		
Total	4362.500	23			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HIDUP

LSD

(I) jarak	(J) jarak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	33.3333*	3.6893	.000	25.6375	41.0291
	P2	20.0000*	3.6893	.000	12.3042	27.6958
	P3	11.6667*	3.6893	.005	3.9709	19.3625
P1	P0	-33.3333*	3.6893	.000	-41.0291	-25.6375
	P2	-13.3333*	3.6893	.002	-21.0291	-5.6375
	P3	-21.6667*	3.6893	.000	-29.3625	-13.9709
P2	P0	-20.0000*	3.6893	.000	-27.6958	-12.3042
	P1	13.3333*	3.6893	.002	5.6375	21.0291
	P3	-8.3333*	3.6893	.035	-16.0291	-.6375
P3	P0	-11.6667*	3.6893	.005	-19.3625	-3.9709
	P1	21.6667*	3.6893	.000	13.9709	29.3625
	P2	8.3333*	3.6893	.035	.6375	16.0291

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

Case Summaries<sup>a</sup>

			HIDUP	
jarak	P0	1	80.00	
		2	80.00	
		3	80.00	
		4	80.00	
		5	80.00	
		6	80.00	
		Total	N	6
			Mean	80.0000
			Sum	480.00
			Std. Deviation	.0000
	P1	1	50.00	
		2	30.00	
		3	50.00	
4		50.00		
5		50.00		
6		50.00		
	Total	N	6	
		Mean	46.6667	
		Sum	280.00	
		Std. Deviation	8.1650	
P2	1	50.00		
	2	50.00		
	3	60.00		
	4	70.00		
	5	60.00		
	6	70.00		
	Total	N	6	
		Mean	60.0000	
		Sum	360.00	
		Std. Deviation	8.9443	
P3	1	70.00		
	2	60.00		
	3	70.00		
	4	70.00		
	5	70.00		
	6	70.00		
	Total	N	6	
		Mean	68.3333	
		Sum	410.00	
		Std. Deviation	4.0825	
Total	N		24	
	Mean		63.7500	
	Sum		1530.00	
	Std. Deviation		13.7722	

a. Limited to first 100 cases.

Lampiran 7. Hasil Analisis Statistik ANOVA terhadap Rasio Spermatozoa X dan Y Sapi Perah.

**Summarize**

**Case Processing Summary<sup>a</sup>**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
SPZX * jarak paparan	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%
SPZY * jarak paparan	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

**Case Summaries<sup>a</sup>**

			SPZX	SPZY	
jarak paparan	P0	1	40.00	60.00	
		2	50.00	50.00	
		3	50.00	50.00	
		4	50.00	50.00	
		5	60.00	40.00	
		6	40.00	60.00	
		Total	N	6	6
			Mean	48.3333	51.6667
			Std. Deviation	7.5277	7.5277
			Sum	290.00	310.00
P1	1	70.00	30.00		
	2	70.00	30.00		
	3	70.00	30.00		
	4	60.00	40.00		
	5	80.00	20.00		
	6	60.00	40.00		
		Total	N	6	6
			Mean	68.3333	31.6667
			Std. Deviation	7.5277	7.5277
			Sum	410.00	190.00
P2	1	70.00	30.00		
	2	60.00	40.00		
	3	70.00	30.00		
	4	60.00	40.00		
	5	60.00	40.00		
	6	70.00	30.00		
		Total	N	6	6
			Mean	65.0000	35.0000
			Std. Deviation	5.4772	5.4772
			Sum	390.00	210.00
P3	1	80.00	20.00		
	2	60.00	40.00		
	3	60.00	40.00		
	4	60.00	40.00		
	5	60.00	40.00		
	6	60.00	40.00		
		Total	N	6	6
			Mean	63.3333	36.6667
			Std. Deviation	8.1650	8.1650
			Sum	380.00	220.00
Total	N		24	24	
	Mean		61.2500	38.7500	
	Std. Deviation		10.3472	10.3472	
	Sum		1470.00	930.00	

a. Limited to first 100 cases.

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					SPZX P0	6		
P1	6	68.3333	7.5277	3.0732	60.4335	76.2332	60.00	80.00
P2	6	65.0000	5.4772	2.2361	59.2520	70.7480	60.00	70.00
P3	6	63.3333	8.1650	3.3333	54.7647	71.9019	60.00	80.00
Total	24	61.2500	10.3472	2.1121	56.8807	65.6193	40.00	80.00
SPZY P0	6	51.6667	7.5277	3.0732	43.7668	59.5665	40.00	60.00
P1	6	31.6667	7.5277	3.0732	23.7668	39.5665	20.00	40.00
P2	6	35.0000	5.4772	2.2361	29.2520	40.7480	30.00	40.00
P3	6	36.6667	8.1650	3.3333	28.0981	45.2353	20.00	40.00
Total	24	38.7500	10.3472	2.1121	34.3807	43.1193	20.00	60.00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SPZX	Between Groups	1412.500	3	470.833	8.968	.001
	Within Groups	1050.000	20	52.500		
	Total	2462.500	23			
SPZY	Between Groups	1372.400	3	470.833	8.968	.001
	Within Groups	1220.400	20	52.500		
	Total	2592.800	23			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable (I) jarak paparan (J) jarak paparan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval			
				Lower Bound	Upper Bound		
SPZX	P0	P1	-20.0000*	4.1833	.000	-28.7262	-11.2738
		P2	-16.6667*	4.1833	.001	-25.3929	-7.9405
		P3	-15.0000*	4.1833	.002	-23.7262	-6.2738
	P1	P0	20.0000*	4.1833	.000	11.2738	28.7262
		P2	3.3333	4.1833	.435	-5.3929	12.0595
		P3	5.0000	4.1833	.246	-3.7262	13.7262
	P2	P0	16.6667*	4.1833	.001	7.9405	25.3929
		P1	-3.3333	4.1833	.435	-12.0595	5.3929
		P3	1.6667	4.1833	.695	-7.0595	10.3929
	P3	P0	15.0000*	4.1833	.002	6.2738	23.7262
		P1	-5.0000	4.1833	.246	-13.7262	3.7262
		P2	-1.6667	4.1833	.695	-10.3929	7.0595
SPZY	P0	P1	20.0000*	4.1833	.000	11.2738	28.7262
		P2	16.6667*	4.1833	.001	7.9405	25.3929
		P3	15.0000*	4.1833	.002	6.2738	23.7262
	P1	P0	-20.0000*	4.1833	.000	-28.7262	-11.2738
		P2	-3.3333	4.1833	.435	-12.0595	5.3929
		P3	-5.0000	4.1833	.246	-13.7262	3.7262
	P2	P0	-16.6667*	4.1833	.001	-25.3929	-7.9405
		P1	3.3333	4.1833	.435	-5.3929	12.0595
		P3	-1.6667	4.1833	.695	-10.3929	7.0595
	P3	P0	-15.0000*	4.1833	.002	-23.7262	-6.2738
		P1	5.0000	4.1833	.246	-3.7262	13.7262
		P2	1.6667	4.1833	.695	-7.0595	10.3929

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

Lampiran 8. Gambar Preparat Ulas Pemeriksaan Hidup Mati Spermatozoa

