

SKRIPSI

SARI BUAH SIRSAK SEBAGAI SUBSTITUSI BAHAN PENGECER KUNING TELUR SITRAT TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA DOMBA EKOR GEMUK



Oleh :

WIRDA RACHMANDA ANANDITA
NIM 060911087

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2013**

**SARI BUAH SIRSAK SEBAGAI SUBSTITUSI BAHAN PENGECER
KUNING TELUR SITRAT TERHADAP KUALITAS
SPERMATOZOA DOMBA EKOR GEMUK**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

WIRDA RACHMANDA ANANDITA

NIM 060911087

Menyetujui
Komisi Pembimbing,



(Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes)

Pembimbing Utama



(Dr. Soeharsono, drh., M.Si)

Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul:

**Sari Buah Sirsak sebagai Substitusi Bahan Pengencer Kuning Telur Sifat
terhadap Kualitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk**

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 disebut dalam daftar pustaka.

Surabaya, 23 Mei 2013



Wirda Rachmanda Anandita
NIM. 060911087

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 1 Mei 2013

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Prof. Mas'ud Hariadi, drh., M.Phil., Ph.D.
Sekretaris : Dr. Tri Wahyu Suprayogi, drh., M.Si.
Anggota : Indah Norma Triana, drh., M.Si.
Pembimbing Utama : Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes.
Pembimbing Serta : Dr. Socharsono, drh., M.Si.

Telah diuji pada

Tanggal: 15 Mei 2013

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Prof. Mas'ud Hariadi, drh, M.Phil., Ph.D.

Anggota : Dr. Tri Wahyu Suprayogi, drh., M.Si.

: Indah Norma Triana, drh., M.Si.

: Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes.

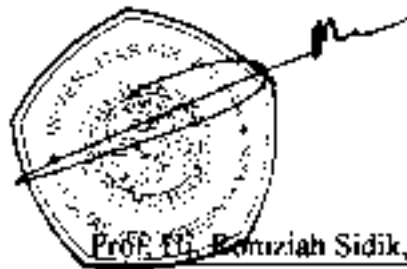
: Dr. Soeharsono, drh., M.Si.

Surabaya, 23 Mei 2013

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,

The image shows a handwritten signature in black ink over a circular official stamp. The stamp contains the text 'UNIVERSITAS AIRLANGGA' and 'FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN'. Below the stamp, the name 'Prof. H. Romiziah Sidik, Ph.D., drh' and the NIP number 'NIP. 195312161978062001' are printed.

Prof. H. Romiziah Sidik, Ph.D., drh
NIP. 195312161978062001

EXTRACT OF *ANNONA MURICATA* AS EGG YOLK CITRATE DILUENT SUBSTITUTE FOR FAT-TAILED SHEEP SPERM QUALITY

Wirda Rachmanda Anandita

ABSTRACT

The selection of type for diluent on semen is an important aspect in the implementation of artificial insemination in order to increase the reproductive efficiency of fat-tailed sheep. This study was aimed to determine the effect of soursop (*Annona muricata*) extract as egg yolk citrate diluent substitute for fat-tailed sheep sperm quality. The results were obtained by using ANOVA (Analysis of Varian) continued with duncan's multiple range test. Semen was divided into four diluents treatment, 1:4 egg yolk citrate (EYC), 1:1 EYC:soursop, 1:2 EYC:soursop, and 1:4 soursop:citrate (SC). The results showed that the percentage of sperm viability on the fifth day showed a significant difference ($p < 0.05$) that EYC (34.91 ± 1.792) against EYC soursop 1:1 (43.71 ± 1.615), EYC:soursop 1:2 (46.28 ± 1.569), and SC (31.34 ± 0.727). So did the percentage of motility on the fifth day 1:2 EYC soursop, 1:1 EYC soursop, EYC, and SC, respectively is 41.71 ± 1.112 , 40.00 ± 1.290 , 32.91 ± 1.754 and 29.31 ± 0.999 with a significant difference ($p < 0.05$) in each treatment. The percentage of plasma membrane integrity in EYC at 32.91 ± 1.754 significantly different from the other treatments that 1:1 EYC soursop (41.51 ± 1.672), 1:2 EYC soursop (44.17 ± 1.348), and SC (29.31 ± 0.999). The conclusion of this study was the EYC, 1:1 EYC:soursop and 1:2 EYC soursop could increase the percentage of sperm quality until the fifth day with the highest percentage yield on 1:2 EYC:soursop.

Key words : fat-tailed sheep, egg yolk citrate, soursop (*Annona muricata*), sperm quality

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah Ilahi Rabbi yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penyusunan skripsi yang berjudul **Sari Buah Sirsak sebagai Substitusi Bahan Pengencer Kuning Telur Sirsat terhadap Kualitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk** sesuai pada waktunya.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh. Atas kesempatan yang telah diberikan untuk mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya

Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes selaku dosen pembimbing utama dan Dr. Socharsono, drh., M.Si selaku dosen pembimbing serta atas bimbingan, nasihat, dan saran yang sangat berguna sehingga penelitian dan penyusunan skripsi dapat terselesaikan.

Prof. Mas'ud Hariadi, drh, Ph.D., M.Phil selaku ketua penguji skripsi, Dr. Tri Wahyu Suprayogi, drh., M.Si selaku sekretaris penguji skripsi, dan Indah Norma Triana, drh., M.Si selaku anggota penguji skripsi atas saran dan kritik yang membangun demi perbaikan skripsi ini.

Erma Safitri, drh., M.Si selaku dosen wali atas nasihat dan bimbingan yang berharga selama ini. Seluruh Staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya atas wawasan berupa ilmu dan pengetahuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Ayahanda saya Syaiful Bachtoni S.Pi serta Ibunda saya Sri Sumarmi Amd Keb. sebagai inspirasi dan motivator yang tiada henti-hentinya memberikan dukungan berupa kasih sayang yang berlimpah, doa, dorongan secara moril dan materil, serta nasihat-nasihat yang sangat berharga dalam proses menenipuh

pendidikan hingga terselesaikannya skripsi ini. Untuk Adik saya tercinta Riza Saiful Bilad, terimakasih telah banyak memberikan semangat dan motivasi sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

Teman satu penelitian saya Septyana Eka Rahmawati atas segala bantuan dan kerjasamanya dalam melakukan penelitian ini. Sahabat-sahabat sejawatku Ratu Fizar Prasasti, Dina Arbiyanti, Ratih Kartikasari, Eka Rahayuningtyas, Anggi Ali Firmansyah, Retno Widayanti, Eko Yudha, Pravitasari, Santi Vidya, Rachma Murtisari, Yaumi Amalia, teman-teman Mulyorejo Tengah 45 serta rekan-rekan UKM Tapak Suci Universitas Airlangga atas segala doa, semangat dan motivasi yang telah diberikan.

Teman-teman sepejuangan Fakultas Kedokteran Hewan angkatan 2009 dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu namun telah banyak membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan, sehingga memerlukan perbaikan berupa kritik dan saran dari para pembaca demi penyempurnaan skripsi ini. Semoga hasil yang diberikan dapat bermanfaat.

Surabaya, Mei 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN	ii
HALAMAN IDENTITAS	iii
ABSTRACT	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Landasan Teori	5
1.4 Tujuan Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
1.6 Hipotesis	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Domba	9
2.2 Alat Reproduksi Domba	11
2.3 Semen Domba	12
2.4 Spermatozoa Domba	13
2.5 Plasma semen Domba	14
2.6 Viabilitas Spermatozoa	15
2.7 Motilitas Spermatozoa	15
2.8 Membran Plasma Utluh Spermatozoa	16
2.9 Pengencer semen	17
2.10 Sari buah sirsak	18
2.11 Kuning Telur	21
2.12 Antibiotik	22
BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.2 Bahan dan Materi Penelitian	23
3.2.1 Sampel Penelitian	23
3.2.2 Alat Penelitian	23
3.2.3 Bahan Penelitian	24
3.3 Metode Penelitian	24
3.3.1 Penampungan Semen Domba	24
3.3.2 Pemeriksaan Semen Segar	25
3.3.3 Pembuatan Bahan Pengencer	25
3.3.3.1 Pembuatan Pengencer Sari Buah Sirsak	25
3.3.3.2 Pembuatan Pengencer Natrium Sitrat	25

3.3.3.3 Pembuatan Pengencer Kuning Telur Sitrat	26
3.3.4 Prosedur Pengenceran Semen	26
3.3.5 Pemeriksaan Semen Setelah Diencerkan	27
3.3.5.1 Pemeriksaan Motilitas	27
3.3.5.2 Pemeriksaan Viabilitas	27
3.3.5.3 Pemeriksaan Membran Plasma Utuh	28
3.4 Rancangan Penelitian	28
3.5 Peubah yang Diamati	29
3.5.1 Variabel Bebas	29
3.5.2 Variabel Tergantung	29
3.5.3 Variabel Kendali	29
3.6 Analisis data	29
3.7 Bagan Alur Penelitian	30
BAB 4 HASIL PENELITIAN	
4.1 Pemeriksaan Semen Domba Sebelum Perlakuan	31
4.2 Pemeriksaan Persentase Viabilitas Spermatozoa	33
4.3 Pemeriksaan Persentase Motilitas Spermatozoa	35
4.4 Pemeriksaan Persentase Membran Plasma Utuh Spermatozoa	38
BAB 5 PEMBAHASAN	
5.1 Analisis Kualitas Semen Sebelum Perlakuan	42
5.2 Analisis Semen Setelah Perlakuan	43
5.2.1. Viabilitas Spermatozoa	43
5.2.2. Motilitas Spermatozoa	47
5.2.3. Membran Plasma Utuh Spermatozoa	50
BAB 6 KESIMPULAN	
6.1. Kesimpulan	53
6.2. Saran	53
RINGKASAN	54
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Domba Ekor Gemuk	10
2.2 Saluran Reproduksi Domba Jantan	11
2.3 Struktur dari Spermatozoa	13
2.4 Buah Sirsak	19
4.1 Grafik Viabilitas Spermatozoa Domba	35
4.2 Grafik Motilitas Spermatozoa Domba	37
4.3 Grafik Membran Plasma Utlah Spermatozoa Domba	40
4.4 Spermatozoa dengan membran plasma Utlah (a) dan rusak (b)	41

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kandungan Gizi dan Serat dalam 100 gram Buah Sirsak	20
4.1 Hasil Pemeriksaan Semen Domba Secara Makroskopis	31
4.2 Hasil Pemeriksaan Semen Domba Secara Mikroskopis	31
4.3 Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Viabilitas Hari Pertama sampai hari ke lima	34
4.4 Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Hari Pertama sampai hari ke lima	36
4.5 Rata-rata dan Simpangan Baku Persentase Membran Plasma Utuh Hari Pertama sampai hari ke lima	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Teknik Pemeriksaan Makroskopis Semen	60
2. Teknik Pemeriksaan Mikroskopis Semen	62
3. Cara Pembuatan Preparat Ulas Spermatozoa	65
4. Analisa Data Viabilitas Spermatozoa Domba	66
5. Analisa Data Motilitas Spermatozoa Domba	72
6. Analisa Data Membran Plasma Utuh Domba	78
7. Hasil Korelasi Positif Persentase Viabilitas, Motilitas, dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa Domba	84
8. Dokumentasi Penelitian	85

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

μm	: mikrometer
$^{\circ}\text{C}$	: derajat Celcius
ANOVA	: Analysis of Variant
ATP	: Adenosin Triphospat
Ca	: Kalsium
cc	: cubic centimeter
cm	: centimeter
DNA	: Deoxyribo Nucleic Acid
g	: gram
HOST	: Hypoosmotik Swelling Test
IB	: Inseminasi Buatan
IU	: International Unit
kal	: kalori
Kg	: kilogram
mg	: milligram
mm^3	: milimeter kibik
MPU	: Membran Plasma Utuh
NaCl	: Natrium Clorida
pH	: power of Hidrogen
SDM	: Sumber Daya Manusia
SPSS	: Statistic Prosedure Service Solution

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pembangunan sektor pertanian dan usaha agribisnis yang berdaya saing, berkerakyatan, berkelanjutan, dan terdesentralisasi, senantiasa didorong untuk mewujudkan perekonomian nasional yang sehat, hal ini tercermin dari visi yang telah ditetapkan oleh Departemen Pertanian, sedangkan dalam misi pembangunan peternakan antara lain adalah memfasilitasi penyediaan pangan asal ternak yang cukup baik secara kuantitas maupun kualitasnya, memberdayakan sumber daya manusia agar menghasilkan produk yang berdaya saing tinggi, menciptakan peluang ekonomi untuk meningkatkan pendapatan, membantu menciptakan lapangan kerja, dan melestarikan serta memanfaatkan sumber daya alam pendukung peternakan. Salah satu komoditas peternakan yang memenuhi kriteria seperti pada visi dan misi di atas antara lain komoditas domba (Trobos, 2008)

Perkembangan peternakan domba sampai saat ini relatif jalan di tempat, perkembangan produksi dan produktivitasnya hampir tidak mengalami kemajuan berarti, hal ini diduga akibat pola pemeliharaan yang masih bersifat tradisional dengan skala pemilikan yang kecil (*small holders*), sehingga domba kebanyakan dipelihara apa adanya tanpa suatu perencanaan yang jelas untuk lebih berkembang, lebih produktif, dan lebih menguntungkan, di samping itu jumlah pemotongan domba termasuk domba betina produktif untuk kebutuhan lokal pun cukup tinggi, sehingga bila produktivitasnya tidak ditingkatkan dan dikembangkan secara komersial dan dalam skala yang besar, dikhawatirkan akan

terjadi pengurasan populasi domba nasional. karena perkembangan populasi domba tidak sejalan dengan meningkatnya permintaan akan domba dan perkembangan populasi penduduk (Trobos, 2008).

Evaluasi pada teknologi reproduksi merupakan aspek yang dapat meningkatkan efisiensi reproduksi ternak. Inseminasi buatan (IB) adalah suatu teknologi mutakhir yang diciptakan manusia guna meningkatkan produktivitas dan reproduktivitas ternak untuk mengatasi tuntutan masyarakat dunia yang terus meningkat jumlahnya dari tahun ke tahun. Namun untuk keberhasilan program IB tersebut harus diiringi dengan penggunaan semen yang baik, karena indikasi keberhasilan dalam proses inseminasi buatan adalah kualitas dan kuantitas semen serta waktu yang tepat ketika pelaksanaan (Hardijanto dkk, 2010).

Kualitas semen dapat menurun jika tidak disimpan sesuai dengan bahan pengencer (Hardijanto, 2010). Menurut Hardijanto dan Hardjopranto (1994) yang dikutip oleh Khabib dkk (2008) pemilihan jenis pengencer merupakan aspek penting dalam pelaksanaan program IB karena semen segar yang baru ditampung dan sudah dinilai dapat segera diencerkan dengan bahan pengencer yang sesuai untuk penyimpanan, sehingga sewaktu-waktu dapat dipakai. Semen yang tidak diencerkan akan sukar mempertahankan hidupnya lebih dari 24 jam, walaupun disimpan dalam suhu rendah. Menurut Toelihere (1993) dalam kutipan Nugroho dkk (2008) selain menjaga kualitas semen, pengencer juga berfungsi sebagai penambah volume semen dengan tujuan dalam satu kali ejakulasi seekor pejantan maka semen dapat diencerkan dan memungkinkan untuk dilaksanakan

inseminasi buatan untuk beberapa ekor betina. pengencer juga dapat dimungkinkan untuk pengiriman jarak jauh.

Pengencer semen memiliki beberapa kriteria yang dapat menentukan keberhasilan inseminasi buatan. Beberapa kriteria pengencer yang baik adalah mampu mempertahankan pH (larutan penyangga) semen, mencegah spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) pada suhu rendah serta mengandung bahan nutrisi (Nugroho dkk, 2008). Bahan pengencer hendaknya mudah diolah dan diperoleh, namun tidak lepas dari syarat tidak beracun, berenergi, serta mampu mempertahankan kualitas air mani, bersifat melindungi, mempunyai keasaman yang sesuai dan isotonis terhadap spermatozoa (Hardijanto dkk, 2010).

Bahan pengencer fosfat dan sitrat kuning telur untuk inseminasi buatan menunjukkan hasil konsepsi yang sama. Khasiat kuning telur terletak pada *lipoprotein* dan *lecitin* yang terkandung di dalamnya yang bekerja mempertahankan dan melindungi integritas selubung *lipoprotein* dari spermatozoa (Sahlaeni, 2008). Namun pada kuning telur memiliki kandungan karbohidrat dan vitamin yang rendah sehingga kurang berperan dalam penyediaan energi dalam jangka waktu yang lama serta antioksidan sebagai penangkap radikal bebas yang dimiliki oleh vitamin terutama vitamin C. Tingginya lemak pada kuning telur juga mempersulit spermatozoa untuk diamati pergerakan dan motilitasnya (Aires dkk. 2003 dalam kutipan Trisna, 2012).

Melihat upaya untuk menemukan bahan pengencer yang lebih baik serta mudah diperoleh dan diolah masih berlanjut hingga sekarang, maka bahan

pengencer yang berasal dari buah-buahan dapat digunakan sebagai alternatif. Salah satu buah yang dapat digunakan adalah buah sirsak.

Buah sirsak memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi (16,3 gram/100 gram) hal tersebut sesuai dengan syarat bahan pengencer sebagai sumber energi yang dibutuhkan dalam metabolisme spermatozoa domba. Fruktosa yang terkandung dalam karbohidrat buah tersebut berasal dari gula pereduksi (glukosa dan fruktosa) dengan kadar 81,9 – 93,6 % dari kandungan gula total. Selain itu, terdapat beberapa zat yang terkandung dalam sirsak yang tidak dimiliki oleh kuning telur seperti tingginya vitamin C sebagai antioksidan sehingga dapat menangkap radikal bebas pada spermatozoa domba (Rahima, 2011)

Berdasarkan berbagai informasi tersebut, penulis ingin mengetahui dan meneliti pengaruh pemberian bersubstitusi buah sirsak sitrat pada pengencer kuning telur terhadap kualitas semen domba dengan menggunakan parameter motilitas (pergerakan), viabilitas (daya tahan hidup), serta keutuhan membran plasma spermatozoa domba yang sebelumnya belum pernah diteliti.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah terdapat perbedaan persentase viabilitas spermatozoa domba ekor gemuk setelah diencerkan menggunakan berbagai konsentrasi sari buah sirsak sitrat pada substitusi kuning telur dibandingkan dengan bahan pengencer kuning telur sitrat?

2. Apakah terdapat perbedaan persentase motilitas spermatozoa domba ekor gemuk setelah diencerkan menggunakan berbagai konsentrasi sari buah sirsak sitrat pada substitusi kuning telur dibandingkan dengan bahan pengencer kuning telur sitrat?
3. Apakah terdapat perbedaan persentase keutuhan membran plasma spermatozoa domba ekor gemuk setelah diencerkan menggunakan berbagai konsentrasi sari buah sirsak sitrat pada substitusi kuning telur dibandingkan dengan bahan pengencer kuning telur sitrat?

1.3 Landasan atau Dasar Teori

Penambahan bahan pengencer pada semen domba penting dilakukan karena satu kali ejakulasi pada domba mempunyai volume yang rendah yaitu 0.5 - 2 ml semen dan konsentrasi antara 1500-3000 juta / ml semen. Bahan pengencer tersebut berfungsi meningkatkan kuantitas (volume semen) dan kualitas (viabilitas, motilitas, maupun keutuhan membran plasma) pada spermatozoa domba sehingga dapat digunakan sebagai sarana untuk melakukan program IB yang telah banyak dilakukan (Hardijanto dkk, 2010).

Kuning telur dipergunakan sebagai bahan pengencer semen karena mengandung beberapa bahan seperti lipoprotein dan lesitin yang melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa. Namun kuning telur memiliki kandungan karbohidrat yang rendah dibanding komposisi lemak dan proteinnya yang tinggi. Padahal syarat bahan pengencer adalah sebagai sumber energi (Toelihert, 1993).

Hingga saat ini belum ada pengencer yang memenuhi persyaratan yang ideal, sehingga banyak yang harus dipelajari, terutama mengenai pengendalian kimiawi dan biologi yang terlibat dalam proses kehidupan spermatozoa, pada waktu fertilisasi, dan pada waktu implantasi sebelum bahan pengencer yang memenuhi persyaratan ini dapat disempurnakan. (Salisbury dan Vandermark, 1985).

Sari buah sirsak merupakan buah dengan kandungan karbohidrat, lemak, dan protein. Karbohidrat mencapai 16,3 gram per 100 gram jumlah sirsak dengan kadar gula pereduksi 81,9 – 93,6 % dalam gula total serta. Selain itu sirsak juga mengandung vitamin C, dan asam sitrat yang dibutuhkan sebagai bahan pengencer semen domba (Rahima, 2011). Karbohidrat dalam buah sirsak lebih tinggi dibandingkan dengan kuning telur yang hanya memiliki karbohidrat sebanyak 0,6 gram per 100 gram telur ayam sehingga diharapkan dapat sebagai sumber energi yang lebih baik. Hal tersebut sesuai dengan fungsi gula sebagai pelindung membran plasma spermatozoa karena pada bagian luar membran plasma sel terdapat karbohidrat yang berikatan dengan lipid (*glkolipid*) atau protein (*glkoprotein*) yang disebut selubung sel atau *glkokaliks*. Membran plasma yang terlindungi selama proses pengolahan semen dapat berpengaruh positif terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa karena motilitas spermatozoa sangat bergantung pada suplai energi berupa ATP hasil metabolisme (Rizal dkk, 2006).

Substitusi dari sari buah sirsak dalam pengencer kuning telur sitrat diharapkan dapat saling melengkapi dan menyempurkan sehingga dapat

memenuhi semua persyaratan bahan pengencer dan mempertahankan kualitas spermatozoa.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui perbedaan persentase viabilitas spermatozoa domba ekor gemuk setelah diencerkan menggunakan berbagai konsentrasi sari buah sirsak pada substitusi kuning telur sitrat dibandingkan dengan bahan pengencer kuning telur sitrat.
2. Mengetahui perbedaan persentase motilitas spermatozoa domba ekor gemuk setelah diencerkan menggunakan berbagai konsentrasi sari buah sirsak pada substitusi kuning telur sitrat dibandingkan dengan bahan pengencer kuning telur sitrat.
3. Mengetahui perbedaan persentase keutuhan membran plasma spermatozoa domba ekor gemuk setelah diencerkan menggunakan berbagai konsentrasi sari buah sirsak pada substitusi kuning telur sitrat dibandingkan dengan bahan pengencer kuning telur sitrat.

1.5 Manfaat Hasil Penelitian

Manfaat dari hasil penelitian ini adalah memberikan informasi dan pengetahuan bahwa berbagai konsentrasi sari buah sirsak pada substitusi kuning telur sitrat diharapkan dapat digunakan sebagai bahan pengencer alternatif yang dapat meningkatkan viabilitas, motilitas, dan membran plasma utuh spermatozoa domba dibandingkan dengan kuning telur sitrat. Sehingga untuk selanjutnya dapat membantu keberhasilan program inseminasi buatan khususnya pada domba.

1.6 Hipotesis

1. Terdapat perbedaan persentase viabilitas spermatozoa domba ekor gemuk setelah diencerkan menggunakan berbagai konsentrasi sari buah sirsak pada substitusi kuning telur sitrat dibandingkan dengan bahan pengencer kuning telur sitrat.
2. Terdapat perbedaan persentase motilitas spermatozoa domba ekor gemuk setelah diencerkan menggunakan berbagai konsentrasi sari buah sirsak pada substitusi kuning telur sitrat dibandingkan dengan bahan pengencer kuning telur sitrat.
3. Terdapat perbedaan persentase ketuhan membran plasma spermatozoa domba ekor gemuk setelah diencerkan menggunakan berbagai konsentrasi sari buah sirsak pada substitusi kuning telur sitrat dibandingkan dengan bahan pengencer kuning telur sitrat.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Domba

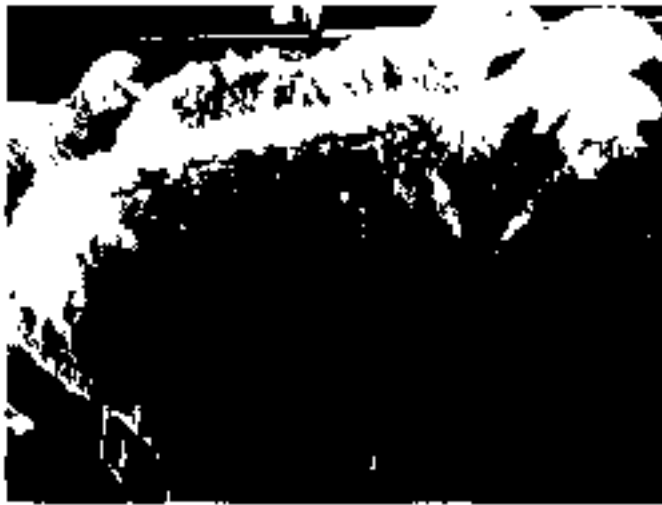
Domba merupakan hewan ternak yang dipelihara untuk memenuhi kebutuhan pangan hewani manusia. Menurut Mulyono dan Sarwono (2004) dalam kutipan Trisna (2012), domba dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
 Phylum : Chordata
 Kelas : Mamalia
 Ordo : Artiodactyla
 Famili : Ovidae
 Genus : Ovis
 Spesies : *Ovis aries*

Domba merupakan ternak penghasil daging yang sangat potensial. Peluang pasar untuk domba di dalam negeri sangat terbuka lebar hal ini terlihat dari permintaan akan domba cukup tinggi. Potensial pasar ini akan terus berkembang sejalan dengan pesatnya pertumbuhan penduduk, disamping itu peningkatan pendapatan, peningkatan kesadaran akan pentingnya gizi asal protein hewani, dan kesadaran masyarakat akan pentingnya domba untuk meningkatkan kecerdasan balita ini berdampak pada peningkatan permintaan akan domba didalam negeri (Departemen Pertanian, 2003).

Domba ekor gemuk berasal dari Asia Barat Daya yang kemudian masuk ke Indonesia dibawa oleh para pedagang Arab pada abad ke-18. Domba ini

merupakan tipe pedaging karena dengan pemeliharaan yang intensif dapat menghasilkan bobot badan 40-60 kg untuk jantan dan 25-35 kg untuk betina. Domba jantan memiliki tinggi 65 cm sedangkan betina dapat mencapai 60 cm. Domba ekor gemuk awalnya banyak berkembang di Jawa Timur, Madura, Sulawesi, dan Lombok. Domba ini dapat hidup di daerah beriklim panas dan kering (Erlangga, 2012).

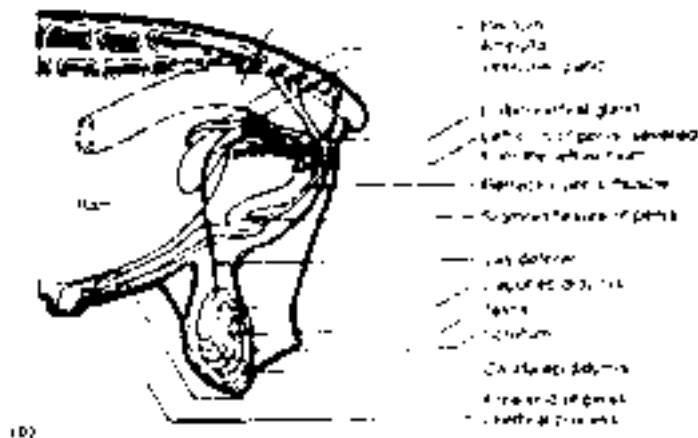


Gambar 2.1. Domba Ekor Gemuk (Dokumentasi Penulis)

Domba ekor gemuk memiliki beberapa keunggulan yaitu badan lebih lebar dibandingkan domba lokal lainnya, warna bulu putih dengan tekstur wol kasar, pada bagian ekor ukurannya besar dan panjang, umumnya tidak bertanduk dan hanya sebagian jantan saja yang bertanduk dengan ukuran kecil serta memiliki daya tahan tubuh yang kuat terhadap cuaca panas dan kekeringan. Sehingga domba jantan dapat dijadikan sebagai jenis ternak dalam penelitian ini (Erlangga, 2012).

2.2 Alat Reproduksi Domba

Susunan anatomi alat kelamin hewan jantan pada umumnya terdiri atas alat kelamin utama yaitu gonad atau testes. Secara makroskopik testis kambing dan domba berbentuk oval, memanjang, berkonsistensi kenyal dan terbungkus oleh kapsula yang berwarna putih mengkilap (*tunica dartos*). Testes merupakan organ kelamin jantan yang sangat penting karena memiliki 2 fungsi yaitu fungsi reproduktif (menghasilkan sel spermatozoa) serta fungsi endokrinologis (menghasilkan hormon jantan atau androgen). Testes menghasilkan sel spermatozoa melalui spermatogenesis, pada domba berlangsung 46-49 hari sedangkan hormon androgen diproduksi oleh sel-sel interstitil yang disebut sel leydig (Ismudiono dkk, 2010).



yang mengandung bagian terminal urethra. Sedangkan skrotum terlihat menggantung diantara paha belakang, skrotum domba relatif besar dan bulat panjang dengan leher terlihat jelas (Wodzicka dkk., 1991)

Saluran alat kelamin dalam terdiri dari epididimis, *vas deferens*, ampula dan urethra; kelenjar kelenjar asesoris yaitu vesikularis, prostata, dan bulbourethralis (cowper). Epididymidis adalah suatu struktur memanjang yang bertaut rapat dengan testis dan terdapat ductus epididymidis yang sangat berliku-liku dan mencapai panjang lebih dari 40 meter pada jantan dewasa. Epididimis dapat dibagi atas tiga bagian, yaitu kepala (*caput epididymidis*), badan (*corpus epididymidis*), dan ekor (*cauda epididymidis*). Tempat penyimpanan spermatozoa terdapat pada cauda epididymidis, konsentrasi spermatozoa sangat tinggi dan lumen ductus tersebut relatif lebih luas sehingga setengah dari jumlah spermatozoa disimpan di dalam cauda yang membentuk seperempat dari panjang saluran epididymidis (Feradis, 2010).

2.3 Semen Domba

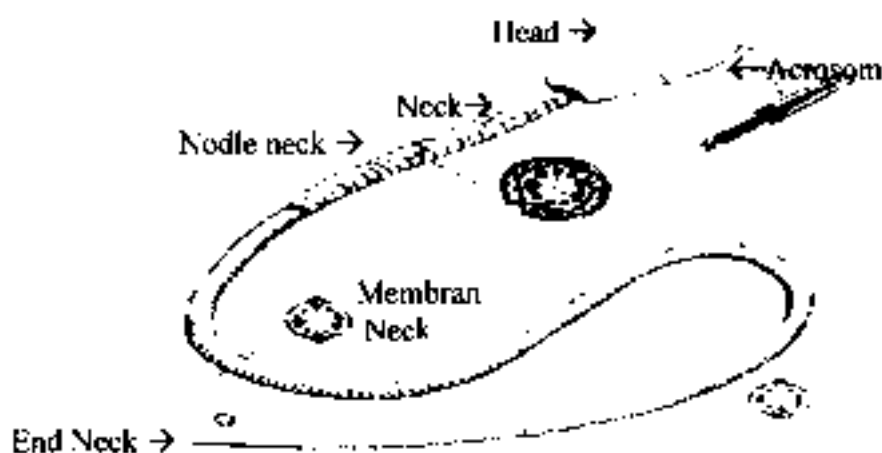
Semen adalah sekresi kelamin jantan yang normal diejakulasi ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan inseminasi buatan. Semen mengandung banyak spermatozoa yang berada dalam medium cair, yaitu plasma semen (Toelihere, 1993 dalam Feradis, 2010).

Secara makroskopis semen domba yang baik adalah berwarna krem, volume semen antara 0,7-2 ml, konsistensi pekat dan pH antara 6,9-7,3 (Evans dan Maxwell, 1987 dalam Purwitasari, 2011). Sedangkan ciri mikroskopis semen

domba yang baik adalah konsentrasi semen $2-6 \times 10^9$ spermatozoa/ml, abnormalitas tidak lebih dari 20% dan persentase kematian tidak boleh melebihi 50%. Kualitas semen domba ini dapat dipengaruhi oleh umur, kondisi ternak, frekuensi pengambilan dan pelaksana (Nalbandov, 1990).

2.4 Spermatozoa Domba

Spermatozoa merupakan sel berukuran kecil, kompak, dan sangat khas yang tidak bertumbuh dan membagi diri. Morfologi spermatozoa di antara beberapa spesies menunjukkan perbedaan terutama pada bentuk kepalanya. Spermatozoa mempunyai struktur yang cukup padat dan tidak mudah terdispersi kecuali membran plasma. Morfologi spermatozoa terdiri dari tiga bagian yaitu bagian kepala, leher, dan ekor.



Gambar 2.3 Struktur dari Spermatozoa (Garner dan Hafez, 2000 dalam Feradlis, 2010)

. Bagian kepala mengandung materi hereditas paternal dan bagian luarnya dibungkus oleh penutup kepala spermatozoa dan di bawahnya terdapat akrosom

yang mengandung banyak fosfolipid. Kepala Spermatozoa domba berbentuk bulat dan pipih, sebagian besar tersusun atas nucleus yang mengandung kromatin yang terdiri dari Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) yang bertanggung jawab untuk menurunkan sifat generasi berikutnya. Panjang dan lebar kepala kira-kira $8-10 \times 4-4,5 \mu$. Bagian anterior kepala terdapat selubung yang disebut akrosom, berisi enzim yang penting untuk proses fertilisasi (Hardijanto dkk, 2010).

Bagian ekor terdiri dari tiga bagian yaitu bagian tengah (*middle piece*), bagian utama (*principal piece*), dan bagian ujung (*end piece*). Ekor spermatozoa domba memiliki panjang $35-45\mu$ dengan panjang diameter $4-6\mu$ yang terbentuk menyertai flagel. Bentuk flagel tersebut bersifat kontraktif dan menimbulkan gerakan pada ekor spermatozoa (Tocihert, 1993 ; Fradson, 1992 dalam Purwitasari, 2011).

2.5 Plasma Semen Domba

Plasma semen adalah sekresi komposit yang berasal dari sejumlah sumber termasuk testis, epididymidis, dan kelenjar kelamin pelengkap hewan jantan. Plasma semen bersifat isotonik, cairan netral dengan pH 5,9-7,3 (Evans dan Maxwell, 1987 dalam Purwitasari 2011). Plasma semen domba berkadar *gliseril fosforil colin* lebih tinggi dari plasma semen sapi, babi, dan kuda. Bahan-bahan anorganik yang kadarnya tinggi dalam plasma semen adalah kalium, kalsium, karbonat, dan fosfat (Gatenby, 1991 dalam Purwitasari, 2011).

Fungsi utama plasma semen adalah sebagai suatu medium pembawa spermatozoa dari saluran reproduksi hewan jantan ke dalam saluran reproduksi

betina. Fungsi ini dapat dijalankan dengan baik karena pada banyak spesies plasma semen mengandung bahan-bahan penyanggah dan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa baik yang dapat dipergunakan secara langsung (misalnya fruktosa dan sorbitol) maupun secara tidak langsung (Toelihere, 1993 dalam Feradis, 2010).

2.6 Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup setelah dikeluarkan dari organ reproduksi jantan. Pemeriksaan viabilitas spermatozoa penting dilakukan untuk mengontrol pemeriksaan motilitas spermatozoa. Pemeriksaan ini perlu dilakukan bila motilitas spermatozoa kuantitatif tidak $> 40\%$ (Moclock, 1990).

Spermatozoa yang hidup ditandai dengan kepalanya yang berwarna putih sedangkan spermatozoa yang mati ditandai dengan kepalanya yang berwarna merah. Spermatozoa yang hidup tidak akan terwarnai oleh eosin karena lapisan lipid pada dinding spermatozoa dapat melindungi zat warna masuk dalam sel, sedangkan pada spermatozoa yang telah mati karena rusak atau hilangnya lapisan lipid pada dinding spermatozoa maka zat pewarna eosin sangat mudah menembus masuk dalam sel (Rahmandari, 2009 dikutip dari Hardijanto dan Hardjopanjoto, 1994).

2.7 Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah gerakan spermatozoa dalam satu kelompok yang mempunyai kecenderungan bergerak bersama-sama ke satu arah sehingga gerakan tersebut terlihat seperti gelombang yang tebal atau tipis dan bergerak

cepat atau lambat. Gerakan massa ini tergantung pada konsentrasi sperma di dalam semen dan pergerakan individu spermatozoa (Toelihere, 1993).

Motilitas spermatozoa menunjukkan presentase spermatozoa yang bergerak motil progresif. Penilaian motilitas spermatozoa digunakan untuk menilai tingkat kesanggupan spermatozoa membuahi sel telur (ovum) (Toelihere, 1993). Menurut Salishury dan Vandemark (1985), penghitungan motilitas spermatozoa dapat ditentukan dengan dua cara, yaitu secara kualitatif dan kuantitatif. Metode penghitungan secara kualitatif dilakukan secara perbandingan dan hasilnya tidak mutlak. Perhitungan tersebut dipengaruhi oleh konsentrasi spermatozoa dan hasil perhitungan bersifat subjektif. Metode kuantitatif digunakan agar diperoleh hasil penghitungan motilitas spermatozoa yang objektif. Semen dengan motilitas rendah pada umumnya akan memiliki fertilitas rendah, tetapi semen dengan motilitas tinggi tidak selalu memiliki fertilitas yang tinggi (Etches, 1996 dalam kutipan Susilowati, 2010).

2.8 Membran Plasma Uter Spermatozoa

Membran plasma berfungsi menjaga keseimbangan elektrolit-elektrolit intra dan ekstraseluler spermatozoa membran plasma utuh ditandai oleh ekor spermatozoa yang melingkar atau menggelembung. Apabila membran plasma rusak, keseimbangan elektrolit tersebut akan terganggu yang berakibat buruk terhadap proses-proses biokimiawi yang terjadi di dalam sel spermatozoa, yang pada akhirnya akan mengakibatkan kematian (Kusumaningrum dkk, 2002). Jika membran plasma sel dapat dilindungi dari kerusakan selama proses pengolahan

semen, maka dapat berpengaruh positif terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa (Rizal, 2006).

Membran plasma yang utuh ditandai oleh ekor spermatozoa yang melingkar atau menggembung sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor yang lurus apabila semen dipaparkan di dalam larutan hipoosmotik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. di dalam membran plasma sel terdapat banyak makromolekul seperti protein, lipoprotein, glikoprotein dan lain-lain yang dapat berfungsi sebagai enzim, reseptor, saluran, atau pembawa (*carrier*). Sehingga berfungsi melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan selama proses pengolahan semen, terutama saat penyimpanan pada suhu rendah (Rizal, 2006 yang dikutip dari Revell dan Mrode, 1994 dan Johnson dan Everitt, 1988).

2.9 Pengencer Semen

Pengenceran semen dilakukan dengan tujuan untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa dan meningkatkan jumlah betina yang di inseminasikan. Bahan pengencer harus isotonis, mampu mempertahankan kualitas semen tetap baik (motilitas dan viabilitas tetap tinggi) mudah didapatkan dan murah harganya (Isnaini, 2000 dalam Nugroho, 2008). Beberapa syarat pengencer yang baik adalah mampu mempertahankan pH (larutan penyangga) semen, mencegah spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) pada suhu rendah serta mengandung bahan nutrisi (Toelihere, 1993). Bahan kimia yang sangat dibutuhkan bagi kelangsungan hidup spermatozoa antara lain protein, lemak, zat hidrat arang serta vitamin dan mineral (Hermadi dkk, 1992).

Pengencer juga 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)..

2.10 Sari buah sirsak

Sirsak (*Annona muricata* L) berupa tumbuhan atau pohon yang berbatang utama berukuran kecil dan rendah. Daunnya berbentuk bulat telur agak tebal dan pada permukaan bagian atas yang halus berwarna hijau tua sedang pada bagian bawahnya mempunyai warna lebih muda. Tumbuhan ini dapat tumbuh di sembarang tempat. Tetapi untuk memperoleh hasil buah yang banyak dan besar-besar, maka yang paling baik ditanam di daerah yang tanahnya cukup mengandung air. Di Indonesia, sirsak tumbuh dengan baik pada daerah yang mempunyai ketinggian kurang dari 1000 meter di atas permukaan laut.. Buah Sirsak yang sudah masak lebih terasa asam daripada manis. Buah sirsak memiliki duri sisik halus dan apabila sudah tua daging buah berwarna putih, lembek, dan berserat dengan banyak biji berwarna coklat kehitaman (Rahima, 2011).

Kandungan gizi yang terkandung dalam sirsak adalah karbohidrat. Salah satu jenis karbohidrat yang terdapat dalam buah sirsak adalah gula pereduksi (glukosa dan fruktosa) dengan kadar 81,9 – 93,6 persen dari kandungan gula total. Buah sirsak mengandung sangat sedikit lemak (0,3 g/100 g). Rasa asam pada

sirsak berasal dari asam organik non volatil terutama asam malat asam sitrat dan asam isositrat (Rahima, 2011)

Kedudukan tanaman sirsak dalam sistematika tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut

- Divisi : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Ranunculales
Family : Annonaceae
Genus : *Annona*
Species : *Annona muricata* Linn. (Rahima, 2011)



Gambar 2.4 Buah Sirsak (Dokumentasi Penulis)

Buah sirsak memiliki kadar sodium (natrium) yang rendah (14 mg/100g) tetapi tinggi pottasium (kalium) yaitu 278 mg/100mg. Vitamin yang paling dominan pada buah sirsak adalah vitamin C, yaitu sekitar 20 mg per 100 gram

daging buah. Vitamin C termasuk salah satu antioksidan karena zat ini terbukti mampu menetralkan radikal bebas dan dapat berfungsi menghambat oksidasi lemak dan protein pada metabolisme spermatozoa (Benbest, 2007). Berikut adalah tabel tentang kandungan dan komposisi gizi dalam 100 gram buah sirsak.

Tabel 2.1 Kandungan Gizi dan Serat dalam 100 gram Buah Sirsak

Komposisi gizi	Kandungan (jumlah)
Energi	65 kkal
Protein	1 g
Lemak	0,3 g
Karbohidrat	16,3 g
Serat kasar	0,6 g
Riboflavin	0,10 mg
Kalsium	14 mg
Fosfor	27 mg
Besi	0,6 mg
Natrium	14 mg
Kalium	278 mg
Thiamin (Vitamin B1)	0,07 mg
Vitamin B2	0,04 mg
Niacin	0,70 mg
Vitamin C	24 mg
Air	81,7 g

Sumber : Rahima (2011)

Kandungan karbohidrat pada buah sirsak yang mencapai 16,3 gram per 100 gram bahan dapat digunakan sebagai sumber energi bagi spermatozoa mengingat syarat penting yang dimiliki setiap bahan pengencer adalah mengandung zat makanan sebagai sumber energi bagi sel mani (Toelihere, 1993).

Pemilihan buah sirsak juga dapat menentukan kualitas dari kandungan sirsak itu sendiri. Sirsak yang dipilih adalah sirsak dengan karakteristik yang

masak namun tidak busuk, tidak terdapat goresan-goresan atau bercak-bercak hitam pada permukaan kulitnya, tidak terdapat benang-benang putih jamur serta adanya kerusakan akibat serangan hama buah pada kulit sirsak. jarang terdapat tonjolan pada permukaannya, kulit sirsak berwarna hijau namun tidak kehitam-hitaman, serta memiliki struktur lunak jika ditekan (Chemelmel, 2012).

2.11 Kuning Telur

Menurut Susilowati dkk (2010) kuning telur berfungsi mempertahankan integritas selubung spermatozoa dan mencegah *cold shock* karena mengandung lesitin (derivat lipoprotein). Kuning telur juga mengandung glukosa sebagai sumber energi spermatozoa dan beberapa zat protein serta vitamin baik yang larut dalam air maupun minyak yang memiliki viskositas yang menguntungkan spermatozoa. Di samping itu, lemak kuning telur dapat membatasi gerak spermatozoa yang dapat menekan proses pemecahan energi.

Larutan sitrat yang ditambahkan pada kuning telur bertujuan sebagai penyanggah (*buffer*), dapat pula berfungsi sebagai pengikat logam berat seperti kalsium (Ca), menyebarkan/mendispersi lemak dari kuning telur menjadi bentuk butiran lemak yang lebih halus dan bersama kuning telur membentuk bahan pengencer yang isotonis terhadap plasma spermatozoa. Untuk penyimpanan pada suhu 5° C memerlukan kuning telur sitrat tidak kurang dari 20% volume akhir pengencer. Perbandingan antara kuning telur dan larutan natrium sitrat untuk menjamin fertilitas yang optimal adalah 1:4 (Susilowati dkk, 2010).

2.12 Antibiotika

Penambahan antibiotika ke dalam pengencer penting untuk dilakukan karena berguna untuk menahan atau membunuh pertumbuhan bakteri organisme yang dapat merusak sperma, serta dapat memperbaiki fertilitas. Penambahan antibiotika tersebut berguna untuk meningkatkan motilitas dan daya tahan hidup sperma. Mengingat kualitas semen tergantung pada banyaknya kuman yang mencemari. Kuman kuman tersebut dapat berasal dari dalam saluran reproduksi jantan, bulu-bulu disekitar alat kelamin, atau alat penampungan air mani yang kurang steril (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Dosis antibiotik dan sulfat yang ditambahkan didalam bahan pengencer harus sesuai sehingga tidak mengganggu kehidupan spermatozoa tetapi cukup dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme yang ada di dalam semen. Penambahan kombinasi 1000 IU Penicilin dan 3 mg Streptomisine ke dalam pengencer dapat menghasilkan angka kebuntingan hingga 74,3% (Susilowati dkk, 2010).

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dan pembuatan bahan pengencer semen domba dilaksanakan di Laboratorium Inseminasi Buatan Departemen Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Untuk pengambilan semen domba dilakukan di Kandang Domba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian tersebut dilaksanakan pada bulan Februari hingga Maret 2013.

3.2 Bahan dan Materi Penelitian

3.2.1 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan berupa semen yang berasal dari domba jantan dewasa jenis domba ekor gemuk yang memiliki penampilan sehat (tidak cacat genetik) dengan kondisi alat reproduksi yang baik (testes sama besar). Domba betina digunakan sebagai pemancing saat akan diambil semennya (Hardijanto dkk, 2010). Pengambilan semen dilakukan dua kali dalam seminggu.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung penampung semen, tabung reaksi, cawan petri, erlemeyer, pipet, pH meter, timbangan mikro, kertas saring, kertas label, spuit 1 ml, *obyek glass*, *cover glass*, batang pengaduk, pembakar bunsen, aluminium foil, *refrigerator*, spirtus, mikroskop cahaya, termos, cawan petri, tabung berskala, tabung kuvet.

3.2.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari semen domba ekor gemuk jantan, kuning telur, natrium sitrat, sari buah sirsak, air hangat, aquadest, 1 vial Penicilin 3.000.000 IU, 1 vial Streptomycin 1 g, larutan NaCl fisiologis, kapas, alkohol 70%, pewarna Eosin Negrosin, dan larutan HOS

3.3 Metode Penelitian

3.3.1. Penampungan Semen Domba

Metode pengumpulan semen pada domba, yaitu dengan vagina buatan dan pada bagian luar corong vagina buatan diolesi vaselin sebagai pelicin. Sebelum dilakukan penampungan semen, perlu dilakukan pencucian pada preputium menggunakan sabun dan dibilas menggunakan air hangat. Untuk memperoleh semen yang baik maka dilakukan rangsangan libido, rangsangan tersebut dilakukan menggunakan domba betina sebagai pemancing. Pejantan didekatkan dan dijauhkan dari domba pemancing 2-3 kali agar libido lebih besar dan volume semen bertambah. Selanjutnya operator mengambil posisi dibelakang sebelah kanan domba pemancing, tangan kanan operator memegang vagina buatan miring ke atas dengan kemiringan 45° dengan garis horizontal. Preputium pejantan dipegang tepat dipangkal penis dengan tangan kiri dan arahkan masuk ke dalam vagina buatan saat pejantan naik dan melakukan gerakan ejakulasi, saat itu pula semen dapat ditampung (Hardijanto dkk, 2010 ; Trisna, 2012). Semen yang telah ditampung selanjutnya dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis sebelum ditambah diluter.

3.3.2. Pemeriksaan Semen Segar

Semen yang digunakan harus memiliki kualitas yang baik. Untuk mengetahui kualitas semen dapat dilakukan melalui pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, konsistensi, warna, bau, dan derajat keasaman (Lampiran 1). Sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi gerak massa, gerak individu atau motilitas, konsentrasi, persentase hidup atau mati, persentase abnormal (Lampiran 2).

3.3.3 Pembuatan Bahan Pengencer

3.3.3.1. Pembuatan Pengencer Sari Buah Sirsak

Sari buah sirsak yang akan digunakan dikupas serta diambil dagingnya sebanyak 30 gram. Gerus sirsak tersebut dengan mortir hingga halus. Setelah itu ditambahkan aquades sebanyak 30 ml kedalam gerusan tersebut dan dihomogenkan. Kemudian disaring menggunakan kasa/kertas saring serta diukur $pH \pm 5$.

3.3.3.2 Pembuat Pengencer Natrium sitrat

Pengencer natrium sitrat dapat dibuat dengan menimbang Na-sitrat sebanyak 2.9 gram, kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquadestilla dan dipanaskan hingga suhu $92^{\circ}C$. Larutan tersebut dapat digunakan pada suhu kamar.

Penambahan Penicillin 1000 IU/ml dan Streptomycine 1mg/ml dalam pengencer natrium sitrat diperlukan jika akan mencampurkan dengan bahan lain sebagai diluter semen

3.3.3.3 Pembuatan Pengencer Kuning Telur Sitrat

Pengencer telur sitrat dalam penelitian ini berfungsi sebagai kontrol. Kuning telur yang akan dipakai berasal dari kuning telur ayam ras. Telur yang akan digunakan sebelumnya dibersihkan kulitnya dengan menggunakan kapas beralkohol 70% kemudian cangkang telur dibuka di bagian kantong udara untuk dikeluarkan putih telurnya, sedangkan kuning telurnya disaring menggunakan kertas saring.

Kuning Telur Sitrat merupakan pengencer kuning telur yang ditambahkan larutan natrium sitrat. Larutan tersebut berasal dari natrium sitrat dan aquades yang telah dihomogenkan (telah dijelaskan sebelumnya). Larutan natrium sitrat dituang dengan perbandingan 1:4 hingga homogen (untuk menjamin fertilitas yang optimal). Kuning telur dan sitrat dengan perbandingan tersebut ditambahkan penisilin 1000 IU/ml dan streptomycine 1 mg/ml hingga homogen.

3.3.4 Prosedur Pengenceran semen

Semen segar yang telah dilakukan pemeriksaan makroskopis maupun mikroskopis dibagi menjadi 4 dimana 1 sebagai kontrol dan 3 yang lain sebagai perlakuan. Masing-masing pengencer tersebut ditambahkan pada semen dengan perbandingan 1:10 (0,1 ml semen + 1 ml pengencer).

Pembagian tersebut adalah sebagai berikut

- Kontrol (P0) : semen domba + 2 ml kuning telur + 8 ml larutan Na-sitrat
- Perlakuan 1 (P1) : semen domba + 1 ml kuning telur + 8 ml larutan Na-Sitrat +
1 ml sari buah sirsak

- Perlakuan 2 (P2) : semen domba – 0,68 ml kuning telur +8 ml larutan Na-sitrat
+ 1,32 ml sari buah sirsak

- Perlakuan 3 (P3) : semen domba + 2 ml sari buah sirsak +8 ml larutan Na-sitrat

Kemudian masing-masing tabung reaksi ditutup rapat dan dimasukkan ke beker glass yang berisi air bersih dan dipreservasi di dalam lemari es (*refrigerator*) yang bersuhu sekitar 3–5°C. Contoh masing-masing perlakuan dievaluasi kualitasnya setiap hari hingga persentase motilitas spermatozoa progresif $\geq 40\%$. Pemeriksaan dilakukan tujuh kali ulangan pada keempat kelompok tersebut untuk melihat kualitas spermatozoa melalui tolak ukur persentase viabilitas, motilitas, dan membran utuh.

3.3.5. Pemeriksaan semen setelah diencerkan

3.3.5.1 Pemeriksaan Viabilitas

Pelaksanaan pada tahapan ini memiliki tata cara seperti pada tahapan uji mikroskopis semen sebelum diencerkan. Pemeriksaan tersebut meliputi pemeriksaan viabilitas spermatozoa (mati, hidup, atau abnormal)

3.3.5.2 Pemeriksaan Motilitas

Pemeriksaan motilitas meliputi gerakan individu, kecepatan gerak spermatozoa maupun arah gerak spermatozoa, sama halnya dengan tahapan pada pemeriksaan semen sebelum diencerkan namun tidak disertakan pemeriksaan gerakan massa karena telah dilakukan pengenceran. Tahapan ini bertujuan menentukan berapa konsentrasi optimal sari buah sirsak yang digunakan dalam kombinasi bahan pengencer diatas.

3.3.5.3 Pemeriksaan Membran Plasma Utuh

Untuk mengetahui apakah spermatozoa memiliki membran yang utuh maka dapat dilakukan dengan uji pembengkakan hiposmotik atau Hypoosmotic Swelling Test (HOS). Melalui uji tersebut maka dapat diperoleh penilaian persentase Membran Plasma Utuh (%MPU).

Komposisi larutan hiposmotik menurut metode Revell dan Mrode adalah menggunakan larutan hiposmotik dengan komposisi 0,9 gram fruktosa, 0,49 gram natrium sitrat yang dilarutkan pada akuades hingga mencapai volume 100ml. Sebanyak 200ml larutan hiposmotik ditambahkan 20 ml semen dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Setelah inkubasi maka dibuat preparat ulas tipis pada objek glass (Lampiran 3) dan diperiksa dengan mikroskop perbesaran 400x (Rizal dan Herdis, 2008).

Menurut Solihati dkk (2008) spermatozoa dengan membran plasma utuh ditunjukkan oleh spermatozoa dengan ekor membengkok setelah diinkubasi dalam larutan HOS *test*. Membran plasma yang tidak utuh (HOS *test* negatif) ditunjukkan dengan spermatozoa yang tidak menunjukkan adanya pembengkokan pada ekor (ekor lurus).

Perhitungan dilakukan dengan rumus :

$$\text{Total Membran Plasma Utuh} = \frac{\text{Spermatozoa dengan ekor melingkar}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100\%$$

3.4 Rancangan Penelitian

Pengumpulan data dilakukan dalam lingkungan yang terkontrol dan terkendali dengan asumsi semua kondisi diusahakan sama, analisis data dilakukan

dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perhitungan rumus $t(n-1) \geq 15$ dimana t sebagai perlakuan dan n sebagai ulangan sehingga didapatkan ulangan sebanyak 7 kali (Kusriningrum, 2008).

3.5 Peubah yang Diamati

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah bahan pengencer kuning telur dan sari buah sirsak.

3.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kualitas spermatozoa (viabilitas, motilitas, dan keutuhan membran plasma).

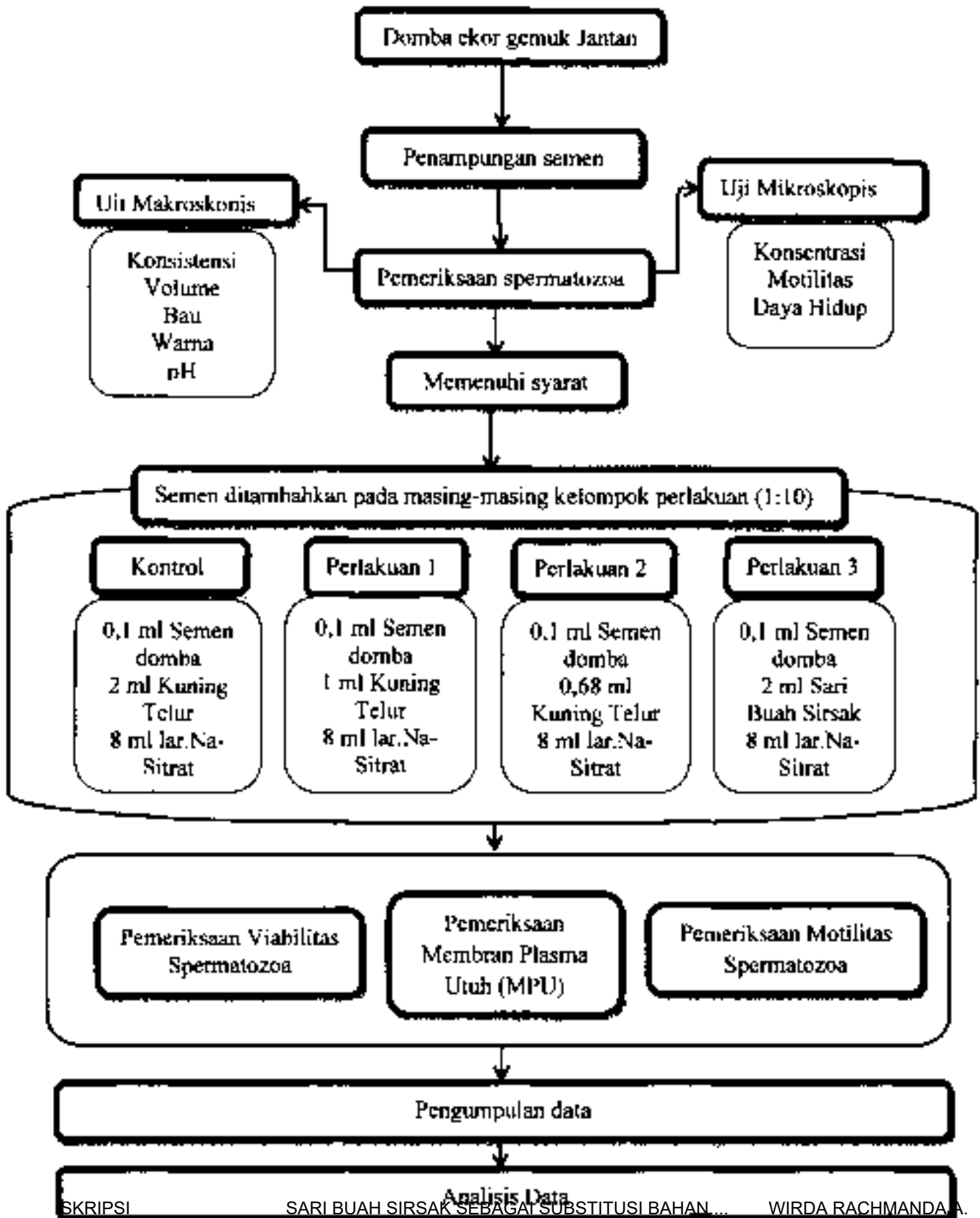
3.5.3 Variabel Kendali

Variabel kendali pada penelitian ini adalah Na-Sitrat, umur domba, pakan, dan pemeliharaan hewan.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan dalam tabel berupa rata-rata dan simpangan baku. Untuk mengetahui perbedaan persentase kualitas (viabilitas, motilitas, dan membran plasma utuh) pada kelompok perlakuan data diuji menggunakan *Analysis of Variant* (ANOVA). Jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan's dengan tingkat signifikan 5% untuk mengetahui kelompok mana yang terbaik. Seluruh data disajikan menggunakan fasilitas SPSS 20 for Windows 7.

3.7 Bagan Alur Penelitian



BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Pemeriksaan Semen Domba Sebelum Perlakuan

Semen yang digunakan harus memiliki kualitas yang baik. Untuk mengetahui kualitas semen dapat dilakukan melalui pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil pemeriksaan semen domba sebelum perlakuan secara makroskopis dan mikroskopis tersaji pada tabel berikut.

Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Semen Domba Secara Makroskopis

Ulangan	Volume	Bau	Warna	pH	Konsistensi
1	1,4	Khas	Putih Krem	6-7	Kental
2	1,8	Khas	Putih Krem	6-7	Kental
3	1	Khas	Putih Krem	6-7	Kental
4	1	Khas	Putih Krem	6-7	Kental
5	1,2	Khas	Putih Krem	6-7	Kental
6	1,2	Khas	Putih Krem	6-7	Kental
7	2	Khas	Putih Krem	6-7	Kental

Tabel 4.2 Hasil Pemeriksaan Semen Domba Secara Mikroskopis

Penampungan	Konsentrasi	SH(%)	SA(%)	Gerakan Individu		Gerakan Massa
				Arah	Kecepatan	
1	3480 juta	90	4	P (80%)	4	+++
2	3000 juta	90	3	P (85%)	4	+++
3	1680 juta	90	3	P (90%)	4	+++
4	1680 juta	85	4	P (85%)	4	+++
5	3540 juta	80	3	P (85%)	4	+++
6	3480 juta	85	3	P (85%)	4	+++
7	5520 juta	80	3	P (80%)	4	+++

Keterangan:

SH : Spermatozoa Hidup

SA : Spermatozoa Abnormal

P : Progresif

+++ : Getombang kecil sampai besar yang tebal dan gelombang dalam jumlah banyak dan bergerak cepat.

Pemeriksaan makroskopis semen domba yang terdapat pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa semen tersebut sesuai dengan standart normal dan dapat ditambahkan dengan diluter pada tiap-tiap perlakuan. Volume semen domba yang diperoleh setiap ejakulasi memiliki rata-rata 1 ml (0,5 – 2ml) dengan rentang pH 6,4-6,8. Semen domba jantan berwarna putih atau krem serta memiliki konsistensi yang relatif pekat/ kental, sehingga semen tersebut mengandung spermatozoa yang relatif banyak dan memiliki konsentrasi spermatozoa yang tinggi. Bau semen domba relatif tajam dan memiliki bau yang khas (Hardijanto dkk, 2010).

Pemeriksaan mikroskopis semen domba secara keseluruhan tertera pada tabel 4.2 dimana konsentrasi spermatozoa menunjukkan nilai normal antara 1500-3000 juta/ml, sehingga dapat ditambahkan bahan pengencer (Rizal dan Herdis, 2008). Persentase hidup spermatozoa domba yaitu antara 80-90% hal tersebut sesuai dengan standart normal yaitu 80-91% (Rizal dkk, 2003). Persentase abnormalitas spermatozoa domba yaitu antara 3-5% yang berarti spermatozoa dapat digunakan untuk inseminasi karena persentase spermatozoa abnormal semen domba diatas 25% menunjukkan fertilitas yang rendah (Toelihere, 1993).

Gerakan individu memiliki nilai progresif dan nilai 4 pada arah gerak yang menunjukkan bahwa spermatozoa maju kedepan dengan sangat cepat sedangkan untuk gerakan massa menunjukkan nilai positif tiga dimana terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, tebal dan aktif bergerak cepat berpindah-pindah tempat seperti awan hitam menjelang hujan deras (Susilowati dkk, 2010 dan Toelihere, 1993).

Hasil keseluruhan dari pemeriksaan makroskopis maupun mikroskopis pada semen domba tersebut dapat dikatakan sebagai semen segar yang baik dan memenuhi syarat untuk selanjutnya digunakan sebagai bahan penelitian.

4.2. Pemeriksaan Persentase Viabilitas Spermatozoa

Persentase viabilitas (daya hidup) spermatozoa dievaluasi dengan pewarnaan eosin negrosin dengan penilaian spermatozoa hidup ditandai oleh kepala berwarna putih (tidak menyerap warna) sedangkan kepala spermatozoa yang telah mati berwarna merah keunguan karena menyerap zat pewarna (Toelihere, 1993 ; Rizal dan Herdis, 2008).

Hasil uji ANOVA terhadap viabilitas spermatozoa domba menunjukkan bahwa terdapat perbedaan persentase kualitas pada kelompok perlakuan yang diberikan. Setelah mengetahui adanya perbedaan maka dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan's dengan tingkat signifikansi 5%.

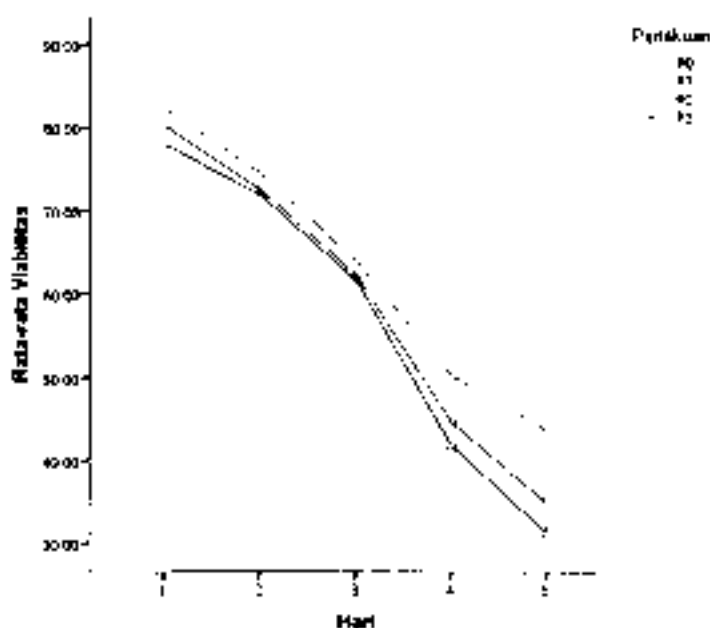
Pada hari pertama, keempat, dan kelima menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada masing-masing perlakuan ($p < 0,05$) yaitu P0 (kuning telur sirat 1:4) terhadap P1 (kuning telur sirat sirsak 1:1), P2 (kuning telur sirat sirsak 1:2), maupun P3 (sirsak sirat 1:4), begitu juga P1 terhadap P2 dan P2 terhadap P3. Pada hari kedua dan ketiga tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antara P0 dengan P3 sedangkan pada P1 terhadap P2 maupun P2 terhadap P3 terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Hal tersebut dijelaskan dalam tabel berikut.

Tabel 4.3. Rata-rata dan simpangan baku persentase viabilitas hari pertama sampai dengan hari kelima

Hari Ke	Perlakuan	Rataan $\pm$ Simpangan Baku
1	P0	80,20 ^b $\pm$ 1,510
	P1	82,23 ^c $\pm$ 1,145
	P2	84,17 ^d $\pm$ 0,941
	P3	78,00 ^a $\pm$ 0,673
2	P0	72,60 ^a $\pm$ 0,653
	P1	74,57 ^b $\pm$ 1,251
	P2	76,20 ^c $\pm$ 1,700
	P3	71,91 ^a $\pm$ 1,062
3	P0	62,26 ^a $\pm$ 0,914
	P1	63,91 ^b $\pm$ 0,747
	P2	65,02 ^c $\pm$ 1,368
	P3	61,68 ^a $\pm$ 0,575
4	P0	44,66 ^b $\pm$ 1,871
	P1	50,25 ^c $\pm$ 0,822
	P2	53,40 ^d $\pm$ 1,616
	P3	41,82 ^a $\pm$ 1,282
5	P0	34,91 ^b $\pm$ 1,792
	P1	43,71 ^c $\pm$ 1,615
	P2	46,28 ^d $\pm$ 1,569
	P3	31,34 ^a $\pm$ 0,727

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

Berdasarkan superskrip pada persentase viabilitas spermatozoa doncha bahwa secara keseluruhan (hari pertama sampai hari kelima) pada P2 (kuning telur sitrat sirsak 1:2) memberikan hasil persentase viabilitas tertinggi kemudian dilanjutkan dengan P1 (kuning telur sitrat sirsak 1:1), P0 (kuning telur sitrat 1:4), dan P3 (sirsak sitrat 1:4) sebagai persentase terendah. Analisis data penelitian yang dilakukan dari hari pertama hingga kelima juga disajikan dalam bentuk grafik berikut



Gambar 4.1. Grafik Viabilitas Spermatozoa Domba. Perlakuan pada kuning telur sirat (P0), kuning telur sirat sirsak 1:1 (P1), kuning telur sirat 1:2 (P2), dan sirsak sirat (P3).

Pada gambar 4.1 terlihat bahwa pada masing-masing perlakuan di hari pertama mengalami penurunan yang stabil, sedangkan pada hari kedua dan ketiga adanya signifikansi pada P0 dan P3. Signifikansi juga terjadi pada P1 dan P3 pada hari ketiga. Grafik penurunan pada P2 relatif stabil jika dibandingkan dengan P1, P2, dan P3.

4.3. Pemeriksaan Persentase Motilitas Spermatozoa

Persentase spermatozoa motil merupakan variabel paling utama dalam penentuan kualitas semen. Motilitas spermatozoa adalah spermatozoa yang bergerak ditempat, berputar-putar, dan maju mundur. Persentase motilitas

spermatozoa ditentukan dengan memperkirakan berapa persen spermatozoa bergerak ke depan dan berapa persen yang diam dan bergerak tapi tidak ke depan pada pengamatan dengan mikroskop perbesaran 400x (Rizal dan Herdis, 2008). Data yang diperoleh ditunjukkan dalam tabel berikut

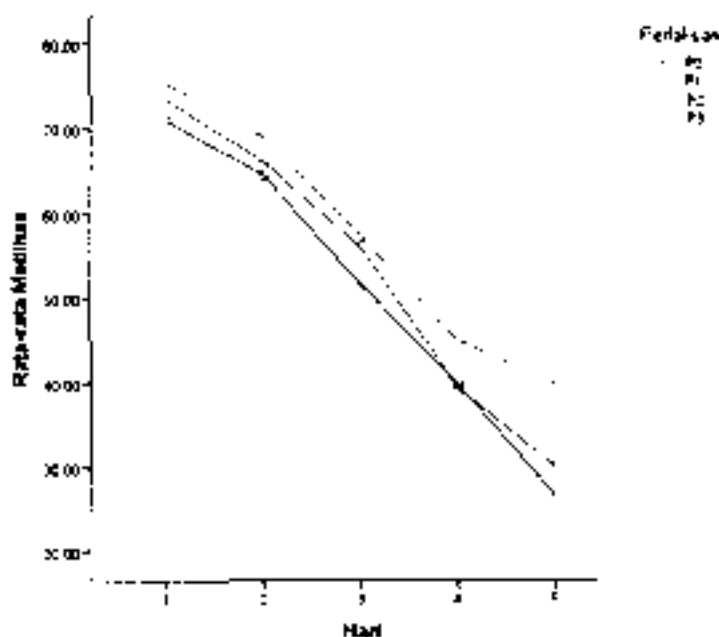
Tabel 4.4. Rata-rata dan simpangan baku persentase motilitas hari pertama sampai dengan hari kelima

Hari Ke	Perlakuan	Rataan $\pm$ Simpangan Baku
1	P0	73,43 ^b $\pm$ 1,812
	P1	75,43 ^c $\pm$ 1,511
	P2	77,85 ^d $\pm$ 1,345
	P3	71,00 ^a $\pm$ 1,154
2	P0	66,14 ^a $\pm$ 1,864
	P1	69,00 ^b $\pm$ 1,825
	P2	70,71 ^b $\pm$ 1,799
	P3	64,57 ^b $\pm$ 1,718
3	P0	56,14 ^b $\pm$ 1,345
	P1	57,43 ^{bc} $\pm$ 3,457
	P2	60,42 ^c $\pm$ 2,225
	P3	51,71 ^a $\pm$ 4,070
4	P0	39,43 ^b $\pm$ 1,511
	P1	45,00 ^b $\pm$ 2,081
	P2	50,28 ^c $\pm$ 5,056
	P3	39,82 ^a $\pm$ 0,828
5	P0	30,14 ^b $\pm$ 1,345
	P1	40,00 ^c $\pm$ 1,290
	P2	41,71 ^d $\pm$ 1,112
	P3	26,71 ^a $\pm$ 1,112

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

Hasil uji ANOVA terhadap motilitas spermatozoa domba menunjukkan bahwa terdapat perbedaan persentase kualitas pada kelompok perlakuan yang diberikan. Setelah mengetahui adanya perbedaan maka dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan's dengan tingkat signifikansi 5%.

Pada uji ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan ($p > 0,05$) di hari pertama dan hari kelima pada P0 (kuning telur sitrat 1:4) terhadap P1 (kuning telur sitrat sirsak 1:1), P2 (kuning telur sitrat sirsak 1:2), maupun P3 (sirsak sitrat 1:4). Pada hari kedua P0 dan P3 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) begitu juga P1 dan P2 sedangkan P0 dengan P1 dan P2 berbeda nyata ($p < 0,05$) begitu pula P3 dengan P1 dan P2. Pada hari ke tiga P0 tidak berbeda nyata dengan dengan P1 namun berbeda nyata dengan P2 dan P3, sedangkan P2 tidak berbeda nyata dengan P2 namun berbeda nyata dengan P3, dan pada P2 berbeda nyata dengan P3. Pada hari keempat P0 tidak berbeda nyata dengan P3 namun berbeda nyata dengan P1 dan P2, sedangkan pada P1 tidak berbeda nyata dengan P2 dan P3, dan pada P2 berbeda nyata dengan P3.



Gambar 4.2. Grafik Motilitas Spermatozoa Domba. Perlakuan pada kuning telur sitrat (P0), kuning telur sitrat sirsak 1:1 (P1), kuning telur sitrat 1:2 (P2), dan sirsak sitrat (P3).

Berdasarkan superskrip pada persentase motilitas spermatozoa domba bahwa secara keseluruhan (hari pertama sampai hari kelima) pada P2 (kuning telur sitrat sirsak 1:2) memberikan hasil persentase motilitas tertinggi kemudian dilanjutkan dengan P1 (kuning telur sitrat sirsak 1:1), P0 (kuning telur sitrat 1:4), dan P3 (sirsak sitrat 1:4) sebagai persentase terendah. Analisis data penelitian juga disajikan dalam bentuk grafik. Pada grafik tersebut terlihat bahwa pada masing-masing perlakuan di hari pertama dan kedua mengalami penurunan yang stabil, sedangkan pada hari ketiga dan keempat terdapat adanya signifikansi pada P1 dan P0. Grafik penurunan pada P2 relatif stabil jika dibandingkan dengan P1, P2, dan P3.

4.4. Pemeriksaan Persentase Membran Plasma Uter Spermatzoa

Ketahanan membran plasma merupakan pengukuran integritas membran plasma sel yang memiliki prinsip hampir sama dengan evaluasi terhadap persentase spermatozoa hidup sehingga nilai persentase membran plasma utuh hampir sama dengan persentase spermatozoa hidup. Persentase membran plasma utuh dapat dievaluasi dengan metode *hypoosmotik swelling (HOS) test*. Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor melingkar atau menggembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor yang lurus (Solihati, 2008 ; Rizal dan Heradis, 2008).

Hasil uji ANOVA terhadap motilitas spermatozoa domba menunjukkan bahwa terdapat perbedaan persentase kualitas pada kelompok perlakuan yang

diberikan. Setelah mengetahui adanya perbedaan maka dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan's dengan tingkat signifikansi 5%.

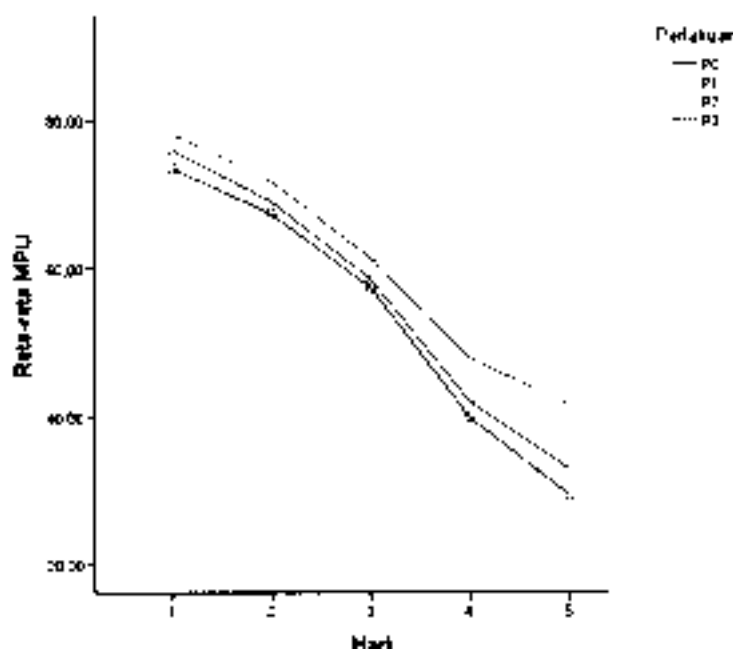
Uji Jarak Berganda Duncan's menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata masing-masing perlakuan ($p < 0,05$) dari hari pertama hingga hari kelima pada P0 (kuning telur sitrat 1:4) terhadap P1 (kuning telur sitrat sirsak 1:1), P2 (kuning telur sitrat sirsak 1:2), maupun P3 (sirsak sitrat 1:4). begitu juga P1 terhadap P2 dan P2 terhadap P3. Data yang diperoleh ditunjukkan dalam tabel berikut.

Tabel 4.5. Rata-rata dan simpangan baku persentase membran plasma utuh hari pertama sampai dengan hari kelima

Hari Ke	Perlakuan	Rataan + Simpangan Baku
1	P0	76,00 ^a ± 1,194
	P1	78,20 ^b ± 1,051
	P2	80,22 ^c ± 0,867
	P3	73,48 ^d ± 1,199
2	P0	68,94 ^a ± 1,231
	P1	71,74 ^b ± 1,504
	P2	73,42 ^c ± 1,630
	P3	67,31 ^d ± 1,305
3	P0	58,54 ^a ± 0,943
	P1	61,34 ^b ± 0,928
	P2	63,08 ^c ± 1,215
	P3	57,37 ^d ± 0,975
4	P0	41,97 ^a ± 1,128
	P1	47,88 ^b ± 1,210
	P2	51,22 ^c ± 2,170
	P3	39,82 ^d ± 0,828
5	P0	32,91 ^a ± 1,754
	P1	41,51 ^b ± 1,672
	P2	44,17 ^c ± 1,348
	P3	29,31 ^d ± 0,999

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

Berdasarkan superskrip pada persentase motilitas spermatozoa domba bahwa secara keseluruhan (hari pertama sampai hari kelima) pada P2 (kuning telur sitrat sirsak 1:2) memberikan hasil persentase motilitas tertinggi kemudian dilanjutkan dengan P1 (kuning telur sitrat sirsak 1:1), P0 (kuning telur sitrat 1:4), dan P3 (sirsak sitrat 1:4) sebagai persentase terendah. Analisis data penelitian yang dilakukan dari hari pertama hingga kelima juga disajikan dalam bentuk grafik berikut.



Gambar 4.3. Grafik Membran Plasma Utuh Spermatozoa Domba. Perlakuan pada kuning telur sitrat (P0), kuning telur sitrat sirsak 1:1 (P1), kuning telur sitrat 1:2 (P2), dan sirsak sitrat (P3).

Pada gambar 4.3 terlihat bahwa pada masing-masing perlakuan di hari pertama dan kedua mengalami penurunan yang stabil, sedangkan pada hari keempat dan kelima terjadi penurunan yang sangat pesat pada P0 dan P3. Grafik penurunan pada P2 relatif stabil jika dibandingkan dengan P1, P2, dan P3.



Gambar 4.4. Spermatozoa dengan membran plasma utuh (a) dan rusak (b)
(Dokumentasi Penulis)

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

5.1. Analisis Kualitas Semen Sebelum Perlakuan

Pengolahan semen merupakan suatu upaya untuk mengoptimalkan daya guna potensi reproduksi jantan (spermatozoa) dalam proses produksi ternak, salah satu rangkaian kegiatan dalam proses pengolahan semen adalah evaluasi semen. Evaluasi tersebut dilakukan untuk mengetahui kualitas semen yang akan dijadikan dasar dalam penentuan kelayakan prosesnya lebih lanjut dan pemenuhan syarat untuk dimanfaatkan dalam program inseminasi buatan. Selain itu, dengan mengetahui kualitas semen segar hasil koleksi, dapat ditentukan kadar pengenceran yang dibutuhkan (Rizal dan Herdis, 2008).

Pemeriksaan semen yang dilakukan meliputi pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, konsistensi, warna, bau, dan derajat keasaman. Sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi gerak massa, gerak individu atau motilitas, konsentrasi, persentase hidup atau mati, persentase abnormal (Anggraeni dkk, 2004).

Evaluasi hasil pemeriksaan makroskopis secara umum menunjukkan bahwa semen memiliki kualitas yang baik. Volume semen perejakulasi dari 7 kali penampungan berkisar antara 1 ml sampai 2 ml, hal ini sesuai dengan volume semen domba normal yaitu 0,5-2 ml perejakulasi. Warna semen segar yang diperoleh dari pemeriksaan awal adalah normal yaitu berwarna putih susu atau krem. Semen yang memiliki warna krem keputihan memiliki konsistensi yang

pekat sehingga menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa tinggi (Susilowati dkk, 2010).

Semen dari beberapa spesies hewan secara normal memiliki bau tertentu begitu pula sperma domba memiliki bau yang spesifik (khas) sesuai dengan bau cairan dari kelenjar pelengkap domba tersebut. Pada hasil pemeriksaan derajat keasaman (pH) memberikan nilai berkisar antara 6-7. Hal tersebut sesuai dengan pH domba yang memiliki angka kesuburan tinggi antara 5,9-7,0. Semen yang memiliki pH alkalis umumnya banyak mengandung sel-sel spermatozoa yang mati, sedangkan pada pH asam yang berlangsung terlalu lama akibat penumpukan asam laktat juga dapat bersifat racun pada spermatozoa. Sehingga pH pengencer sebaiknya bersifat buffer atau memiliki derajat keasaman yang sesuai. (Susilowati dkk, 2010 ; Hardijanto, dkk, 2010).

Kualitas semen segar secara mikroskopis telah memenuhi persyaratan standar pejantan domba ekor gemuk untuk ditampung sebagai semen beku yaitu konsentrasi spermatozoa memiliki konsentrasi spermatozoa menunjukkan nilai normal antara 1500-3000 juta/ml, gerakan masa +++ dan spermatozoa hidup progresif $\geq 80\%$ dengan kecepatan 4 atau sangat cepat (Anggracny dkk, 2004).

5.2. Analisis Kualitas Semen Setelah Perlakuan

5.2.1. Viabilitas Spermatozoa

Penentuan penilaian daya hidup spermatozoa adalah berdasarkan banyaknya jumlah spermatozoa yang tidak menyerap zat warna eosin negrosin. Spermatozoa yang mati dapat menyerap zat pewarna sehingga sel terutama kepala

berwarna merah keunguan karena membran plasma sel spermatozoa yang sudah mati tidak lagi berfungsi. Persentase viabilitas spermatozoa merupakan salah satu indikator untuk menilai baik dan buruknya kualitas semen, maka semakin tinggi persentase hidup maka semakin baik pula kualitas semen tersebut dan sebaliknya (Rizal dan Herdis, 2008).

Evaluasi pemeriksaa terhadap viabilitas spermatozoa domba menunjukkan bahwa penurunan hidup spermatozoa domba ekor gemuk mulai terjadi pada hari kedua pada masing-masing perlakuan (Lampiran 4). Terdapat perbedaan yang nyata pada hari pertama, keempat, dan kelima diantara perlakuan dengan tingkat persentase tertinggi pada penggunaan pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:2). Sementara pada hari kedua dan ketiga tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pengencer kuning telur sitrat (1:4) dan pengencer sirsak sitrat (1:4). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:1), kuning telur sitrat sirsak (1:2), maupun sirsak sitrat (1:4) dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa. Namun hanya pada pengencer kuning telur sirsak sitrat (1:1 maupun 1:2) saja yang dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa hingga hari kelima (>40%). Sehingga pada setiap perlakuan memiliki daya hidup yang baik pada hari pertama hingga ketiga dan terjadi penurunan yang drastis pada hari keempat dan kelima.

Daya hidup pada pengencer kuning telur sitrat maupun pengencer sirsak sitrat hanya mencapai 40% sampai hari keempat, berbeda dengan pengencer kuning telur sirsak sitrat (1:1 maupun 1:2) yang dapat mencapai daya hidup 40% pada hari kelima. Meski begitu pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:2) memiliki

daya hidup tertinggi untuk dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa domba pada hari pertama (84,17%) hingga hari kelima (46,28%) dibandingkan pengencer yang lain. Jika dibandingkan dengan penelitian Qomariyah dkk (2001) pada sistem kombinasi yang sama, maka hasil yang diperoleh pada penelitian ini adalah lebih tinggi. Qomariyah dkk (2001) memperoleh daya tahan hidup spermatozoa domba Priangan yang disimpan pada bahan pengencer air kelapa yang mengandung 25% kuning telur adalah ± 3 hari. Perbedaan ini diduga karena adanya perbedaan jenis hewan yang digunakan.

Menurut uraian tersebut maka semen domba yang diencerkan menggunakan bahan pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:2) dengan perbandingan 1:2 menunjukkan hasil yang paling baik sehingga dapat dikatakan bahwa kandungan sirsak sebanyak 68% dapat menggantikan kandungan bahan yang terdapat pada kuning telur. Hal ini disebabkan karena tersedianya cukup energi serta kandungan yang saling melengkapi antara keduanya yang dapat memenuhi kebutuhan semen selama penyimpanan pada suhu 5° hingga lima hari.

Kuning telur memiliki protein dan lemak yang dapat membentuk lipoprotein dan bertindak sebagai lapisan pelindung pada sel spermatozoa domba akibat cold shock. Karbohidrat pada kuning telur hanya sebanyak 0.6 gram per 100 gram telur ayam dibanding dengan karbohidrat dari sirsak yang mencapai 16,3 gram per 100 gram dengan kadar gula pereduksi (glukosa dan fruktosa) sebanyak 81,9 – 93,6 % dalam gula total sehingga sirsak adalah dapat berperan aktif sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup spermatozoa dibanding kuning telur (Rahima, 2011 ; Hardijanto dkk, 2010). Vitamin yang paling

dominan pada buah sirsak adalah vitamin C, yaitu sekitar 20 mg per 100 gr yang berfungsi sebagai antioksidan dimana pemberian antioksidan dapat menghambat peroksidasi asam lemak tak jenuh majemuk sehingga lipid membran meningkat dan mengakibatkan integritas struktural dan fungsional membran spermatozoa meningkat, hal tersebut menyebabkan persentase hidup spermatozoa juga meningkat (Subratha, 1998).

Jumlah fruktosa maupun glukosa dalam gula total dari sari buah sirsak seimbang sehingga pada saat lipoprotein dari kuning telur yang digunakan sebagai cold shock spermatozoa telah habis, saat itu pula hasil pemecahan energi dari glukosa dan fruktosa sari buah sirsak telah siap digunakan untuk membentuk pertahanan membran plasma spermatozoa. Selain itu derajat keasaman pada kuning telur sitrat sirsak (1:2) adalah 6,8 hal ini terjadi karena adanya sitrat sebagai buffer dalam menyeimbangkan pH dan juga merupakan faktor penting untuk mempertahankan agar pH semen tetap netral dan mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa (Hardijanto, 2010).

Pada perlakuan yang ditambah bahan pengencer kuning telur sitrat maupun sirsak sitrat menunjukkan hasil yang kurang baik karena komposisi kandungan yang saling berdiri sendiri sehingga hanya mampu mempertahankan hidup sampai hari ketiga dan mengalami penurunan yang drastis pada hari keempat dan kelima. Kuning telur yang memiliki kandungan karbohidrat yang rendah sebagai sumber protein serta sirsak yang mengandalkan karbohidrat dengan sedikit lemak dan protein diduga sebagai penyebab tidak manupunya

spermatozoa untuk mempertahankan hidup dibanding pengencer dengan komposisi keduanya.

Kuning telur memiliki glukosa yang rendah dibandingkan hasil tertinggi pada penelitian ini, sementara itu untuk memperoleh energi, dua molekul ATP akan dihasilkan dari setiap molekul glukosa yang diubah menjadi dua molekul laktat. Tidak ada pembentukan NADH netto. Glikolisis anaerob, meskipun hanya sedikit melepaskan fraksi energi yang terkandung di dalam molekul glukosa, tetap merupakan sumber energi yang berharga pada beberapa kondisi (Champe P.C dkk. 2010).

Berbeda dengan bahan pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:1) pada perlakuan 1 yang menunjukkan hasil cukup baik karena dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa hingga lima hari. Namun substitusi dari pengencer tersebut yang hanya mampu mengganti peranan kuning telur sebanyak 50% belum terpenuhi dibanding dengan substitusi sirsak sebanyak 68% pada perlakuan 2.

5.2.2. Motilitas Spermatozoa

Motilitas merupakan salah satu acuan dalam penilaian kualitas semen beku, karena mudah dan cepat ditentukan. Daya gerak progresif (motilitas) mempunyai peranan penting untuk keberhasilan fertilisasi. Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh spesies ternak, kondisi medium dan suhu lingkungan. Motilitas spermatozoa yang baik dinilai dengan melihat kecepatan dan arah gerak dari spermatozoa tersebut (Toelihere, 1993).

Pada penelitian ini terjadi penurunan motilitas spermatozoa pada setiap tahap proses pembuahan semen beku. Waktu yang diperlukan pada setiap tahap pada proses pembekuan semen berkorelasi negatif dengan motilitas kemampuan hidup spermatozoa (Toelihere, 1993). Hasil evaluasi menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada hari pertama dan hari kelima antara perlakuan satu dengan yang lain kemudian dihari kedua penggunaan pengencer kuning telur sitrat dan sirsak sitrat tidak berbeda nyata, begitu juga pengencer kuning telur sitrat sirsak dengan perbandingan 1:1 dan 1:2. Sementara pada hari ketiga hanya pada penggunaan pengencer kuning telur sitrat dan kuning telur sirsak sitrat yang tidak berbeda nyata begitu juga pada hari keempat hanya pada pengencer kuning telur sitrat dan sirsak sitrat yang tidak berbeda nyata (Lampiran 5). Hal tersebut menunjukkan bahwa adanya perubahan yang signifikan antara perlakuan yang satu dengan yang lain pada hari pertama hingga kelima untuk dapat mempertahankan motilitas spermatozoa.

Pengencer kuning telur sitrat dan sirsak sitrat yang dicampur dengan semen dengan perbandingan 1:10 dapat mempertahankan motilitas spermatozoa domba hingga hari ketiga, sementara pada hari keempat dan kelima mengalami penurunan yang drastis. Spermatozoa yang dapat dipertahankan hingga hari keempat adalah pada penggunaan pengencer kuning telur sitrat sirsak 1:1 dan 1:2, namun pada hari kelima mengalami penurunan yang drastis. Perlakuan yang memberikan hasil terbaik adalah pengencer kuning telur sitrat sirsak 1:2.

Hasil penelitian ini cenderung lebih baik dibandingkan dengan hasil penelitian sejenis yang pernah dilakukan. Motilitas progresif spermatozoa yang

diencerkan dengan Tris + 20% kuning telur; 80% ekstrak melon + 20% kuning telur; dan 60% ekstrak melon + 40% kuning telur yang disimpan pada suhu 5° C dan dievaluasi 3 hari setelah pengenceran dan penyimpanan dilaporkan berturut-turut 51,56±6,06; 43.33±4,08; dan 45.83±4,92% (Herdis dkk, 2003).

Substitusi sirsak sebanyak 68% pada pengencer kuning telur sitrat (P2) memberikan hasil terbaik karena adanya bahan pelindung yang dimiliki oleh kuning telur yaitu berupa bahan seperti lipoprotein dan lesitin yang melindungi integritas sel lipoprotein sel spermatozoa mengingat bahwa pada penelitian ini spermatozoa disimpan pada suhu 5° yang mengakibatkan shock pada spermatozoa selama proses pengenceran. Tingginya karbohidrat pada sirsak (16,3/100 gram) dapat berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler. Menurut Rizal dan Herdis (2008) pemakaian beberapa jenis karbohidrat monosakarida, seperti glukosa dan fruktosa telah lazim dipakai sebagai dalam proses pembekuan semen, senyawa krioprotektan ekstraseluler tidak dapat masuk ke sel spermatozoa karena larut dalam lemak sebagai penyusun utama membran plasma sel dan memiliki berat molekul besar sehingga senyawa tersebut melindungi sel dari luar.

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 penumpukan asam laktat akan terus terjadi akibat pemecahan dalam bentuk ATP pada reaksi anacrob sehingga akan menurunkan pH serta bersifat racun pada spermatozoa. Terlebih pada saat penyimpanan suhu rendah, metabolisme sel spermatozoa hanya

dapat dikurangi, namun tidak dapat dihentikan sama sekali sehingga tetap membutuhkan adanya sumber energi dan zat pelindung membran yang berasal dari pengencer. Kemudian hal tersebut mempengaruhi tekanan osmotik medium dan menyebabkan penurunan presentase motilitas progresif spermatozoa (Evan dan Maxwell, 1998).

Kandungan buah sirsak yang rendah akan lemak juga memudahkan spermatozoa untuk dilakukan pengamatan terhadap motilitas dan pergerakan spermatozoa sehingga terlihat sangat jelas. Vitamin C yang terkandung dalam sirsak merupakan ko-faktor atau ko-substrat untuk beberapa reaksi enzimatik pada jalur biosintesis *carnitine* yang sangat penting untuk sintesa ATP melalui oksidasi asam lemak di mitokondria (Papax, 1999).

Motilitas spermatozoa dapat dipertahankan hingga hari kelima ($\geq 40\%$) menggunakan pengencer yang memiliki kandungan kuning telur dan sirsak dibanding pengencer dengan salah satu kandungan saja. Hal tersebut tampak pada perlakuan 0 (pengencer kuning telur sitrat) dan perlakuan 3 (pengencer sirsak sitrat) yang mampu mempertahankan spermatozoa hanya sampai pada hari keempat.

5.2.3. Membran Plasma Uter Spermatozoa

Keutuhan membran plasma menentukan hidup dan matinya spermatozoa sehingga nilai persentase spermatozoa tidak berbeda jauh dengan nilai persentase spermatozoa hidup. Penilaian membran plasma utuh berdasarkan banyaknya jumlah ekor yang melingkar setelah diberikan larutan IOS test dengan dasar metode hukum osmosis (Solihati, 2008).

Penurunan persentase membran plasma utuh mulai terjadi pada hari kedua pada tiap-tiap perlakuan dan memiliki nilai persentase yang berbeda nyata hingga hari kelima. Hal tersebut menunjukkan kemampuan masing-masing pengencer dalam mempertahankan membran plasma utuh adalah berbeda. Persentase yang tertinggi diperoleh pada pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:2) dilanjutkan dengan pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:1), kemudian pengencer kuning telur sitrat dan persentase terendah pada pengencer sirsak sitrat (Lampiran 6).

Terdapat korelasi positif (lampiran 10) antara persentase membran plasma utuh dengan persentase sebelumnya yaitu viabilitas dan motilitas yang juga memiliki persentase tertinggi pada pengencer kuning telur sitrat sirsak. Hal ini menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa sangat dipengaruhi oleh tingkat keutuhan membran plasma. Semakin tinggi nilai persentase membran plasma utuh semakin tinggi pula nilai persentase spermatozoa motil.

Motilitas (daya gerak) spermatozoa sangat tergantung pada suplai energi berupa ATP hasil metabolisme. Metabolisme sendiri akan berlangsung dengan baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan utuh sehingga mampu dengan baik mengatur lalu lintas masuk keluarnya sel semua senyawa (substrat) dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Ini terjadi karena didalam membran plasma sel terdapat banyak makromolekul berupa protein, lipoprotein, glikoprotein, dan lain-lain yang berfungsi sebagai enzim, reseptor, saluran, atau pembawa. Selain itu, membran plasma sel juga berfungsi melindungi organel-organel yang terdapat didalam sel dari kerusakan secara

mekanik, termasuk vesikel akrosom yang berada tepat dibawah membran plasma sel didaerah ujung kepala spermatozoa (Rizal dan Herdis, 2008).

Pada pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:2) terdapat substitusi sirsak sebanyak 68% pada kuning telur menghasilkan persentase terbaik dalam mempertahankan membran plasma. Baik dari kuning telur maupun sirsak telah memberikan perlindungan pada membran plasma spermatozoa melalui lipoprotein yang dibentuk dari lemak dan protein. Susilowati dan Hermawati (1993) menyatakan bahwa bahan pengencer ekstrak buah seperti pisang, tomat, dan pepaya mengandung protein dan lemak yang mencukupi sehingga memungkinkan membentuk lipoprotein.

Pemecahan dari fruktosa maupun glukosa dalam sari buah sirsak juga dapat melindungi membran plasma spermatozoa mengingat bahwa gula dapat melindungi membran plasma sel spermatozoa karena pada bagian luar membran plasma sel terdapat karbohidrat yang berikatan dengan lipid (glikolipid) atau protein (glikoprotein) yang disebut selubung sel atau glikokaliks. Diasumsikan bahwa gula yang ditambahkan di dalam pengencer akan berasosiasi dengan karbohidrat tersebut sehingga terlindungi dari kerusakan secara mekanik selama proses kriopreservasi. Walaupun karbohidrat yang ada pada membran plasma sel spermatozoa tersebut rusak selama proses kriopreservasi, diharapkan gula yang ditambahkan di dalam pengencer dapat menjadi pengganti sehingga struktur selubung sel tetap utuh. (Subowo, 1995; Rizal dkk, 2006).

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pemberian bahan pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:2) meningkatkan persentase viabilitas, motilitas, dan membran plasma utuh spermatozoa domba dengan hasil persentase tertinggi.
2. Pemberian bahan pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:1) dan kuning telur sitrat dapat meningkatkan persentase viabilitas, motilitas, dan membran plasma utuh spermatozoa domba dengan hasil persentase tertinggi kedua dan ketiga setelah pengencer kuning telur sitrat sirsak (1:2).
3. Pemberian sirsak sitrat tanpa kuning telur menyebabkan penurunan persentase viabilitas, motilitas, dan membran plasma utuh spermatozoa domba

6.2. Saran

1. Penggunaan sari buah sirsak dengan kriteria pada penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan pengencer.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai keragaman jenis serta bahan aktif dalam komposisi sirsak sebagai bahan pengencer.

RINGKASAN

RINGKASAN

Perkembangan populasi domba tidak sejalan dengan meningkatnya permintaan akan domba dan perkembangan populasi penduduk. Inseminasi buatan (IB) adalah suatu teknologi mutakhir yang diciptakan manusia guna meningkatkan produktivitas dan reproduktivitas ternak. Pemilihan jenis pengencer merupakan aspek penting dalam pelaksanaan program IB.

Kuning telur telah lama dipergunakan sebagai bahan pengencer semen. Namun kuning telur memiliki kandungan karbohidrat yang rendah dibanding komposisi lemak dan proteinnya yang tinggi. Sementara sirsak merupakan buah dengan kandungan karbohidrat yang tinggi sehingga diharapkan dengan substitusi sari buah sirsak dalam pengencer kuning telur sitrat dapat memberikan komposisi yang tepat sebagai bahan pengencer yang baik mengingat bahwa salah satu syarat bahan pengencer adalah sebagai sumber energi dan melindungi dari pengaruh *cold shock*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan persentase viabilitas, motilitas, dan membran plasma utuh spermatozoa domba ekor gemuk setelah diencerkan menggunakan berbagai konsentrasi sari buah sirsak pada substitusi kuning telur sitrat dibandingkan dengan bahan pengencer kuning telur sitrat. Sampel penelitian yang digunakan adalah semen yang berasal dari domba jantan dewasa jenis domba ekor gemuk. Pengambilan semen dilakukan dua kali dalam seminggu. Semen tersebut dibagi ke dalam empat perlakuan pengencer yaitu Kuning telur sitrat 1:4 (KTS), KTS + sirsak 1:1, KTS + sirsak 1:2, Sirsak sitrat 1:4

(SS). Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan ulangan sebanyak 7 kali pada masing-masing perlakuan. Data di analisis menggunakan *Analysis of Variant* (ANOVA), jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan's.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase viabilitas spermatozoa pada hari kelima menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) yaitu KTS ($34,91 \pm 1,792$) terhadap KTS + sirsak 1:1 ($43,71 \pm 1,615$), KTS + sirsak 1:2 ($46,28 \pm 1,569$), maupun SS ($31,34 \pm 0,727$). Begitu juga pada persentase motilitas pada hari kelima KTS + sirsak 1:2, KTS + sirsak 1:1, KTS, dan SS berturut-turut adalah $41,71 \pm 1,112$, $40,00 \pm 1,290$, $32,91 \pm 1,754$, dan $29,31d \pm 0,999$ dengan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) pada masing-masing perlakuan. Persentase membran plasma utuh dalam KTS sebesar $32,91 \pm 1,754$ berbeda nyata pada perlakuan yang lain yaitu KTS + sirsak 1:1 ($41,51 \pm 1,672$), KTS + sirsak 1:2 ($44,17 \pm 1,348$), dan SS ($29,31 \pm 0,999$). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa KTS, KTS + sirsak 1:1 maupun KTS + sirsak 1:2 dapat meningkatkan persentase kualitas spermatozoa hingga hari kelima dengan hasil persentase tertinggi pada KTS + sirsak 1:2 dan disarankan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komposisi buah sirsak sebagai bahan pengencer.

DAFTAR PUSTAKA

- Aires V.A., K.D. Hinsich, F.M. Schloessser, K.Bogner, S.M. Schloesser and E.Hinsich, 2003. In Vitro and In Vivo comparison of egg yolk-based and soybean lecithin based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology* 60 (2): 269-279.
- Anggraeny., Y.N., L. Affandhy., A. Rasyid. 2004. Efektifitas Substitusi Tris-sitrat dan Kolesterol Menggunakan Air Kelapa dan Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Potong. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Benbest, 2007. General AntiOxidant Actions. <http://www.benbest.com> [5 Februari 2013].
- Champe, P.C., R.A . Harvey, D.R. Ferrier. 2011. Biokimia Ulasan Bergambar Edisi 3. ECG: Jakarta.
- Chemelmel. 2004. Wanita dan Keluarga. <http://www.blogger.com> [30 Februari 2012].
- Departemen Pertanian. 2003. Pengembangan Industri Benih dan Bibit Peternakan di Indonesia. Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan Direktorat Perbibitan. Jakarta.
- Erlangga. E. 2012. Meraup Untung dari Penggemukan Domba. Pustaka Agro Mandiri. Tangerang Selatan.
- Evans, G. And W.M.C. Maxwell. 1987. Salomon Artificial Insemination of Sheep and Goat. Department of Animal Husbandry. Sydney. 85-141.
- Feradis. 2010. Reproduksi Ternak. Alfabeta. Bandung. 3-11.
- Getenby, M.T. 1991. Sheep. Australia Publishing Company. Australia. 4-6.
- Hardijanto, S. Susilowati, T. Hernawati, T. Sardjito, T.W. Suprayogi. 2010. Buku Ajar Inseminasi Buatan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Hardijanto dan S. Hardjopranjoto. 1994. Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas airlangga. Surabaya.
- Herdis., M.R. Toelithere., I. Supriatna., B. Purwantara., R.T.S. Adikara. 2005. Optimalisasi Kualitas Semen Cair Domba Garut (*Ovis Aries*) melalui Penambahan Maltosa ke dalam Pengencer Semen Tris Kuning Telur. *Media Kedokteran Hewan*. 21(2): 88-93

- Herdis, Yulnawati, dan M.A. Setiadi. 2003. Pemanfaatan sari buah melon sebagai media pengencer semen cair alternatif spermatozoa domba Garut. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 5(5):126-131.
- Heriyadi D. 2008. Domba dan Kambing di Indonesia, Potensi, Masalah, dan Solusi. *Majalah Trobos*. Volume 8. Nomor 101.
- Hernadi, A.H. 1992. Daya Fertilisasi Spermatozoa Domba dalam Pengencer Sari Buah Pisang Sitrat dengan Pengujian Metoda Flushing Embryo. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ismudiono., P. Srianto., H. Anwar., S.P Madyawati., A. Samik., E. Safitri. 2010. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya. 11-13, 17-24.
- Khabib, M., T.W. Suprayogi, H. Tjitro. 2008. Pengaruh Penambahan Vitamin C dalam Diluter Ringer's Fruktosa Terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ayam Buras (*Gallus Domesticus*). *Journal of Poultry Diseases*. 1(1):12-18.
- Kusningrum. 2008. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Kusumaningrum D. A., P. Situmorang, A. R. Setioko, T. Sugiarti, E. Triwulanningsih Dan R. G. Sianturi. 2002. Pengaruh Jenis Dan Aras Krioprotektan Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Entog. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner (JITV)*, 7(4): 244-250
- Mulyono, S. dan B. Sarwono. 2004. Beternak Domba Profilik. Cetakan 1. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nalbandov, A.V. 1990. Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Edisi ke-3. Universitas Indonesia. Jakarta. 4-11.
- Nugroho, A.W., T. Sardjito, R. Bijanti. 2008. Kulits Air Mani itik Manila (*Cairina moschata*) pada Berbagai Perbandingan Pengencer Air Kelapa Mud Plus Kuning Telur. *Journal of Poultry Diseases*. 1(1):36-44.
- Ondo, Y.S., M.I.S. Wuwuh., Sutopo., D. Samsudewa., A. Suryawijaya. 2008. Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Dombos Texel di Kabupaten Wonosobo. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Semarang. 416-420.
- Papas, A.M. 1999. Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health. CRC Press LLC. Florida. 159-180.
- Partodihardjo, S. 1980. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara. Jakarta.

- Pramono, D dan T.R. Tagama. 2008. Pengaruh Penambahan Adenosin Triphosphat Kedalam Pengencer Semen terhadap Kualitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk. *Jurnal Animal Production*, 10(3).
- Purbowati, E. 2009. Usaha Penggemukan Domba, Penobar Swadaya. Semarang.
- Purwitasari, Y. 2011. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Domba dalam Pengencer Susu Skim, Kacang Hijau, serta Kombinasi Susu Skim dan Kacang Hijau [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.
- Qomariyah, S. Mihardja, dan R. Idi. 2001. Pengaruh Kombinasi Kuning Telur dengan Air Kelapa terhadap Daya Tahan Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Domba Priangan pada Penyimpanan 5°C. *Prosidi. Seminar nasional Peternakan dan Veteriner*. Bogor. 172-177.
- Rahima, E. 2011. Menyembuhkan Kanker dengan Daun Sirsak. *Artis Pustaka*. Yogyakarta.
- Rahmandari, D.A. 2009. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Itik Manila (*Cairina moschata*) pada Berbagai Kadar Fruktosa dalam Pengencer Susu Skim [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Rizal, M., Herdis, A. Boddiono, A.S. Aku, Yulhawati. 2006. Peranan Beberapa Jenis Gula dalam Meningkatkan Kualitas Semen Beku Domba Garut. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner*. Volume 11. Nomer 2. Halaman 123-130.
- Rizal, M. dan Herdis. 2008. *Inseminasi Buatan pada Domba*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Sahlaini, E. 2008. Motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa sapi frisian holstein dalam pengencer sari buah melon sitrat [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.
- Salisbury, G.W and N.L. Van Denmark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 566-590.
- Sanjaya, A. 2012. Domba Ekor Gemuk. <http://situs-peternakan.blogspot.com>. [5 Februari 2013].
- Situmorang, P. 2002. Pengaruh Kolesterol Terhadap Daya Hidup dan Fertilitas Spermatozoa Sapi. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner*. 7(4): 251-258.
- Sotiharti, N. Ruhijat I., Siti D.R., Rizal M., Fitriati., 2008. Kualitas Spermatozoa Cauda Epididimis Sapi Peranakan Ongol (PO) dalam Pengencer Susu, Tris dan Sitrat Kuning Telur pada Penyimpanan 4-5°C. *Jurnal Animal Production*. 10(1): 22-29.
- Subowo. 1995. *Biologi Sel*. Bandung: Angkasa.

- Subratha, I.M. 1998. Pemberian Fosfolipid Esensial dan Antioksidan (Vit. E) Meningkatkan Integritas Membran Spermatozoa. Disertasi. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.
- Susilowati S, Hardijanto, T.W. Suprayogi, T. Sardjito, T. Hernawati. 2010. Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Airlangga University Press. Surabaya. 11-22, 29-33.
- Susilowati, S dan Hernawati, T. 1989. Sari Buah sebagai Diluter Air mani Domba (Suatu Study Pendahuluan). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Tambing, S.N., I.K. Utama, R.I. Arifiantini. 2003. Efektivitas Berbagai Konsentrasi Laktosa dalam Pengencer Tris terhadap Viabilitas Semen Cair Kambing Saanen. Jurnal Ilmu Ternak Veteriner. 8(2):84-90.
- Toelihere, 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Trisna, R.Z. 2012. Pengaruh Bahan Pengencer Kacang Kedelai Terhadap Motilitas dan Membran Plasma Uter Spermatozoa Domba [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Wodzicka, M, I.K. Utama, I. G. Putu, T.G. Chaniago. 1991. Reproduksi, Tingkah laku dan Produksi Ternak Di Indonesia. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Yuki. 2012. Anatomi Organ Reproduksi. <http://www.masterternak.blogspot.com> [5 Februari 2013].

LAMPIRAN

Lampiran 1. Teknik Pemeriksaan Makroskopis Semen

Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, konsistensi, warna, bau, dan derajat keasaman. Adapun penjelasannya sebagai berikut

a. Volume semen

Besar volume semen dapat ditentukan menggunakan tabung yang berskala, dapat ditentukan besar volume semen yang diperoleh dari setiap ejakulasi

b. Konsistensi semen

Konsistensi (kekentalan) dapat dilakukan dengan cara mengamati cairan yang menempel pada dinding tabung pada saat tabung dimiringkan dan ditegakkan kembali. Bila terlihat bintik kecil yang banyak yang seolah berdesakan turun ke bawah perlahan-lahan, maka semen tersebut dikatakan pekat/kental. Sedangkan bila semen encer maka tidak terdapat cairan yang membekas pada dinding tabung, hal tersebut menunjukkan bahwa kadar spermatozoa rendah

c. Warna semen

Warna semen biasanya dapat berubah menjadi merah karena tercemar darah, hal itu menunjukkan terdapat luka di dalam saluran semen pejantan. Namun bila warna semen berubah mendekati coklat maka terdapat darah yang telah mengalami dekomposisi pada semen. Sedangkan untuk warna hijau kekuningan apabila semen dibiarkan pada suhu kamar menunjukkan adanya kemungkinan kontaminasi kuman-kuman *Pseudomonas aeruginosa*

d. **Bau semen**

Bau semen banyak dipengaruhi oleh bau cairan dari kelenjar pelengkap, dalam keadaan patologis akan dijumpai bau busuk pada semen

e. **Derajat keasaman semen**

Untuk mengetahui derajat keasaman dapat menggunakan pH meter atau kertas lakmus,. Makin baik kualitas semen maka cenderung semakin asam, karena kualitas pada kondisi tersebut spermatozoanya akan lebih aktif bergerak dan menghasilkan asam laktat yang lebih banyak (Susilowati dkk, 2010).

Lampiran 2. Teknik Pemeriksaan Mikroskopis Semen

Berikut merupakan beberapa pemeriksaan semen yang meliputi pemeriksaan mikroskopis

a. Konsentrasi Semen

Perhitungan konsententrasi spermatozoa dapat dihitung secara cepat menggunakan spectofotometer. Penghitungan spermatozoa menggunakan alat ini adalah dengan memakai dlessing panjang gelombang 546 nm selama 10 menit. Alat yang digunakan untuk kemudian dimasukkan dalam *spectofotometer* adalah tabung kuvet sedangkan bahan yang digunakan adalah NaCl fisiologis. Ketika akan menghitung sebelumnya sebanyak 4 ml NaCl Fisiologis dalam tabung kuvet ditera, setelah itu kuvet tersebut diambil kembali dan ditambahkan semen didalamnya sebanyak 40 mikroliter dan diaduk hingga homogen. Lalu kuvet tersebut dimasukkan kembali ke dalam alat spectofotometer dan ditera kembali. Hasil perhitungan dapat dilihat dikertas sesuai angka yang tertera pada alat spectofotometer.

b. Pengamatan dan cara perhitungan viabilitas spermatozoa

Viabilitas spermatozoa merupakan jumlah spermatozoa yang hidup, mati maupun abnormal. banyaknya spermatozoa yang hidup atau mati dan yang abnormal menentukan nilai suatu semen. Untuk itu dipergunakan suatu preparat pewarnaan eosin negrosin. Penilaian didapatkan dengan cara melihat kepala spermatozoa pada preparat, bila spermatozoa mati maka kepalanya akan menyerap warna eosin negrosin sedangkan spermatozoa hidup tidak menyrap

zat warna eosin negrosin dan kepala spermatozoa nampak berwarna putih. Jumlah presentase sel spermatozoa yang mati dan yang hidup dihitung dalam dua kali perhitungan 100 sel spermatozoa dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 X.

c. Pengamatan dan cara perhitungan motilitas spermatozoa

Penilaian motilitas dapat diketahui melalui gerakan massa dan gerakan individu dari spermatozoa itu sendiri. Gerakan massa ialah gerakan dari beberapa sel spermatozoa bersana-sama sehingga membentuk suatu gelombang. Pemeriksaan ini dilakukan dengan cara membuat preparat natif semen yang ditetaskan pada objek glass dan ditutup dengan cover glass yang diamati melalui mikroskop perbesaran 400x pada suhu 37°C agar diperoleh gerakan spermatozoa yang optimal.

Adapun kriteria penilaian gerakan massa sebagai berikut

- a. +++ bila gerak semen membentuk gelombang-gelombang yang besar dan banyak serta cepat
- b. ++ bila gerakan semen membentuk gelombang besar sedang tapi jarang.
- c. + bila gerakan semen membentuk gelombang kecil dan sedikit jumlahnya.

Sedangkan pengamatan pada gerakan individu merupakan gerakan dari masing masing sel spermatozoa. Pemeriksaan ini penting sebab bila tidak ada gerakan dari sel spermatozoa, tidak mungkin spermatozoa dapat mencapai sel telur (ovum) yang terdapat di tuba-fallopil.

Cara pemeriksaan dapat dilakukan dengan membuat preparat yang berisi 1 tetes semen yang dihomogenkan dengan larutan NaCl fisiologis diatas objek

glass kemudian ditutup dengan cover glass dan diperiksa dibawah mikroskop pebesaran 400x. Adapun cara penilaian gerakan individu sebagai berikut

1. Kecepatan gerak spermatozoa

- a. Angka 0 bila tidak ada spermatozoa yang bergerak/sedikit.
- b. Angka 1 bila pergerakan spermatozoa pelan/lambat
- c. Angka 2 bila gerakan spermatozoa sedang
- d. Angka 3 bila gerakan spermatozoa cepat
- e. Angka 4 bila gerakan spermatozoa sangat cepat

2. Arah gerak spermatozoa

- a. Gerakan maju = P (progresif)
- b. Gerakan berputar, bergerak = O (oscilatory), V (vibratoris)
- c. Gerakan melingkar = C (circular)
- d. Gerakan mundur = r (reserve)
- e. Spermatozoa tidak ada gerakan = N (nekropermia).

Dari sediaan ulas diatas ssekaliigus dapat dihitung persentase spermatozoa yang hidup misal dari 110 sampel yang diamati. ada 100 spermatozoa yang hidup, maka besarnya persentase spermatozoa yang hidup dari semen tersebut adalah : $100/110 \times 100\% = 90\%$ (Susilowati dkk, 2010)

Lampiran 3. Cara membuat Preparat Ulas Spermatozoa

1. Ambil objek glass yang bersih
2. Pada objek glass diberikan satu tetes kecil semen dan satu tetes besar larutan Eosin-Negrosin disampingnya.
3. Campurkanlah zat warna itu dengan semen sampai homogen.
4. Buat preparat ulas tipis dan keringkan di atas nyala api (proses ini harus selesai maksimal 15 detik).

Sumber : Hardijanto dkk., (2010).

Lampiran 4. Analisis Data Viabilitas Spermatozoa Domba

Case Summaries^a

			Viabilitas 1	Viabilitas 2	Viabilitas 3	Viabilitas 4	Viabilitas 5
Perlakuan	P0	1	80,80	72,80	83,40	47,40	34,00
		2	80,40	72,80	82,80	46,60	36,60
		3	83,00	72,40	82,60	44,20	36,60
		4	79,00	73,00	82,20	43,20	32,20
		5	78,40	71,20	80,60	42,00	33,20
		6	80,80	73,00	81,80	45,00	36,40
		7	79,40	73,00	82,60	44,20	35,40
		Total	N	7	7	7	7
	P1	1	82,00	78,40	84,60	49,40	43,20
		2	82,40	73,80	83,00	50,80	41,20
		3	84,40	73,80	85,00	49,80	44,80
		4	81,00	75,80	83,40	48,80	42,40
		5	81,20	72,80	83,40	50,60	43,80
		6	81,80	74,40	83,80	50,00	45,20
		7	82,80	75,00	84,40	51,80	45,80
		Total	N	7	7	7	7
	P2	1	84,40	78,00	86,60	50,40	44,60
		2	85,00	74,60	84,60	53,40	44,20
		3	85,60	75,40	86,80	54,40	45,60
		4	82,80	77,80	84,80	53,80	48,40
		5	83,60	73,80	82,80	52,60	47,00
		6	83,80	78,60	85,20	53,60	48,00
		7	84,20	77,40	85,00	55,60	48,20
		Total	N	7	7	7	7
	P3	1	78,40	74,00	82,80	43,80	30,00
		2	78,80	72,20	81,40	41,40	31,00
		3	76,60	71,80	81,60	43,20	32,00
		4	77,80	72,00	81,40	40,80	31,00
		5	78,20	70,80	81,20	40,20	31,80
		6	78,40	71,20	82,40	42,00	32,00
		7	78,00	71,80	81,20	41,40	31,60
		Total	N	7	7	7	7
Total	N	28	28	28	28	28	

^a Limited to first 100 casesWithin-Subjects Factors
Measure: MEASURE_1

Hari	Dependent Variable
1	Viabilitas_1
2	Viabilitas_2
3	Viabilitas_3
4	Viabilitas_4
5	Viabilitas_5

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Perlakuan	1	P0
	2	P1
	3	P2
	4	P3

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Hari	Pillai's Trace	,999	7854,256 ^b	4,000	21,000	,000
	Wilks' Lambda	,001	7854,256 ^b	4,000	21,000	,000
	Hotelling's Trace	1498,049	7854,256 ^b	4,000	21,000	,000
	Roy's Largest Root	1498,049	7854,256 ^b	4,000	21,000	,000
Hari * Perlakuan	Pillai's Trace	1,212	8,600	12,000	69,000	,000
	Wilks' Lambda	,083	8,600	12,000	59,852	,000
	Hotelling's Trace	10,727	17,580	12,000	59,000	,000
	Roy's Largest Root	10,337	59,436 ^c	4,000	23,000	,000

a. Design: Intercept + Perlakuan

Within Subjects Design: Hari

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level

Mauchly's Test of Sphericity^a

Measure: MEASURE_1

Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Chi-Square	df	Sig.	Epsilon ^b		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
Hari	,389	21,178	9	,012	,784	1,000	,250

Tests the null hypothesis that the error covariance matrix of the orthonormalized transformed dependent variables is proportional to an identity matrix.

a. Design: Intercept + Perlakuan

Within Subjects Design: Hari

b. May be used to adjust the degrees of freedom for the averaged tests of significance. Corrected tests are displayed in the Tests of Within-Subjects Effects table.

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hari	Sphericity Assumed	34858,407	4	8664,602	8810,774	,000
	Greenhouse-Geisser	34858,407	3,137	11048,598	8810,774	,000
	Huynh-Feldt	34858,407	4,000	8664,602	8810,774	,000
	Lower-bound	34858,407	1,000	34858,407	8810,774	,000
Hari * Perlakuan	Sphericity Assumed	490,007	12	40,834	32,097	,000
	Greenhouse-Geisser	490,007	9,410	52,074	32,097	,000
	Huynh-Feldt	490,007	12,000	40,834	32,097	,000
	Lower-bound	490,007	3,000	163,336	32,097	,000
Error(Hari)	Sphericity Assumed	122,130	96	1,272		
	Greenhouse-Geisser	122,130	75,279	1,622		
	Huynh-Feldt	122,130	96,000	1,272		
	Lower-bound	122,130	24,000	5,089		

Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE_1

Source	Hari	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hari	Level 1 vs. Level 2	1503,823	1	1503,823	511,504	,000
	Level 2 vs. Level 3	3146,080	1	3146,080	2582,749	,000
	Level 3 vs. Level 4	8889,166	1	8889,166	3113,245	,000
	Level 4 vs. Level 5	2009,423	1	2009,423	714,976	,000
Hari * Perlakuan	Level 1 vs. Level 2	14,977	3	4,992	1,696	,194
	Level 2 vs. Level 3	3,737	3	1,246	1,015	,403
	Level 3 vs. Level 4	281,468	3	97,162	43,908	,000
	Level 4 vs. Level 5	78,848	3	28,215	9,328	,000
Error(Hari)	Level 1 vs. Level 2	70,560	24	2,940		
	Level 2 vs. Level 3	29,483	24	1,228		
	Level 3 vs. Level 4	53,109	24	2,213		
	Level 4 vs. Level 5	57,451	24	2,810		

Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	104048,528	1	104048,528	182215,048	,000
Perlakuan	283,875	3	94,625	165,715	,000
Error	13,704	24	,571		

Post Hoc Tests

Perlakuan

Homogeneous Subsets

MEASURE_1

Duncan

Perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
P3	7	56,8543			
P0	7		58,9257		
P1	7			62,8371	
P2	7				65,0171
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,571.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used.

Type I error levels are not guaranteed

c. Alpha = ,05.

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Viabilitas_1	P0	7	80,2000	1,50111	,58737	78,8117	81,5883	78,40	83,00
	P1	7	82,2286	1,14559	,43299	81,1691	83,2881	81,00	84,40
	P2	7	84,1714	,94112	,35571	83,3010	85,0418	82,80	85,60
	P3	7	78,0000	,57330	,25448	77,3773	78,6227	76,60	78,60
	Total	28	81,1500	2,56219	,48421	80,1565	82,1435	76,60	85,60
Viabilitas_2	P0	7	72,6000	,65320	,24689	71,9959	73,2041	71,20	73,00
	P1	7	74,5714	1,25129	,47294	73,4142	75,7287	72,80	78,40
	P2	7	76,2000	1,70098	,64281	74,6269	77,7731	73,60	78,00
	P3	7	71,9143	1,06369	,40204	70,8305	72,9980	70,60	74,00
	Total	28	73,8214	2,06870	,39095	73,0193	74,6236	70,60	78,00
Viabilitas_3	P0	7	62,2571	,91443	,34562	61,4114	63,1029	60,60	63,40
	P1	7	63,9143	,74706	,28236	63,2234	64,6052	63,00	65,00
	P2	7	65,0286	1,36835	,51719	63,7631	66,2941	62,60	66,60
	P3	7	61,6857	,57570	,21759	61,1533	62,2181	61,20	62,60
	Total	28	63,2214	1,61984	,30608	62,5934	63,8495	60,60	66,60
Viabilitas_4	P0	7	44,8571	1,87169	,70740	42,9282	46,9861	42,00	47,40
	P1	7	50,2571	,82231	,31080	49,4986	51,0177	49,40	51,80
	P2	7	53,4000	1,81858	,81101	51,9049	54,8951	50,40	55,60
	P3	7	41,8286	1,28285	,48487	40,6421	43,0150	40,20	43,80
	Total	28	47,5357	4,82741	,91229	45,6638	49,4076	40,20	55,60
Viabilitas_5	P0	7	34,9143	1,79205	,67733	33,2569	36,5717	32,20	38,60
	P1	7	43,7143	1,61589	,61078	42,2197	45,2088	41,20	45,80
	P2	7	46,2857	1,56996	,59336	44,8337	47,7377	44,20	48,20
	P3	7	31,3429	,72768	,27504	30,6689	32,0159	30,00	32,00
	Total	28	39,0643	8,40372	1,21018	36,5812	41,5474	30,00	48,20

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Viabilitas_1	Between Groups	147,821	3	49,274	40,184	,000
	Within Groups	29,429	24	1,226		
	Total	177,250	27			
Viabilitas_2	Between Groups	79,444	3	26,481	17,604	,000
	Within Groups	36,103	24	1,504		
	Total	115,547	27			
Viabilitas_3	Between Groups	49,239	3	16,413	18,246	,000
	Within Groups	21,589	24	,900		
	Total	70,827	27			
Viabilitas_4	Between Groups	578,576	3	192,859	91,423	,000
	Within Groups	50,629	24	2,110		
	Total	629,204	27			
Viabilitas_5	Between Groups	1064,301	3	351,434	159,432	,000
	Within Groups	52,903	24	2,204		
	Total	1107,204	27			

Viabilitas_1

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	7	78,0000			
P0	7		80,2000		
P1	7			82,2288	
P2	7				84,1714
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000

Viabilitas_2

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P3	7	71,9143		
P0	7	72,6000		
P1	7		74,5714	
P2	7			76,2000
Sig.		,306	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

Viabilitas_3

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P3	7	61,6857		
P0	7	62,2571		
P1	7		63,9143	
P2	7			65,0286
Sig.		,271	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000

Viabilitas_4

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	7	41,8286			
P0	7		44,6571		
P1	7			50,2571	
P2	7				53,4000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

Duncan

Viabilitas_5

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	7	31,3429			
P0	7		34,8143		
P1	7			43,7143	
P2	7				46,2857
Sig		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000

Lampiran 5. Analisis Data Motilitas Spermatozoa Domba

Case Summaries ^a							
			Motilitas_1	Motilitas_2	Motilitas_3	Motilitas_4	Motilitas_5
Perlakuan	P0	1	75,00	89,00	57,00	41,00	30,00
		2	74,00	67,00	58,00	40,00	31,00
		3	74,00	66,00	55,00	40,00	32,00
		4	75,00	65,00	56,00	39,00	28,00
		5	74,00	63,00	54,00	38,00	29,00
		6	72,00	67,00	57,00	41,00	30,00
		7	70,00	66,00	58,00	37,00	31,00
		Total	N	7	7	7	7
	P1	1	77,00	72,00	60,00	41,00	40,00
		2	76,00	68,00	59,00	45,00	40,00
		3	77,00	69,00	60,00	45,00	42,00
		4	76,00	67,00	58,00	44,00	38,00
		5	75,00	68,00	50,00	46,00	39,00
		6	74,00	68,00	57,00	47,00	40,00
		7	73,00	71,00	58,00	47,00	41,00
		Total	N	7	7	7	7
	P2	1	77,00	73,00	62,00	44,00	40,00
		2	79,00	69,00	60,00	56,00	41,00
		3	80,00	70,00	63,00	48,00	41,00
		4	78,00	72,00	63,00	58,00	42,00
		5	77,00	68,00	58,00	47,00	43,00
		6	78,00	71,00	59,00	48,00	42,00
		7	78,00	72,00	58,00	51,00	43,00
		Total	N	7	7	7	7
	P3	1	71,00	67,00	54,00	40,00	26,00
		2	73,00	65,00	43,00	40,40	25,00
		3	70,00	66,00	53,00	40,80	28,00
		4	72,00	64,00	55,00	39,20	26,00
5		71,00	63,00	51,00	38,40	27,00	
6		70,00	65,00	52,00	40,40	27,00	
7		70,00	62,00	54,00	39,60	28,00	
Total		N	7	7	7	7	7
Total	N		28	28	28	28	28

a. Limited to first 100 cases.

Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE_1

Hari	Dependent Variable
1	Motilitas_1
2	Motilitas_2
3	Motilitas_3
4	Motilitas_4
5	Motilitas_5

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Perlakuan	1	P0	7
	2	P1	7
	3	P2	7
	4	P3	7

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Hari	Pillai's Trace	,998	2549,614 ^b	4,000	21,000	,000
	Wilks' Lambda	,002	2549,614 ^b	4,000	21,000	,000
	Hotelling's Trace	485,641	2549,614 ^b	4,000	21,000	,000
	Roy's Largest Root	485,641	2549,614 ^b	4,000	21,000	,000
Hari * Perlakuan	Pillai's Trace	1,254	4,130	12,000	89,000	,000
	Wilks' Lambda	,088	7,031	12,000	55,852	,000
	Hotelling's Trace	8,839	11,208	12,000	59,000	,000
	Roy's Largest Root	8,331	38,404 ^c	4,000	23,000	,000

a. Design: Intercept + Perlakuan

Within Subjects Design: Hari

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

Mauchly's Test of Sphericity^a

Measure: MEASURE_1

Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Chi-Square	df	Sig.	Epsilon ^b		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
Hari	,530	14,213	9	,116	,753	,881	,250

Tests the null hypothesis that the error covariance matrix of the orthonormalized transformed dependent variables is proportional to an identity matrix.

a. Design: Intercept + Perlakuan

Within Subjects Design: Hari

b. May be used to adjust the degrees of freedom for the averaged tests of significance. Corrected tests are displayed in the Tests of Within-Subjects Effects table.

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hari	Sphericity Assumed	30279,284	4	7569,821	1654,281	,000
	Greenhouse-Geisser	30279,284	3,014	10046,578	1654,281	,000
	Huynh-Feldt	30279,284	3,928	7712,738	1654,281	,000
	Lower-bound	30279,284	1,000	30279,284	1654,281	,000
Hari * Perlakuan	Sphericity Assumed	409,201	12	34,100	7,452	,000
	Greenhouse-Geisser	409,201	9,042	45,257	7,452	,000
	Huynh-Feldt	409,201	11,778	34,744	7,452	,000
	Lower-bound	409,201	3,000	136,400	7,452	,001
Error(Hari)	Sphericity Assumed	439,291	98	4,578		
	Greenhouse-Geisser	439,291	72,333	6,073		
	Huynh-Feldt	439,291	94,221	4,662		
	Lower-bound	439,291	24,000	18,304		

Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE_1

Source	Hari	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hari	Level 1 vs. Level 2	1302,893	1	1302,893	227,060	,000
	Level 2 vs. Level 3	3498,893	1	3498,893	371,564	,000
	Level 3 vs. Level 4	4582,401	1	4582,401	262,459	,000
	Level 4 vs. Level 5	2264,401	1	2264,401	258,086	,000
Hari * Perlakuan	Level 1 vs. Level 2	4,393	3	1,464	,255	,857
	Level 2 vs. Level 3	36,107	3	12,036	1,278	,304
	Level 3 vs. Level 4	163,490	3	54,497	3,121	,045
	Level 4 vs. Level 5	232,347	3	77,449	8,827	,000
Error(Hari)	Level 1 vs. Level 2	137,714	24	5,738		
	Level 2 vs. Level 3	226,000	24	9,417		
	Level 3 vs. Level 4	419,029	24	17,460		
	Level 4 vs. Level 5	210,571	24	8,774		

Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	85777,002	1	85777,002	75864,094	,000
Perlakuan	377,171	3	125,724	111,194	,000
Error	27,138	24	1,131		

Post Hoc Tests

Perlakuan

Homogeneous Subsets

MEASURE_1

Duncan

Perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
P3	7	50,7657			
P0	7		53,0571		
P1	7			57,3714	
P2	7				60,2000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1,131.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used.

Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Motilitas_1	P0	7	73,4288	1,81265	,68512	71,7521	75,1050	70,00	75,00
	P1	7	75,4288	1,51186	,57143	74,0303	76,8288	73,00	77,00
	P2	7	77,8571	1,34519	,50843	76,8131	79,1012	76,00	80,00
	P3	7	71,0000	1,15470	,43844	69,8321	72,0679	70,00	73,00
	Total	28	74,4286	2,92408	,55260	73,2947	75,5624	70,00	80,00
Motilitas_2	P0	7	68,1429	1,86445	,70470	64,4185	67,8672	63,00	69,00
	P1	7	69,0000	1,82574	,69007	67,3115	70,6885	67,00	72,00
	P2	7	70,7143	1,79947	,68014	69,0501	72,3785	68,00	73,00
	P3	7	64,5714	1,71825	,64944	62,9823	66,1605	62,00	67,00
	Total	28	67,6071	2,97320	,56188	66,4543	68,7600	62,00	73,00
Motilitas_3	P0	7	58,1429	1,34519	,50843	54,8988	57,3868	54,00	58,00
	P1	7	57,4288	3,45722	1,30871	54,2312	60,6260	50,00	60,00
	P2	7	60,4288	2,22538	,84112	58,3704	62,4867	58,00	63,00
	P3	7	51,7143	4,07080	1,53882	47,9484	55,4791	43,00	55,00
	Total	28	56,4286	4,24638	,80249	54,7820	58,0751	43,00	63,00
Motilitas_4	P0	7	39,4288	1,51186	,57143	38,0303	40,8288	37,00	41,00
	P1	7	45,0000	2,08167	,78980	43,0748	46,9252	41,00	47,00
	P2	7	50,2857	5,05682	1,91130	45,8089	54,8625	44,00	58,00
	P3	7	38,8286	,82808	,31298	39,0627	40,5944	38,40	40,80
	Total	28	43,6357	5,25359	,99283	41,5988	45,6728	37,00	58,00
Motilitas_5	P0	7	30,1429	1,34519	,50843	28,8988	31,3868	28,00	32,00
	P1	7	40,0000	1,29099	,48795	38,8080	41,1940	38,00	42,00
	P2	7	41,7143	1,11270	,42056	40,6852	42,7434	40,00	43,00
	P3	7	26,7143	1,11270	,42056	25,6852	27,7434	25,00	28,00
	Total	28	34,8428	8,57838	1,24320	32,0920	37,1937	25,00	43,00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Motilitas_1	Between Groups	178,571	3	59,524	27,322	,000
	Within Groups	52,286	24	2,179		
	Total	230,857	27			
Motilitas_2	Between Groups	180,679	3	53,580	16,480	,000
	Within Groups	78,000	24	3,250		
	Total	238,679	27			
Motilitas_3	Between Groups	275,143	3	91,714	10,397	,000
	Within Groups	211,714	24	8,821		
	Total	486,857	27			
Motilitas_4	Between Groups	547,947	3	182,649	22,223	,000
	Within Groups	197,257	24	8,219		
	Total	745,204	27			
Motilitas_5	Between Groups	1132,714	3	377,571	253,728	,000
	Within Groups	35,714	24	1,488		
	Total	1168,428	27			

Motilitas_1

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	7	71,0000			
P0	7		73,4286		
P1	7			75,4286	
P2	7				77,8571
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

Motilitas_2

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P3	7	64,5714	
P0	7	66,1429	
P1	7		69,0000
P2	7		70,7143
Sig.		,116	,088

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

Motilitas_3

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P3	7	51,7143		
P0	7		56,1429	
P1	7		57,4286	57,4286
P2	7			60,4286
Sig.		1,000	,426	,071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

Motilitas_4

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P0	7	39,4286		
P3	7	39,6286		
P1	7		45,0000	
P2	7			50,2857
Sig.		,786	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

Metilfas_5

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	7	26,7143			
P0	7		30,1429		
P1	7			40,0000	
P2	7				41,7143
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000

Lampiran 6. Analisis data Membran Plasma Urah Spermatozoa Domba

Case Summaries ^a			MPU 1	MPU 2	MPU 3	MPU 4	MPU 5
P0	1		77,40	71,20	59,40	43,20	32,20
	2		76,60	69,00	59,20	42,80	34,80
	3		76,80	68,80	58,60	42,20	34,40
	4		75,40	68,80	58,20	41,20	30,20
	5		76,00	67,00	58,60	40,00	31,20
	6		74,00	68,20	59,00	43,00	34,20
	7		74,80	68,80	58,80	41,60	33,40
	Total	N	7	7	7	7	7
P1	1		79,40	74,40	62,60	45,60	41,20
	2		78,40	70,80	61,00	48,60	39,20
	3		79,40	70,60	62,40	47,80	42,40
	4		78,60	71,80	61,40	47,80	39,60
	5		77,60	70,80	60,00	48,00	41,60
	6		76,60	70,60	61,40	48,00	42,80
	7		77,40	73,20	60,60	49,60	43,60
	Total	N	7	7	7	7	7
P2	1		79,60	75,20	64,60	46,80	42,80
	2		81,00	71,60	62,40	51,40	42,20
	3		81,20	72,80	64,60	52,40	43,60
	4		80,20	74,40	62,80	51,80	44,40
	5		79,40	71,20	61,20	50,80	45,00
	6		81,00	73,60	63,20	51,60	45,60
	7		79,00	75,20	63,00	53,80	45,60
	Total	N	7	7	7	7	7
P3	1		73,20	69,80	58,80	40,00	28,00
	2		75,60	67,20	57,80	40,40	29,00
	3		73,60	67,80	57,40	40,80	30,00
	4		74,20	67,20	57,60	39,20	28,20
	5		73,20	65,60	55,40	38,40	29,40
	6		72,40	67,20	57,60	40,40	29,80
	7		72,00	66,40	57,20	39,60	30,60
	Total	N	7	7	7	7	7
Total	N		28	28	28	28	28

a. Limited to first 100 cases.

Within-Subjects Factors
Measure: MEASURE_1

Hari	Dependent Variable
1	MPU_1
2	MPU_2
3	MPU_3
4	MPU_4
5	MPU_5

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Perlakuan	1	P0
	2	P1
	3	P2
	4	P3

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Hari	Pillai's Trace	,998	3338,405 ^b	4,000	21,000	,000
	Wilks' Lambda	,002	3338,405 ^b	4,000	21,000	,000
	Hotelling's Trace	635,506	3338,405 ^b	4,000	21,000	,000
	Roy's Largest Root	635,506	3338,405 ^b	4,000	21,000	,000
	Pillai's Trace	1,108	3,370	12,000	69,000	,001
Hari * Perlakuan	Wilks' Lambda	,118	5,800	12,000	56,852	,000
	Hotelling's Trace	5,878	9,306	12,000	59,000	,000
	Roy's Largest Root	5,358	30,809 ^c	4,000	23,000	,000

a. Design: Intercept + Perlakuan

Within Subjects Design: Hari

b. Exact statistic

c. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

Mauchly's Test of Sphericity^a

Measure: MEASURE_1

Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Chi-Square	df	Sig.	Epsilon ^b		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
Hari	,430	18,830	9	,028	,736	,855	,250

Tests the null hypothesis that the error covariance matrix of the orthonormalized transformed dependent variables is proportional to an Identity matrix

a. Design: Intercept + Perlakuan

Within Subjects Design: Hari

b. May be used to adjust the degrees of freedom for the averaged tests of significance. Corrected tests are displayed in the Tests of Within-Subjects Effects table.

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hari	Sphericity Assumed	31422,093	4	7855,523	5195,206	,000
	Greenhouse-Geisser	31422,093	2,943	10678,048	5195,206	,000
	Huynh-Feldt	31422,093	3,819	8228,371	5195,206	,000
	Lower-bound	31422,093	1,000	31422,093	5195,206	,000
Hari * Perlakuan	Sphericity Assumed	334,540	12	27,878	18,437	,000
	Greenhouse-Geisser	334,540	8,830	37,888	18,437	,000
	Huynh-Feldt	334,540	11,458	28,202	18,437	,000
	Lower-bound	334,540	3,000	111,513	18,437	,000
Error(Hari)	Sphericity Assumed	145,158	96	1,512		
	Greenhouse-Geisser	145,158	70,638	2,055		
	Huynh-Feldt	145,158	91,650	1,584		
	Lower-bound	145,158	24,000	6,048		

Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE_1

Source	Hari	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hari	Level 1 vs. Level 2	1227,613	1	1227,613	420,464	,000
	Level 2 vs. Level 3	2954,063	1	2954,063	2305,289	,000
	Level 3 vs. Level 4	6180,571	1	6180,571	2003,272	,000
	Level 4 vs. Level 5	1905,750	1	1905,750	767,711	,000
Hari * Perlakuan	Level 1 vs. Level 2	3,159	3	1,053	,361	,782
	Level 2 vs. Level 3	1,023	3	,341	,266	,849
	Level 3 vs. Level 4	147,783	3	49,261	15,967	,000
	Level 4 vs. Level 5	75,113	3	25,038	10,066	,000
Error(Hari)	Level 1 vs. Level 2	70,069	24	2,920		
	Level 2 vs. Level 3	30,754	24	1,281		
	Level 3 vs. Level 4	74,046	24	3,085		
	Level 4 vs. Level 5	59,577	24	2,482		

Post Hoc Tests

Perlakuan

Homogeneous Subsets

MEASURE_1

Duncan

Perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
P3	7	53,4629			
P0	7		55,6743		
P1	7			60,1371	
P2	7				62,4286
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,484

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used.

Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
MPU_1	P0	78.0000	1.19443	.45143	74.8953	77.1047	74.00	77.40
	P1	78.2000	1.05198	.39761	77.2271	79.1729	76.60	79.40
	P2	80.2286	.86740	.32785	79.4284	81.0308	79.00	81.20
	P3	73.4857	1.19921	.45328	72.3766	74.5948	72.00	75.60
	Total	28	78.9786	2.75430	.52051	75.9108	72.00	81.20
MPU_2	P0	69.8429	1.23134	.46540	67.8641	70.0817	67.00	71.20
	P1	71.7429	1.50428	.58858	70.3516	73.1341	70.60	74.40
	P2	73.4286	1.63066	.61633	71.9205	74.9367	71.20	75.20
	P3	87.3143	1.30587	.49350	86.1087	88.5219	86.60	89.80
	Total	28	70.3571	2.76987	.52346	69.2831	65.60	75.20
MPU_3	P0	58.5429	.94315	.36848	57.8708	59.4151	58.60	59.40
	P1	61.3429	.92890	.35109	60.4838	62.2019	60.00	62.60
	P2	63.0857	1.21577	.48952	61.8613	64.2101	61.20	64.60
	P3	57.3714	.97590	.38888	56.4669	58.2740	55.40	58.60
	Total	28	60.0857	2.48994	.47055	59.1202	55.40	64.60
MPU_4	P0	41.8714	1.12800	.42634	40.9282	43.0147	40.00	43.20
	P1	47.8857	1.21027	.45744	46.7664	49.0050	45.60	49.60
	P2	51.2286	2.17080	.82048	49.2209	53.2362	48.80	53.60
	P3	39.8286	.82808	.31298	39.0827	40.5944	38.40	40.80
	Total	28	45.2286	4.82515	.91187	43.3578	38.40	53.80
MPU_5	P0	32.9143	1.75445	.65312	31.2917	34.5369	30.20	34.80
	P1	41.5143	1.67275	.63224	39.9672	43.0613	39.20	43.80
	P2	44.1714	1.34872	.50977	42.8241	45.4186	42.20	45.60
	P3	29.3143	.99605	.37760	28.3903	30.2383	28.00	30.80
	Total	28	38.9786	6.33661	1.19807	34.5203	28.00	45.60

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MPU_1	Between Groups	176.484	3	58.828	.000
	Within Groups	28.343	24	1.181	
	Total	204.827	27		
MPU_2	Between Groups	158.291	3	52.784	.000
	Within Groups	48.857	24	2.036	
	Total	207.149	27		
MPU_3	Between Groups	142.297	3	47.432	.000
	Within Groups	25.097	24	1.046	
	Total	167.394	27		
MPU_4	Between Groups	578.808	3	193.269	.000
	Within Groups	48.811	24	2.034	
	Total	628.617	27		
MPU_5	Between Groups	1032.987	3	344.329	.000
	Within Groups	52.160	24	2.173	
	Total	1085.147	27		

MPU_1

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	7	73,4867			
P0	7		78,0000		
P1	7			78,2000	
P2	7				80,2286
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

MPU_2

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	7	67,3143			
P0	7		68,9429		
P1	7			71,7429	
P2	7				73,4286
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

MPU_3

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	7	57,3714			
P0	7		58,5429		
P1	7			61,3429	
P2	7				63,0857
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

MPU_4

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	7	39,8286			
P0	7		41,9714		
P1	7			47,8857	
P2	7				51,2286
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

Duncan					
MPU_5					
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
P3	7	28,3143			
P0	7		32,8143		
P1	7			41,5143	
P2	7				44,1714
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

Lampiran 7. Hasil Korelasi Positif Persentase Viabilitas, Motilitas, dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa Domba

Correlations		MPU	Motilitas	Viabilitas
MPU	Pearson Correlation	1	,992 ^{**}	,998 ^{**}
	Sig. (2-tailed)		,000	,000
	N	140	140	140
Motilitas	Pearson Correlation	,992 ^{**}	1	,989 ^{**}
	Sig. (2-tailed)	,000		,000
	N	140	140	140
Viabilitas	Pearson Correlation	,998 ^{**}	,989 ^{**}	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	
	N	140	140	140

^{**} Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian**Pertakuan Penelitian****Pertakuan Pewarnaan****Bunsen dan pewarna Eosin negrosin****Vagina Buatan****Spectofotometer****Antibiotik**



Natrium sitrat



Larutan HOS



Mikroskop