

SKRIPSI

PENGARUH WAKTU EQUILIBRASI TERHADAP MOTILITAS, VIABILITAS DAN INTEGRITAS MEMBRAN SPERMATOZOA DOMBA MERINO DALAM PENGECER YANG MENGANDUNG LESITIN NABATI



Oleh :

EKA FENNY PUTRI SURYANI

NIM 060810085

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2012**

KEMAMPUAN TRANSFER KEMAMPUAN PEMBELAJARAN
KELOMPOK BELAJAR MIPA IPA IPS
DI LINGKUNGAN SEKOLAH

**PENGARUH WAKTU EQUILIBRASI TERHADAP
MOTILITAS, VIABILITAS DAN INTEGRITAS MEMBRAN
SPERMATOZOA DOMBA MERINO DALAM PENGECER
YANG MENGANDUNG LESITIN NABATI**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

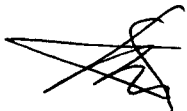
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

EKA FENNY PUTRI SURYANI
NIM 060810085

Menyetujui

Komisi Pembimbing



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



(Emy Koestanti Sabdoningrum, drh., M. Kes)
Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

Pengaruh Waktu Equilibrase Terhadap Motilitas, Viabilitas dan Integritas Membran Spermatozoa Domba Merino dalam Pengencer yang Mengandung Lesitin Nabati.

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

Surabaya, Juni 2012

METERAI
TEMPEL
PAJAK MEMANGKOT BANGSA
TGL. 20

6FAEDAAF980251381

ENAM RIBU RUPIAH
6000

DJP

Eka Fenny Putri S.

NIM. 060810085

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 28 Mei 2012

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Trilas Sardjito, drh., M.Si
Sekretaris : Dr. Abdul Samik, drh., M.Si.
Anggota : Dr. Herry Agoes, drh., M. Si.
Pembimbing Utama : Dr. Suherni Susilowati, drh., M. Kes.
Pembimbing Serta : Emy Koestanti Sabdoningrum, drh., M. Kes.

Telah diuji pada

Tanggal : 01 Juni 2012

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Trilas Sardjito, drh., M.Si

Anggota : Dr. Abdul Samik, drh., M.Si.

Dr. Herry Agoes, drh., M. Si.

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

Emy Koestanti Sabdoningrum, drh., M. Kes.

Surabaya, 01 Juni 2012

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga



Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D.
NIP. 195312161978062001

**EFFECTS OF EQUILIBRASI TIME AGAINST MOTILITY, VIABILITY
AND MEMBRANE INTEGRITY OF MERINO SHEEP'S SPERMS IN
THINNERS VEGETABLE LECITHIN**

Eka Fenny Putri Suryani

ABSTRACT

This research was aimed to determine effect of equilibrasi time against motility, viability and integrity membrane of Merino Sheep's sperms in thinners vegetable lecithin. This research used Merino Sheep's fresh semen that collected in artificial vagina and divided to three treatments. The first treatment (P1) was semen equilibrasi 1 hour. The second treatment (P2) was semen equilibrasi 1,5 hour. The third treatment (P3) was semen equilibrasi 2 hour. Experiment design used was randomized complete Draft (RAL). Data analysis using ANOVA (analysis of variant) and if it is different real continued with different test (the smallest real BNT 5%). The results showed that the inherent motility, viability and integrity membrane different treatment groups significantly with the first treatment.

**Keyword : sperm of Merino Sheep, equilibrasi, motility, viability, integrity,
vegetable lechitin**

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Pengaruh Waktu Equilibrasi Terhadap Motilitas, Viabilitas dan Integritas Membran Spermatozoa Domba Merino dalam Pengencer yang Mengandung Lesitin Nabati.**

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D. atas kesempatannya mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Suhermi Susilowati, drh., M. Kes. selaku pembimbing pertama dan Emy Koestanti Sabdoningrum, drh., M.Kes. selaku pembimbing kedua atas saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya skripsi ini.

Trilas Sardjito, drh, M.Si. selaku ketua penguji, Dr. Abdul Samik, drh., M.Si. selaku sekretaris penguji dan Dr. Herry Agoes Hermadi, drh., M.Si. selaku anggota penguji.

Dr. Suhermi Susilowati, drh., M.Kes. selaku dosen pembimbing penelitian. Trilas Sardjito, drh., M.Si. dan Tri Wahyu Suprayogi, drh., M.Si. selaku dosen pembimbing penelitian di lapangan atas segala arahan, bimbingan dan kesabaran selama penelitian. Husni Anwar, drh. selaku dosen wali atas bimbingan dan nasihat-nasihat yang membangun selama ini.

I'MHERE sebagai wadah dan penyedia sarana penelitian sehingga program penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.

Seluruh Staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Kedua orangtua serta adik tercinta yang telah memberikan nasihat, motivasi, do'a dan dukungan baik material maupun spiritual dalam penyusunan skripsi ini.

Widhi Umardhani Basuki Putra, S.Psi., MM. dan keluarga yang telah menemani setiap saat serta memberikan dukungan, doa, semangat, dan saran

Sahabat-sahabat Ria, Alivina, Atika, Anna dan Fardilla atas semangat dan dukungan yang telah diberikan sehingga terselesaikan skripsi ini. Teman-teman penelitian seperjuangan Iffah, Fajri, Aris, dan Adit terima kasih atas kerjasama dan kesabarannya dalam menyelesaikan penelitian ini.

Teman-teman Fakultas Kedokteran Hewan angkatan 2008 dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu tetapi sudah membantu dalam penyusunan skripsi ini terima kasih atas kerjasama kalian.

Akhirnya penulis menyadari bahwa makalah ini jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharap kritik dan saran dari pembaca sebagai upaya penyempurnaan makalah ini. Semoga hasil yang dituangkan dalam makalah ini dapat bermanfaat bagi pembaca sekalian.

Surabaya, Juni 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
HALAMAN IDENTITAS.....	iii
ABSTRACT.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xii
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Landasan Teori.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
1.6 Hipotesis.....	6
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Domba Merino.....	8
2.2 Anatomi Dan Fisiologi Alat Kelamin Jantan.....	9
2.3 Semen.....	12
2.3.1 Spermatogenesis.....	13
2.3.2 Spermatozoa.....	14
2.4 Motilitas Spermatozoa.....	15
2.5 Viabilitas Spermatozoa.....	16
2.6 Integritas Membran Spermatozoa.....	17
2.7 Pengencer Semen.....	18
2.8 Waktu Equilibrasi.....	19
 BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
3.2 Materi Penelitian	
3.2.1 Sampel Penelitian.....	21
3.2.2 Bahan Penelitian.....	21
3.2.3 Peralatan Penelitian.....	21
3.3 Metode Penelitian	
3.3.1 Penampungan Semen.....	22
3.3.2 Evaluasi Semen.....	22
3.3.3 Bahan Pengencer.....	24
3.3.4 Proses Penelitian.....	25
3.4 Variabel Penelitian	25
3.5 Rancangan Penelitian.....	26

3.6 Analisis Data.....	26
BAB 4 HASIL PENELITIAN	
4.1 Keadaan Semen Segar.....	27
4.2 Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa sebelum Pembekuan	27
4.3 Persentase Viabilitas Spermatozoa sebelum Pembekuan.....	29
4.4 Persentase Keutuhan (Integritas) Membran Plasma Spermatozoa Sebelum Pembekuan.....	30
BAB 5 PEMBAHASAN	
5.1 Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa sebelum Pembekuan.....	33
5.2 Persentase Viabilitas Spermatozoa sebelum Pembekuan.....	35
5.3 Persentase Keutuhan (Integritas) Membran Plasma Spermatozoa Sebelum Pembekuan.....	37
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan.....	39
6.2 Saran.....	39
RINGKASAN	40
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.2 Saluran Reproduksi Domba Jantan.....	11
Gambar 2.4 Morfologi Spermatozoa.....	13
Gambar 4.1 Diagram Batang Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa Domba Merino <i>before freezing</i>	27
Gambar 4.2 Diagram Batang Viabilitas Spermatozoa Domba Merino <i>before freezing</i>	28
Gambar 4.3 Pemeriksaan Mikroskopis Hidup-Mati Spermatozoa dengan Pembesaran 400 kali	29
Gambar 4.4 Diagram Batang Integritas Membran Plasma Spermatozoa Domba Merino <i>before freezing</i>	30
Gambar 4.5 Pemeriksaan Mikroskop Integritas Membran Plasma Spermatozoa dengan Pembesaran 400 kali.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Semen Domba secara Makroskopis dan Mikroskopis.....	26
Tabel 4.2 Rerata dan Standar Deviasi Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa Domba Merino <i>before freezing</i>	27
Tabel 4.3 Rerata dan Standar Deviasi Persentase Hidup Spermatozoa Domba Merino <i>before freezing</i>	28
Tabel 4.4 Rerata dan Standart Deviasi Integritas Membran Plasma Spermatozoa Domba Merino <i>before freezing</i>	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pengencer yang Mengandung Lesitin Nabati (AndroMed®).....	45
2. Cara Pembuatan Preparat Ulas Spermatozoa.....	47
3. Uji Integritas Membran.....	48
4. Skema Penelitian.....	49
5. Hasil Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik Semen Segar	50
6. Hasil Pemeriksaan <i>Before Freezing</i>	51
7. Analisis Data.....	52
8. Foto-foto Penelitian.....	55

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ANOVA	= Analisis of variant
ATP	= Adenosin Tri Phosphate
BHT	= butylated hydroxy tolouence
BNT	= Beda Nyata Terkecil
cAMP	= cyclic adenosin monophosphate
cc	= Centimeter per Cubic
Ditjennak	= Direktorat Jendral Produksi Peternakan
HOS	= Hypo-Osmotic Swelling
IB	= Inseminasi Buatan
Kg	= Kilogram
ml	= mililiter
NaCl	= Natrium Chlorida
pH	= power of Hidrogen
RAL	= Rancangan Acak Lengkap
ROS	= Reactive Oxygen Species
SD	= Standart Deviasi
%	= Persen
°C	= Derajat Celcius
μl	= mikroliter
μm	= mikrometer

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Domba Merino merupakan domba yang terkenal dengan hasil wolnya. Domba ini juga memiliki tubuh yang besar. Domba merupakan ternak ruminan kecil yang sudah memasyarakat dan distribusinya hampir merata (Mulyana, 2003). Ternak domba di Indonesia masih bersifat tradisional sehingga inseminasi buatan pada domba belum berkembang dan masih bersifat percobaan (Hardijanto dkk, 2010).

Penerapan teknologi reproduksi bertujuan meningkatkan efisiensi reproduksi dan peternakan secara keseluruhan. Salah satu cara yang dilakukan untuk meningkatkan populasi dan produktifitas ternak adalah melalui penerapan bioteknologi reproduksi yaitu Inseminasi Buatan (IB) (Rizal *et al*, 2008). Teknik Inseminasi Buatan (IB) adalah suatu teknologi mutakhir yang diciptakan manusia guna meningkatkan produktivitas dan reproduktivitas ternak untuk mengatasi kebutuhan masyarakat dunia yang terus semakin meningkat jumlahnya dari tahun ke tahun (Hardijanto dkk., 2010).

Keuntungan dan kerugian IB pada domba hampir sama dengan sapi. Keuntungan IB pada domba yaitu bila pada perkawinan alam dari seekor domba jantan hanya menghasilkan beberapa ratus turunan dalam setahun, maka dengan IB dapat menghasilkan beribu-ribu turunan dari seekor pejantan dalam setahun. Diduga kerugian terbesar IB domba adalah biaya relatif mahal, kesulitan

menandai dan pemisahan domba betina birahi untuk diinseminasi (Hardijanto dkk, 2010).

Menurut Toelihere (1993), untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat *thawing*. Kualitas semen dapat diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis dilihat dari volume, warna, kekentalan dan derajat keasaman suatu semen. Secara mikroskopis merupakan kualitas dari spermatozoa semen ditinjau dari gerakan massa, gerakan individu, konsentrasi dan viabilitas (daya tahan hidup) spermatozoa.

Semen yang tidak diencerkan, sukar mempertahankan hidupnya lebih dari 24 jam, walaupun disimpan dalam suhu rendah. Spermatozoa yang bergerak aktif, maka cadangan energi di dalam semen yang tidak diencerkan akan cepat habis digunakan. Semakin meningkatnya kadar asam laktat yang terbentuk makin meningkat derajat keasaman semen yang bersifat racun terhadap spermatozoa. Bahan pengencer semen beku harus mengandung nutrisi, bahan yang bersifat *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik, dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing* (Hardijanto dkk, 2010).

Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) tidak lepas dari proses pembekuan semen yang dilaksanakan. Masalah yang sering timbul pada proses pembekuan semen umumnya disebabkan oleh kejutan dingin (*cold shock*) dan perubahan interseluler akibat pengeluaran air yang berhubungan dengan pembentukan kristal

es. Salah satu cara mengatasi masalah tersebut adalah dengan pemberian gliserol ke dalam media pengencer (Herdis, 1999).

Waktu equilibrasi adalah waktu yang diperlukan spermatozoa untuk beradaptasi dengan lingkungan yang baru yaitu bahan pengencer. Waktu equilibrasi ini gliserol diberi kesempatan untuk memasuki kepala spermatozoa sebelum pembekuan agar kerusakan mekanis pada spermatozoa dapat dihindari. Pembekuan semen domba masih bersifat percobaan dan waktu equilibrasi pada domba belum baku seperti pada sapi yang sudah baku yaitu 2 jam. Kandungan kolesterol spermatozoa pada domba yang lebih sedikit dibanding sapi akan mempengaruhi membran, semakin sedikit kandungan kolesterol pada membran akan menyebabkan spermatozoa mudah mengalami kerusakan (Hardijanto dkk, 2010).

Motilitas spermatozoa yang baik dinilai dengan melihat gerak progresif dari spermatozoa tersebut. Kemampuan spermatozoa mendorong dirinya sendiri ke depan karena adanya substansi kontraktil pada bagian tengah spermatozoa kemudian diteruskan ke seluruh bagian ekor. Motilitas spermatozoa normal memperlihatkan gerakan-gerakan maju ke depan secara serempak disebabkan oleh gerakan ekor yang mengarah ke kiri dan ke kanan (Salisbury dan Van Denmark, 1985). Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa dengan penilaian spermatozoa hidup berdasarkan banyaknya jumlah spermatozoa yang tidak menyerap zat warna Eosin negrosin (Hardijanto dkk, 2010).

Pengencer yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengencer yang mengandung lesitin nabati. Lesitin nabati sebagai bahan anti *cold shock* yang

dapat melindungi spermatozoa pada saat perubahan suhu dari suhu ruang (28°C) pada saat pengolahan ke suhu ekuilibrasi (5°C) (Arifiantini dan Yusuf, 2004).

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti ingin mengetahui apakah ada pengaruh waktu ekuilibrasi terhadap motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa domba Merino dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati.

1.2. Perumusan Masalah

Masalah yang dapat dirumuskan dari penelitian ini :

1. Apakah terdapat pengaruh terhadap motilitas spermatozoa Domba Merino dengan waktu ekuilibrasi yang berbeda dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati?
2. Apakah terdapat pengaruh terhadap viabilitas spermatozoa Domba Merino dengan waktu ekuilibrasi yang berbeda dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati?
3. Apakah terdapat pengaruh terhadap integritas membran spermatozoa Domba Merino dengan waktu ekuilibrasi yang berbeda dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati?

1.3. Landasan Teori

Menurut Susilawati (2000), pembekuan merupakan proses penghentian sementara metabolisme sel tanpa mematikan fungsi sel, metabolisme dapat berlanjut setelah pembekuan dihentikan. Spermatozoa dapat hidup bertahun – tahun pada suhu -196 ° C tanpa berkurang kesuburannya (Partodiharjo, 1992).

Keberhasilan pembekuan semen ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu konsentrasi pengencer yang dipakai, cara penambahan gliserol pada semen, waktu equilibrasi dan cara pengenceran semen untuk pembekuan (Hardijanto dkk, 2010).

Waktu equilibrasi adalah waktu yang diperlukan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan dengan bahan pengencer, agar sewaktu pembekuan kematian spermatozoa yang berlebih dapat dicegah (Toelihere, 1993). Waktu equilibrasi ini gliserol memasuki kepala spermatozoa untuk menggantikan sebagian dari air yang ada di dalam sel dan kristal-kristal es yang terbentuk di dalam medium pengencer pada waktu pembekuan dapat dicegah sehingga kerusakan mekanis pada spermatozoa dapat dihindari. Waktu equilibrasi yang terlalu lama mengakibatkan tuanya spermatozoa sehingga memiliki daya membuahi yang rendah setelah thawing (Hardijanto dkk, 2010).

Penyediaan pengencer semen yang memenuhi syarat merupakan salah satu masalah penting bagi keberhasilan program IB. Beberapa syarat bahan pengencer yang baik adalah mampu mempertahankan pH (larutan penyangga) semen, memiliki lipoprotein (lesitin) untuk mencegah spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) pada suhu rendah serta mengandung bahan nutrisi (Toelihere, 1993). Bahan pengencer yang digunakan untuk tujuan penyimpanan spermatozoa, baik dalam bentuk cair maupun beku, memegang peranan penting dalam upaya mempertahankan kualitas spermatozoa selama masa penyimpanan (Surachman dkk, 2009).

Proses pengenceran semen, suhu dan lama penyimpanan berperan penting terhadap daya tahan spermatozoa. Pengaruh dingin yang mendadak dapat

menimbulkan *cold shock*. Cepatnya proses pemecahan Adenosine Tri-Phosphate (ATP) sebagai akibat kebutuhan energi yang mendadak. Akibatnya spermatozoa kehabisan energi, dindingnya bersifat permeabel terhadap beberapa elektrolit atau mineral dan terjadi kerusakan protein intra-seluler. Kerusakan tersebut dapat dicegah dengan melakukan pendinginan bertahap (Arifiantini dan Yusuf, 2004).

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa Domba Merino dengan waktu equilibrasi yang berbeda dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas (motilitas, viabilitas dan integritas membran) spermatozoa Merino dengan waktu equilibrasi yang berbeda. Hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai indikator dalam meningkatkan kualitas spermatozoa Domba Merino.

1.6. Hipotesis

Berdasarkan rumusan permasalahan yang ada, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Terdapat pengaruh terhadap motilitas spermatozoa Domba Merino dengan waktu equilibrasi yang berbeda dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati.

2. Terdapat pengaruh terhadap viabilitas spermatozoa Domba Merino dengan waktu equilibrasi yang berbeda dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati.
3. Terdapat pengaruh terhadap integritas membran spermatozoa Domba Merino dengan waktu equilibrasi yang berbeda dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan tentang Domba Merino

Menurut Purbowati (2009), klasifikasi domba adalah :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mamalia
Ordo	: Artiodactyla
Family	: Bovidae
Genus	: Ovis
Spesies	: <i>Ovis aries</i>
Varian	: <i>Ovis Merino</i>

Ternak domba (*Ovis aries*) termasuk Bovidae atau ruminansia yang mempunyai tanduk berongga seperti sapi dan kerbau. Beberapa keistimewaan yang dimiliki domba yaitu ukuran badan kecil, kebutuhan protein rendah dan pemilihan pakan yang relatif mudah diperoleh. Domba merino memiliki ciri-ciri badan tertutupi oleh wol yang tebal dan persebaran bulunya merata, domba jantan bertanduk besar dan membelit, tetapi domba betina tidak bertanduk, dan tubuh mempunyai ukuran yang besar, jantan mencapai bobot 70 kg dan betina 45 kg. (Toelihere, 1993). Domba merino sangat terkenal dengan kualitas wolnya yang prima, domba ini berasal dari asia kecil dan telah menyebar keberbagai belahan dunia, khususnya bagi Negara yang memiliki 4 musim, seperti Australia, newzealand, Prancis, Inggris dan Spanyol, Domba Merino tidak tahan dengan

iklim panas dan lembap, seperti daerah tropis karena bulu wolnya yang panjang dan tebal.

2.2. Anatomi dan Fisiologi Alat Kelamin Jantan

Feradis (2010) menyatakan dalam bukunya bahwa menurut Toelihere (1993), organ reproduksi hewan jantan dapat dibagi tiga :

- a. Organ kelamin primer yaitu gonad jantan yang dinamakan testis atau testiculus.
- b. Sekelompok kelenjar kelamin pelengkap yaitu kelenjar vesikularis dan cowper dan saluran-saluran yang terdiri dari epididimis dan vas deferen.
- c. Alat kelamin luar yaitu organ kopulatoris atau penis, preputium dan skrotum.

Spermatozoa atau gamet jantan dihasilkan oleh sepasang testis pada hampir sebagian besar golongan hewan domestik tergantung diluar tubuh. Testis terletak pada daerah prepubis, terbungkus dalam kantong scrotum dan digantung oleh *funiculus spermaticus* yang mengandung unsur – unsur yang terbawa oleh testis dalam perpindahannya dari *cavum abdominalis* melalui *canalis inguinalis* ke dalam *scrotum* (Feradis, 2010). *Scrotum* sebagai pembungkus testis memberikan perlindungan terhadap gangguan luar dan berperan penting dalam pengaturan suhu testis. Testis mempunyai dua fungsi yaitu menghasilkan gamet jantan (spermatozoa) dan menghasilkan androgen atau hormon kelamin jantan yaitu testosteron. Produksi spermatozoa tergantung pada produksi androgen (Evans and Maxwell, 1987).

Ductus efferent pada akhirnya bersatu membentuk saluran tunggal yang disebut *epididymis*. Tiap testis mempunyai satu *epididymis* (Lindsay *et al*, 1982).

Epididimis merupakan saluran yang menghubungkan dan mengangkut spermatozoa dari testis menuju kelenjar ampula, Epididimis terletak di belakang testis melekat pada tunika albuginea, merupakan saluran yang berliku – liku. Epididimis terdiri dari tiga bagian yaitu kepala (*caput*), badan (*corpus*), dan ekor (*cauda*). Fungsi Epididimis yaitu sebagai pengangkutan atau transportasi, konsentrasi atau pengentalan, maturasi atau pendewasaan dan penyimpanan spermatozoa (Evans and Maxwell, 1987).

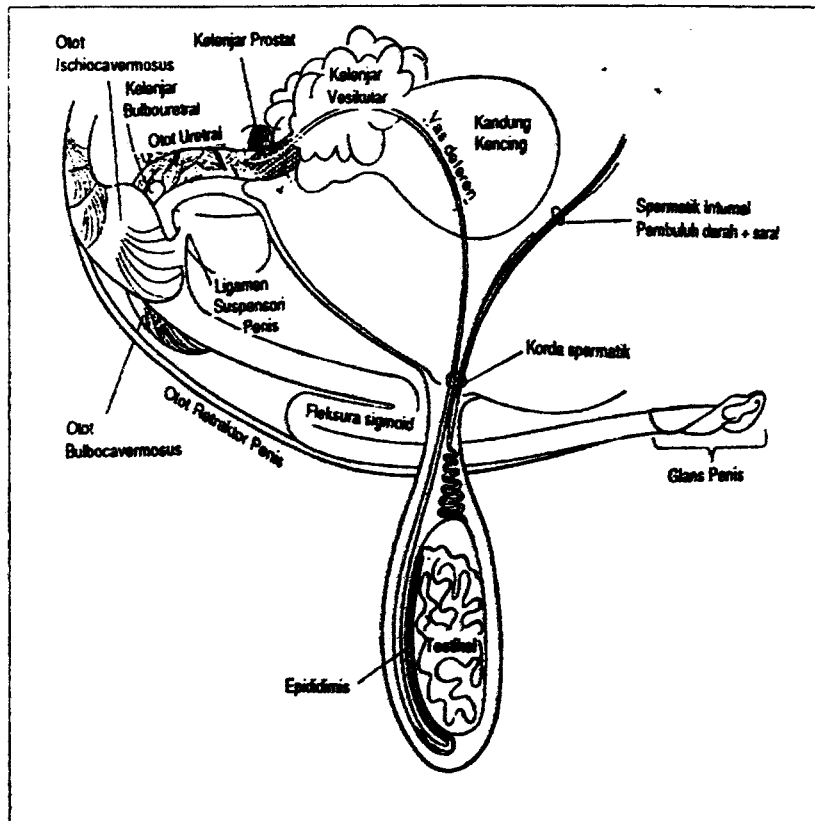
Spermatozoa menjadi matang di dalam epididimis dan sisa sitoplasma (*cytoplasmic droplet*) berpindah dari pangkal kepala (*proximal droplet*) ke ujung bawah bagian tengah spermatozoa (*distal droplet*). Pematangan atau maturasi spermatozoa mungkin dicapai atas pengaruh sekresi dari sel – sel epitel (Toelihere, 1993). Spermatozoa yang berasal dari bagian cauda epididimis telah memiliki kemampuan membuahi oosit yang sama baiknya dengan spermatozoa hasil ejakulasi (Hafez, 2000). Ini disebabkan karena spermatozoa yang ada di bagian cauda telah melewati proses pematangan di bagian caput dan corpus epididimis serta sudah memiliki kemampuan bergerak (*motil*) dan membuahi oosit yang sama dengan spermatozoa hasil ejakulasi (Axner *et al*, 1999). Proses pematangan ditandai oleh berpindahnya butiran sitoplasma (*cytoplasmic droplet*) dari bagian proksimal ke distal ekor atau hilang sama sekali dari ekor spermatozoa (Toelihere, 1993).

Kelenjar seks pelengkap terdiri dari 2 kelenjar vesikula seminalis, 1 kelenjar prostat, dan 2 kelenjar *bulbo urethralis*. Kelenjar seks pelengkap menghasilkan plasma semen yang akan bercampur dengan spermatozoa dan

menjadi semen. Plasma semen mengandung banyak zat karbohidrat, garam dari asam sitrat, protein asam amino, enzim, vitamin – vitamin yang larut didalam air, mineral, dan mempunyai kapasitas penyangga yang relatif tinggi, dan merupakan cairan yang memelihara proses kehidupan spermatozoa (Evans and Maxwell, 1987).

Menurut Poernomo dkk. (2006), sistem reproduksi pada jantan secara anatomik berhubungan dengan saluran pengeluaran urine yang terdiri dari ginjal dan vesica urinaria serta saluran-salurnya, sehingga seluruh sistem ini disebut tractus urogenitalis. Urethra adalah saluran ekskretoris bersama untuk urin dan semen. Urethra dibedakan atas tiga bagian yaitu bagian pelvis, bulbus urethra dan bagian penis.

Penis merupakan organ kopulasi pada hewan jantan, fungsi penis ada dua yaitu untuk meletakkan semen ke dalam saluran reproduksi hewan betina dan untuk mengeluarkan urine. Bagian penis yang melekat dengan tubuh disebut pangkal, bagian yang terbesar disebut badan dan bagian ujung yang bebas disebut *glans penis* (Toelihere, 1985). Penis domba merupakan tipe jenis *fibroelastic* yang tetap keras meskipun tidak ereksi (Ashdown, 1987). Penis domba memiliki lekukan berbentuk sigmoid di belakang atas skrotum. Fungsi lekukan sigmoid adalah memungkinkan penis untuk menjadi lebih panjang (sampai 30 cm) selama kopulasi. Lekukan ini akan hilang dan penis akan menjadi lurus apabila terjadi ereksi (Evans and Maxwell, 1987). Domba memiliki bentuk *glans penis* yang kecil dan urethranya sebagian dapat keluar dari glans penis, bagian urethra ini disebut *processus urethralis* (Lindsay *et al.*, 1982).



Gambar 2.2 Saluran Reproduksi Domba Jantan

(Sumber: Frandson, 1996)

2.3. Semen

Semen adalah suspensi cair atau semigelatin yang membawa gamet jantan atau spermatozoa dan sekresi dari organ aksesori dari saluran reproduksi jantan berupa seminal plasma (Hafez, 2000). Semen terdiri dari dua bagian yaitu bagian yang padat adalah spermatozoa dan bagian yang cair adalah plasma semen. Spermatozoa dihasilkan dalam testis, sedangkan plasma semen adalah campuran sekresi yang berasal dari epididymis dan kelenjar-kelenjar kelamin pelengkap seperti vesikularis dan bulbouretralis (Partodiharjo, 1992).

Ciri-ciri makroskopis semen domba yang baik adalah warna putih susu (krem), volume semen antara 0,8-2 cc, konsistensi pekat dan pH antara 6,9-7,3 (Evans and Maxwell, 1987). 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 melebihi 50%. Toelihere (1993) menyatakan bahwa, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kualitas dan kuantitas semen antara lain : pakan, umur, frekuensi penampungan, keturunan, musim, penyakit, latihan dan tingkat libido.

2.3.1. Spermatogenesis

Proses pembentukan spermatozoa disebut spermatogenesis. Proses spermatogenesis terdiri dari dua tahap yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis. Spermatositogenesis merupakan tahapan pertumbuhan jaringan spermatogenik dengan pembelahan sel sederhana dan diikuti oleh pembelahan reduksi yang diakhiri dengan terbentuknya spermatid. Tahap spermiogenesis spermatid akan mengalami metamorfosa bentuknya menjadi spermatozoa yang sempurna. Perubahan-perubahan ini meliputi pembentukan akrosom, kepala, badan dan ekor spermatozoa (Hardijanto dkk., 2010).

Selama proses pendewasaan, sel spermatozoa melekat pada sel sertoli dan selama pertautannya spermatozoa mendapat suplai makanan dari sel tersebut sampai spermatozoa dilepaskan dan masuk ke dalam lumen tubuli dan mengawali perjalanan panjang sel spermatozoa menuju saluran pengeluaran (Salisbury and van Demark, 1985).

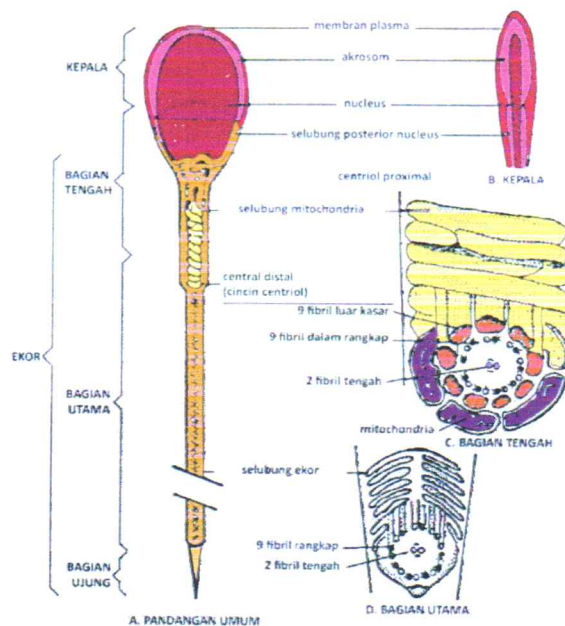
Semua proses spermatogenesis diatur oleh sistem kerja hormon gonadotropin yaitu FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) yang merangsang pertumbuhan sel-sel spermatogonia dan ICSH (*Interstitial Cell Stimulating Hormone*) yang identik dengan LH (*Luteinizing Hormone*) untuk pembentukan androgen oleh sel leydig. Sedang androgen (*testosteron*) berfungsi mengatur kelakuan sexual hewan jantan dan secara tidak langsung ikut mendukung proses spermatogenesis bersama FSH (Hardijanto dkk., 2010).

2.3.2. Spermatozoa

Testis merupakan bagian dari alat reproduksi jantan yang mempunyai dua fungsi yaitu memproduksi spermatozoa dan memproduksi hormone seks testosteron yang berperan penting dalam sistem reproduksi jantan. Spermatozoa dihasilkan dari tubulus seminiferus dalam testis (Hafez, 2000). Spermatozoa merupakan suatu sel kecil, kompak dan sangat khas yang tidak bertumbuh atau membagi diri. Secara esensial ia terdiri dari kepala yang membawa materi hereditas paternal, dan ekor yang mengandung sarana penggerak (Garner dan Hafez, 1987). Spermatozoa mengandung komponen kimia penting, baik yang terdapat pada permukaan sel, maupun yang didalam sel (Mann and Lutwak, 1981).

Ada 2 macam spermatozoa menurut strukturnya yaitu spermatozoa tak berflagelum dan berflagelum. Spermatozoa tak berflagelum terdapat pada beberapa jenis invertebrata yakni Nematoda, Crustacea, Diplopoda. Spermatozoa

yang berflagelum pada umumnya terdapat pada hewan vertebrata. Yang berflagelum lazim memiliki bagian kepala dan ekor. Kepala sebagai penerobos jalan menuju dan masuk ke dalam ovum dan membawa bahan genetik yang akan diwariskan kepada anak-cucu. Ekor untuk pergerakan menuju tempat pembuahan dan untuk mendorong kepala menerobos selaput ovum. Dalam kepala terdapat akrosom dan inti. Akrosom ialah lisosom spermatozoa untuk melisiskan lendir penghalang saluran kelamin betina dan selaput ovum (Yatim, 1994).



Gambar 2.3 Morfologi Spermatozoa

(Sumber : Toelihere 1993)

2.4. Motilitas Spermatozoa

Spermatozoa motil adalah spermatozoa yang bergerak progressif (bergerak ke depan), tidak termasuk spermatozoa yang hanya bergerak di tempat, berputar – putar, dan maju mundur. Persentase spermatozoa motil merupakan variabel paling

utama dalam penentuan kualitas semen. Umumnya penentuan persentase spermatozoa motil ditentukan dengan penilaian secara subjektif. Persentase spermatozoa motil ditentukan dengan memperkirakan berapa persen yang diam dan bergerak tapi tidak ke depan. Penilaian biasanya menggunakan skala 5 atau 10 %, misal 40%, 45%, 50% dan seterusnya. Hasil penilaian merupakan rata – rata hasil pemeriksaan minimum pada delapan lapang pandang yang berbeda. Semen segar domba yang memiliki kualitas baik dan persentase spermatozoa motil minimum 65-70% (Rizal *et al*, 2008).

Ciri utama spermatozoa adalah motilitas dan daya geraknya yang dijadikan cara yang paling sederhana dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan. Motilitas spermatozoa secara keseluruhan atau rata-rata dari populasi spermatozoa terhadap semen segar yang baru ditampung dan belum diencerkan dengan melakukan pemeriksaan gerakan massa atau individu (Hardijanto dkk, 2010).

Kecepatan bergerak spermatozoa dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan suhu. Pada suhu 37 °C kecepatannya 100 mikrometer per detik dalam inseminasi buatan. Pergerakan spermatozoa menunjukkan kemampuan membuahi sel telur (Poernomo dkk, 2006).

2.5. Viabilitas Spermatozoa

Kualitas semen salah satunya ditentukan oleh presentase spermatozoa yang hidup dan mati, akan tetapi nilai motilitas tidak berkaitan dengan presentase spermatozoa hidup. Penghitungan spermatozoa hidup dan mati dapat dilakukan dengan metode pewarnaan *Eosin negrosin*. Spermatozoa mati jika permeabilitas

membran selnya meninggi, terutama di daerah post-nuclear. Spermatozoa mati akan menyerap warna dari zat warna yang digunakan sedangkan pada spermatozoa yang hidup akan tetap transparan (Toelihere, 1993). Ditambahkan oleh (Toelihere, 1985) bahwa zat warna eosin akan mewarnai spermatozoa yang mati menjadi merah atau merah muda, dan zat negrosin memberi latar belakang biru hitam.

Presentase yang hidup adalah jumlah spermatozoa hidup (transparan) yang terhitung dalam persen dengan perbesaran 400 kali. Spermatozoa yang hidup mempunyai lapisan lipoid pada dinding sel sehingga dapat melindungi masuknya zat warna ke dalam spermatozoa. Spermatozoa yang hidup tidak akan terwarnai oleh zat warna. Spermatozoa yang telah mati karena rusak atau hilangnya lapisan lipoid tersebut, maka zat pewarna sangat mudah menembus masuk ke dalam spermatozoa sehingga akan berwarna merah keunguan (Hardijanto dkk., 2010).

2.6. Integritas Membran Spermatozoa

Integritas membran adalah keutuhan membran plasma spermatozoa atau suatu keadaan yang menunjukkan mekanisme fungsi fisiologis membran tetap terjaga. Metode Hypo-Osmotic Swelling merupakan tes sederhana yang digunakan untuk mengukur fungsi apakah membran plasma masih aktif atau tidak serta dapat digunakan sebagai indikator keberhasilan fertilisasi (Sarmardzija, 2008). Membran spermatozoa yang normal apabila diberi larutan HOS akan mengalami suatu penggembungan dan tidak terjadi suatu penggembungan apabila membran sel mengalami kerusakan. Spermatozoa yang rusak, ekor tidak

melengkung serta tidak mengalami pembekakkan karena membran plasma spermatozoa masih berfungsi baik dalam menampung cairan pada lingkungan yang bersifat hipotonik (Susilowati, 2008).

2.7. Pengencer

Pada proses IB diperlukan kualitas semen yang baik. Setelah semen ditampung, harus diperiksa untuk menentukan kualitasnya. Jika kualitasnya baik, semen dapat diencerkan dengan pengencer yang memadai dengan maksud agar dapat tahan lebih lama (Toelihere, 1993).

Syarat-syarat bahan pengencer yang baik diantaranya mengandung sumber energi bagi spermatozoa, bebas dari kuman, sebagai buffer atau penyangga untuk mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, memperbanyak volume air mani dan isotonis, mengandung kriopektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Lipoprotein (lesitin) dalam pengencer berfungsi untuk melindungi spermatozoa terhadap kejutan dingin (*cold shock*) (Partodiharjo, 1992).

Sumber nutrisi yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat terutama fruktosa yang paling mudah dimetabolisasi oleh spermatozoa (Toelihere, 1993). *Buffer* berfungsi sebagai penyangga untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa. *Buffer* yang umum digunakan adalah *tris amino methan* yang mempunyai kemampuan dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit (Ditjennak, 2000).

Bahan-bahan yang digunakan dalam menyusun suatu pengencer semen ditetapkan berdasarkan hasil pengetahuan tentang komponen-komponen (senyawa-senyawa kimia) penyusun plasma semen. Sebagai sumber energi digunakan karbohidrat seperti glukosa, fruktosa dan lain-lain. Untuk mencegah cold shock, digunakan kacang kedelai yang mengandung lipoprotein berupa lesitin (fosfatidil kolin). Bahan-bahan kimia seperti tris, fosfat dan asam sitrat berfungsi sebagai zat penyangga sedangkan untuk mencegah perkembangan mikroorganisme umumnya digunakan antibiotic berupa penisilin dan streptomisin. Dalam proses pembuatan semen beku, pengencer harus ditambahkan senyawa krioprotektan yang umumnya berupa gliserol. Dewasa ini untuk lebih meningkatkan kualitas semen yang dipreservasi dan dikriopreservasi, pengencer semen ditambahkan dengan zat-zat aditif lainnya, berupa senyawa antioksidan, seperti vitamin C (asam askorbat), vitamin E (tokoferol), beta karoten, butylated hydroxy toluence (BHT), glutathione dan lain-lain (Rizal *et al*, 2008).

2.8. Waktu Equilibrasi

Waktu equilibrasi adalah waktu yang dibutuhkan spermatozoa untuk mengadakan keseimbangan dengan bahan pengencer yang mengandung gliserol pada rentangan waktu tertentu pada suhu diatas titik beku sebelum dilakukan pembekuan. Equilibrasi dilakukan pada suhu 5°C. Lama equilibrasi berkisar maksimal dua jam pada domba, ini dihubungkan dengan daya efektivitas antibiotika setelah tiga jam terlampaui. *Cold shock* dapat dihindarkan apabila pendinginan dilakukan secara perlahan-lahan pada suhu antara 5° sampai 0°C.

Kesempatan hidup mikroorganisme dapat dikurangi dalam semen beku yang mengandung gliserol dan mengalami waktu equilibrasi sebelum pembekuan (Toelihere, 1993).

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Taman Ternak Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, desa Tanjung kecamatan Kedamean kabupaten Gresik.

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari sampai April 2012.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah semen Domba Merino. Domba yang digunakan adalah satu ekor Domba dalam keadaan sehat, dewasa kelamin, alat kelamin normal dan libido baik yang ada di Taman Ternak Pendidikan Universitas Airlangga, Gresik.

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian meliputi: semen, bahan pengencer yang mengandung lesitin nabati (Andromed®), larutan pewarna Eosin negrosin, larutan HOS (Hypoosmotic), air hangat (37°C), alkohol 70%, aquadest dan aquabidest.

3.2.3. Peralatan Penelitian

Alat-alat penelitian meliputi : vagina buatan, tabung penampung semen, thermometer, tali handling, kertas indikator pH, mikroskop, spektrofotometer,

gelas objek, gelas penutup, micropipet, pipet tetes, batang pengaduk, bunsen, korek api, labu erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, tabung reaksi, pipet ukur, lemari es, *cool top* dan aluminium foil.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Penampungan Semen

Penampungan semen dilakukan dua kali dalam satu minggu pada sore hari menggunakan vagina buatan.

3.3.2. Evaluasi semen

Semen yang diperoleh dilakukan pemeriksaan dan evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan secara makroskopis meliputi pemeriksaan volume (ml), konsistensi semen, warna dan derajat keasaman. Pemeriksaan mikroskopis meliputi : gerakan massa dan gerakan individu. Gerakan massa diperiksa dengan meneteskan satu tetes semen segar ke gelas obyek lalu diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Kriteria penilaian : +++ dengan gerakan massa yang paling baik yang ditandai dengan gelombang besar, banyak, bergerak cepat, dan berpindah-pindah tempat, ++ dengan gerakan massa yang baik ditandai dengan gelombang besar, tipis, jarang, dan bergerak lambat dan + dengan gerakan massa yang kurang baik ditandai dengan gelombang tipis dan sedikit jumlahnya.

Penilaian gerak individu spermatozoa adalah sebagai berikut :

1. Kecepatan gerak spermatozoa

Angka 0, bila tidak ada spermatozoa yang bergerak atau sedikit

Angka 1, bila gerakan spermatozoa lambat

Angka 2, bila gerakan spermatozoa sedang

Angka 3, bila gerakan spermatozoa cepat

Angka 4, bila gerakan spermatozoa sangat cepat.

2. Arah gerak spermatozoa

Gerakan maju = P (progresif)

Gerakan berputar, bergetar = O (oscilatory) , V (vibratoris)

Gerakan melingkar = C (circular)

Gerakan mundur = R (reverse)

Tidak ada gerakan dari spermatozoa = N (nekrospermia)

Proses pembekuan ini sperma dinyatakan layak bila mempunyai gerakan massa minimal ++ dan gerakan individu $\geq 70/3$ dengan spermatozoa yang bergerak maju ke depan (progresif) karena gerakan sel spermatozoa yang memenuhi syarat adalah gerakan aktif maju ke depan.

Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan menggunakan alat yaitu spektrofotometer.

Cara pemeriksaan kualitas spermatozoa meliputi :

1. Pemeriksaan motilitas spermatozoa atau gerakan individu dievaluasi secara subjektif dilakukan dengan meneteskan satu tetes semen di atas gelas objek dan ditambahkan satu tetes larutan NaCl fisiologis, selanjutnya

dihomogenkan kemudian ditutup dengan gelas penutup dan diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

2. Pemeriksaan viabilitas dapat dilakukan dengan meletakkan satu tetes kecil semen dan satu tetes besar larutan Eosin negrosin disampingnya lalu dicampur sampai homogen. Buat preparat ulas tipis dan preparat dikeringkan diatas bunsen (proses ini harus selesai maksimal 15 detik). Preparat diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

Penentuan persentase spermatozoa yang hidup dengan menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{100} \times 100\%$$

(Susilowati dkk, 2010).

3.3.3. Bahan Pengencer

Bahan pengencer yang digunakan yaitu pengencer yang mengandung lesitin nabati (AndroMed®). AndroMed® merupakan media pengencer steril yang siap pakai tanpa kuning telur, terbuat dari lesitin kedelai. Pengencer Andromed® telah mengandung gliserol sehingga tidak perlu lagi dilakukan gliserolisasi. Cara penggunaan bahan pengencer terdapat dalam lampiran 1.

3.3.4. Proses Penelitian

a. Pengenceran

Semen yang berkualitas tinggi dilarutkan dengan pengencer lesitin nabati (Andromed®). Pengenceran dilakukan pada suhu ruang. Semen dilarutkan dengan bahan pengencer secara perlahan.

b. Equilibrasi

Spermatozoa yang masing-masing telah dicampur dengan pengencer AndroMed® dimasukkan ke dalam *cool top* hingga suhu spermatozoa menjadi 5°C, suhu ini dapat dicapai selama ± 1 jam. Tahap equilibrasi yakni proses adaptasi spermatozoa dengan pengencer yang mengandung gliserol dalam waktu yang berbeda yaitu P1= 1 jam , P2= 1,5 jam , P3= 2 jam , pada suhu 3-5°C. Masing-masing perlakuan dilakukan 8 ulangan.

c. Kemudian dilakukan pemeriksaan motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa pada pemeriksaan *before freezing*.

3.4. Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan variabel-variabel yang terdiri dari tiga variabel yaitu :

1. Variabel bebas (Independent Variabel) yaitu waktu equilibrasi dengan pengencer yang digunakan (AndroMed®)

Waktu equilibrasi = waktu yang diperlukan spermatozoa untuk beradaptasi dengan lingkungan yang baru yaitu bahan pengencer.

2. Variabel tergantung (Dependent Variabel) yaitu :

Motilitas spermatozoa = kemampuan gerak spermatozoa.

Viabilitas spermatozoa = daya tahan hidup spermatozoa.

Integritas membran spermatozoa = keutuhan membran spermatozoa.

3. Variabel kontrol berupa spesies hewan, jenis kelamin, umur, kondisi fisik hewan dan suhu ruang penelitian.

3.5. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menggunakan tiga macam perlakuan dan ulangan sebanyak minimal enam kali berdasarkan perhitungan $t(n-1) \geq 15$, t adalah perlakuan dan n adalah ulangan (Kusriningrum, 2008).

3.6. Analisis Data

Data yang diperoleh disusun dalam satu tabel, selanjutnya perbedaan pengaruh antar waktu equilibrasi dilakukan uji ANOVA (*Analysis of variant*), bila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%) (Kusriningrum, 2008).

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1. Keadaan Semen Segar

Semen domba sebelum diberi perlakuan terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui semen domba tersebut layak atau tidak untuk diencerkan dan diproses selanjutnya. Hasil pemeriksaan semen domba secara makroskopis dan mikroskopis terlihat pada table 4.1 berikut.

Table 4.1 Hasil Pemeriksaan Semen Domba secara Makroskopis dan Mikroskopis

Volume	1,1 ml
Konsistensi	Sedang
Warna	Krem
Bau	Khas
pH	6-7
Gerakan massa	+++
Gerakan individu	90/4
Konsentrasi	6567 jt/ml

4.2. Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa pada Pemeriksaan *Before Freezing*

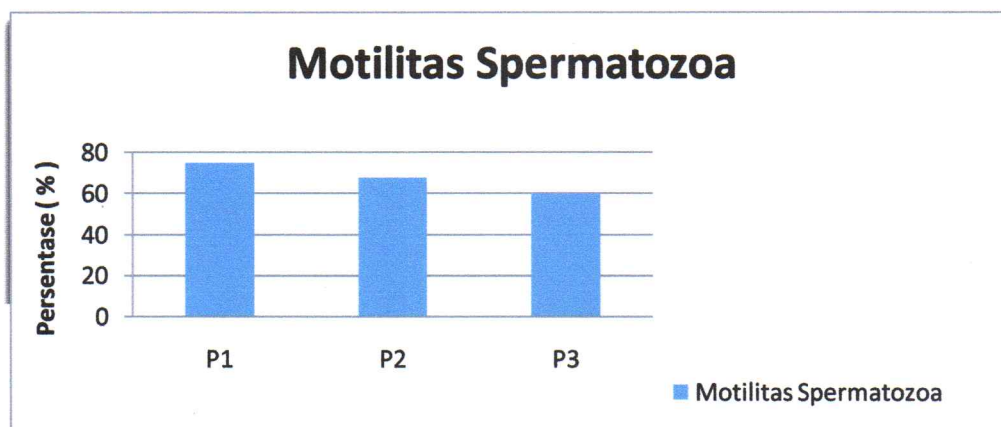
Data persentase motilitas progresif spermatozoa *before freezing* setelah diberi perlakuan waktu equilibrasi dengan tiga perlakuan: 1 jam (P1), 1,5 jam (P2) dan 2 jam (P3) tercantum dalam tabel 4.1.

Tabel 4.2. Rerata dan Standar Deviasi Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Before Freezing*

Perlakuan	Ulangan (n)	Motilitas Spermatozoa (%) (rerata $\pm$ standar deviasi)
(P1)	8	75,00 ^a $\pm$ 3,78
(P2)	8	68,00 ^b $\pm$ 4,58
(P3)	8	60,00 ^c $\pm$ 8,63

Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$)

Berdasarkan tabel di atas, diagram batang rerata persentase motilitas spermatozoa *before freezing* dapat dilihat pada gambar berikut ini :



Gambar 4.1 Diagram Batang Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Before Freezing*

Berdasarkan analisis statistik dengan menggunakan ANOVA terhadap rata-rata persentase motilitas progresif spermatozoa *before freezing* menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara ketiga kelompok perlakuan tersebut karena perbedaan waktu equilibrasi.

4.2. Persentase Viabilitas Spermatozoa pada Pemeriksaan *Before Freezing*

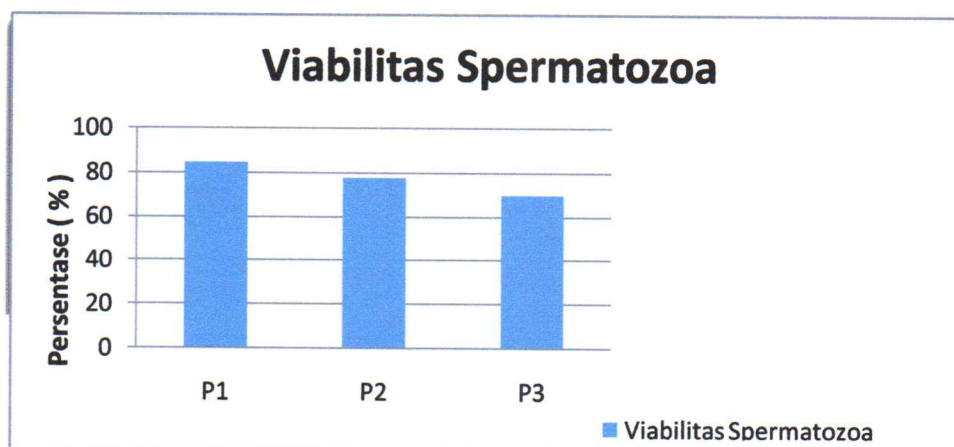
Data persentase hidup spermatozoa pada pemeriksaan *before freezing* setelah diberi perlakuan berbagai macam waktu equilibrasi dengan tiga perlakuan : 1 jam (P1), 1,5 jam (P2), dan 2 jam (P3) tercantum dalam tabel 4.2.

Tabel 4.3. Rerata dan Standar Deviasi Persentase Hidup Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Before Freezing*

Perlakuan	Ulangan (n)	Viabilitas Spermatozoa (%) (rerata $\pm$ standar deviasi)
(P1)	8	85,00 ^a $\pm$ 3,16
(P2)	8	78,00 ^b $\pm$ 4,99
(P3)	8	70,00 ^c $\pm$ 4,34

Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$).

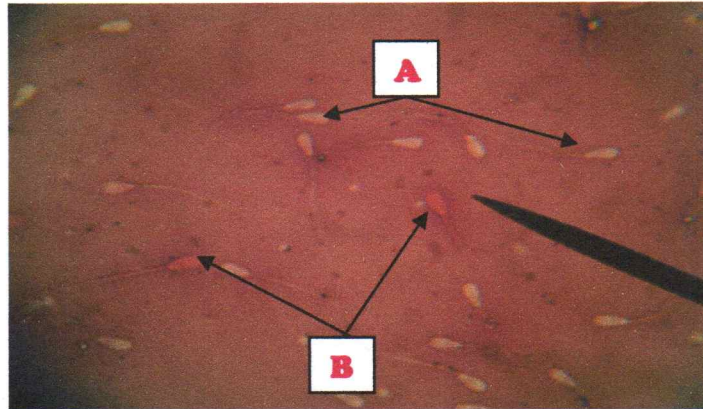
Nilai persentase dari ketiga perlakuan disajikan dalam diagram batang untuk menentukan perbedaan antara tiga perlakuan tersebut pada gambar 4.2.



Gambar 4.2. Diagram Batang Viabilitas Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Before Freezing*

Berdasarkan analisis statistik dengan menggunakan ANOVA terhadap rata-rata persentase hidup spermatozoa *before freezing* menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) pada persentase hidup spermatozoa.

Gambaran spermatozoa hidup dan yang mati dapat dilihat pada gambar 4.3 yang telah diwarnai menggunakan pewarna Eosin-negrosin.



Gambar 4.3 Pemeriksaan Mikroskop Hidup-Mati Spermatozoa dengan Pembesaran 400 kali

Keterangan :

A : Spermatozoa hidup (tidak terwarna)

B : Spermatozoa mati (terwarna)

4.3. Integritas Membran Plasma Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Before Freezing*

Uji *Hypo-Osmotic Swelling* merupakan uji laboratoris sederhana yang digunakan untuk mengetahui fungsi dan kerusakan pada membran, bila membran sel mengalami kerusakan ekor akan terlihat lurus atau tidak terjadi penggembungan tetapi apabila membran sel normal atau tetap utuh maka akan terjadi penggembungan atau melingkarnya ekor.

Hasil pemeriksaan integritas (keutuhan) membran spermatozoa *before freezing* setelah diberi perlakuan waktu equilibrasi dengan tiga perlakuan:

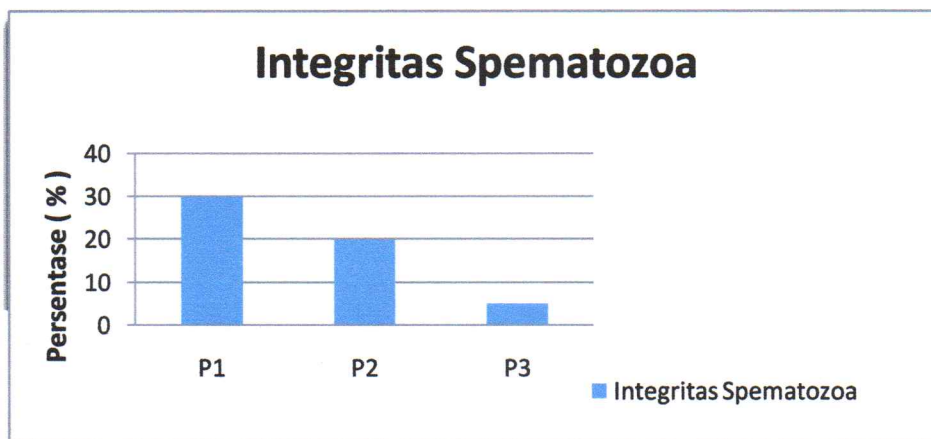
1 jam (P1), 1,5 jam (P2) dan 2 jam (P3) setelah diinkubasi selama ± 30 menit pada suhu kamar 27°C menunjukkan hasil pada tabel 4.4 berikut.

Tabel 4.4. Rerata dan Standar Deviasi Integritas Membran Plasma Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Before Freezing*

Perlakuan	Ulangan (n)	Integritas Spermatozoa (%) (rerata $\pm$ standar deviasi)
(P1)	8	30,00 ^a $\pm$ 3,59
(P2)	8	20,00 ^b $\pm$ 2,93
(P3)	8	5,00 ^c $\pm$ 2,51

Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$).

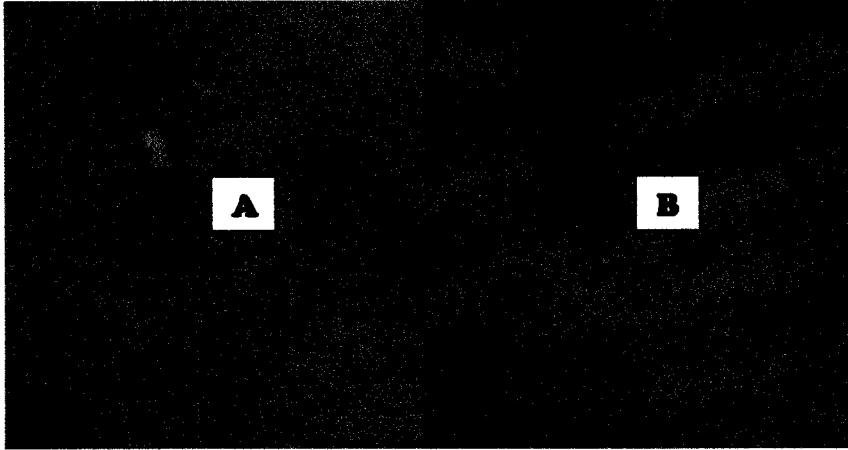
Nilai persentase dari ketiga perlakuan disajikan dalam diagram batang untuk menentukan perbedaan antara tiga perlakuan tersebut pada gambar 4.3.



Gambar 4.4 Diagram Batang Integritas Membran Plasma Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Before Freezing*

Berdasarkan analisis statistik dengan menggunakan ANOVA terhadap rata-rata integritas membran plasma spermatozoa *before freezing* menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara ketiga kelompok perlakuan tersebut karena perbedaan waktu equilibrasi.

Gambaran spermatozoa dengan membran plasma utuh dan rusak dapat dilihat pada gambar 4.5 yang telah diberi larutan HOS (HypoOsmotic Swelling).



Gambar 4.5 Pemeriksaan Mikroskop Integritas Membran Plasma Spermatozoa dengan Pembesaran 400 kali

Keterangan : A. Spermatozoa dengan membran plasma utuh (ekor melengkung dan menggembung).

B. Spermatozoa dengan membran plasma rusak (ekor lurus)

BAB 5 PEMBAHASAN

5.1. Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa *before freezing*

Motilitas atau daya gerak spermatozoa digunakan sebagai ukuran kemampuan spermatozoa untuk membuahi sel telur. Menurut Hardijanto dkk (2010), pemeriksaan motilitas spermatozoa hendaknya dilakukan pada suhu kamar agar mendapatkan hasil yang optimal mengingat spermatozoa sangat rentan terhadap suhu, lingkungan atau perlakuan buruk. Pendapat tersebut didukung pula oleh Salisbury dan Vandemark (1985) yang menyatakan seluruh pengamatan motilitas harus didasarkan standar kontrol temperatur terutama temperatur tubuh, karena pada temperatur mendekati 5°C spermatozoa hampir tidak bergerak, bila temperatur mendekati 50 °C menyebabkan spermatozoa mati dengan cepat.

Motilitas spermatozoa berhubungan erat dengan proses metabolisme spermatozoa. Metabolisme spermatozoa untuk menghasilkan energi yang diperlukan untuk proses fertilisasi dalam saluran kelamin betina. Substansi dari luar untuk proses metabolisme spermatozoa sangat diperlukan, substansi tersebut dapat berasal dari spermatozoa itu sendiri, gliserol dan lesitin (Salisbury and Vandemark, 1985).

Pengencer lesitin kacang kedelai (AndroMed®) tidak menggunakan kuning telur ayam karena dikhawatirkan kuning telur ayam tersebut menjadi media penyebaran berbagai macam kuman penyakit menular. Sebagai pengganti kuning telur pada pengencer AndroMed® digunakan ekstrak kedelai dengan lesitin yang terkandung di dalamnya. Pengencer AndroMed® juga telah

mengandung gliserol sehingga tidak perlu lagi ditambahkan senyawa krioprotektan (Rizal *et al*, 2008).

Penelitian ini menunjukkan motilitas progresif spermatozoa tertinggi (75,00) didapatkan pada kelompok perlakuan 1 dengan equilibrasi 1 jam menunjukkan bahwa sudah tercapainya keseimbangan yang optimal antara spermatozoa Domba Merino dengan gliserol yang terdapat dalam bahan pengencer dan metabolisme spermatozoa masih stabil.

Gliserol adalah molekul lemak yang sangat sederhana (Salisbury and Vandemark, 1985). Gliserol juga termasuk golongan alkanol polivalen atau polihidroksi yang berfungsi memberikan perlindungan terhadap efek cold shock, tetapi bila kadarnya berlebihan dapat menyebabkan kerusakan pada struktur membran spermatozoa selama proses pendinginan. Fungsi dari gliserol adalah menghindari terbentuknya kristal-kristal es, menghindari penimbunan elektrolit intraseluler (Herdis, 1999).

Dinding spermatozoa sangat permeabel terhadap gliserol. Gliserol yang memasuki sel akan menggantikan sebagian air yang bebas dan mendesak keluar elektrolit, menurunkan konsentrasi elektrolit intraseluler dan mengurangi daya perusak terhadap spermatozoa. Keseimbangan antara gliserol dengan spermatozoa akan mempermudah proses metabolisme spermatozoa yang bertujuan untuk menghasilkan motilitas bagi spermatozoa (Toelihere, 1985).

Urutan kedua dengan motilitas progresif sebanyak (68,00) dengan equilibrasi 1,5 jam menunjukkan bahwa menurunnya motilitas karena sudah

terbentuknya asam laktat sehingga menghasilkan motilitas progresif yang lebih rendah.

Menurut pendapat Bearden dan Fuquay (2000); Gilbert (1980), Terhambatnya metabolisme akan berpengaruh dalam pembentukan asam laktat. Tingkatan asam laktat berkorelasi nyata dengan daya gerak spermatozoa. Hal tersebut dapat memperpendek daya tahan hidup spermatozoa.

Hasil terendah pada penelitian ini terdapat pada kelompok perlakuan 3 (60,00) dengan equilibrasi selama 2 jam menunjukkan bahwa asam laktat yang terbentuk semakin banyak sehingga metabolisme terhambat dan menghasilkan motilitas progresif yang lebih rendah.

Waktu equilibrasi yang terlalu lama menyebabkan asam laktat yang terbentuk menjadi lebih banyak sehingga menyebabkan penurunan pH dan mengakibatkan kerusakan pada struktur membran plasma spermatozoa (Amin dkk, 1999).

5.2. Persentase Viabilitas Spermatozoa *before freezing*

Hasil penelitian menunjukkan persentase hidup spermatozoa sebelum pembekuan mengalami perbedaan yang nyata antara masing-masing perlakuan. Hasil menunjukkan persentase hidup yang paling baik (85,00) pada perlakuan 1 equilibrasi 1 jam, urutan kedua dengan equilibrasi 1,5 jam (78,00) dan urutan terakhir dengan equilibrasi 2 jam (70,00).

Pemeriksaan persentase hidup spermatozoa sebelum dibekukan dengan menghitung jumlah spermatozoa yang hidup dari sediaan ulas yang

menggunakan zat warna Eosin negrosin. Spermatozoa yang hidup tidak berwarna dan spermatozoa yang mati akan berwarna. Afinitas zat warna antara spermatozoa yang mati dan yang hidup digunakan untuk menghitung jumlah spermatozoa hidup secara obyektif pada waktu semen dicampur dengan zat warna eosin negrosin. Waktu pencampuran spermatozoa yang hidup tidak atau sedikit sekali menghisap warna sedangkan spermatozoa yang mati akan mengambil warna karena permeabilitas dinding sel meninggi waktu mati (Hafez, 2000). Sependapat dengan Bearden dan Fuquay (1997), zat warna eosin tidak dapat melewati membran sel hidup namun dapat melewati membran sel mati, sehingga sel yang hidup akan terlihat tidak berwarna sedangkan yang mati akan tampak berwarna kemerahan karena spermatozoa yang telah mati tidak terdapat perbedaan potensial ion natrium dan kalium antara di dalam dan di luar sel sehingga Eosin negrosin yang berikatan dengan natrium akan mudah berdifusi ke dalam spermatozoa dan menunjukkan penyerapan warna pada kepala saat diberi pewarnaan (Achmadi, 2001).

Penurunan persentase hidup spermatozoa sebelum pembekuan disebabkan oleh kondisi membran saat diequilibrasi. Menurut Suprayogi, (1996) perubahan ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran sehingga terjadi lisis dan kematian. Pendapat tersebut sesuai dengan Toelihere (1993), yang menyatakan pada proses pembekuan terbentuk kristal-kristal es dan terjadi penumpukan elektrolit dan bahan-bahan terlarut lainnya. Konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipoprotein dinding spermatozoa dan waktu pencairan kembali permeabilitas membran sel akan berubah dan menyebabkan kematian sel.

Permukaan spermatozoa dibungkus oleh suatu membran lipoprotein, apabila spermatozoa mati permeabilitas membran meningkat terutama di daerah pangkal kepala dan hal ini merupakan dasar pewarnaan spermatozoa hidup dan mati. Semakin lama waktu equilibrasi menyebabkan semakin banyak spermatozoa yang tua, abnormal dan mati (Toelihere, 1985).

5.3. Persentase Integritas Membran Plasma Spermatozoa *before freezing*

Metode Hypo-Osmotic Swelling merupakan tes sederhana yang digunakan untuk mengukur fungsi apakah membran plasma masih aktif atau tidak serta dapat digunakan sebagai indikator keberhasilan fertilisasi (Sarmardzija, 2008). Keutuhan membran spermatozoa yang utuh akan terlihat bagian ekor melengkung serta mengalami pembengkakan karena membran plasma spermatozoa masih berfungsi baik dalam menampung cairan pada lingkungan yang bersifat hipotonik. Keutuhan membran spermatozoa yang rusak ekor tidak akan melengkung serta tidak mengalami pembengkakan karena permeabilitasnya menurun, sehingga larutan *hypoosmotic* dapat keluar masuk membran spermatozoa dengan bebas menyebabkan ekor tetap dalam keadaan lurus (Susilowati, 2008).

Seperti halnya pada persentase hidup (viabilitas), pada penelitian ini menunjukkan bahwa keutuhan membran tertinggi didapatkan pada equilibrasi selama 1 jam (30,00), urutan kedua dengan equilibrasi 1,5 jam (20,00) dan terendah pada equilibrasi selama 2 jam (5,00).

Menurut Supriatna dan Pasaribu (1992), karbohidrat yang terkandung dalam AndroMed® merupakan senyawa yang dapat berperan sebagai

krioprotektan ekstraseluler dan berfungsi melindungi membran plasma sel dari kerusakan. Membran plasma sel yang tetap utuh akan memberikan pengaruh positif terhadap motilitas (daya gerak) dan viabilitas (daya hidup) spermatozoa sehingga akan mempengaruhi akan fertilisasi.

Berbagai proses biologis dapat menjadi modulator pembentukan ROS (reactive oxygen species) oleh spermatozoa, diantaranya kerusakan mekanik pada membran spermatozoa dan terpisahnya plasma seminalis dari spermatozoa. ROS dalam konsentrasi normal diperlukan sebagai mediator penting terhadap fungsi spermatozoa dan terlibat dalam induksi hiperaktivasi, kapasitasi, dan reaksi akrosom serta fusi spermatozoa dengan sel telur. Namun, bila produksi ROS berlebihan dan tidak mampu dinetralisir oleh sistem pertahanan, antioksidan yang ada pada spermatozoa atau plasma seminalis dapat menyebabkan kerusakan asam lemak, khususnya asam lemak poli tak jenuh yang dikenal dengan lipid peroksidase yang merupakan komponen penting dari fosfolipid penyusun membran spermatozoa, selanjutnya menyebabkan penurunan motilitas, dan kematian spermatozoa (Susilowati, 2008). Keutuhan membran plasma sangat berkorelasi dengan viabilitas spermatozoa, apabila membran plasma spermatozoa sudah mengalami kerusakan, maka metabolisme spermatozoa akan terganggu sehingga spermatozoa akan kehilangan motilitasnya dan mengakibatkan kematian (Rizal dan Herdis, 2008).

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Waktu equilibrasi 1 jam dapat mempertahankan motilitas spermatozoa Domba Merino dibandingkan dengan equilibrasi 1,5 jam dan 2 jam dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati.
2. Waktu equilibrasi 1 jam dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa Domba Merino dibandingkan dengan equilibrasi 1,5 jam dan 2 jam dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati.
3. Waktu equilibrasi 1 jam dapat mempertahankan integritas membran spermatozoa Domba Merino dibandingkan dengan equilibrasi 1,5 jam dan 2 jam dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati.

6.2. Saran

Waktu equilibrasi 1 jam dapat digunakan untuk proses pembekuan spermatozoa Domba Merino dalam pengencer lesitin nabati (AndroMed®).

RINGKASAN

Eka Fenny Putri Suryani. Pengaruh Waktu Equilibrasi Terhadap Motilitas, Viabilitas dan Integritas Membran Spermatozoa Domba Merino dalam Pengencer yang Mengandung Lesitin Nabati dengan Dr. Suherni Susilowati, drh., M. Kes. selaku dosen pembimbing pertama dan Emy Koestanti Sabdoningrum, drh., M.Kes. selaku dosen pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu equilibrasi terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa Domba Merino dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati. Sampel yang digunakan adalah semen segar Domba Merino. Semen ditampung menggunakan vagina buatan dan dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui kelayakannya supaya dapat diproses. Kemudian semen dicampur dengan pengencer yang mengandung lesitin nabati. Dalam penelitian ini menggunakan pengencer lesitin nabati (AndroMed®). Kemudian semen dibagi menjadi tiga perlakuan yaitu perlakuan satu (P1) semen diequilibrasi selama 1 jam, perlakuan dua (P2) equilibrasi 1,5 jam dan perlakuan tiga (P3) equilibrasi 2jam. Masing-masing perlakuan dengan 8 ulangan dan dilakukan pemeriksaan motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa pada proses *before freezing*. Hasil pemeriksaan motilitas progresif didapatkan diantara ketiga perlakuan tersebut yaitu P1 equilibrasi 1 jam, P2 equilibrasi 1,5 jam dan P3 equilibrasi 2 jam terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$). Ini disebabkan waktu equilibrasi yang terlalu lama menyebabkan asam laktat yang terbentuk menjadi lebih banyak

sehingga menyebabkan penurunan pH dan mengakibatkan kerusakan pada struktur membran plasma spermatozoa. Sehingga spermatozoa akan kehilangan motilitasnya. Hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa diantara ketiga perlakuan tersebut yaitu P1 equilibrasi 1 jam, P2 equilibrasi 1,5 jam dan P3 equilibrasi 2 jam terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$). Penurunan persentase viabilitas spermatozoa disebabkan karena perubahan permeabilitas membran yang meningkat sehingga terjadi lisis dan kematian. Hasil pemeriksaan integritas membran diantara ketiga perlakuan tersebut yaitu P1 equilibrasi 1 jam, P2 equilibrasi 1,5 jam dan P3 equilibrasi 2 jam terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$). Ketuhan membran sangat berkorelasi dengan viabilitas, apabila membran rusak mengakibatkan metabolisme terganggu sehingga spermatozoa akan kehilangan motilitas dan terjadi kematian.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa waktu equilibrasi berpengaruh terhadap motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa. Waktu equilibrasi selama 1 jam cukup mempertahankan motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa Domba Merino dalam pengencer yang mengandung lesitin nabati.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, AS., 2001. Kaji Banding Kualitas dan Keutuhan Membran Plasma Semen Beku Sapi pada Setiap Tahap Jalur Distribusi. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Aires V.A., K.D. Hinsch, F.M. Schloesser, K. Bogner, S.M. Schloesser, and E. Hinsch. 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.
- Arifiantini, R. dan T.L. Yusuf. 2004. Keberhasilan Penggunaan Tiga Pengencer dalam Dua Jenis Kemasan pada Proses Pembekuan Semen Sapi *Frisien Holstein*. //http.www.google.com. [30 mei 2010].
- Ashdown, R. R. 1987. Anatomy of Male Reproduction. In: Reproduction in Farm animals. 5th Ed. E. S. E Havev (Ed). Lea and Febiger, Philadelphia.
- Axner, E., C.L. Forsberg and S. Einarsson. 1999. Morphology and Motility of Spermatozoa from Different Region of The Epididymal Duct in The Domestic Cat. *Theriogenology* 45: 767-777.
- Bearden, H.J., dan J.W. Fuquay, 1980. Applied Animal Reproduction. 3th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Direktorat Jenderal Peternakan . 2000. Prosedur Tetap (PROTAP) Produksi dan Distribusi Semen Beku. Departemen Pertanian Direktorat Jenderal Peternakan. Jakarta.
- Evans, G. and W.M.C. Maxwell. 1987. Salmons Artificial Insemination of Sheep and Goats. Botter Worths.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung.
- Frandsen, R.D. 1996. Anatomi dan Fisiologi Hewan Ternak (Anatomy and Physiologi of Farm Animal). 4th ed. Diterjemahkan oleh B. Srigandono and K.Praseno, disunting Soedarsono, Fakultas Peternakan Diponegoro. Penerbit Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Garner, D.L. and E. S. E. Hafez. 1987. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: Reproduction in Farm Animals. 5th Ed. E. S. E. Hafez (Ed). Lea and Febiger. Philadelphia.
- Gilbert, A.B., 1980. Poultry. In: Reproduction in Farm Animals, 4th edition. E.S.E Hafez (Ed). Lea and Febiger, Philadelphia. Pp 436-438.

- Hafez, E.S.E., 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Edition. Copyright by Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hardijanto., S. Suherni., H. Tatik., S. Trilas., dan T.W. Suprayogi. 2010. *Buku Ajar Inseminasi Buatan*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Herdis, B., Purwantara, I. Supriatna dan I.G Putu. 1999. Integritas Spermatozoa Kerbau Lumpur (*Bubalis bubalis*) pada Berbagai Metode Pembekuan Semen. dalam : *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* Nomor 1 (4). 1999.7-12
- Ismudiono. 2009. *Buku Ajar Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusriningrum. 2008. *Perancangan Percobaan*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Lindsay, D.R., K.W. Entwistle dan A Winantea. 1982. *Reproduksi Ternak di Indonesia*. Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Brawijaya, Malang.
- M. Surachman., Herdis., Yulnawati., M. Rizal., H. Maheswari., 2009. Kualitas Semen Cair Asal Epididimis Kerbau Belang dalam Bahan Pengencer Andromed yang Mendapat Penambahan Sukrosa. *Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor*. Vol. 32 No.2.
- Maxwell, W.M.C. and S. Salamon. 1993. Liquid Storage of Ram Semen :a review. *Reproduction, Fertility and Development* 5 : 601 – 612.
- Mulyana, W. 2003. *Cara Beternak kambing*. Semarang : PT.Aneka Ilmu.
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan Edisi Ketiga*. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Poernomo,B., Mafruchati M., Widjiati.,E.M Luqman., Suprihati E., dan Akhmad T. 2006. *Penuntun Embriologi*. Pustaka Melati. Surabaya.
- Purbowati, E. 2009. *Usaha Penggemukan Domba*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rizal, M., Herdis dan A. Boediono. 2004. Daya Hidup Sperma Epididimis Domba setelah Disimpan pada Suhu Rendah (5°C). *J. Anim. Prod.* 6 :30-36.
- Rizal, M. dan Herdis. 2008. *Inseminasi Buatan pada Domba*. Rineka Cipta. Jakarta.

- Salamon, S. and M.W Maxwell. 2000. Storage of Ram Semen. *Anim Reprod Sci.* 62:77-111.
- Salisbury, G.W. and N.L.Van Demark. 1985. Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi (Physiology and Artificial Insemination of Cattle). Diterjemahkan oleh Djanuar. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Samardzija M., D.Tomislav, K. Suzana, C. Marijan, K. Martina, P. Nikica and G. Jurac. 2008. The Use of The Hypoosmotic Swelling Test and Supravital Staining In Evaluation of Sperm Quality In Boars. *Veterinarski Archiv* 78(4).
- Sukaca, I. 2009. Pengaruh Penambahan Fruktosa Ke dalam Pengencer Anorganik Semen Beku Sapi FH Terhadap Motilitas dan Persentase Hidup Spermatozoa Post Thawing [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suprayogi, T.W. 1996. Pengaruh Waktu Penyimpanan Bahan Pengencer Kuning Telur Sitrat Terhadap Daya Fertilitas Sel Mani Domba. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Susilawati, T. 2000. Analisis Membran Spermatozoa Sapi Hasil Filtrasi Sephadex dan Sentrifugasi Gradient Densitas Percoll pada Proses Seleksi Jenis Kelamin. Thesis. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Susilowati S. 2008. Komplek Insulin Like Growth Faktor-I Mempengaruhi Presentase Membran Plasma Utuh dan Kadar Malondialdehid Spermatozoa. *Jurnal Veteriner Desember 2008 VOL 9 No 4*.
- Susilowati, S., Hardijanto, T.W. Suprayogi T. Sardjito, T. Hernawati,. 2010. Petunjuk Praktikum Inseminasi Buatan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Toelihere, M.R. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Mutiara. Jakarta.
- Toelihere, M. R., 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak Cetakan III. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M.R, 1993. Pengantar Praktikum Inseminasi Buatan. Edisi kelima. Departemen Reproduksi Institut Pertanian Bogor.
- Yatim W. 1994. Reproduksi dan Embriologi untuk Mahasiswa Biologi dan Kedokteran. Penerbit Tarsito. Bandung. Hal 31-43.

Lampiran 1 Pengencer yang Mengandung Lesitin Nabati (AndroMed®) (Minitub Jerman)

AndroMed® adalah media pengencer steril untuk diluter tanpa kuning telur. AndroMed® juga digunakan untuk pembekuan pada semen kambing, domba dan rusa. Antibiotika yang terkandung di dalamnya sudah sesuai dengan standar EU: EC directive 88/407.

1. Komposisi

- Phospholipids
- Tris
- Asam sitrat
- Gula
- Antioksidan
- Buffer
- Glycerol
- Antibiotik
- Air

100 cc dari diluter siap pakai mengandung unit inaktif:

- Tylosin 5 mg
- Gentamicin 25 mg
- Spectinomycin 30 mg
- Lincomycin 15 mg

2. Ukuran kemasan

Tiap botol AndroMed® mengandung 200 cc konsentrat untuk memproduksi 1000 cc diluter siap pakai.

Persiapan

Persiapan pembuatan diluter, hangatkan isi dari satu botol AndroMed® (200 cc) dalam wather bath dengan suhu +35°C . Lalu hangatkan 800 cc air steril pada

suhu +35°C dan masukkan ke dalam pengencer. Ratio diluter yang dipakai dalam penelitian ini (1 bagian konsentrat + 3,5 bagian aquabidest).

Proses:

- Hangatkan pengencer AndroMed® sebanyak yang dikehendaki pada suhu +35°C dalam wather bath dan masukkan ke dalam silinder steril atau tabung volumetrik yang sesuai ukuran.
- Hangatkan aquabidest sebanyak yang dikehendaki pada suhu +35°C dan masukkan ke dalam bahan pengencer.
- Campur dengan baik dengan mengaduk atau menggunakan pengaduk magnet.

Lampiran 2 Cara Membuat Preparat Ulas Spermatozoa

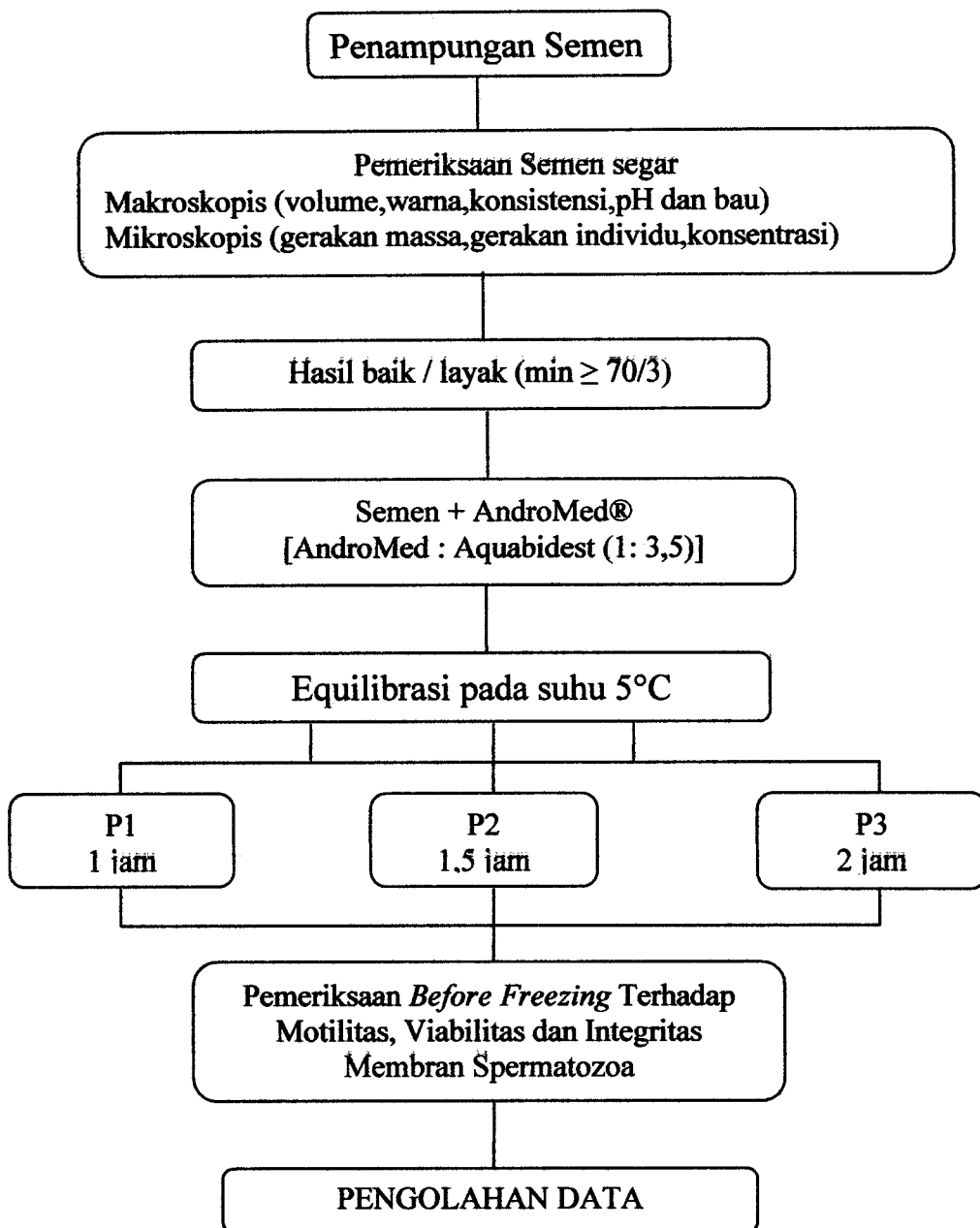
1. Ambil obyek glass bersih.
2. Pada obyek glass teteskan satu tetes kecil semen dan satu tetes besar larutan Eosin-negrosin di sampingnya.
3. Campurkanlah zat wara itu dengan semen sampai homogen.
4. Buat preparat ulas tipis dan keringkan di atas nyala api (proses ini harus selesai maksimal 15 detik).
5. Lihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 400X.

Sumber : Hardijanto dkk. (2010).

Lampiran 3 Uji Integritas Membran

1. 1ml larutan hypoosmotic (7,35 gr Na Sitrat 2 H₂O, 13,52 fruktosa dilarutkan dalam 1000ml aquadest) ditambah 0,1ml spermatozoa
2. Inkubasi pada suhu kamar selama $\pm$ 30 menit
3. Ambil 1 tetes spermatozoa letakkan pada objek glass
4. Buat preparat ulas dengan pewarnaan Eosin negrosin
5. Amati di mikroskop dengan pembesaran 400 kali

Sumber : (Susilowati, 2008)

Lampiran 4 Skema Penelitian

Lampiran 5 Hasil Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis Semen Segar**➤ Pemeriksaan Makroskopis**

Ulangan	Volume	Konsistensi	Warna	Bau	pH
1	0,8	Sedang	Krem	Khas	6-7
2	1,2	Sedang	Krem	Khas	6-7
3	1,4	Sedang	Krem	Khas	6-7
4	1	Sedang	Krem	Khas	6-7

➤ Pemeriksaan Mikroskopis

Ulangan	Gerakan Massa	Motilitas (%)	Konsentrasi (jt/ml)
1	+++	90/4	9008
2	+++	90/4	5078
3	+++	90/4	5645
4	+++	90/4	6536

Keterangan :

90/4 = motilitas progresifnya 90% dengan kecepatan 4 yang artinya sangat cepat.

Lampiran 6 Hasil Pemeriksaan *Before Freezing*

Ulangan	P1 (1 jam)			P2 (1,5 jam)			P3 (2 jam)		
	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Integritas (%)	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Integritas (%)	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Integritas (%)
1	70/3	80	25	65/2	72	18	45/2	67	2
2	75/3	86	28	70/2+	80	18	50/2	66	2
3	80/4	88	32	75/3	85	25	70/2+	77	9
4	75/4	84	34	70/3	80	20	65/2	67	3
5	75/3	85	30	70/3	81	24	65/2	74	6
6	70/3	82	26	60/3	70	17	60/2	66	5
7	80/3+	90	35	70/3	80	19	65/2	74	6
8	75/3	85	30	65/3	76	19	65/2	69	7
Rata-rata	75/3+	85	30	68/3	78	20	60/2	70	5

Keterangan

Misal:

80/4 = motilitas progresifnya 80% dengan kecepatan 4 yang artinya sangat cepat.

70/3 = motilitas progresifnya 70% dengan kecepatan 3 yang artinya cepat.

50/2 = motilitas progresifnya 50% dengan kecepatan 2 yang artinya sedang.

Lampiran 7 ANALISIS DATA

Case Processing Summary^a

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
motilitas * perlakuan	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%
viabilitas * perlakuan	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%
integritas * perlakuan	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

Case Summaries(a)

Case Summaries^a

			motilitas	viabilitas	integritas
perlakuan	P1	1	70	80	25
		2	75	86	28
		3	80	88	32
		4	75	84	34
		5	75	85	30
		6	70	82	26
		7	80	90	35
		8	75	85	30
	Total	N	8	8	8
		Mean	75,00	85,00	30,00
		Std. Deviation	3,780	3,162	3,586
	P2	1	65	72	18
		2	70	80	18
		3	75	85	25
		4	70	80	20
		5	70	81	24
		6	60	70	17
		7	70	80	19
		8	65	78	19
	Total	N	8	8	8
		Mean	68,13	78,00	20,00

BAB I PENDAHULUAN		1
1.1 Latar Belakang		1
1.2 Rumusan Masalah		2
1.3 Tujuan Penelitian		2
1.4 Manfaat Penelitian		3
1.5 Batasan Penelitian		3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA		4
2.1 Konsep Dasar		4
2.2 Penelitian Terdahulu		5
2.3 Kerangka Teori		6
BAB III METODE PENELITIAN		7
3.1 Jenis Penelitian		7
3.2 Lokasi Penelitian		7
3.3 Waktu Penelitian		7
3.4 Subjek Penelitian		7
3.5 Instrumen Penelitian		7
3.6 Teknik Pengumpulan Data		7
3.7 Teknik Analisis Data		7

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		8
4.1 Deskripsi Data		8
4.2 Analisis Data		8
4.3 Pembahasan		8
BAB V PENUTUP		9
5.1 Kesimpulan		9
5.2 Saran		9
DAFTAR PUSTAKA		10
LAMBIAN		11
DAFTAR ISI		12
DAFTAR LAMBIAN		13
DAFTAR PUSTAKA		14
LAMBIAN		15
DAFTAR ISI		16
DAFTAR LAMBIAN		17
DAFTAR PUSTAKA		18
LAMBIAN		19
DAFTAR ISI		20
DAFTAR LAMBIAN		21
DAFTAR PUSTAKA		22
LAMBIAN		23
DAFTAR ISI		24
DAFTAR LAMBIAN		25
DAFTAR PUSTAKA		26
LAMBIAN		27
DAFTAR ISI		28
DAFTAR LAMBIAN		29
DAFTAR PUSTAKA		30
LAMBIAN		31
DAFTAR ISI		32
DAFTAR LAMBIAN		33
DAFTAR PUSTAKA		34
LAMBIAN		35
DAFTAR ISI		36
DAFTAR LAMBIAN		37
DAFTAR PUSTAKA		38
LAMBIAN		39
DAFTAR ISI		40
DAFTAR LAMBIAN		41
DAFTAR PUSTAKA		42
LAMBIAN		43
DAFTAR ISI		44
DAFTAR LAMBIAN		45
DAFTAR PUSTAKA		46
LAMBIAN		47
DAFTAR ISI		48
DAFTAR LAMBIAN		49
DAFTAR PUSTAKA		50
LAMBIAN		51
DAFTAR ISI		52
DAFTAR LAMBIAN		53
DAFTAR PUSTAKA		54
LAMBIAN		55
DAFTAR ISI		56
DAFTAR LAMBIAN		57
DAFTAR PUSTAKA		58
LAMBIAN		59
DAFTAR ISI		60
DAFTAR LAMBIAN		61
DAFTAR PUSTAKA		62
LAMBIAN		63
DAFTAR ISI		64
DAFTAR LAMBIAN		65
DAFTAR PUSTAKA		66
LAMBIAN		67
DAFTAR ISI		68
DAFTAR LAMBIAN		69
DAFTAR PUSTAKA		70
LAMBIAN		71
DAFTAR ISI		72
DAFTAR LAMBIAN		73
DAFTAR PUSTAKA		74
LAMBIAN		75
DAFTAR ISI		76
DAFTAR LAMBIAN		77
DAFTAR PUSTAKA		78
LAMBIAN		79
DAFTAR ISI		80
DAFTAR LAMBIAN		81
DAFTAR PUSTAKA		82
LAMBIAN		83
DAFTAR ISI		84
DAFTAR LAMBIAN		85
DAFTAR PUSTAKA		86
LAMBIAN		87
DAFTAR ISI		88
DAFTAR LAMBIAN		89
DAFTAR PUSTAKA		90
LAMBIAN		91
DAFTAR ISI		92
DAFTAR LAMBIAN		93
DAFTAR PUSTAKA		94
LAMBIAN		95
DAFTAR ISI		96
DAFTAR LAMBIAN		97
DAFTAR PUSTAKA		98
LAMBIAN		99
DAFTAR ISI		100
DAFTAR LAMBIAN		101
DAFTAR PUSTAKA		102
LAMBIAN		103
DAFTAR ISI		104
DAFTAR LAMBIAN		105
DAFTAR PUSTAKA		106
LAMBIAN		107
DAFTAR ISI		108
DAFTAR LAMBIAN		109
DAFTAR PUSTAKA		110
LAMBIAN		111
DAFTAR ISI		112
DAFTAR LAMBIAN		113
DAFTAR PUSTAKA		114
LAMBIAN		115
DAFTAR ISI		116
DAFTAR LAMBIAN		117
DAFTAR PUSTAKA		118
LAMBIAN		119
DAFTAR ISI		120
DAFTAR LAMBIAN		121
DAFTAR PUSTAKA		122
LAMBIAN		123
DAFTAR ISI		124
DAFTAR LAMBIAN		125
DAFTAR PUSTAKA		126
LAMBIAN		127
DAFTAR ISI		128
DAFTAR LAMBIAN		129
DAFTAR PUSTAKA		130
LAMBIAN		131
DAFTAR ISI		132
DAFTAR LAMBIAN		133
DAFTAR PUSTAKA		134
LAMBIAN		135
DAFTAR ISI		136
DAFTAR LAMBIAN		137
DAFTAR PUSTAKA		138
LAMBIAN		139
DAFTAR ISI		140
DAFTAR LAMBIAN		141
DAFTAR PUSTAKA		142
LAMBIAN		143
DAFTAR ISI		144
DAFTAR LAMBIAN		145
DAFTAR PUSTAKA		146
LAMBIAN		147
DAFTAR ISI		148
DAFTAR LAMBIAN		149
DAFTAR PUSTAKA		150
LAMBIAN		151
DAFTAR ISI		152
DAFTAR LAMBIAN		153
DAFTAR PUSTAKA		154
LAMBIAN		155
DAFTAR ISI		156
DAFTAR LAMBIAN		157
DAFTAR PUSTAKA		158
LAMBIAN		159
DAFTAR ISI		160
DAFTAR LAMBIAN		161
DAFTAR PUSTAKA		162
LAMBIAN		163
DAFTAR ISI		164
DAFTAR LAMBIAN		165
DAFTAR PUSTAKA		166
LAMBIAN		167
DAFTAR ISI		168
DAFTAR LAMBIAN		169
DAFTAR PUSTAKA		170
LAMBIAN		171
DAFTAR ISI		172
DAFTAR LAMBIAN		173
DAFTAR PUSTAKA		174
LAMBIAN		175
DAFTAR ISI		176
DAFTAR LAMBIAN		177
DAFTAR PUSTAKA		178
LAMBIAN		179
DAFTAR ISI		180
DAFTAR LAMBIAN		181
DAFTAR PUSTAKA		182
LAMBIAN		183
DAFTAR ISI		184
DAFTAR LAMBIAN		185
DAFTAR PUSTAKA		186
LAMBIAN		187
DAFTAR ISI		188
DAFTAR LAMBIAN		189
DAFTAR PUSTAKA		190
LAMBIAN		191
DAFTAR ISI		192
DAFTAR LAMBIAN		193
DAFTAR PUSTAKA		194
LAMBIAN		195
DAFTAR ISI		196
DAFTAR LAMBIAN		197
DAFTAR PUSTAKA		198
LAMBIAN		199
DAFTAR ISI		200
DAFTAR LAMBIAN		201
DAFTAR PUSTAKA		202
LAMBIAN		203
DAFTAR ISI		204
DAFTAR LAMBIAN		205
DAFTAR PUSTAKA		206
LAMBIAN		207
DAFTAR ISI		208
DAFTAR LAMBIAN		209
DAFTAR PUSTAKA		210
LAMBIAN		211
DAFTAR ISI		212
DAFTAR LAMBIAN		213
DAFTAR PUSTAKA		214
LAMBIAN		215
DAFTAR ISI		216
DAFTAR LAMBIAN		217
DAFTAR PUSTAKA		218
LAMBIAN		219
DAFTAR ISI		220
DAFTAR LAMBIAN		221
DAFTAR PUSTAKA		222
LAMBIAN		223
DAFTAR ISI		224
DAFTAR LAMBIAN		225
DAFTAR PUSTAKA		226
LAMBIAN		227
DAFTAR ISI		228
DAFTAR LAMBIAN		229
DAFTAR PUSTAKA		230
LAMBIAN		231
DAFTAR ISI		232
DAFTAR LAMBIAN		233
DAFTAR PUSTAKA		234
LAMBIAN		235
DAFTAR ISI		236
DAFTAR LAMBIAN		237
DAFTAR PUSTAKA		238
LAMBIAN		239
DAFTAR ISI		240
DAFTAR LAMBIAN		241
DAFTAR PUSTAKA		242
LAMBIAN		243
DAFTAR ISI		244
DAFTAR LAMBIAN		245
DAFTAR PUSTAKA		246
LAMBIAN		247
DAFTAR ISI		248
DAFTAR LAMBIAN		249
DAFTAR PUSTAKA		250
LAMBIAN		251
DAFTAR ISI		252
DAFTAR LAMBIAN		253
DAFTAR PUSTAKA		254
LAMBIAN		255
DAFTAR ISI		256
DAFTAR LAMBIAN		257
DAFTAR PUSTAKA		258
LAMBIAN		259
DAFTAR ISI		260
DAFTAR LAMBIAN		261
DAFTAR PUSTAKA		262
LAMBIAN		263
DAFTAR ISI		264
DAFTAR LAMBIAN		265
DAFTAR PUSTAKA		266
LAMBIAN		267
DAFTAR ISI		268
DAFTAR LAMBIAN		269
DAFTAR PUSTAKA		270
LAMBIAN		271
DAFTAR ISI		272
DAFTAR LAMBIAN		273
DAFTAR PUSTAKA		274
LAMBIAN		275
DAFTAR ISI		276
DAFTAR LAMBIAN		277
DAFTAR PUSTAKA		278
LAMBIAN		279
DAFTAR ISI		280
DAFTAR LAMBIAN		281
DAFTAR PUSTAKA		282
LAMBIAN		283
DAFTAR ISI		284
DAFTAR LAMBIAN		285
DAFTAR PUSTAKA		286
LAMBIAN		287
DAFTAR ISI		288
DAFTAR LAMBIAN		289
DAFTAR PUSTAKA		290
LAMBIAN		291
DAFTAR ISI		292
DAFTAR LAMBIAN		293
DAFTAR PUSTAKA		294
LAMBIAN		295
DAFTAR ISI		296
DAFTAR LAMBIAN		297
DAFTAR PUSTAKA		298
LAMBIAN		299
DAFTAR ISI		300
DAFTAR LAMBIAN		301
DAFTAR PUSTAKA		302
LAMBIAN		303
DAFTAR ISI		304
DAFTAR LAMBIAN		305
DAFTAR PUSTAKA		306
LAMBIAN		307
DAFTAR ISI		308
DAFTAR LAMBIAN		309
DAFTAR PUSTAKA		310
LAMBIAN		311
DAFTAR ISI		312
DAFTAR LAMBIAN		313
DAFTAR PUSTAKA		314
LAMBIAN		315
DAFTAR ISI		316
DAFTAR LAMBIAN		317
DAFTAR PUSTAKA		318
LAMBIAN		319
DAFTAR ISI		320
DAFTAR LAMBIAN		321
DAFTAR PUSTAKA		322
LAMBIAN		323
DAFTAR ISI		324
DAFTAR LAMBIAN		325
DAFTAR PUSTAKA		326
LAMBIAN		327
DAFTAR ISI		328
DAFTAR LAMBIAN		329
DAFTAR PUSTAKA		330
LAMBIAN		331
DAFTAR ISI		332
DAFTAR LAMBIAN		333
DAFTAR PUSTAKA		334
LAMBIAN		335
DAFTAR ISI		336
DAFTAR LAMBIAN		337
DAFTAR PUSTAKA		338
LAMBIAN		339
DAFTAR ISI		340
DAFTAR LAMBIAN		341
DAFTAR PUSTAKA		342
LAMBIAN		343
DAFTAR ISI		344
DAFTAR LAMBIAN		345
DAFTAR PUSTAKA		346
LAMBIAN		347
DAFTAR ISI		348
DAFTAR LAMBIAN		349
DAFTAR PUSTAKA		350
LAMBIAN		351
DAFTAR ISI		352
DAFTAR LAMBIAN		353
DAFTAR PUSTAKA		354
LAMBIAN		355
DAFTAR ISI		356
DAFTAR LAMBIAN		357
DAFTAR PUSTAKA		358
LAMBIAN		359
DAFTAR ISI		360
DAFTAR LAMBIAN		361
DAFTAR PUSTAKA		362
LAMBIAN		363
DAFTAR ISI		364
DAFTAR LAMBIAN		365
DAFTAR PUSTAKA		366
LAMBIAN		367
DAFTAR ISI		368
DAFTAR LAMBIAN		369
DAFTAR PUSTAKA		370
LAMBIAN		371
DAFTAR ISI		372
DAFTAR LAMBIAN		373
DAFTAR PUSTAKA		374
LAMBIAN		375
DAFTAR ISI		376
DAFTAR LAMBIAN		377
DAFTAR PUSTAKA		378
LAMBIAN		379
DAFTAR ISI		380
DAFTAR LAMBIAN		381
DAFTAR PUSTAKA		382
LAMBIAN		383
DAFTAR ISI		384
DAFTAR LAMBIAN		385
DAFTAR PUSTAKA		386
LAMBIAN		387
DAFTAR ISI		388
DAFTAR LAMBIAN		389
DAFTAR PUSTAKA		390
LAMBIAN		391
DAFTAR ISI		392
DAFTAR LAMBIAN		393
DAFTAR PUSTAKA		394
LAMBIAN		395
DAFTAR ISI		396
DAFTAR LAMBIAN		397
DAFTAR PUSTAKA		398
LAMBIAN		399
DAFTAR ISI		400
DAFTAR LAMBIAN		401
DAFTAR PUSTAKA		402
LAMBIAN		403
DAFTAR ISI		404
DAFTAR LAMBIAN		405
DAFTAR PUSTAKA		406
LAMBIAN		407
DAFTAR ISI		408
DAFTAR LAMBIAN		409
DAFTAR PUSTAKA		410
LAMBIAN		411
DAFTAR ISI		412
DAFTAR LAMBIAN		413
DAFTAR PUSTAKA		414
LAMBIAN		415
DAFTAR ISI		416
DAFTAR LAMBIAN		417
DAFTAR PUSTAKA		418
LAMBIAN		419
DAFTAR ISI		420
DAFTAR LAMBIAN		421
DAFTAR PUSTAKA		422
LAMBIAN		423
DAFTAR ISI		424
DAFTAR LAMBIAN		425
DAFTAR PUSTAKA		426
LAMBIAN		427
DAFTAR ISI		428
DAFTAR LAMBIAN		429
DAFTAR PUSTAKA		430
LAMBIAN		431
DAFTAR ISI		432
DAFTAR LAMBIAN		433
DAFTAR PUSTAKA		434
LAMBIAN		435
DAFTAR ISI		436
DAFTAR LAMBIAN		437
DAFTAR PUSTAKA		438
LAMBIAN		439
DAFTAR ISI		440
DAFTAR LAMBIAN		441
DAFTAR PUSTAKA		442
LAMBIAN		443
DAFTAR ISI		444
DAFTAR LAMBIAN		445
DAFTAR PUSTAKA		446
LAMBIAN		447
DAFTAR ISI		448
DAFTAR LAMBIAN		449
DAFTAR PUSTAKA		450
LAMBIAN		451
DAFTAR ISI		452
DAFTAR LAMBIAN		453
DAFTAR PUSTAKA		454
LAMBIAN		455
DAFTAR ISI		456
DAFTAR LAMBIAN		457
DAFTAR PUSTAKA		458
LAMBIAN		459
DAFTAR ISI		460
DAFTAR LAMBIAN		461
DAFTAR PUSTAKA		462
LAMBIAN		463
DAFTAR ISI		464
DAFTAR LAMBIAN		465
DAFTAR PUSTAKA		466
LAMBIAN		467
DAFTAR ISI		468
DAFTAR LAMBIAN		469
DAFTAR PUSTAKA		470
LAMBIAN		471
DAFTAR ISI		472
DAFTAR LAMBIAN		473
DAFTAR PUSTAKA		474
LAMBIAN		475
DAFTAR ISI		476
DAFTAR LAMBIAN		477
DAFTAR PUSTAKA		478
LAMBIAN		479
DAFTAR ISI		480
DAFTAR LAMBIAN		481
DAFTAR PUSTAKA		482
LAMBIAN		483
DAFTAR ISI		484
DAFTAR LAMBIAN		485
DAFTAR PUSTAKA		486
LAMBIAN		487
DAFTAR ISI		488
DAFTAR LAMBIAN		489
DAFTAR PUSTAKA		490
LAMBIAN		491
DAFTAR ISI		492
DAFTAR LAMBIAN		493
DAFTAR PUSTAKA		494
LAMBIAN		495
DAFTAR ISI		496
DAFTAR LAMBIAN		497
DAFTAR PUSTAKA		498
LAMBIAN		499
DAFTAR ISI		500
DAFTAR LAMBIAN		501
DAFTAR PUSTAKA		502
LAMBIAN		503
DAFTAR ISI		504
DAFTAR LAMBIAN		505
DAFTAR PUSTAKA		506
LAMBIAN		507
DAFTAR ISI		508
DAFTAR LAMBIAN		509
DAFTAR PUSTAKA		510
LAMBIAN		511
DA		

		Std. Deviation	4,581	4,986	2,928
P3	1		45	67	2
	2		50	66	2
	3		70	77	9
	4		65	67	3
	5		65	74	6
	6		60	66	5
	7		65	74	6
	8		65	69	7
Total		N	8	8	8
		Mean	60,63	70,00	5,00
		Std. Deviation	8,634	4,342	2,507
Total	N		24	24	24
	Mean		67,92	77,67	18,33
	Std. Deviation		8,330	7,452	10,889

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
motalitas	3,167	2	21	,063
viabilitas	1,584	2	21	,229
integritas	,402	2	21	,674

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
motalitas	Between Groups	827,083	2	413,542	11,297	,000
	Within Groups	768,750	21	36,607		
	Total	1595,833	23			
viabilitas	Between Groups	901,333	2	450,667	25,170	,000
	Within Groups	376,000	21	17,905		
	Total	1277,333	23			

integritas	Between Groups	2533,333	2	1266,667	137,113	,000
	Within Groups	194,000	21	9,238		
	Total	2727,333	23			

PostHoc Tests

Multiple Comparisons

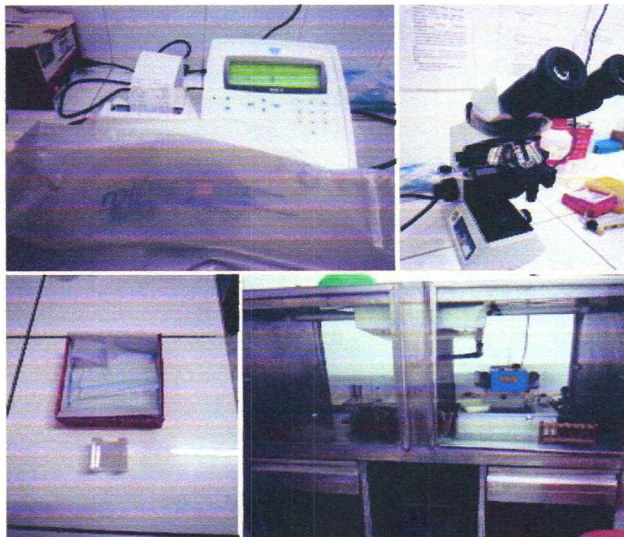
LSD

Dependent Variable (I) perlakuan (J) perlakuan			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
mortalitas	P1	P2	6,875 [*]	3,025	,034	,58	13,17
		- P3	14,375 [*]	3,025	,000	8,08	20,67
	P2	P1	-6,875 [*]	3,025	,034	-13,17	-,58
		- P3	7,500 [*]	3,025	,022	1,21	13,79
	P3	P1	-14,375 [*]	3,025	,000	-20,67	-8,08
		- P2	-7,500 [*]	3,025	,022	-13,79	-1,21
viabilitas	P1	P2	7,000 [*]	2,116	,003	2,60	11,40
		- P3	15,000 [*]	2,116	,000	10,60	19,40
	P2	P1	-7,000 [*]	2,116	,003	-11,40	-2,60
		- P3	8,000 [*]	2,116	,001	3,60	12,40
	P3	P1	-15,000 [*]	2,116	,000	-19,40	-10,60
		- P2	-8,000 [*]	2,116	,001	-12,40	-3,60
integritas	P1	P2	10,000 [*]	1,520	,000	6,84	13,16
		- P3	25,000 [*]	1,520	,000	21,84	28,16
	P2	P1	-10,000 [*]	1,520	,000	-13,16	-6,84
		- P3	15,000 [*]	1,520	,000	11,84	18,16
	P3	P1	-25,000 [*]	1,520	,000	-28,16	-21,84
		- P2	-15,000 [*]	1,520	,000	-18,16	-11,84

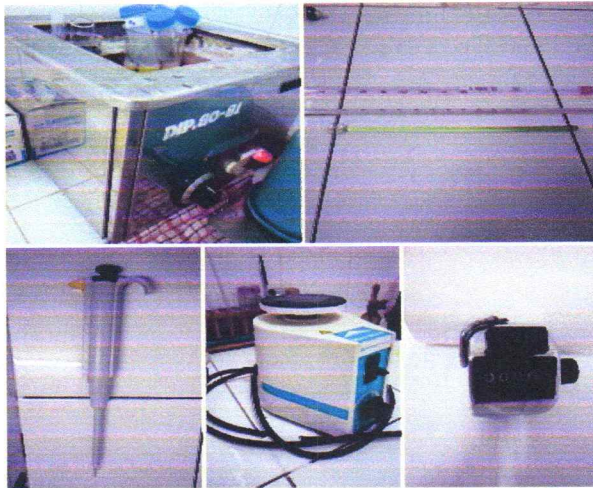
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 8 FOTO-FOTO PENELITIAN

Pengambilan semen Domba Merino



Spektrofotometer, Mikroskop, Objek dan Cover glass,
Cool top



Water bath, Termometer, Pipet ukur, Batang pengaduk
Mikropipet, Pengaduk magnet, Counter



Pengencer AndroMed®+Aquabidest, Eosin negrosin, Bunsen dan
Korek api



Pemeriksaan mikroskop

