

SKRIPSI

**PENGARUH WAKTU EQUILIBRASI TERHADAP
MOTILITAS DAN VIABILITAS SPERMATOZOA
DOMBA MERINO *POST THAWING* DALAM
PENGENCER SKIM KUNING TELUR**



Oleh :

FAJARILLAH NURUL HAYATI

NIM 060911287

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2013

**PENGARUH WAKTU EQUILIBRASI TERHADAP MOTILITAS DAN
VIABILITAS SPERMATOZOA DOMBA MERINO *POST THAWING*
DALAM PENGENCER SKIM KUNING TELUR**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

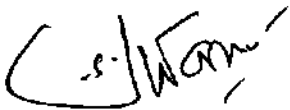
Oleh

FAJARILLAH NURUL HAYATI

NIM 060911287

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



Dr. Suwarno, drh., M.Si.

Pembimbing Utama



Trilas Sardjito, drh., M.Si.

Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

PENGARUH WAKTU EQUILIBRASI TERHADAP MOTILITAS DAN VIABILITAS SPERMATOZOA DOMBA MERINO *POST THAWING* DALAM PENGECER SKIM KUNING TELUR

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

Surabaya, Juli 2013



FAJARILLAH NURUL HAYATI

060911287

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal: 15 Agustus 2013

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes.
Sekretaris : Dr. Herry Agoes Hermadi, drh., M.Si.
Anggota : Dr. Abdul Samik, drh., M.Si.
Pembimbing Utama : Dr. Suwarno, drh., M.Si.
Pembimbing Serta : Trilas Sardjito, drh., M.Si.

Telah diuji pada

Tanggal: 23 Agustus 2013

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes.
Anggota : Dr. Herry Agoes Hermadi, drh., M.Si.
Dr. Abdul Samik, drh., M.Si.
Dr. Suwarno, drh., M.Si.
Trilas Sardjito, drh., M.Si.

Surabaya, 29 Agustus 2013
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Surabaya

Dekan,



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

NIP. 195312161978062001

EFFECT OF EQUILIBRATION TIME EXTENDER TO POST THAWING MOTILITY AND VIABILITY OF MERINO SHEEP'S SPERMS IN EGG YOLK SKIM THINNERS

Fajarillah Nurul Hayati

ABSTRACT

The aims of this research was to determine effect of equilibration time extender to post thawing motility and viability of Merino Sheep's sperms in egg yolk skim thinners. This research used Merino Sheep's fresh semen that collected in artificial vagina and divided to four treatment. The first treatment (P1) was semen equilibration 1 hour. The second treatment (P2) was semen equilibration 1,5 hour. The Third treatment (P3) was semen equilibration 2 hour. The fourth treatment (P4) was semen equilibration 2,5 hour. Experiment design used was randomized complete draft. The result was analysed used ANOVA (Analysis of Variant) and continued with different test (the smallest real BNT 5%). The post thawing motility's result was (P1) $18,00 \pm 2,74$, (P2) $25,00 \pm 3,54$, (P3) $34,00 \pm 2,24$ and (P4) $29,00 \pm 4,18$. The post thawing viability's result was (P1) $31,00 \pm 3,03$, (P2) $39,00 \pm 4,39$, (P3) $51,00 \pm 5,03$, (P4) $44,00 \pm 4,95$, showed that the inherent motility and viability different treatment groups significantly with the third treatment (P3) was semen equilibration 2 hour.

Keyword : equilibration, motility, viability, egg yolk skim.

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 dan Viabilitas Spermatozoa Domba Merino *Post Thawing* dalam Pengencer Skim Kuning Telur.**

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

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

Dr. Suwarno, drh., M.Si. selaku pembimbing pertama dan Trilas Sardjito, drh., M.Si. selaku pembimbing kedua atas saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya skripsi ini.

Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes. selaku ketua penguji, Dr. Herry Agoes Hermadi, drh., M.Si. selaku sekretaris penguji dan Dr. Abdul Samik, drh., M.Si. selaku anggota penguji.

Trilas Sardjito, drh., M.Si. dan Dr. Tri Wahyu Suprayogi, drh., M.Si. selaku dosen pembimbing penelitian di lapangan atas segala arahan, bimbingan dan kesabaran selama penelitian.

Dr. Ir. Sri Hidanah, MS. selaku dosen wali yang telah memberi bimbingan, dukungan dan nasihat yang membangun selama ini.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan, bimbingan dan motivasi selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Kedua orang tua dan kakak tercinta serta segenap keluarga yang telah memberikan doa, nasihat, motivasi dan dukungan baik material maupun spiritual dalam penyusunan skripsi ini.

Adi Setiyawan dan keluarga yang selalu menyemangati dan menemani setiap saat serta memberikan semangat, dukungan, doa dan saran.

Sahabat-sahabat Lita, Fara, Rizky, Adisa, Bunda, Ella, Adang, Adit, Angga, Kukuh, Dina, Santi, Sari, dan Reza atas semangat, dukungan dan bantuan yang telah diberikan. Teman-teman penelitian Habib, Dedi, Fajar, Soca, Alima, Heri dan Dea terima kasih atas kerjasama dan kesabarannya dalam menyelesaikan penelitian ini. Teman-teman Fakultas Kedokteran Hewan angkatan 2009 dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

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, Juli 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN IDENTITAS	iv
ABSTRACT	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Landasan Teori	3
1.4. Tujuan Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	6
1.6. Hipotesis Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Domba Merino	7
2.2. Sistem Reproduksi Hewan Jantan	8
2.3. Semen dan Spermatozoa	11
2.3.1. Semen Domba	11
2.3.2. Spermatozoa Domba	13
2.4. Motilitas Spermatozoa	14
2.5. Viabilitas Spermatozoa	15
2.6. Pengencer Skim Kuning Telur	16
2.7. Waktu Equilibrase	17
BAB 3 MATERI DAN METODE	18
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.2. Materi dan Bahan Penelitian	18
3.2.1. Hewan Penelitian	18
3.2.2. Peralatan Penelitian	18
3.2.3. Bahan Penelitian	19

3.3. Metode Penelitian	19
3.3.1. Penampungan Semen	19
3.3.2. Pembuatan Bahan Pengencer Skim Kuning Telur ...	19
3.3.3. Proses Penelitian	20
3.3.3.1. Proses Pengenceran	20
3.3.3.2. Equilibrase	20
3.4. Pengamatan Penelitian	20
3.4.1. Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis	20
3.4.2. Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa	21
3.4.3. Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa	22
3.5. Variable Penelitian	22
3.5.1. Variabel Bebas	22
3.5.2. Variabel Tergantung	23
3.5.3. Variabel Kendali	23
3.6. Perlakuan	23
3.7. Rancangan Penelitian dan Analisis Data	23
3.8. Skema Penelitian	24
BAB 4 HASIL PENELITIAN	25
4.1. Keadaan Semen Segar	25
4.2. Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa <i>Post Thawing</i> ..	25
4.3. Persentase Viabilitas Spermatozoa <i>Post Thawing</i>	27
BAB 5 PEMBAHASAN	30
5.1. Keadaan Awal Sampel Penelitian	30
5.2. Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa <i>Post Thawing</i> ..	31
5.3. Persentase Viabilitas Spermatozoa <i>Post Thawing</i>	33
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	35
6.1. Kesimpulan	35
6.2. Saran	35
RINGKASAN	36
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
Tabel 4.1	Hasil Pemeriksaan Semen Domba secara Makroskopis dan Mikroskopis	25
Tabel 4.2	Rerata dan Standar Deviasi Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa Domba Merino <i>Post Thawing</i>	26
Tabel 4.3	Rerata dan Standar Deviasi Persentase Viabilitas Spermatozoa Domba Merino <i>Post Thawing</i>	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
Gambar 2.1	Pejantan Domba Merino	8
Gambar 3.1	Diagram Alir Prosedur Penelitian	24
Gambar 4.1	Diagram Batang Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa Domba Merino <i>Post Thawing</i>	26
Gambar 4.2	Pemeriksaan Mikroskopis Motilitas Spermatozoa Domba Merino dengan Pembesaran 400 kali	27
Gambar 4.3	Diagram Batang Persentase Viabilitas Spermatozoa Domba Merino <i>Post Thawing</i>	28
Gambar 4.4	Pemeriksaan Mikroskopis Hidup-Mati Spermatozoa Domba Merino dengan Pembesaran 400 kali	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
Lampiran 1.	Prosedur Penampungan Semen Domba	42
Lampiran 2.	Pembuatan Bahan Pengencer Skim Kuning Telur	43
Lampiran 3.	Satuan Operasional Prosedur Spektrofotometer	45
Lampiran 4	Hasil Pemeriksaan Before Freezing Semen Domba Merino	46
Lampiran 5.	Hasil Pemeriksaan Post Thawing Semen Domba Merino	47
Lampiran 6.	Analisis Data	48
Lampiran 7.	Foto-Foto Penelitian	54

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ANOVA	= Analisis of variant
ADP	= Adenosin Diphosphat
AMP	= Adenosin Monophosphate
ATP	= Adenosin Triphosphate
BNT	= Beda Nyata Terkecil
cc	= centimeter cubic
cm	= centimeter
Cu	= Cuprum
Fe	= Ferum
FSH	= Follicle Stimulating Hormone
IB	= Inseminasi Buatan
ICSH	= Interstitial Cell Stimulating Hormone
Kg	= Kilogram
ml	= mililiter
mm ³	= millimeter cubic
pH	= power of Hidrogen
RAL	= Rancangan Acak Lengkap
Zn	= Zinc
%	= Persen
°C	= derajat Celcius
μl	= mikroliter
μm	= mikrometer

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Salah satu kebijakan pemerintah dalam pembangunan sub sektor peternakan di Indonesia adalah upaya untuk mencukupi kebutuhan protein hewani. Kebutuhan daging pun masih belum terpenuhi oleh produksi dalam negeri. Tingginya permintaan akan daging telah berdampak terhadap tingkat permintaan bibit unggul untuk meningkatkan produktivitas ternak. Peternakan domba di Indonesia yang masih berskala kecil perlu dikembangbiakkan karena adanya pertumbuhan penduduk sekitar 1,23% dan kenaikan tingkat daya beli masyarakat terhadap kebutuhan daging khususnya daging domba (Mulyana,2003).

Ternak domba merupakan salah satu jenis ternak yang dapat dimanfaatkan dalam memenuhi kebutuhan daging. Memiliki potensi pengembangan yang cukup besar, mudah dikembangkan, sistem pemeliharaan yang relatif mudah, siklus reproduksi singkat, dan domba merupakan ternak yang lebih tahan terhadap berbagai jenis penyakit dibandingkan ternak lainnya (Almahdy *et al.*, 2000).

Teknik Inseminasi Buatan (IB) adalah suatu teknologi yang diciptakan manusia guna meningkatkan produktivitas dan reproduktivitas ternak untuk mengatasi kebutuhan daging masyarakat dunia yang terus semakin meningkat jumlahnya (Hardijanto dkk., 2010). Inseminasi Buatan mampu meningkatkan efisiensi penggunaan pejantan hingga 10 kali lipat (Xiaou, 1984). Penerapan teknologi IB akan mempercepat usaha perbaikan mutu bibit ternak, peningkatan

produktivitas ternak dan akhirnya peningkatan pendapatan petani dari usaha pemeliharaan ternak.

Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) tidak lepas dari proses pembekuan semen. Masalah yang sering timbul pada proses pembekuan semen umumnya disebabkan oleh kejutan dingin (*cold shock*). Salah satu cara mengatasi masalah tersebut adalah dengan pemberian gliserol ke dalam media dan mencari waktu ekuilibrasi yang optimal sehingga hanya sedikit spermatozoa yang rusak selama pembekuan (Herdis, 1999).

Pembuatan semen beku memerlukan semen yang berkualitas. Kualitas semen akan cepat menurun pada proses penyimpanan tanpa bahan pengencer. Penambahan bahan pengencer selain untuk tujuan penyimpanan juga untuk meningkatkan volume semen, sehingga dari satu kali ejakulasi seekor pejantan memungkinkan untuk dilaksanakan inseminasi beberapa ratus ekor betina (Toelihere, 1979). Spermatozoa yang terdapat didalam bahan pengencer yang mengandung kuning telur atau bahan lain seperti lecithin atau lipoprotein lebih tahan terhadap "*cold shock*" (Hardijanto dkk., 2010).

Waktu ekuilibrasi didefinisikan sebagai waktu yang dibutuhkan oleh krioprotektan untuk mencapai keseimbangan pada kedua sisi membran plasma (Bearden *et al.*, 2004). Gliserol diberi kesempatan untuk memasuki kepala spermatozoa sebelum pembekuan agar kerusakan mekanis pada spermatozoa dapat dihindari. Pembekuan semen domba masih bersifat percobaan dan waktu ekuilibrasi pada domba belum baku (Hardijanto dkk., 2010).

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian tersebut dapat dirumuskan permasalahan yaitu:

1. Apakah terdapat perbedaan terhadap motilitas spermatozoa Domba Merino *post thawing* dengan waktu equilibrasi 1 jam, 1,5 jam, 2 jam dan 2,5 jam dalam pengencer Skim Kuning Telur?
2. Apakah terdapat perbedaan terhadap viabilitas spermatozoa Domba Merino *post thawing* dengan waktu equilibrasi 1 jam, 1,5 jam, 2 jam dan 2,5 jam dalam pengencer Skim Kuning Telur?

1.3. Landasan Teori

Inseminasi Buatan memerlukan kualitas semen yang baik. Kualitas semen akan cepat menurun pada proses penyimpanan tanpa bahan pengencer. Penambahan bahan pengencer selain untuk tujuan penyimpanan juga untuk meningkatkan volume semen, sehingga dari satu kali ejakulasi seekor pejantan memungkinkan untuk dilaksanakan inseminasi beberapa ratus ekor betina, selain itu dimungkinkan pengiriman jarak jauh (Toelihere, 1981).

Semen beku yang berkualitas tinggi membutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat thawing (Arifiantini dan Yusuf, 2010). Bahan pengencer semen beku harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik, dan krioprotektan (pelindung spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*). Bahan pengencer yang dapat digunakan

untuk meningkatkan volume semen domba antara lain air susu masak, larutan kuning telur sitrat serta larutan yang berasal dari buah-buahan dengan syarat, tidak beracun, berenergi, mampu mempertahankan kualitas semen, bersifat melindungi, memiliki keasaman yang sesuai dan isotonis terhadap sel spermatozoa (Hardijanto dkk., 2010).

Penyediaan pengencer semen yang memenuhi syarat merupakan salah satu masalah penting bagi keberhasilan program IB. Beberapa syarat pengencer yang baik adalah mampu mempertahankan pH (larutan penyangga) semen, mencegah spermatozoa dari kejutan dingin (*cryoprotectan*) 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).

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 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ tanpa berkurang kesuburannya (Partodiharjo, 1992). Proses pembekuan dengan kecepatan penurunan suhu yang cepat pada umumnya sangat berpengaruh terhadap metabolisme dan daya hidup dari sel spermatozoa.

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). Gliserol diberi kesempatan untuk memasuki kepala spermatozoa sebelum pembekuan untuk menggantikan sebagian dari air yang ada di dalam sel dan kristal-kristal es yang terbentuk di dalam media 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).

Proses *thawing* pada semen terjadi penurunan motilitas, viabilitas, dan fertilitas (Salomon and Maxwell, 2000). Penurunan persentasi motilitas dan spermatozoa hidup pasca thawing biasa terjadi pada proses pembekuan karena spermatozoa berada kondisi temperatur yang menurun secara drastis dari keadaan semula. Perbedaan kondisi temperatur pada saat pembekuan dan *pasca thawing* akan meningkatkan permeabilitas membran spermatozoa sehingga dapat menyebabkan kematian sel (Suprayogi, 1996).

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama waktu equilibrasi terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa Domba Merino *post thawing* dalam pengencer Skim Kuning Telur.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah mendapatkan waktu standart untuk equilibrasi semen Domba Merino dalam pengencer Skim Kuning Telur dan pengaruhnya terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa *post thawing*.

1.6. Hipotesis Penelitian

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

1. Terdapat perbedaan terhadap motilitas spermatozoa Domba Merino *post thawing* dengan waktu equilibrasi 1 jam, 1,5 jam, 2 jam dan 2,5 jam dalam pengencer Skim Kuning Telur.
2. Terdapat perbedaan terhadap viabilitas spermatozoa Domba Merino *post thawing* dengan waktu equilibrasi 1 jam, 1,5 jam, 2 jam dan 2,5 jam dalam pengencer Skim Kuning Telur.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Domba Merino

Klasifikasi domba menurut Blakely dan Blade (1991) adalah sebagai berikut :

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

Domba merupakan ternak ruminansia kecil yang sudah memasyarakat dan distribusinya hampir merata di Indonesia. Peranannya tidak dipungkiri lagi sebagai ternak yang mampu memanfaatkan berbagai macam limbah pertanian yang kandungan gizinya rendah. Beberapa keistimewaan yang dimiliki domba yaitu kebutuhan protein relatif rendah dan pemilihan pakan yang mudah diperoleh (Toelihere, 1993).

Domba Merino sangat terkenal dengan kualitas wolnya yang prima, domba ini berasal dari Asia kecil dan telah menyebar ke berbagai belahan dunia, khususnya bagi negara yang memiliki 4 musim, seperti Australia, New Zealand, Perancis, Inggris, dan Spanyol.



Gambar 2.1 Pejantan Domba Merino (Sumber: data pribadi).

Domba Merino terkenal sebagai domba penghasil wol terbaik dengan panjang bulu mencapai 10 cm. Pada saat bulu mencapai 10 cm, produksi wol dapat mencapai 10 kg wol/ekor. Berat badan domba jantan 64-79 kg dan domba betina 45-57 kg (Sutama dan Budiarsana, 2006).

2.2. Sistem Reproduksi Hewan Jantan

Sistem reproduksi pada hewan jantan terbagi menjadi tiga bagian besar yaitu: alat kelamin utama yaitu gonad atau testis, saluran alat kelamin yang terdiri atas epididimis, vas deferens, ampula dan urethra, kelenjar-kelenjar asesoris yaitu vesikula seminalis, prostat dan bulbourethralis, dan alat kelamin luar yaitu penis, preputium dan skrotum (Ismudiono dkk., 2010).

Testis terletak pada daerah prepubis, terbungkus dalam kantong yang disebut scrotum dan digantung oleh *funiculus spermaticus* yang di dalamnya terkandung unsur-unsur yang terbawa oleh testis dalam perpindahannya dari cavum abdominalis melalui canalis inguinalis ke dalam scrotum. Testis pada domba atau kambing berbentuk lonjong, berukuran panjang 7,5 sampai 11,5 cm, diameter 3,8 sampai 6,8 cm dan berat 250 sampai 300 gram (Toelihere, 1981).

Testis terletak pada daerah prepubis, terbungkus dalam kantung scrotum dan digantung oleh korda spermatika (Feradis, 2010). Sebagai organ reproduksi primer, testis mempunyai 2 fungsi yaitu menghasilkan spermatozoa atau sel-sel kelamin jantan dan mensekresikan hormon kelamin jantan yaitu *testosteron* (Toelihere, 1981).

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, badan dan ekor. Fungsi Epididimis yaitu pengangkutan atau transportasi, konsentrasi atau pengentalan, maturasi atau pendewasaan dan penyimpanan spermatozoa (Feradis, 2010).

Scrotum yaitu kantung luar yang berfungsi sebagai pembungkus testis. Bagian luar scrotum terdiri dari kulit yang tidak berbulu, kecuali pada domba dan kambing. Scrotum tersebut banyak mengandung kelenjar keringat dan kelenjar *sebaceous* yang besar. Garis pertemuan kulit di bagian tengah yang membatasi testis kiri dan kanan disebut *raphe scroti* (Feradis, 2010). Scrotum berfungsi untuk melindungi testis dan epididimis, serta berfungsi untuk menjaga suhu yang

lebih rendah dari pada suhu badan yang diperlukan untuk spermatogenesis (Toelihere, 1981).

Vas deferens atau *ductus deferens* adalah sepasang saluran yang merupakan kelanjutan ujung distal dari ekor epididimis. Pada ujung awalnya ditopang oleh lipatan peritonium, melalui inguinal canal menuju daerah pelvis, kemudian kelenjar bergabung dengan urethra yang mempunyai hubungan dengan kantong kencing. Pembesaran ujung vas deverenens di dekat uretra disebut *ampula*. Vas deferens terdiri dari lapisan tebal tersusun dari otot halus pada dindingnya (Toelihere, 1981). Selain sebagai alat transportasi spermatozoa, ampula juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan cadangan semen untuk sementara dalam waktu yang tidak lama. Spermatozoa dapat mengumpal dalam ampula selama ejakulasi sebelum dikeluarkan melalui urethra (Suyadi, 1992).

Urethra atau *canalis urogenitalis* adalah saluran ekskretoris untuk menyalurkan urine dan semen, membentang dari daerah pelvis sampai ke ujung penis. Uretra dapat dibedakan atas tiga bagian, bagian *pelvis*, suatu saluran silindrik dengan panjang 15 sampai 20 cm, diselubungi oleh otot uretra yang kuat dan terletak pada lantai pelvis, *bulbus urethralis*, adalah bagian yang melengkung seputar arcus ischiadicus, dan bagian *penis*, termasuk kelengkapan penis (Feradis, 2010).

Kelenjar asesori atau *glandulae vesiculares*, terletak di sepanjang lipatan *urogenital lateral* dari ampula. Kelenjar ini terdiri dari kelenjar vesikularis, kelenjar prostata dan kelenjar cowper. Sekresi kelenjar vesikularis merupakan cairan keruh dan lengket yang mengandung protein, kalium, asam sitrat, fruktosa

dan beberapa enzim (Feradis, 2010). Kelenjar prostata pada domba dan kambing tidak mempunyai korpus, hanya ada pars disseminata yang berdifusi dengan sebagian besar urethra pelvis (Ismudiono dkk., 2010). Kelenjar cowper berbentuk bulat, terletak di atas urethra dekat jalan keluar dari cavum pelvis. Saluran sekretoris dari setiap kelenjar bergabung membentuk satu saluran ekskretoris yang panjangnya 2 sampai 3 cm (Feradis, 2010).

Penis merupakan organ kopulasi pada hewan jantan, fungsi penis ada dua yaitu meletakkan semen ke dalam saluran reproduksi hewan betina dan untuk mengeluarkan urine. Bagian ujung penis disebut glans penis, terletak di dalam preputium. Badan penis terdiri dari *corpus cavernosum* dan diselimuti oleh selubung fibrosa tebal berwarna putih yaitu *tunica albugenia* (Feradis, 2010). Penis domba berukuran panjang 35 cm dengan *flaxura sigmoides* yang berkembang baik, diameternya relatif kecil 1,5 sampai 2 cm, panjang glans penis 5 sampai 7,5 cm. Glans penis mempunyai suatu penonjolan filiformis sepanjang 4 sampai 5 cm yaitu *processus uretrae* (Sherwood, 1996).

2.3. Semen dan Spermatozoa

2.3.1 Semen Domba

Semen adalah sekresi organ kelamin jantan secara normal diejakulasikan ke saluran kelamin betina sewaktu kopulasi atau ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan inseminasi buatan yang terdiri atas spermatozoa dan cairan seminalis (Bearden *et al.*, 2004).

Semen pada domba mengandung sel spermatozoa 1/3 bagian dan sisanya adalah cairan asesoris yang banyak mengandung fruktosa dan asam sitrat yang semuanya berasal dari kelenjar vesikula seminalis. Semen domba juga banyak mengandung Fe, Zn, Cu, dan plasmalogen (Hardijanto dkk., 2010).

Semen berupa cairan yang mengandung gamet jantan atau spermatozoa dan sekresi dari kelenjar pelengkap dari saluran reproduksi jantan. Sekresi cairan kelenjar asesoris dibentuk pada waktu ejakulasi dan dinamakan plasma semen (Nalbandov, 1990 ; Taylor, 1992 ; Hafez, 1993).

Plasma semen mempunyai fungsi utama sebagai media pembawa spermatozoa di saluran reproduksi hewan betina. Plasma semen mengandung bahan-bahan senyawa organik termasuk fruktosa, asam sitrat, sorbitol, *Gliseril Phosphoril Choline (GPC)*, ergotionin, prostaglandin dan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Evans dan Maxwell, 1987).

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 presentase kematian tidak melebihi 50%. Kondisi semen domba ini dapat dipengaruhi oleh umur, kondisi ternak, frekuensi pengambilan dan pelaksana (Nalbandov, 1990). Toelihere (1993) menyatakan bahwa, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kualitas dan kuantitas semen seperti: pakan, umur, frekuensi penampungan, keturunan, musim, penyakit, latihan, tingkat libido.

2.3.2 Spermatozoa Domba

(Feradis, 2010) mengemukakan bahwa spermatozoa merupakan suatu sel kecil, kompak dan sangat khas. Spermatozoa normal tersusun atas kepala dan ekor, bagian ekor dibagi ke dalam *mid-piece*, *main piece*, dan *end piece*. Komponen terpenting dari spermatozoa adalah kepala yang meliputi nucleus, yang berisi kode genetik. Permukaan spermatozoa dibungkus oleh membran lipoprotein. *Post nuclear cap* melindungi bagian posterior nucleus dan akrosom. Titik bersatunya ekor dan kepala berisi *centriole proximal* dan disebut daerah *implant* (Bearden *et al.*, 2004 ; Pineda and Dooley, 2003). Bagian kepala penting saat penetrasi pada oosit yang menyampaikan muatan kode genetik, sedangkan ekor merupakan bagian metabolis yang menghasilkan energi dan mengandung elemen-elemen kontraktil berupa fibril di bagian luar ekor yang berfungsi untuk pergerakan atau motilitas (Feradis, 2010).

Panjang spermatozoa domba adalah sekitar 60 μm . Panjang kepala adalah 8 – 10 μm , lebar 4 μm , dan tebal 1 μm (Evans dan Maxwell, 1987). Spermatozoa merupakan sel yang dihasilkan dari organ produksi jantan (testis) melalui suatu proses yang disebut spermatogenesis. Kepalanya berbentuk oval (lonjong). Bagian ekor bertanggung jawab atas produksi energi yang mampu memulai dan mempertahankan gerakan spermatozoa dan kepala yang berisi semua informasi DNA, maupun mekanisme untuk mengenali zona pellucida dan fusi dengan sel telur (Curry and Watson, 1995).

Metabolisme spermatozoa sangat bergantung pada besarnya kadar fruktosa sebagai sumber energi yang utama. Spermatozoa memakai karbohidrat sebagai

sumber energi dalam keadaan anaerob, sedangkan dalam keadaan aerob sumber energi spermatozoa diperoleh dengan mengoksidasi asam laktat menjadi CO_2 dan H_2O (Hardijanto dkk., 2010).

2.4. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah merupakan presentase dari spermatozoa yang bergerak maju (progressive) dengan kekuatannya sendiri (Bearden dan Fuquary, 1984). Spermatozoa yang progresif adalah spermatozoa yang bergerak ke arah depan dari satu titik ke titik yang lain pada satu garis lurus (Veronica, 2009).

Energi untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan Adenosin Triphosphat (ATP) di dalam selubung mitokondria melalui reaksi penguraian menjadi Adenosin Diphosphat (ADP) dan Adenosin Monophosphat (AMP) (Hardijanto dkk., 2010).

Bahan organik di dalam semen yang dapat dipakai secara langsung atau tidak langsung oleh spermatozoa sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitasnya ada empat, yaitu fruktosa, sorbitol, GPC dan plasmalogen. Ketiga bahan pertama adalah konstituen plasma semen, sedangkan plasmalogen terdapat di dalam spermatozoa itu sendiri (Hardijanto dkk., 2010).

Pemeriksaan motilitas spermatozoa meliputi pemeriksaan gerakan massa dan gerakan individu. Pemeriksaan gerakan massa yaitu dengan meneteskan semen diatas gelas objek lalu diperiksa dengan perbesaran 100 kali. Pemeriksaan

gerakan individu yaitu dengan meneteskan semen diatas gelas objek lalu ditutup dengan gelas cover dan diperiksa dengan perbesaran 100 kali.

Pemeriksaan motilitas spermatozoa harus dilakukan segera setelah penampungan dan harus dilakukan pada suhu tubuh karena spermatozoa mempunyai gerak yang maksimal pada suhu tersebut (Yuyun, 1996).

2.5. Viabilitas Spermatozoa

Kualitas semen salah satunya ditentukan oleh persentase spermatozoa yang hidup dan mati, akan tetapi nilai motilitas tidak berkaitan dengan persentase spermatozoa hidup. Penghitungan spermatozoa hidup dan mati dapat dilakukan dengan metode *eosin negrosin*. Spermatozoa mati jika permeabilitas membran selnya meninggi, terutama di daerah post-nuclear cap. Spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap zat warna sehingga tetap transparan, sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna (Feradis, 2010). 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.

Persentase yang hidup adalah jumlah spermatozoa hidup (transparan) yang terhitung dalam persen dengan perbesaran 400 kali. Sel spermatozoa yang hidup mempunyai lapisan lipoid pada dinding sel sehingga dapat melindungi masuknya zat warna ke dalam sel spermatozoa. Pada sel spermatozoa yang hidup tidak akan terwarnai oleh zat warna. Sel 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. Pengencer Skim Kuning Telur

Susu dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengencer semen karena di dalamnya terkandung berbagai jenis senyawa kimia yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk menunjang kehidupan spermatozoa. Air susu mentah mengandung bahan toksik berupa laktenin yang terdapat di dalam fraksi protein susu dan mengandung albumin. Menurut Salisbury dan Van demark (1995), sakarida yang dihasilkan dari pemanasan air susu dapat digunakan sebagai sumber energi oleh sel spermatozoa sehingga umumnya digunakan sebagai pengencer, air susu sapi dipanaskan lebih dahulu pada suhu sekitar 92 - 95 °C atau rata - rata 95 °C selama sepuluh menit.

Semen yang disimpan dalam pengencer kuning telur umumnya lebih tahan terhadap *cold shock*. Kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang dapat bekerja sebagai lapisan pelindung bagi spermatozoa. Kuning telur juga sebagai sumber makanan karena mengandung banyak protein yang larut dalam air atau minyak serta asam amino esensial. Karbohidrat dari kuning telur berupa glukosa dan gabungan karbohidrat yaitu galaktosa dan manosa yang menghasilkan energi dan dalam proses metabolisme sehingga dapat didayagunakan oleh spermatozoa. Penggunaan kuning telur 12,5% sampai 20% dapat melindungi spermatozoa terhadap kejutan dingin dan dapat mencapai daya hidup optimal pada suhu 5 °C (Rizal, 2008).

2.7. 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 2 jam pada domba, hal tersebut berhubungan dengan daya efektifitas antibiotika setelah tiga jam terlampaui. *Cold shock* dapat dihindarkan apabila pendinginan dilakukan secara perlahan-lahan pada suhu antara 5°C sampai 0°C. Kesempatan hidup mikroorganismenya dapat dikurangi dalam semen beku yang mengandung gliserol dan mengalami waktu equilibrasi sebelum pembekuan (Toelihere, 1993).

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di *Teaching Farm* atau Taman Ternak Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, Desa Tanjung, Kecamatan Kedamean, Kabupaten Gresik.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai Juli 2013.

3.2. Materi dan Bahan Penelitian

3.2.1. Hewan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 2 ekor pejantan domba merino umur 3 tahun yang secara klinis dinyatakan sehat, alat kelamin normal dan berlibido baik.

3.2.2. Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Vagina buatan khusus kambing dan domba, tabung penampung semen berskala, penutup tabung, karet pentil, mikroskop binokuler, gelas objek, gelas penutup, bunsen, korek api, gelas beker, tabung erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung, waterbath, canister, termos pemanas air, mikropipet, kertas saring, corong, spatula, karet gelang, thermometer, aluminium foil, kertas tissue, kertas pH, kertas label, kain kasa, spektrofotometer, mini straw, *filling and sealing machine*.

3.2.3. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: semen dari domba ekor gemuk dan domba merino, susu skim, kuning telur, air panas, penicillin 1000 IU, streptomycin, gliserol, fruktosa, glukosa, vitamin C, Nacl fisiologis, alkohol 70%, aquabides, vaselin, eosin-negrosin.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Penampungan Semen

Domba dan kambing yang akan diambil semennya adalah domba dewasa yang sehat dan berlibido baik. Pengambilan semen dilakukan di *Teaching Farm* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Semua prosedur koleksi dan evaluasi semen dilakukan secara legeartis (Lampiran 1).

3.3.2. Pembuatan Bahan Pengencer Skim Kuning Telur

Bahan yang digunakan dalam pembuatan pengencer skim kuning telur adalah susu skim, aquabides, penicillin 1000 IU, streptomycin, kuning telur, glukosa, fruktosa, vitamin C, dan gliserol. Pengencer ini dibagi dalam dua bagian, yaitu: diluter A dan diluter B. Diluter A terdiri dari susu skim, kuning telur, penicillin 1000 IU, streptomycin, aquabides, fruktosa, dan vitamin C. Untuk diluter B terdiri dari komposisi diluter A ditambah dengan glukosa dan gliserol (Lampiran 2).

Menentukan besar pengenceran perlu diketahui konsentrasi dan motilitas dari spermatozoa yang dapat dilihat dengan menggunakan spektrofotometer (Lampiran 3).

3.3.3. Proses Penelitian

3.3.3.1. Proses pengenceran

Semen yang berkualitas tinggi dilarutkan dengan pengencer skim kuning telur. Pengenceran dilakukan pada temperatur ruang.

3.3.3.2. Equilibrasi

Semen yang masing-masing telah dicampur dengan pengencer skim kuning telur dimasukkan ke dalam *cool top* hingga suhu mencapai 5°C. Tahap equilibrasi yakni proses adaptasi spermatozoa dengan pengencer yang mengandung gliserol. Penelitian ini menggunakan waktu equilibrasi yaitu P1= 1 jam, P2= 1,5 jam, P3= 2 jam, P4= 2,5 jam, pada suhu 5°C.

3.4. Pengamatan Penelitian

3.4.1. Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis

Setelah pembuatan pengencer lakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis terhadap semen yang didapat. Pemeriksaan makroskopis yang dilakukan meliputi beberapa penilaian, yaitu: volume, warna, konsistensi dan pH. Pada pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokular untuk melihat motilitas, gerakan massa, dan viabilitas spermatozoa.

3.4.2. Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa ditentukan dengan cara menempatkan satu tetes spermatozoa yang telah diencerkan pada gelas objek yang ditutup dengan gelas penutup. Pengamatan terhadap spermatozoa yang bergerak progresif dilakukan secara subjektif pada delapan lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali (Toelihere 1993).

Menurut Susilowati dkk. (2010), penilaian gerak individu spermatozoa adalah sebagai berikut:

1. Kecepatan gerak spermatozoa

Angka 0, bila tidak ada spermatozoa yang bergerak atau sedikit sekali

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

Progresif = Gerakan maju

Reverse = Gerakan mundur

Circular = Gerakan melingkar

Oscilatory = Gerakan berputar

Vibratoris = Gerakan bergetar

Nekrospermia = Tidak ada gerakan

Penilaian dilakukan berdasarkan persentase motilitas atau gerakan individu spermatozoa. Dalam penelitian ini yang dinilai adalah spermatozoa yang bergerak

maju ke depan (progresif) karena gerakan sel spermatozoa yang memenuhi syarat adalah gerakan aktif maju ke depan (Hardijanto dkk., 2010).

3.4.3. Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa

Jumlah spermatozoa yang hidup dihitung dengan cara meneteskan semen yang telah diencerkan pada objek glass yang bersih lalu dicampur dengan zat warna Eosin-Negrosin kemudian dibuat preparat ulas dengan cara slide dan kemudian difiksasi diatas api. Pengamatan dilakukan atas spermatozoa yang hidup dan mati pada satu lapangan pandang kemudian dilakukan perhitungan atas 100 spermatozoa dengan perbesaran 400x. Pada sel spermatozoa yang hidup tidak akan terwarnai oleh zat warna. Sel spermatozoa yang telah mati karena rusak akan berwarna merah-keunguan. Pengambilan data untuk jumlah sel spermatozoa yang hidup dilakukan melalui pemeriksaan hidup spermatozoa dengan metode pewarnaan eosin negrosin.

Guna menentukan persentase spermatozoa yang hidup dengan menggunakan rumus:

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

3.5. Variable Penelitian

3.5.1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang diamati dalam penelitian ini adalah waktu equilibrasi.

3.5.2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa.

3.5.3. Variabel Kendali

Variabel kendali pada penelitian ini adalah cara pengambilan semen (vagina buatan), umur, waktu pembekuan (5 menit), dan waktu thawing (20 detik).

3.6. Perlakuan

Dalam penelitian ini ada tiga perlakuan, yaitu :

P1 : semen + pengencer di equilibrasi selama 1 jam

P2 : semen + pengencer di equilibrasi selama 1,5 jam

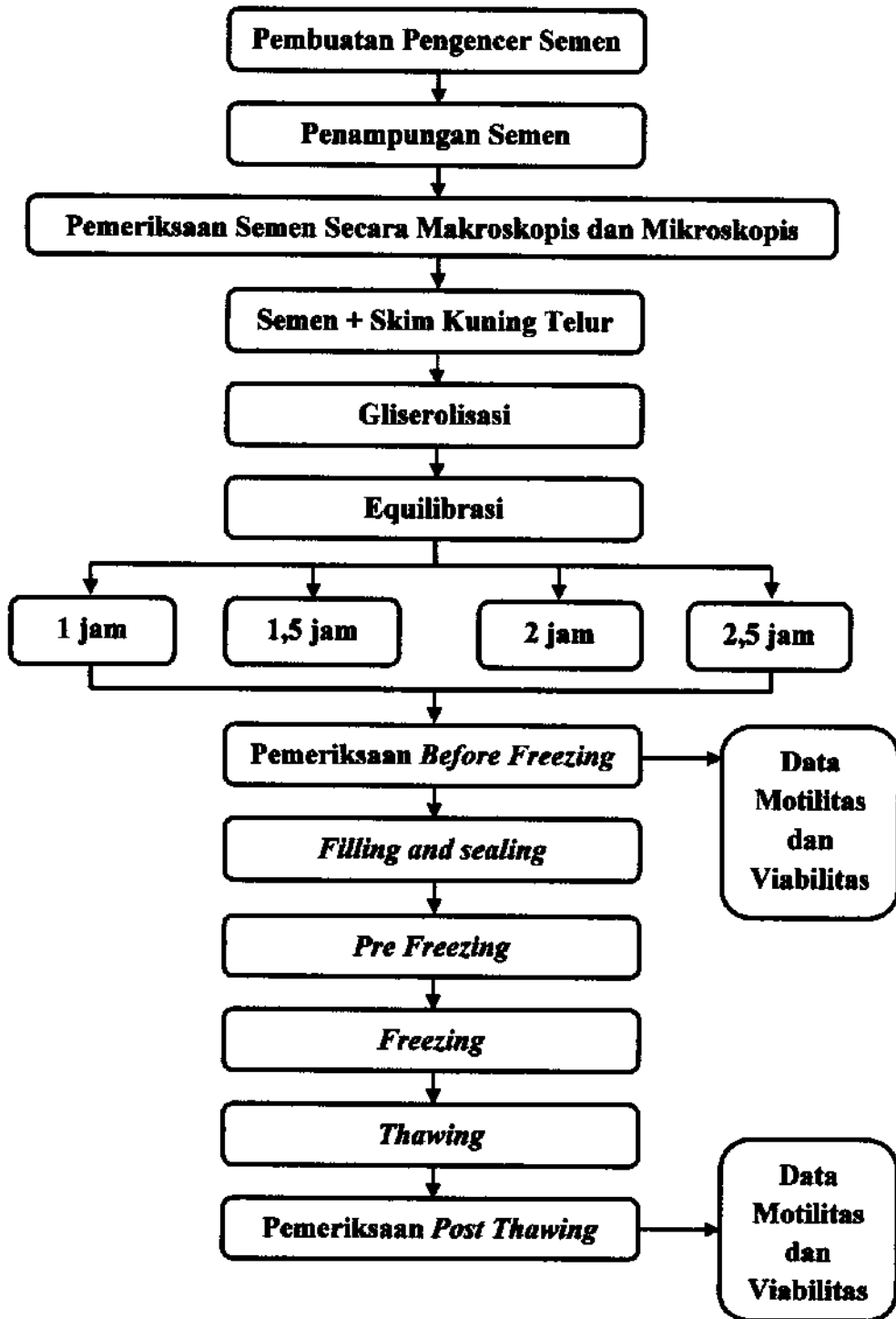
P3 : semen + pengencer di equilibrasi selama 2 jam

P4 : semen + pengencer di equilibrasi selama 2,5 jam

3.7. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan lima kali ulangan. Penentuan ulangan berdasarkan perhitungan $t(n-1) \geq 15$, t adalah perlakuan dan n adalah ulangan. Data yang diperoleh akan diuji menggunakan uji ANOVA (*Analisis of Variant*) lalu dilanjutkan dengan uji BNT 5% (SPSS).

3.8. Skema Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Prosedur Penelitian.

BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1. Keadaan Semen Segar

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

Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Semen Domba secara Makroskopis dan Mikroskopis

Volume	1 ml
Konsistensi	Kental
Bau	Khas
Warna	Krem
pH	6-7
Gerakan Massa	++++
Gerakan Individu	90/4
Konsentrasi	5315 juta/ml

4.2. Persentase Motilitas Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Post Thawing*

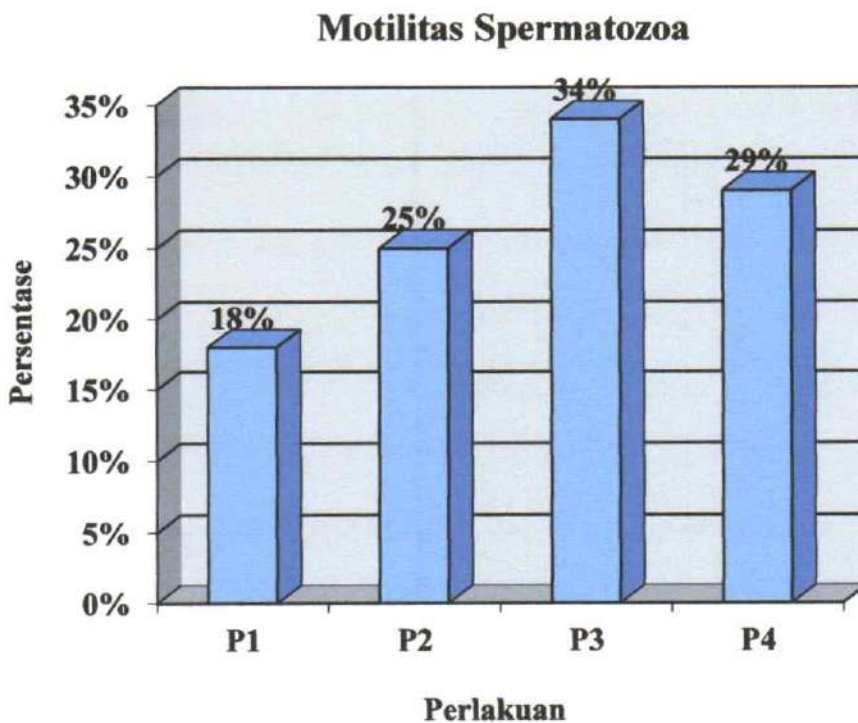
Data persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* setelah diberi perlakuan waktu equilibrasi dengan empat perlakuan: 1 jam (P1), 1,5 jam (P2), 2 jam (P3), 2,5 jam (P4) tercantum dalam Tabel 4.2

Tabel 4.2 Rerata dan Standar Deviasi Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Post Thawing*

Perlakuan	Ulangan	Motilitas Spermatozoa (%) (rerata ± standart deviasi)
P1 (1 jam)	6	18,00 ^c ± 2,74
P2 (1,5 jam)	6	25,00 ^b ± 3,54
P3 (2 jam)	6	34,00 ^a ± 2,24
P4 (2,5 jam)	6	29,00 ^{ab} ± 4,18

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 domba merino *post thawing* dapat dilihat pada gambar berikut ini :



Gambar 4.1 Diagram batang persentase motilitas spermatozoa domba merino pada pemeriksaan *post thawing*.

Berdasarkan analisis statistik dengan menggunakan ANOVA terhadap rata-rata persentase motilitas progresif spermatozoa *post thawing* menunjukkan

terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara keempat kelompok perlakuan tersebut karena perbedaan waktu equilibrasi.



Gambar 4.2 Pemeriksaan mikroskopis motilitas spermatozoa domba merino dengan pembesaran 400 kali.

4.3 Persentase Viabilitas Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Post Thawing*

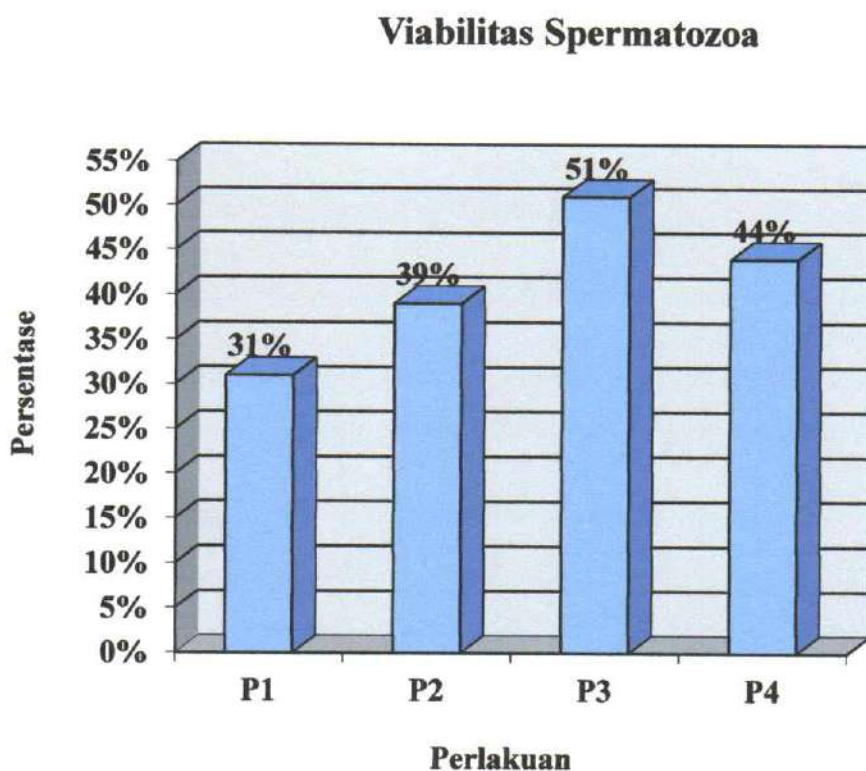
Data persentase hidup spermatozoa pada pemeriksaan *post thawing* setelah diberi perlakuan waktu equilibrasi dengan empat perlakuan: 1 jam (P1), 1,5 jam (P2), 2 jam (P3), 2,5 jam (P4) tercantum dalam Tabel 4.3

Tabel 4.3 Rerata dan Standar Deviasi Persentase Hidup Spermatozoa Domba Merino pada Pemeriksaan *Post Thawing*

Perlakuan	Ulangan	Viabilitas Spermatozoa (%) (rerata \pm standart deviasi)
P1 (1 jam)	6	31,00 ^c \pm 3,03
P2 (1,5 jam)	6	39,00 ^b \pm 4,39
P3 (2 jam)	6	51,00 ^a \pm 5,03
P4 (2,5 jam)	6	44,00 ^{ab} \pm 4,95

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

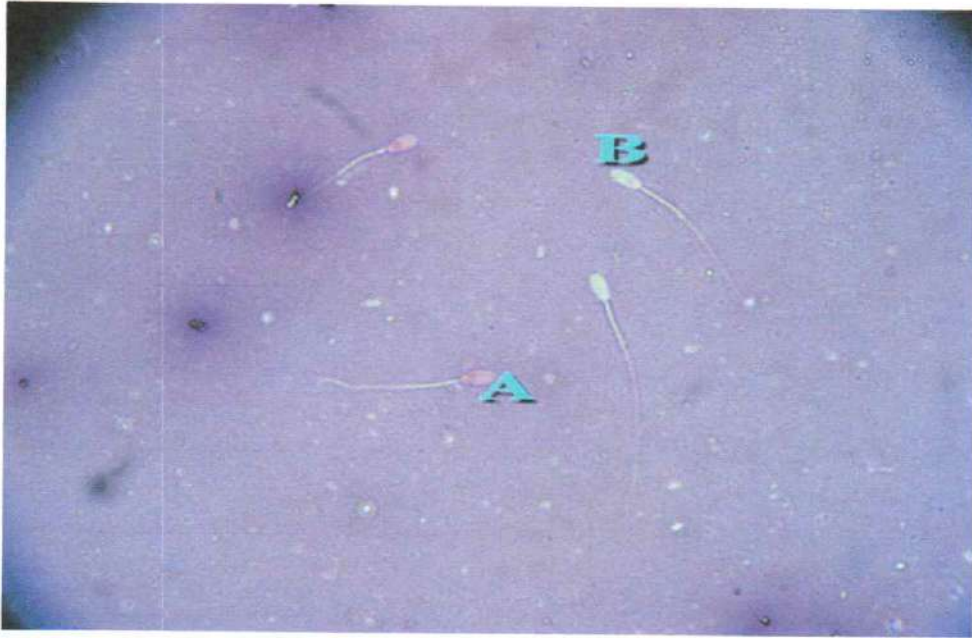
Nilai persentase dari keempat perlakuan disajikan dalam diagram batang untuk menentukan perbedaan antara empat perlakuan tersebut pada Gambar 4.3



Gambar 4.3 Diagram batang persentase viabilitas spermatozoa domba merino pada pemeriksaan *post thawing*.

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

Gambaran spermatozoa yang hidup dan yang mati dapat dilihat pada Gambar 4.4 yang telah diwarnai dengan menggunakan pewarnaan Eosin-Negrosin.



Gambar 4.4 Pemeriksaan mikroskopis hidup - mati spermatozoa dengan pembesaran 400 kali.

Keterangan :

A : Spermatozoa mati (terwarnai).

B : Spermatozoa hidup (tidak terwarnai).

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

5.1. Keadaan Awal Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel semen domba merino yang diberi empat perlakuan waktu equilibrasi yang berbeda yaitu, P1 (equilibrasi 1 jam), P2 (equilibrasi 1,5 jam), P3 (equilibrasi 2 jam), dan P4 (equilibrasi 2,5 jam). Setelah dilakukan pengenceran semen dibekukan dan dilakukan pemeriksaan kualitas *post thawing* yang meliputi pemeriksaan motilitas progresif dan persentase hidup spermatozoa sebagai pemeriksaan awal sebelum dilakukan inseminasi buatan.

Pengambilan sampel menggunakan metode vagina buatan. Sampel semen yang didapat pada penelitian ini berupa semen segar dengan volume 1 ml, bau khas, warna krem, pH 6-7, gerakan massa +++, gerakan individu 90% dengan kecepatan 4. Setelah tahap equilibrasi pemeriksaan dilanjutkan ke pemeriksaan *before freezing* dan diperoleh persentase motilitas 85% untuk P1 (equilibrasi 1 jam), 80% untuk P2 (equilibrasi 1,5 jam), 75% untuk P3 (equilibrasi 2 jam), dan 75% untuk P4 (equilibrasi 2,5 jam). Berdasarkan hasil tersebut maka sampel layak digunakan untuk penelitian.

Penurunan angka motilitas dari pemeriksaan awal ke pemeriksaan *before freezing* disebabkan oleh konsentrasi semen segar Domba Merino begitu tinggi sehingga menyebabkan kematian pada sel spermatozoa akibat terbentuknya asam laktat yang berlebih dari hasil metabolisme spermatozoa (Feradis, 2010).

5.2. Persentase Motilitas Progresif Spermatozoa *Post Thawing*

Hasil pemeriksaan persentase motilitas spermatozoa *post thawing* setelah diberi perlakuan menunjukkan angka rerata dan standar deviasi berturut-turut adalah P1 sebesar $18,00 \pm 2,74$, P2 sebesar $25,00 \pm 3,54$, P3 sebesar $34,00 \pm 2,24$ dan P4 sebesar $29,00 \pm 4,18$. Hasil ini menunjukkan menunjukkan penurunan yang berarti jika dilihat dari pemeriksaan *before freezing* yang awalnya menunjukkan angka 85% untuk P1 (equilibrasi 1 jam), 80% untuk P2 (equilibrasi 1,5 jam), 75% untuk P3 (equilibrasi 2 jam), dan 75% untuk P4 (equilibrasi 2,5 jam). Hal ini disebabkan oleh rapuhnya membrane sel spermatozoa Domba Merino yang menyebabkan banyak kematian sel spermatozoa pada proses gliserolisasi dan equilibrasi.

Penelitian ini menunjukkan motilitas progresif spermatozoa tertinggi (34,00) didapatkan pada kelompok perlakuan 3 (P3) dengan equilibrasi 2 jam menunjukkan bahwa telah tercapai keseimbangan yang optimal antara spermatozoa Domba Merino dengan gliserol yang terdapat dalam bahan pengencer Skim Kuning Telur.

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 rusak terhadap spermatozoa. Keseimbangan antara gliserol dengan spermatozoa akan mempermudah proses metabolisme spermatozoa yang bertujuan untuk menghasilkan motilitas bagi spermatozoa (Toelihere, 1985).

Urutan kedua didapat dari perlakuan 4 (P4) dengan ekuilibrasi 2,5 jam diperoleh motilitas progresif sebanyak (29,00), menunjukkan bahwa menurunnya motilitas karena sudah terbentuknya asam laktat sehingga menghasilkan motilitas progresif yang lebih rendah. *Buffer* berfungsi sebagai penyanggah untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme sel sperma. Proses respirasi pada metabolisme spermatozoa menghasilkan asam laktat. Semakin lama proses respirasi semakin banyak asam laktat yang dihasilkan. Asam laktat mempengaruhi penurunan kehidupan dan motilitas spermatozoa (Dirjennak, 2000). Sependapat dengan hal diatas Bearden dan Fuquay (1980), Gilbert (1980), tingkatan asam laktat berkorelasi nyata dengan daya gerak spermatozoa, asam laktat dapat memperpendek daya tahan hidup spermatozoa.

Urutan ketiga didapat dari perlakuan 2 (P2) dengan ekuilibrasi 1,5 jam diperoleh motilitas progresif sebanyak (25,00), dan hasil terendah terdapat pada perlakuan 1 (P1) dengan ekuilibrasi 1 jam diperoleh motilitas progresif sebanyak (18,00), menunjukkan bahwa menurunnya motilitas karena waktu yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk mencapai keseimbangan dengan gliserol belum optimal, sesuai dengan Toelihere (1979) mengemukakan pada waktu ekuilibrasi yang singkat menyebabkan adanya penurunan suhu yang mendadak saat pembekuan yang dapat menyebabkan kerusakan pada bagian-bagian sperma seperti pada ekor sehingga gerakan individual semakin berkurang.

5.3. Persentase Viabilitas Spermatozoa *Post Thawing*

Hasil penelitian menunjukkan persentase hidup spermatozoa *post thawing* mengalami perbedaan yang nyata antara masing-masing perlakuan. Hasil menunjukkan persentase hidup yang paling baik (51,00) pada perlakuan 3 equilibrasi 2 jam, urutan kedua dengan waktu equilibrasi 2,5 jam (44,00), urutan ketiga dengan waktu equilibrasi 1,5 jam (39,00) dan urutan terakhir dengan equilibrasi 1 jam (31,00).

Pemeriksaan persentase hidup spermatozoa setelah dibekukan dengan menghitung jumlah spermatozoa yang hidup dari sediaan ulas yang menggunakan zat warna Eosin-Negrosin. Spermatozoa yang hidup tidak berwarna (transparan) dan spermatozoa yang mati akan berwarna. Afinitas zat warna antara spermatozoa yang mati dan yang hidup digunakan untuk menghitung jumlah spermatozoa yang hidup secara objektif pada waktu semen dicampur dengan zat warna Eosin-Negrosin. Waktu pencampuran spermatozoa yang hidup tidak menghisap warna sedangkan spermatozoa yang mati akan mengambil warna karena permeabilitas dinding sel meninggi waktu mati (Hafez, 2000). Zat warna Eosin tidak dapat melewati membran sel hidup namun dapat melewati membrane 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 (Ahmadi, 2000).

Penurunan persentase hidup spermatozoa setelah 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 (Toelihere, 1985).

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Terdapat perbedaan terhadap motilitas spermatozoa Domba Merino *post thawing* dengan urutan waktu equilibrasi terbaik selama 2 jam, 2,5 jam, 1,5 jam, dan 1 jam dalam pengencer Skim Kuning Telur.
2. Terdapat perbedaan terhadap viabilitas spermatozoa Domba Merino *post thawing* dengan urutan waktu equilibrasi terbaik selama 2 jam, 2,5 jam, 1,5 jam, dan 1 jam dalam pengencer Skim Kuning Telur.

6.2. Saran

Waktu equilibrasi 2 jam dapat digunakan untuk proses pembekuan spermatozoa Domba Merino dalam pengencer Skim Kuning Telur.



RINGKASAN

RINGKASAN

Fajarillah Nurul Hayati. Pengaruh Waktu Equilibrase Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Domba Merino *Post Thawing* dalam Pengencer Skim Kuning Telur dengan Dr. Suwarno, drh., M.Si. selaku dosen pembimbing pertama dan Trilas Sardjito, drh., M.Si. selaku dosen pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama waktu equilibrase terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa Domba Merino *post thawing* dalam pengencer Skim Kuning Telur. 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. Selanjutnya semen dicampur dengan pengencer Skim Kuning Telur, kemudian semen dibagi menjadi empat perlakuan yaitu perlakuan satu (P1) semen diequilibrase selama 1 jam, perlakuan dua (P2) semen diequilibrase selama 1,5 jam, perlakuan tiga (P3) semen diequilibrase selama 2 jam, perlakuan empat (P4) semen diequilibrase selama 2,5 jam. Masing-masing perlakuan dengan 5 ulangan dan dilakukan pemeriksaan motilitas dan viabilitas spermatozoa pada saat *post thawing*. Hasil pemeriksaan motilitas progresif didapatkan diantara keempat perlakuan tersebut yaitu P1 equilibrase 1 jam sebesar $18,00 \pm 2,74$, P2 equilibrase 1,5 jam sebesar $25,00 \pm 3,54$, P3 equilibrase 2 jam sebesar $34,00 \pm 2,24$, P4 equilibrase 2,5 jam sebesar $29,00 \pm 4,18$ terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$), hal ini disebabkan waktu equilibrase 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. *Buffer* berfungsi sebagai penyanggah untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme sel sperma. Proses respirasi pada metabolisme spermatozoa menghasilkan asam laktat. Semakin lama proses respirasi semakin banyak asam laktat yang dihasilkan. Asam laktat mempengaruhi menurunkan kehidupan dan motilitas spermatozoa (dirjennak, 2000). Sependapat dengan hal diatas Bearden dan Fuquay (1980), Gilbert (1980), tingkatan asam laktat berkorelasi nyata dengan daya gerak spermatozoa, asam laktat dapat memperpendek daya tahan hidup spermatozoa. Hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa diantara keempat perlakuan tersebut yaitu P1 equilibrasi 1 jam sebesar $31,00 \pm 3,03$, P2 equilibrasi 1,5 jam sebesar $39,00 \pm 4,39$, P3 equilibrasi 2 jam sebesar $51,00 \pm 5,03$, P4 equilibrasi 2,5 jam sebesar $44,00 \pm 4,95$ terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$). Keutuhan membran sangat berkorelasi dengan viabilitas, apabila membran rusak mengakibatkan metabolisme terganggu sehingga spermatozoa akan kehilangan motilitas dan terjadi kematian (Suryani, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa Domba Merino *post thawing* dengan urutan waktu equilibrasi terbaik selama 2 jam, 2,5 jam, 1,5 jam, dan 1 jam dalam pengencer Skim Kuning Telur.

DAFTAR PUSTAKA

Daftar Pustaka

- Almahdy, H., M. W. Tess, E. El-Tawil, E. Shehata, and H. Mansour. 2000. Evaluation of Egyptian Sheep Production System: I. Breed Crosses and Management Systems. *J. ANIM Sci.* 78:283-287.
- Arifiantini R. I dan T.L. Yusuf. 2010. Keberhasilan Penggunaan Tiga Pengencer dalam Dua Jenis Kemasan pada Proses Pembekuan Semen Sapi *Frisien Hoelstein*. <http://cari-pdf.com/download>. [20 Mei 2013].
- 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., J.W. Fuquay and S.T Willard. 2004. Applied Animal Reproduction. 6th ed. Missisipi State University. USA. p:96-103.
- Bearden, H.J., dan J.W. Fuquay. 1980. Applied Animal Reproduction. 3th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. p:58-64.
- Blakely, J. dan D.H., Blade. 1991. Ilmu Peternakan. Diterjemahkan oleh B. Srigandono, Ed.4. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. hal 125-284.
- Curry, M.R., and P.F Watson. 1995. *Sperm Structure and Function*. In Grudzinkas JG and Yovich JI. Eds, Gametes the Spermatozoon. 1st ed, Cambridge University Press . p:45-69.
- Direktorat Jenderal Peternakan, Direktorat Budidaya Peternakan. 2000b. Pedoman Teknis Produksi Peternakan Sapi Potong. Bagian proyek Pembinaan Budidaya Ternak pusat. Jakarta. P:12.
- Evans, G. and W.M.C. Maxwell. 1987. Salamons Artificial Insemination of Sheep and Goats. Botter Worths. p:63-68.
- Feradis. 2010. Reproduksi Ternak. Alfabeta. Bandung. hal: 9-32, 85-96.

- Gardner, 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. p:79-91.
- Gilbert, A.B. 1980. Poultry. In: *Reproduction in Farm Animals*, 4th edition. Lea and Febiger, Philadelphia. p: 436-438.
- Hafez, E. S. E. 2000. *Reproduction in Farm Animal*. 7th ed. Lea Febriger. Philadelphia. USA. p:96-109.
- Hardijanto., S. Susilowati, T. Sardjito, T. Hernawati, dan T.W. Suprayogi. 2010. *Inseminasi Buatan*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Airlangga University Press. Surabaya. hal: 27-91.
- Hardjosubroto, W. 1994. *Aplikasi Pemuliabiakan Ternak di Lapangan*. Gramedia Widiasarana Indonesia. Jakarta. hal: 173-184.
- 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. H. Anwar., P. Srianto, S.P. Madyawati, A. Samik, dan E. Savitri. 2010. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. hal: 2-31.
- Mulyana, W. 2003. *Cara Berternak Kambing*. Semarang : PT.Aneka Ilmu. hal: 59-65.
- Munandar, Y. A. 2012. *Pengaruh Pengencer Skim Kuning Telur dan Tris Kuning Telur Terhadap Motilitas dan Viabilitas Semen Domba Merino Pasca Thawing*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. hal: 8-22.
- Nalbandov, A.V. 1990. *Fisiologi Reproduksi pada Mammalia dan Unggas*. Edisi 3. Terjemahan K. Sunaryo. Universitas Airlangga. 262-263.
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Cetakan ketiga Fakultas Kedokteran Veteriner Jurusan Reproduksi IPB. Mutiara Sumber Widya. Jakarta Pusat. hal: 87-96.

- Pineda, M.H and M.P. Dooley. 2003. *Veterinary Endocrinology and Reproduction* Iowa State Press America. Iowa. p: 115-124.
- Purbowati, E. 2009. *Usaha Penggemukan Domba*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta. hal: 54-57.
- Rizal, M., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara dan P. Situmorang. 2003. *Pengaruh Lama Penyimpanan Epididimis Domba pada Suhu 5° C terhadap Kualitas Spermatozoa Epididimis*. Pusat Studi Ilmu Hayati, Lembaga Penelitian, IPB. Bogor.
- Rizal, M. H. 2008. *Inseminasi Buatan pada Domba*. Penerbit Rineka Cipta. Bogor. hal: 58-62.
- Salisbury G. W. And N. L. Vandemark. 1995. *Fisiologi dan Reproduksi Inseminasi Buatan pada Sapi*. Penerjemah R Djanuar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. hal: 59-68.
- Salamon, S. dan Maxwell, W.M. 2000. *Storage of Ram Semen*. *Anim Reprod Sci*. 62:77-111.
- Suprayogi, T. W. 1996. *Pengaruh Waktu Penyimpanan Bahan Pengencer Kuning Telur Sitrat Terhadap Daya Fertilisasi Sel Mani Domba*. Lembaga Penelitian, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Surachman. M., Herdis, Yulnawati., Rizal. M., Maheswari. H. 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. hal: 22-27.
- Suryani, E. F. P. 2012. *Pengaruh Waktu Equilibrasi Terhadap Motilitas, Viabilitas dan Integritas Membran Spermatozoa Domba Merino dalam Pengencer Yang Mengandung Lesitin Nabati*. *Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga*. Surabaya. hal: 8-15.
- Susilowati, S., Hardijanto., Supryogi. T. W., Sardjito. T., Hernawati. T. 2010. *Penuntun Praktikum Ilmu Inseminasi Buatan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga*. Surabaya. hal: 3-37.

- Susilowati, T. 2000. Analisis Membran Spermatozoa Sapi Hasil Filtrasi Sephadex dan Sentrifugasi Gradient Densitas Percoll pada Proses Seleksi Jenis Kelamin. Thesis. Universitas Airlangga. Surabaya. hal: 17-19.
- Sutama, I. K. 1993. Domba Ekor Gemuk di Indonesia: Prosiding Sarasehan Usaha Ternak Domba dan Kambing Menyongsong Era PJP II Desember 1992. Diterbitkan oleh Ikatan Sarjana Peternakan Indonesia (ISPI) Cab. Bogor dan Himpunan Pengusaha Kambing dan Domba Indonesia (HPKDI) Cab. Bogor. Bogor.
- Suyadi. 1992. Pengantar Fisiologi Reproduksi. Universitas Brawijaya. Malang
- Toelihere, M. 1979. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung. hal : 20-26; 75; 116-120; 126-127; 144.
- Toelihere Mozes. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa. Bandung. hal: 78-96.
- Toelihere, M. R. 1993. Pengantar Praktikum Inseminasi Buatan. Edisi Kelima. Departemen Reproduksi Institut Pertanian Bogor. hal 38-54.
- Umar, S dan Magdalena M. 2005. Pengaruh Berbagai Waktu Ekuilibrasi terhadap Daya Tahan Sperma Sapi Limousin dan Uji Kebuntingan. Jurnal Agribisnis Peternakan 1(1): hal: 17-21.
- Xiaowu, L. 1984. Raising Sheep and Goats. Agriculture Press. Beijing, China.
- Veronica. K. N. 2009. Pengaruh Povidone Iodine Terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Domba *In vitro*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. hal: 18-20.
- Yuyun. 1996. Motilitas dan Presentase Hidup Spermatozoa Semen Sapi FH dalam Larutan Lugol. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang. hal: 32-33.

LAMPIRAN

Lampiran 1.**Prosedur Penampungan Semen Domba**

Penampungan semen dilakukan oleh minimal 2 orang, satu orang memegang betina pemacek dan seorang yang lain sebagai operator yang menampung semen.

Menyiapkan betina memancing dan diikat pada kandang jepit, kalau tidak ada kandang jepit bisa dijepit secara manual. Dekatkan pejantan yang akan diambil semennya pada pemancing, tapi dicegah dulu agar tidak menaiki. Lakukan gerakan mendekat dan menjauhkan pejantan dari pemancing 2 – 3 kali dan diputar – putar di sekitar betina guna merangsang libidonya lebih besar dan volume semen yang didapat lebih maksimal. Sementara operator memeriksa suhu dalam saluran vagina buatan antara 42-45 °C dan mengambil posisi di belakang sebelah kanan pemancing. Gunakan tangan kanan memegang vagina buatan miring ke atas dengan kemiringan 45 ° dengan garis horizontal.

Pegang preputium pejantan tepat di pangkal penis dengan tangan kiri dan arahkan masuk ke dalam vagina buatan saat pejantan naik dan melakukan gerakan ejakulasi. Tampung semen dari domba tersebut lalu lepaskan tabung gelas penampungan dari corong karet vagina buatan dan langsung dilakukan pemeriksaan di laboratorium.

Lampiran 2.**Pembuatan Bahan Pengencer Skim Kuning Telur**

Bahan : susu skim, aquabides, antibiotik, kuning telur, dan gliserol.

Cara membuat :

1. Membuat *buffer* (untuk 1000 cc)
 - Menimbang susu skim 100 gr dan mempersiapkan 960cc aquabides dalam tabung.
 - Memasukkan susu skim ke dalam bowling glass 3000cc dan tambahkan 960cc aquabides.
 - Mencampur susu skim dan aquabides (*buffer*) sampai homogen
 - Memasukkan bowling glass ke dalam pemanas elektrothermal sampai suhu 92 - 95 °C.
 - Setelah *buffer* suhunya mencapai suhu 92 °C, bowling glass diangkat dan didinginkan sampai suhunya mencapai 37 °C lalu disaring.
 - Memasukkan *buffer* ke dalam tabung (*measuring cylinder*) 1000cc kemudian disimpan ke dalam lemari es.
 - Setelah dingin *buffer* ditambahkan antibiotik dengan perbandingan 100 : 1. Antibiotik yang dipergunakan adalah pennicylin 3.000.000 IU dan streptomycin 3 gram, dicampur lalu ditambahkan aquabides sampai volumenya 30 cc.

2. Membuat bahan pengencer A (untuk 1000cc)
 - *Buffer* antibiotik : 950 cc
 - Kuning Telur : 50 cc

3. Membuat bahan pengencer B (untuk 1000cc)

- *Buffer* antibiotik : 800 cc
 - Gliserol : 130 cc
 - Kuning Telur : 50 cc
 - Glukosa : 20 gram

Gliserol yang dipakai adalah gliserol absolut 99,7% merek OPTIM™ produksi DOW CHEMICAL PACIFIC LIMITED Made in Germany.

(Sumber : Teaching Farm Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga)

Lampiran 3. Satuan Operasional Prosedur Spektrofotometer

Spektrofotometer yang digunakan untuk pemeriksaan semen menggunakan metode 10 untuk kambing dan domba. Caranya :

1. Colokkan kabel listrik spektrofotometer pada sumber listrik.
2. Menekan tombol ON pada spektrofotometer.
3. Menunggu 10 menit
4. Mengisi kuvet dengan 4 ml NaCl fisiologis dimasukkan ke dalam lubang kuvet pada spektrofotometer.
5. Mengetik tanggal, bulan, dan tahun kemudian menekan tombol OK.
6. Mengetik identitas semen kemudian menekan tombol OK.
7. Mengetik volume semen kemudian menekan tombol OK.
8. Mengetik motilitas semen kemudian menekan tombol OK.
9. Mengambil kuvet kemudian ditambahkan semen sebanyak 8 μ l lalu mengaduknya satu arah secukupnya.
10. Memasukkan kuvet kembali ke dalam lubang spektrofotometer kemudian menekan tombol M.
11. Akan terlihat di monitor hasil pengukuran tersebut, kemudian menekan tombol OK untuk mencetak.
12. Bila sudah selesai menekan ESC beberapa kali sampai terdengar bunyi alarm.
13. Menekan off pada spektrofotometer untuk memmatikannya.
14. Mencabut kabel listrik dari sumbernya.
15. Menutup spektrofotometer dengan penutup plastik.

(Sumber : Teaching Farm Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga)

Lampiran 4.

Hasil Pemeriksaan Before Freezing Semen Domba Merino

Ulangan	Perlakuan	Motiitas (%)	Viabilitas (%)
1	P1 = 1 jam	85	95
	P2 = 1,5 jam	80	90
	P3 = 2 jam	80	90
	P4 = 2,5 jam	75	85
2	P1 = 1 jam	80	90
	P2 = 1,5 jam	80	90
	P3 = 2 jam	75	80
	P4 = 2,5 jam	75	80
3	P1 = 1 jam	80	90
	P2 = 1,5 jam	80	90
	P3 = 2 jam	75	85
	P4 = 2,5 jam	70	80
4	P1 = 1 jam	80	90
	P2 = 1,5 jam	80	85
	P3 = 2 jam	80	85
	P4 = 2,5 jam	75	80
5	P1 = 1 jam	80	95
	P2 = 1,5 jam	75	85
	P3 = 2 jam	75	80
	P4 = 2,5 jam	75	80

Lampiran 5.**Hasil Pemeriksaan Post Thawing Semen Domba Merino**

Ulangan	Perlakuan	Motiitas (%)	Viabilitas (%)
1	P1 = 1 jam	15	30
	P2 = 1,5 jam	25	39
	P3 = 2 jam	35	53
	P4 = 2,5 jam	30	45
2	P1 = 1 jam	20	35
	P2 = 1,5 jam	30	42
	P3 = 2 jam	35	56
	P4 = 2,5 jam	35	50
3	P1 = 1 jam	20	31
	P2 = 1,5 jam	25	41
	P3 = 2 jam	35	54
	P4 = 2,5 jam	30	47
4	P1 = 1 jam	20	33
	P2 = 1,5 jam	25	43
	P3 = 2 jam	35	51
	P4 = 2,5 jam	25	40
5	P1 = 1 jam	15	27
	P2 = 1,5 jam	20	32
	P3 = 2 jam	30	43
	P4 = 2,5 jam	25	38

Lampiran 6.

ANALISIS DATA

Before Freezing

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Motilitas	Viabilitas
N		20	20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	77.75	86.25
	Std. Deviation	3.432	5.098
Most Extreme Differences	Absolute	.294	.219
	Positive	.239	.190
	Negative	-.294	-.219
Kolmogorov-Smirnov Z		1.315	.979
Asymptotic Significance (2-tailed)		.063	.293

a. Test Distribution is Normal

b. Calculated from data

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Significance
Motilitas	.561	3	16	.648
Viabilitas	1.202	3	16	.341

Post Thawing

Summarize

Case Processing Summary^a

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Motilitas * Sampel	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%
Viabilitas * Sampel	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

Case Summaries⁴

				Motilitas	Viabilitas
Sampel	1 Jam	1		15	30
		2		20	35
		3		20	31
		4		20	33
		5		15	27
		Total	N	5	5
			Mean	18.00	31.20
			Median	20.00	31.00
			Std. Deviation	2.739	3.033
	1,5 Jam	1		25	39
		2		30	42
		3		25	41
		4		25	43
		5		20	32
		Total	N	5	5
			Mean	25.00	39.40
			Median	25.00	41.00
			Std. Deviation	3.536	4.393
	2 Jam	1		35	53
2			35	56	
3			35	54	
4			35	51	
5			30	43	
	Total	N	5	5	
		Mean	34.00	51.40	
		Median	35.00	53.00	
		Std. Deviation	2.236	5.030	
2,5 Jam	1		30	45	

		2		35	50
		3		30	47
		4		25	40
		5		25	38
	Total	N		5	5
		Mean		29.00	44.00
		Median		30.00	45.00
		Std. Deviation		4.183	4.950
Total	N			20	20
	Mean			26.50	41.50
	Median			25.00	41.50
	Std. Deviation			6.708	8.544

a. Limited to first 100 cases.

One-way

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Motilitas	1 Jam	5	18.00	2.739	1.225	14.60	21.40	15	20
	1,5 Jam	5	25.00	3.536	1.581	20.61	29.39	20	30
	2 Jam	5	34.00	2.236	1.000	31.22	36.78	30	35
	2,5 Jam	5	29.00	4.183	1.871	23.81	34.19	25	35
	Total	20	26.50	6.708	1.500	23.36	29.64	15	35
Viabilitas	1 Jam	5	31.20	3.033	1.356	27.43	34.97	27	35
	1,5 Jam	5	39.40	4.393	1.965	33.95	44.85	32	43
	2 Jam	5	51.40	5.030	2.249	45.15	57.65	43	56
	2,5 Jam	5	44.00	4.950	2.214	37.85	50.15	38	50
	Total	20	41.50	8.544	1.910	37.50	45.50	27	56

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Motilitas	Viabilitas
N		20	20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	26.50	41.50
	Std. Deviation	6.708	8.544
Most Extreme Differences	Absolute	.149	.090
	Positive	.138	.090
	Negative	-.149	-.090
Kolmogorov-Smirnov Z		.667	.403
Asymptotic Significance (2-tailed)		.766	.997

a. Test Distribution is Normal

b. Calculated from data

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Motilitas	.653	3	16	.593
Viabilitas	.456	3	16	.716

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Motilitas	Between Groups	685.000	3	228.333	21.490	.000
	Within Groups	170.000	16	10.625		
	Total	855.000	19			
Viabilitas	Between Groups	1073.800	3	357.933	18.285	.000
	Within Groups	313.200	16	19.575		
	Total	1387.000	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Motilitas	1 Jam	1,5 Jam	-7.000*	2.062	.017	-12.90	-1.10
		2 Jam	-16.000*	2.062	.000	-21.90	-10.10
		2,5 Jam	-11.000*	2.062	.000	-16.90	-5.10
	1,5 Jam	1 Jam	7.000*	2.062	.017	1.10	12.90
		2 Jam	-9.000*	2.062	.002	-14.90	-3.10
		2,5 Jam	-4.000	2.062	.251	-9.90	1.90
	2 Jam	1 Jam	16.000*	2.062	.000	10.10	21.90
		1,5 Jam	9.000*	2.062	.002	3.10	14.90
		2,5 Jam	5.000	2.062	.112	-.90	10.90
	2,5 Jam	1 Jam	11.000*	2.062	.000	5.10	16.90
		1,5 Jam	4.000	2.062	.251	-1.90	9.90
		2 Jam	-5.000	2.062	.112	-10.90	.90
Viabilitas	1 Jam	1,5 Jam	-8.200*	2.798	.044	-16.21	-1.19
		2 Jam	-20.200*	2.798	.000	-28.21	-12.19
		2,5 Jam	-12.800*	2.798	.002	-20.81	-4.79
	1,5 Jam	1 Jam	8.200*	2.798	.044	.19	16.21
		2 Jam	-12.000*	2.798	.003	-20.01	-3.99
		2,5 Jam	-4.600	2.798	.384	-12.61	3.41
	2 Jam	1 Jam	20.200*	2.798	.000	12.19	28.21
		1,5 Jam	12.000*	2.798	.003	3.99	20.01
		2,5 Jam	7.400	2.798	.075	-.61	15.41
	2,5 Jam	1 Jam	12.800*	2.798	.002	4.79	20.81
		1,5 Jam	4.600	2.798	.384	-3.41	12.61
		2 Jam	-7.400	2.798	.075	-15.41	.61

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

Homogeneous Subjects

Motilitas

Tukey HSD

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1 Jam	5	18.00		
1,5 Jam	5		25.00	
2,5 Jam	5		29.00	29.00
2 Jam	5			34.00
Sig.		1.000	.251	.112

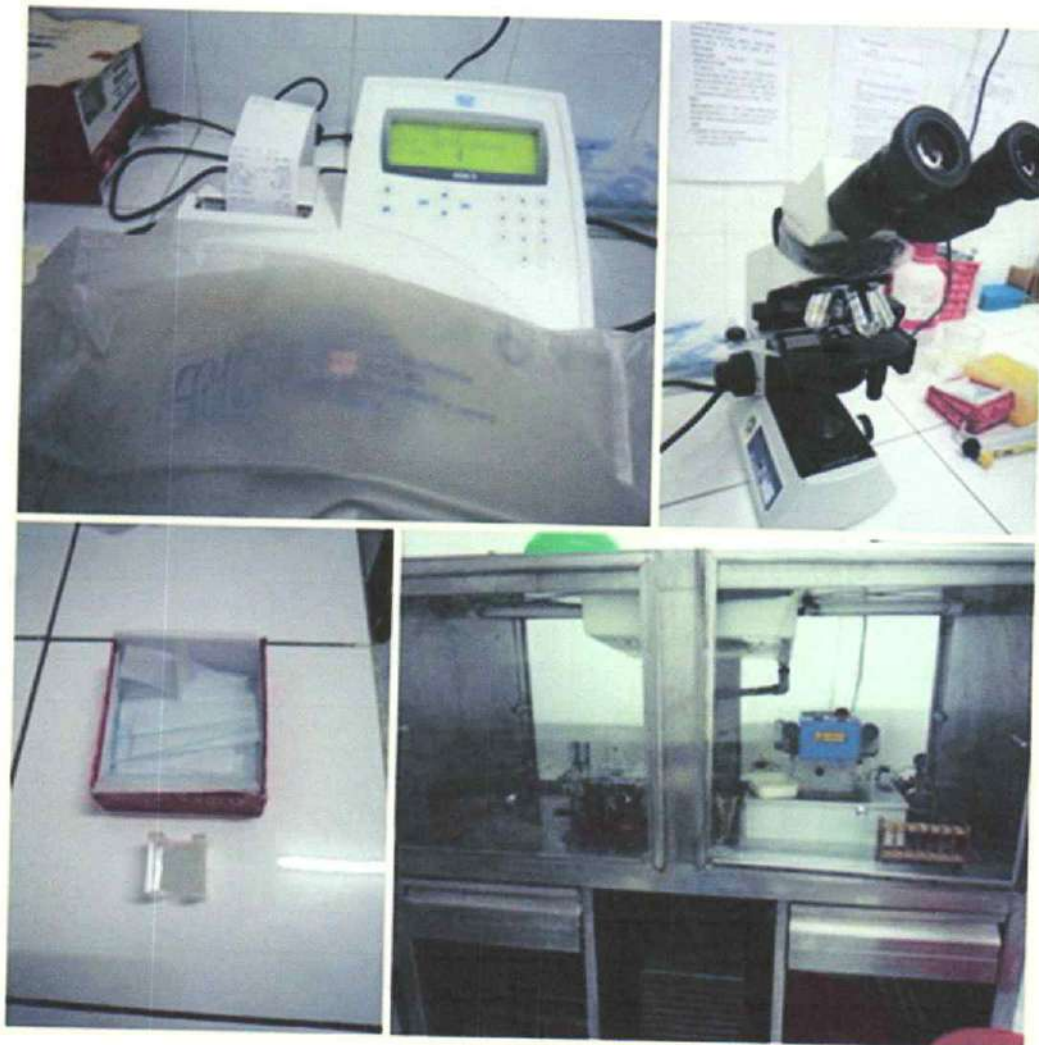
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Viabilitas

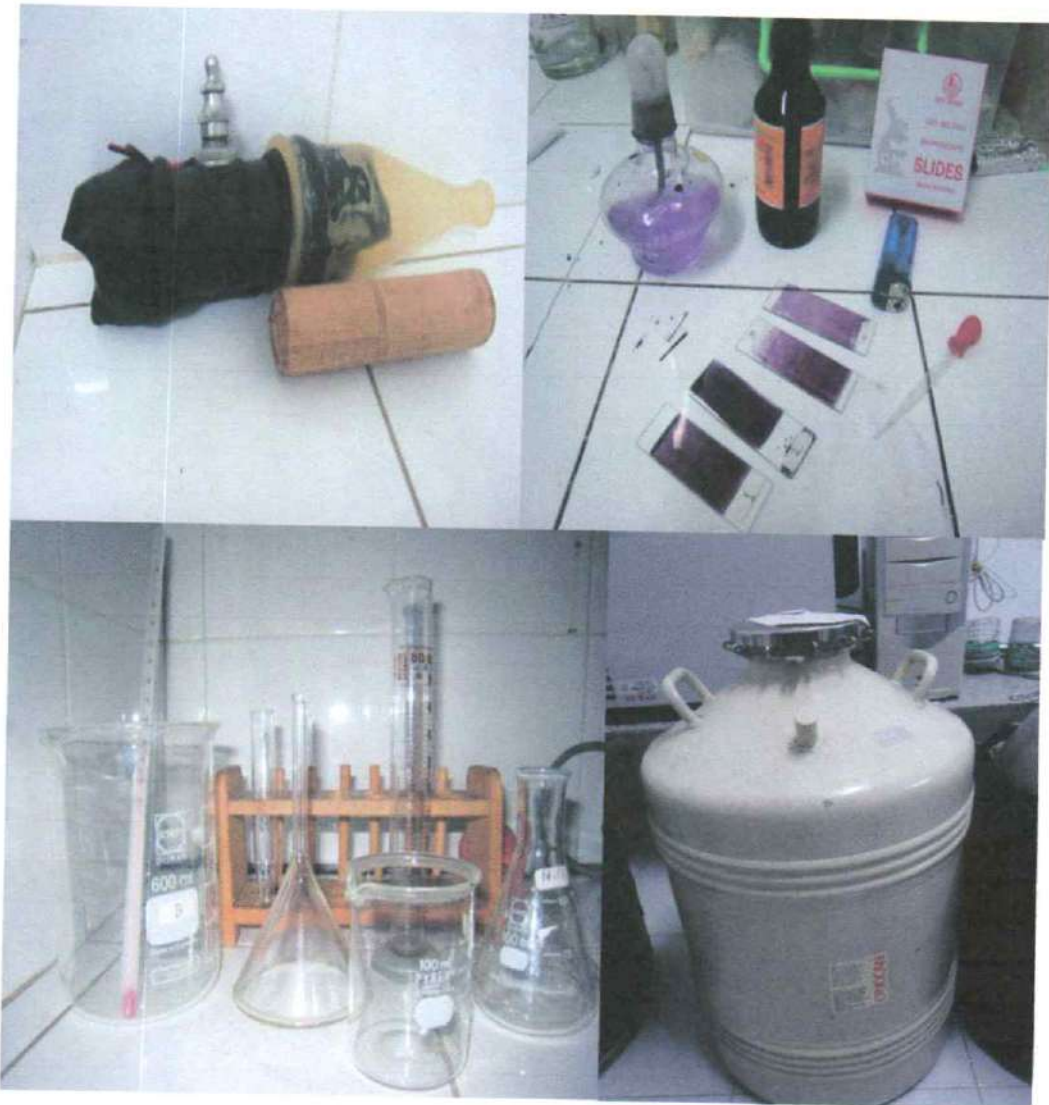
Tukey HSD

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1 Jam	5	31.20		
1,5 Jam	5		39.40	
2,5 Jam	5		44.00	44.00
2 Jam	5			51.40
Sig.		1.000	.384	.075

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 7.**FOTO-FOTO PENELITIAN**

Peralatan Penelitian : Spektrofotometer, Mikroskop, Gelas Objek, Gelas Penutup,
Cool top.



Peralatan Penelitian : Vagina Buatan, Bunsen, Pewarna Eosin-Negrosin,
Pipet, Gelas Beker, Thermometer, Tabung Penampung
Semen, Corong, Gelas Ukur, Tabung Erlenmeyer,
Kontainer.



Peralatan Penelitian : Waterbath, Thermometer, Pengaduk, Mikropipet, Vortex,
Alat Penghitung.



Proses Pengambilan Semen Domba Merino



Proses Filling Sealing Straw