

# SKRIPSI

## **PENGARUH PENGENCER SUSU, KUNING TELUR SITRAT, DAN KOMBINASI KEDUANYA TERHADAP PERSENTASE HIDUP DAN RASIO KROMOSOM SEKS SPERMATOZOA DOMBA PADA SUHU SIMPAN DAN LAMA SIMPAN**



**MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

Oleh :

**LINDA CHRISTINA INDRIYANTI**  
**SURABAYA – JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2005**

**PENGARUH PENGENCER SUSU, KUNING TELUR SITRAT, DAN  
KOMBINASI KEDUANYA TERHADAP PERSENTASE HIDUP  
DAN RASIO KROMOSOM SEKS SPERMATOZOA DOMBA  
PADA SUHU SIMPAN DAN LAMA SIMPAN**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh

LINDA CHRISTINA INDRIYANTI  
NIM. 060012737

Menyetujui,

Komisi Pembimbing



(Dr. Hardijanto, M.S., Drh)

Pembimbing Pertama



(Nusdianto Triakoso, M.P., Drh)

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN

Menyetujui

Panitia Penguji,



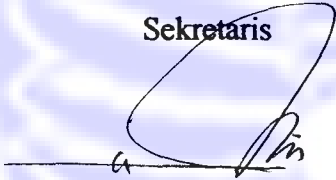
Dr. Bambang Purnomo S, M.S., Drh

Ketua



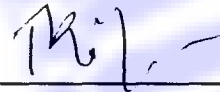
Budi Utomo, M.Si., Drh

Sekretaris



Dr. Hardijanto, M.S., Drh

Anggota



Trilas Sardjito, M.Si., Drh

Anggota



Nusdianto Triakoso, M.P., Drh

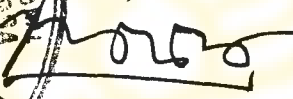
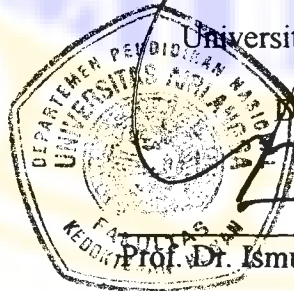
Anggota

Surabaya, 15 April 2005

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh

NIP. 130 687 297

**PENGARUH PENGECER SUSU, KUNING TELUR SITRAT, DAN  
KOMBINASI KEDUANYA TERHADAP PERSENTASE HIDUP  
DAN RASIO KROMOSOM SEKS SPERMATOZOA DOMBA  
PADA SUHU SIMPAN DAN LAMA SIMPAN**

Linda Christina Indriyanti

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh yang ditimbulkan dari pengencer susu, kuning telur sitrat, dan kombinasi keduanya terhadap persentase hidup dan rasio kromosom seks spermatozoa pada 5-8°C selama 4 hari.

Sampel semen dari domba jantan sebanyak 0,1-0,2 ml diencerkan dengan pengencer susu, kuning telur sitrat, dan kombinasi keduanya masing-masing sampai 1 ml, kemudian disimpan pada suhu 5-8°C. Semen yang disimpan diperiksa sekali sehari pada waktu yang sama dan berakhir pada hari ke empat.

Dasar penelitian ini adalah bahwa spermatozoa pembawa kromosom Y memiliki morfologi lebih kecil dari pada spermatozoa pembawa kromosom X. Dengan ini pula bisa diasumsikan bahwa luas kepala sel spermatozoa pembawa kromosom Y lebih kecil dibandingkan sel spermatozoa pembawa kromosom X.

Hasil sidik ragam yang dirancang Faktorial dan dilanjutkan dengan uji Duncan menunjukkan adanya interaksi antara pengencer dan lama waktu penyimpanan yang berarti kedua faktor tidak bebas satu sama lain, persentase hidup terbaik setelah penyimpanan yaitu Hari-1 pada pengencer kuning telur sitrat ( $77,00 \pm 3,406$ ) yang tidak berbeda nyata dengan pengencer kombinasi susu dengan kuning telur sitrat ( $76,67 \pm 4,502$ ).

Persentase hidup sel spermatozoa pembawa kromosom X dan Y menunjukkan adanya interaksi antara perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan. Rasio seks spermatozoa pembawa kromosom X dan Y menunjukkan bahwa kromosom X lebih mampu bertahan dari pada sel spermatozoa pembawa kromosom Y.

## KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur kepada Allah Bapa yang telah memberikan kemampuan, kasih karunia, dan kekuatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Pengencer Susu, Kuning Telur Sitrat, dan Kombinasi Keduanya Terhadap Persentase Hidup dan Rasio Kromosom Seks Spermatozoa Domba pada Suhu Simpan dan Lama Simpan” sebagai salah satu syarat akademis dalam rangka menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

- Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Bapak Dr. Hardijanto, M.S., Drh. Selaku Dosen Pembimbing I atas waktu, saran, dan bimbingan dalam penyusunan skripsi.
- Bapak Nusdianto Triakoso, M.P., Drh. Selaku Dosen Pembimbing II atas waktu, saran, dan bimbingan dalam penyusunan skripsi.
- Kepala dan dosen-dosen di Laboratorium Inseminasi Buatan dan Kebidanan Universitas Airlangga atas bimbingan dan izin untuk menggunakan fasilitas laboratorium selama penelitian.
- Bapak Koesnoto, Drh., atas bantuan petunjuk analisis statistiknya.
- Pak Parto, Pak Slamet, Mbak Surti dan Mbak Ida, atas segala bantuan yang diberikan pada proses penelitian.

- Ayahanda, Ibunda tercinta, dan semua keluarga penulis, terima kasih tak terhingga untuk segalanya.
- Yang terkasih Novent, terima kasih atas kesabaran, bantuan dan perhatian yang begitu indah diberikan selama ini.
- Rekan penulis seperjuangan : Lilis atas bantuan, saran-saran dan kerjasamanya dalam proses penelitian. Juga Arif, Feri, Bangun, Aziz, yang dengan sukarela membantu penulis dalam melaksanakan penelitian.
- Teman-teman angkatan '00 : Sherli, Memeh, Yuke, Lylyan, Rina, Agnes, Mellany, Lisa, Eva, Nina dll yang telah memberikan semangat dan dorongan untuk penyelesaian penulisan ini.
- Semua pihak yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, oleh karena itu penulis mengharap kritik dan saran, semoga skripsi ini dapat menambah pengetahuan di bidang inseminasi buatan serta bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Surabaya, Maret 2005

Penulis



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
I.1. Latar belakang Penelitian .....	1
I.2. Perumusan Masalah .....	3
I.3. Landasan Teori .....	4
I.4. Tujuan Penelitian .....	5
I.5. Manfaat Penelitian .....	5
I.6. Hipotesis Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
II.1. Domba .....	7
II.2. Reproduksi Domba Jantan .....	8
II.3. Spermatogenesis .....	10
II.4. Semen Domba .....	11
II.4.1. Plasma Semen .....	12
II.4.2. Spermatozoa .....	13
II.4.3. Metabolisme Spermatozoa.....	15

II.5. Pengencer .....	16
II.5.1. Pengencer Kuning Telur Sitrat .....	16
II.5.2. Pengencer Susu Skim .....	17
II.6. Kromosom Seks .....	18
<b>BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN</b>	
III.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	21
III.2. Materi Penelitian.....	21
III.2.2. Bahan Penelitian .....	21
III.2.3. Peralatan Penelitian .....	22
III.2.4. Persiapan Alat dan Bahan .....	22
III.2. Metode .....	23
III.3. Rancangan Penelitian dan Analisis Statistik .....	26
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN</b>	
IV.1. Hasil Pemeriksaan Semen Domba Sebelum Perlakuan.....	27
IV.2. Persentase Hidup Spermatozoa Domba Setelah Perlakuan.	28
IV.3. Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom Y...	30
IV.4. Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom X...	32
IV.5. Rasio Seks spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y...	34
<b>BAB V PEMBAHASAN</b>	
V.1. Persentase Hidup Spermatozoa Domba.....	36
V.2. Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y.....	37
V.3. Rasio Seks Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y...	39



**BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN**

VI.1. Kesimpulan .....	40
VI.2. Saran .....	40
<b>RINGKASAN</b> .....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	43
<b>LAMPIRAN</b> .....	46

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Perbedaan Kromosom Seks pada Spermatozoa .....	20
2. Hasil Pemeriksaan Semen Domba Sebelum Perlakuan .....	27
3. Rata-rata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa domba (%) perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C.....	28
4. Rata-rata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom Y (%) perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C .....	31
5. Rata-rata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom X (%) perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C .....	32
6. Rasio seks spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C.....	34

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Pembuatan Pengencer Susu.....	46
2. Pembuatan Pengencer Kuning Telur Sitrat .....	46
3. Pembuatan Pengencer Susu dengan Kuning Telur Sitrat .....	47
4. Cara Pengambilan Semen Domba .....	47
5. Teknik Pemeriksaan Makroskopis Semen.....	48
6. Teknik Pemeriksaan Mikroskopis Semen .....	49
7. Data Persentase Hidup Spermatozoa Domba .....	53
8. Hasil Transformasi Data Persentase Hidup Spermatozoa Domba .....	54
9. Analisis Statistik Data Persentase Hidup Spermatozoa Domba.....	55
10. Data Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom Y .....	59
11. Hasil Transformasi Data Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom Y .....	60
12. Analisis Statistik Data Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom Y .....	61
13. Data Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom X .....	64
14. Hasil Transformasi Data Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom X .....	65
15. Analisis Statistik Data Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom X .....	66

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Skema Proses Spermatogenesis.....	11
2. Struktur dari Spermatozoa.....	14
3. Domba yang Digunakan Untuk Penelitian .....	21
4. Alat-alat yang Digunakan dalam Penelitian .....	22
5. Skema Langkah Penelitian .....	25
6. Spermatozoa Hidup dan Mati pada Pewarnaan Eosin-Negrosin.....	35



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### I.1. Latar Belakang

Peternakan domba di Indonesia yang masih berskala kecil perlu diusahakan karena adanya pertumbuhan penduduk sekitar 1,234% dan kenaikan tingkat daya beli masyarakat terhadap kebutuhan daging khususnya daging domba. Selama ini kebutuhan daging belum mencukupi permintaan sehingga masih mengandalkan impor daging (Mulyono, 2004). Untuk itu perlu dicari jalan melalui inseminasi buatan (IB) yang diharapkan dapat memenuhi kebutuhan daging masyarakat.

IB merupakan teknologi baru dalam perkembangbiakkan ternak dan juga merupakan cara yang paling cepat dan tepat dalam menyebarkan bibit unggul di suatu wilayah dengan jalan meningkatkan pemakaian seekor pejantan per ejakulasi dan per satuan waktu untuk mengawini beberapa ekor betina yang sejenis. Secara ekonomis, cara ini dapat diandalkan karena banyak menghemat biaya (Hardijanto dan Hardjopranto, 1994).

Keberhasilan pelaksanaan IB ditentukan salah satunya oleh kualitas semen yang digunakan. Sebelum digunakan untuk IB, semen perlu diencerkan terlebih dahulu. Semen yang tidak diencerkan akan sukar mempertahankan hidupnya lebih dari 24 jam, walaupun disimpan dalam suhu 0°C sampai 5°C (Hardijanto dan Hardjopranto, 1994).

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 (*cold shock*) pada suhu rendah serta mengandung bahan nutrisi (Toelihere, 1993). Menurut Hermadi dkk (1992), mengatakan bahwa yang paling penting di dalam pengencer tersebut mengandung bahan yang sangat dibutuhkan bagi kelangsungan hidup sel spermatozoa antara lain protein, lemak, zat hidrat arang serta vitamin dan mineral.

Beragam-macam pengencer yang dipergunakan saat ini antara lain dengan bahan seperti kuning telur, susu, kelapa, dan sari buah pepaya. Bahan pengencer tersebut sebagian dapat dipergunakan sebagai pengencer untuk pembuatan semen encer (*chilled semen; liquid semen*) dan semen beku (*frozen semen*).

Semen yang didinginkan pada temperatur 0°C sampai 5°C dapat menekan motilitas dan metabolisme spermatozoa, sehingga memungkinkan semen digunakan secara memuaskan dalam IB paling tidak untuk tiga hari (Hunter, 1995). Perlakuan semen yang diencerkan sebelum digunakan disimpan lebih dulu pada suhu 5°C, dapat dipakai sebagai semen encer (*chilled semen; liquid semen*) dalam waktu 3-4 hari atau dapat dibekukan menjadi semen beku (*frozen semen*) untuk disimpan dalam waktu yang jauh lebih lama (Toelihere, 1993).

Kromosom X dan Y menentukan jenis kelamin mamalia (Taylor, 1992). Jika suatu spermatozoa dengan kromosom X bersatu dengan sebuah ovum, seekor betina akan terbentuk dari sigot, dan jika ovum bersatu dengan spermatozoa pembawa kromosom Y, seekor jantan akan terbentuk. Teori akan warisan jenis kelamin ini dikemukakan oleh Wilson dan Baehr, yang berpendapat bahwa gen



seks betina terletak atas kromosom X dan gen seks jantan terletak atas kromosom Y (Maciejowski, 1982).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti mencoba mengetahui sejauh mana pengaruh pengencer susu, kuning telur sitrat dan kombinasi keduanya terhadap persentase hidup dan rasio kromosom seks spermatozoa domba yang disimpan pada 5-8°C selama 4 hari.

## **I.2. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah pengencer susu, kuning telur sitrat, dan kombinasi keduanya berpengaruh terhadap persentase hidup dan rasio kromosom seks spermatozoa domba?
2. Apakah lama waktu penyimpanan pada 5-8°C berpengaruh terhadap persentase hidup dan rasio kromosom seks spermatozoa domba?
3. Apakah terjadi interaksi antara pengencer dengan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C terhadap persentase hidup dan rasio kromosom seks spermatozoa domba?

### I.3. Landasan Teori

Adanya pemikiran bahwa pengencer tidak hanya untuk meningkatkan volume semen sampai berpuluh kali lipat bahkan sampai ratusan dalam satu ejakulasi, namun semen domba dapat disimpan baik dalam jangka pendek (penyimpanan cair) maupun jangka panjang (penyimpanan beku). Penyimpanan jangka pendek yaitu penyimpanan spermatozoa mulai beberapa jam sampai beberapa hari pada suhu 0-10°C. Penyusun bahan pengencer yang demikian itu adalah sebagai berikut: substrat metabolis (biasanya gula); elektrolit dengan konsentrasi yang tepat untuk melindungi spermatozoa terhadap perubahan pH (daya sangga) dan tekanan osmose; komponen dengan berat molekul tinggi seperti yang ada pada kuning telur atau susu, untuk melindungi spermatozoa terhadap pengaruh merusak dari pendinginan; dan antibiotik (Hunter, 1995).

Suhu yang bervariasi antara 0-10°C telah disarankan untuk penyimpanan semen kambing dan domba. Suhu yang mendekati 0°C merupakan suhu yang optimum untuk penyimpanan semen (Perry, 1973). Menurut Evans dan Maxwell (1987) penyimpanan semen cair atau disebut juga penyimpanan jangka pendek tergantung pada pengurangan motilitas dan aktivitas metabolik spermatozoa yang *reversible* pada temperatur rendah (5°C atau 15°C). Pada kedua macam kondisi penyimpanan ini hidup sel spermatozoa dapat diperpanjang menjadi beberapa hari.

Pengencer susu sapi adalah pengencer alami yang paling sering digunakan (Evans dan Maxwell, 1987). Pemilihan susu skim didasarkan pada kandungan lemak susu skim yang rendah, karena apabila menggunakan susu penuh (*whole*

*milk*), yang kandungan lemaknya tinggi dapat menyulitkan pengamatan spermatozoa di bawah mikroskop (Evans dan Maxwell, 1987).

Menurut Colas (1984) kuning telur mengandung zat-zat yang berperan sebagai pelindung terhadap *cold shock* yaitu molekul lipoprotein atau protein yang besar, di mana molekul ini berpengaruh langsung pada membran plasma. Penggunaan kuning telur ayam dapat melindungi sel spermatozoa terhadap *cold shock*, karena mengandung lipoprotein (*lechin*), selain itu di dalam kuning telur juga terdapat glukosa sebagai sumber energi bagi sel spermatozoa (Salisbury dan VanDemark, 1985). Kuning telur sitrat yang ditambahkan ke dalam susu skim dapat meningkatkan ketahanan spermatozoa dan menginaktivasi spermisida dalam susu (Salisbury dan VanDemark, 1985)

#### **I.4. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pengencer susu, kuning telur sitrat, dan kombinasi keduanya terhadap spermatozoa domba dalam mempertahankan persentase hidup dan rasio kromosom seks pada penyimpanan 5-8°C selama 4 hari.

#### **I.5. Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pengencer susu, kuning telur sitrat, dan kombinasi keduanya terhadap spermatozoa domba untuk maksud penyimpanan.

### **I.6. Hipotesis**

1. Pengencer susu, kuning telur sitrat, dan kombinasi keduanya berpengaruh terhadap persentase hidup dan rasio kromosom seks spermatozoa domba.
2. Lama waktu penyimpanan pada 5-8°C berpengaruh terhadap persentase hidup dan rasio kromosom seks spermatozoa domba.
3. Terdapat interaksi antara perlakuan pengencer dengan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C terhadap persentase hidup dan rasio kromosom seks spermatozoa domba.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1. Domba**

Ternak domba (*Ovis aries*) termasuk famili Bovidae atau ruminansia yang mempunyai tanduk berongga seperti sapi dan kerbau. Di Indonesia domba merupakan ternak ruminansia kecil yang sudah memasyarakat dan distribusinya hampir merata. Peranannya tidak dipungkiri lagi sebagai ternak yang mampu memanfaatkan berbagai macam limbah pertanian yang kandungan gizinya relatif rendah. Di samping itu, masih ada beberapa keistimewaan yang dimiliki domba yaitu ukuran badan kecil, kebutuhan protein rendah, daya pilih terhadap pakan yang tinggi terhadap lingkungannya (Toelihere, 1993).

Domba yang ditenakkan di Indonesia fungsinya hampir tidak berbeda dengan kambing, yaitu dimanfaatkan dagingnya. Klasifikasi bangsa domba yang paling umum berdasarkan jenis wool yang dihasilkan. Faktor-faktor lainnya seperti jenis daging, warna, ada tidaknya tanduk serta karakteristik kemampuan adaptasinya, diperhatikan pada tiap-tiap jenis (Gatenby, 1991). Di dalam negeri, dikenal domba-domba asli yaitu domba lokal (domba ekor tipis), domba priangan (domba garut), domba ekor gemuk (DEG). Selain itu, ada pula beberapa jenis domba impor seperti suffolk, dorset dan merino (Mulyono, 2004).

## II.2. Reproduksi Domba Jantan

Menurut Hafez dan Hafez (2000), masa pubertas domba jantan merupakan umur di mana domba menghasilkan sel spermatozoa dan diejakulasikan untuk pertama kali. Domba jantan mencapai masa pubertas pada umur empat sampai enam bulan.

Susunan anatomi alat kelamin domba jantan terdiri dari alat kelamin utama yaitu gonad atau testis, saluran alat kelamin yang terdiri dari epididimis, vas deferens, ampula dan urethra, kelenjar seks pelengkap dan alat kelamin luar (Ismudiono, 1999).

Testis merupakan organ kelamin jantan primer yang terdapat dalam kantung di luar tubuh yang disebut skrotum. Skrotum 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, di mana produksi spermatozoa tergantung pada produksi androgen (Evans dan Maxwell, 1987).

Epididimis merupakan saluran yang menghubungkan dan mengangkut spermatozoa dari testis menuju ke kelenjar ampula. Epididimis terletak di belakang testis melekat pada tunika albuginea, merupakan saluran berkelok-kelok. Epididimis terdiri dari tiga bagian yaitu kepala (*caput*), badan (*corpus*), dan ekor (*cauda*). Fungsi epididimis yaitu pengangkutan, penyimpanan dan pendewasaan spermatozoa (Evans dan Maxwell, 1987). Proses pendewasaan spermatozoa di dalam epididimis adalah Bergeraknya masa protoplasma yang berupa sitoplasma



yang berada di sekitar leher spermatozoa menuju ke bagian ekor dan secara normal akan terlepas sebelum diejakulasikan. Sebagian besar proses ini terjadi di dalam *caput* epididimis (Salisbury dan VanDemark, 1985).

Duktus deferens merupakan saluran yang menghubungkan *cauda* epididimis dengan urethra. Duktus deferens bersama pembuluh-pembuluh darah, limfe dan saraf membentuk *funiculus spermaticus* yang berjalan melalui canalis inguinalis ke dalam *cavum abdominalis*. Kedua duktus deferens, yang terletak bersebelahan di atas vesika urinaria, perlahan-lahan menebal dan membesar membentuk ampula (*ampullae ductus deferentis*). Kelenjar-kelenjar ampula menghasilkan fruktosa dan asam sitrat selain kelenjar vesikularis (Evans dan Maxwell 1987; 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 di dalam air, mineral, dan mempunyai kapasitas penyangga yang relatif tinggi, dan merupakan cairan yang memelihara proses kehidupan spermatozoa (Evans dan Maxwell, 1987).

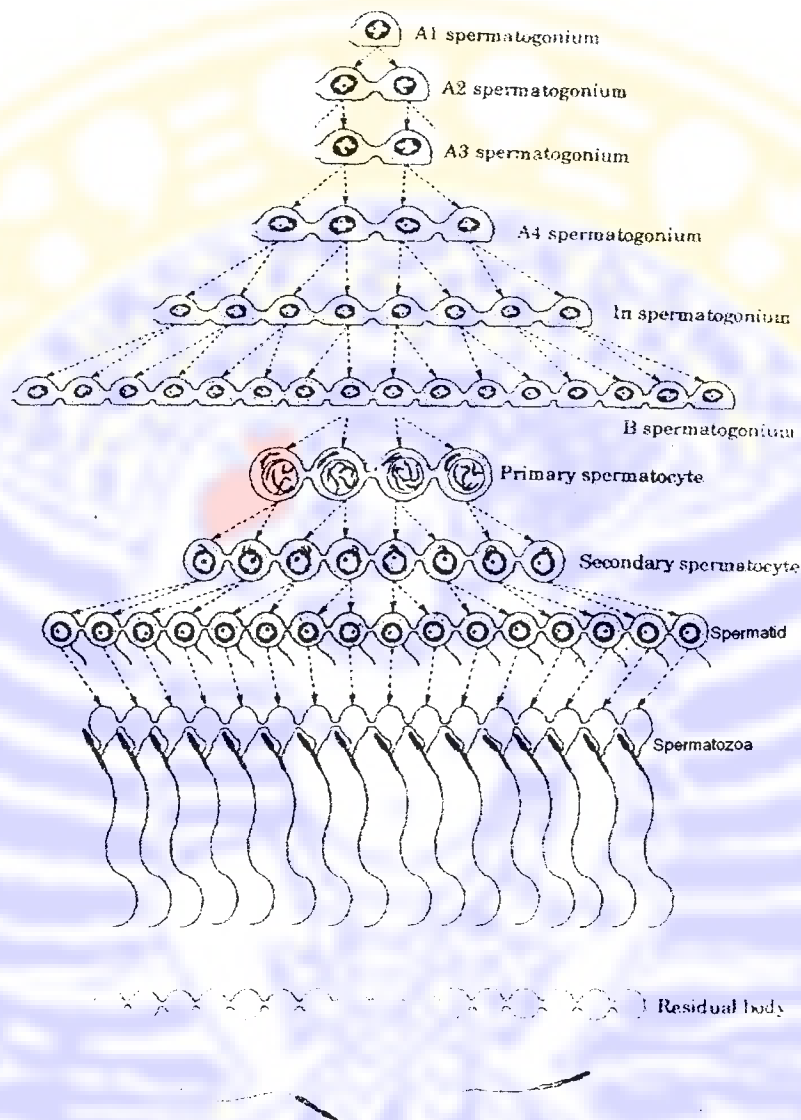
Penis merupakan organ kopulasi pada hewan jantan. Fungsi penis ada dua yaitu untuk meletakkan semen ke dalam saluran reproduksi hewan betina dan untuk mengeluarkan urin. Bagian penis yang melekat dengan tubuh disebut pangkal, bagian yang terbesar disebut badan dan bagian ujung yang bebas disebut *glans penis* (Toelihere, 1985). Penis domba mempunyai 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 dan Maxwell, 1987).

### II.3. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses pembentukan spermatozoa. Proses ini terjadi di tubulus seminiferus yang merupakan sembilan puluh persen dari masa testis. Pelepasan spermatozoa yang motil dan fertil terjadi setelah mencapai masa kedewasaan seksual (pubertas), tetapi proses spermatogenesis sendiri dimulai pada saat masih fetus (Evans and Maxwell, 1987).

Spermatogenesis merupakan proses yang berkesinambungan selama hidup dan dimulai dengan pembelahan sel benih atau spermatogonia. Pembelahan spermatogonia ini menghasilkan spermatogonia pengganti dan calon spermatozoa. Tahap berikutnya adalah dari spermatogonia menjadi fase spermatosit dan spermatid, kemudian menjadi spermatozoa atau pengurangan jumlah kromosom dari diploid ( $2n$ ) menjadi haploid ( $n$ ). Spermatozoa yang berkembang dari setiap spermatosit primer, dua buah mengandung kromosom Y untuk menghasilkan keturunan jantan (XY), dan dua mengandung kromosom X untuk menghasilkan keturunan betina (XX) apabila bergabung dengan ovum yang mengandung kromosom X (Evans and Maxwell, 1987). Skema spermatogenesis ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Skema proses spermatogenesis (Hozumi, 2001).

#### II.4. Semen Domba

Semen adalah suspensi cair atau semigelatin yang membawa gamet jantan atau spermatozoa dan sekresi dari organ aksesori dari saluran reproduksi jantan (Hafez and Hafez, 2000). Semen terdiri dari dua bagian yaitu sel kelamin jantan

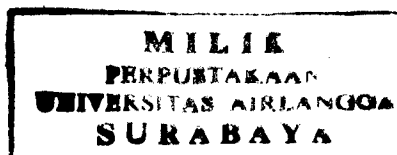
(spermatozoa) dan cairan semen (plasma semen). Semen pada domba mengandung sel spermatozoa sebanyak 1/3 bagian dan sisanya adalah cairan assesoris (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Menurut Toelihere (1993) semen adalah sekresi kelamin jantan yang secara normal diejakulasikan ke dalam saluran alat kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung untuk keperluan inseminasi buatan.

Ciri-ciri makroskopis semen domba yang baik adalah warna putih susu (krem), volume semen antara 0,7 – 2 ml, konsistensi pekat dan pH antara 6,9 – 7,3 (Evans and Maxwell, 1987). Sedangkan ciri mikroskopis semen domba yang baik adalah konsentrasi semen  $2 - 6 \times 10^9$  spermatozoa/ml, abnormalitas tidak lebih dari 20% dan persentase kematian tidak melebihi 50%. Kondisi semen domba ini dapat dipengaruhi oleh umur, kondisi ternak, frekuensi pengambilan dan pelaksana (Nalbandov, 1990).

#### II.4.1. Plasma semen

Plasma semen mempunyai fungsi utama sebagai media pembawa spermatozoa di saluran reproduksi hewan betina. Plasma semen mengandung bahan-bahan persenyawaan organik termasuk fruktosa, asam sitrat, sorbitol, *Gliseril Phosphoril Choline* (GPC), ergotionin, prostaglandin dan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Toelihere, 1985). Komposisi utama plasma semen adalah air (kurang dari 75%), juga terdapat beberapa substansi organik untuk melindungi dan menyediakan energi bagi spermatozoa. Plasma



semen bersifat isotonik, cairan netral dengan pH 5,9-7,3 (Evans dan Maxwell, 1987).

Plasma semen domba berkadar *gliseril phosphoril choline* lebih tinggi daripada plasma semen sapi, babi dan kuda. Bahan-bahan anorganik yang kadarnya tinggi di dalam plasma semen adalah kalium, kalsium, karbonat dan fosfat (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

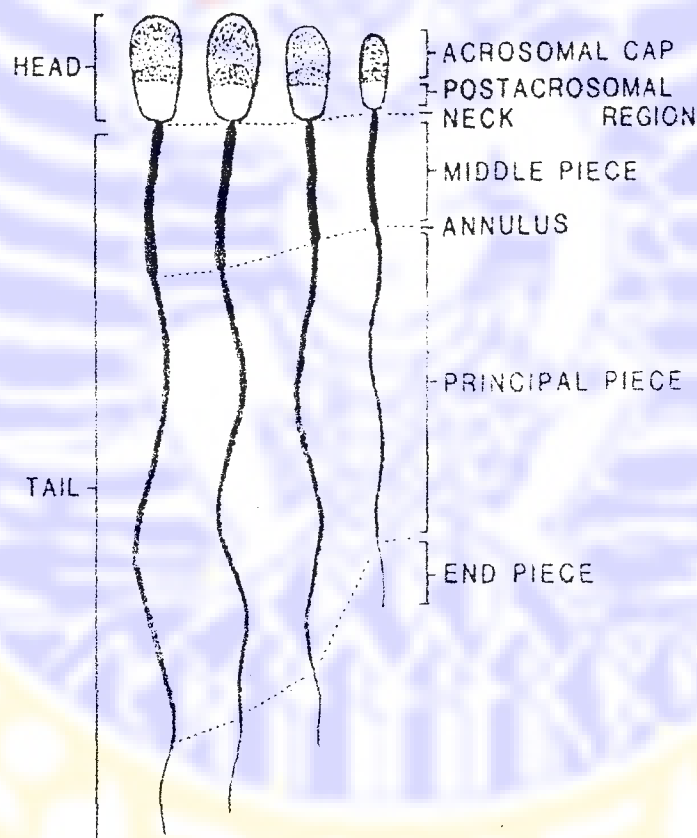
#### II.4.2. Spermatozoa

Spermatozoa adalah gamet jantan dan dihasilkan dalam tubulus seminiferus testis. Spermatozoon (sel spermatozoa tunggal) terdiri dari kepala, bagian tengah dan ekor. Bentuk dan ukuran spermatozoa berbeda pada berbagai spesies hewan, namun struktur morfologinya tetap sama. Kepala spermatozoon domba adalah bulat telur dan pipih, sebagian besar tersusun atas nukleus yang mengandung kromatin yang terdiri dari *deoxyribo nucleic acid* (DNA) yang bertanggung jawab untuk penurunan sifat ke generasi berikutnya. Panjang dan lebar kepala kira-kira 8-10 x 4-4,5  $\mu$ . Bagian anterior kepala terdapat selubung yang disebut akrosom, berisi enzim yang penting untuk proses fertilisasi (Evans dan Maxwell, 1987; Toelihere, 1985).

Bagian tengah adalah bagian ekor yang tebal, dan bagian ini dikelilingi oleh selubung mitokondria. Mitokondria sebagai tempat berlangsungnya proses-proses metabolisme spermatozoa di dalam menghasilkan energi bagi kehidupan dan pergerakan spermatozoa. Bagian tengah spermatozoa mempunyai panjang 1,5-2 kali panjang kepalanya (Toelihere, 1985).



Ekor adalah organel untuk pergerakan spermatozoa. Ekor dibagi menjadi 3 bagian yaitu bagian tengah, bagian utama, dan bagian akhir. Bagian utama adalah bagian ekor yang paling panjang. Bagian ini mempunyai selubung fibrous. Bagian akhir pendek dan tidak mempunyai selubung (Evans dan Maxwell, 1987). Bagian ekor spermatozoa domba mempunyai panjang 35-45  $\mu$  dengan panjang diameter 4-6 $\mu$  yang berbentuk menyerupai flagel. Bentuk seperti flagel tersebut bersifat kontraktile dan menimbulkan gerakan pada ekor spermatozoa (Frandsen, 1992). Struktur dari spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur dari Spermatozoa (Hafez, 1993).



### II.4.3. Metabolisme Spermatozoa

Energi yang digunakan untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan *adenosin triphosphat* (ATP) di dalam selubung mitokondria melalui reaksi-reaksi penguraiannya menjadi *adenosin diphosphat* (ADP) dan *adenosin monophosphat* (AMP). Apabila pemberian energi berupa senyawa *phosphor* (P~P) di dalam ATP dan ADP habis, kontraksi spermatozoa akan terhenti dan tidak bergerak, sehingga untuk menjaga motilitas ATP dan ADP harus dibangun kembali. Untuk membangun kembali ATP dari ADP atau ADP dari AMP adalah dengan penambahan gugus *phosphoryl* yang dapat diperoleh dari karbohidrat dan lemak (Toelihere, 1985).

Bahan organik di dalam semen yang dipakai sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitasnya adalah fruktosa, sorbitol, *glyceryl phosphoryl choline* (GPC) dan plasmalogen. Ketiga zat pertama adalah konstituen plasma semen sedangkan plasmalogen terdapat di dalam spermatozoa itu sendiri. Pembentukan kembali ATP dapat terjadi tanpa oksigen oleh fruktolisis dan dengan oksigen melalui respirasi dan fruktolisis (Toelihere, 1985). Selain keempat substrat tersebut spermatozoa dapat memetabolisir sejumlah besar substrat serupa yang tidak terdapat dalam semen atau ada dalam konsentrasi yang rendah seperti asam piruvat dan asam asetat. Asam laktat yang menumpuk dalam semen merupakan hasil metabolisme spermatozoa yang berasal dari konstituen-konstituen plasma dan bukan dari plasmalogen. Metabolisme dapat terjadi dalam kondisi aerob maupun anaerob (Evans dan Maxwell, 1987; Hafez and Hafez, 2000).

## **II.5. Pengencer**

Dalam proses IB diperlukan kualitas semen yang baik. Segera setelah ditampung semen harus diperiksa untuk menentukan kualitasnya. Jika kualitasnya baik, semen dapat diencerkan dengan pengencer yang memadai dengan maksud agar dapat tahan lebih lama (Toelihere, 1993). Semen segar tanpa pengencer bila disimpan hanya dapat hidup beberapa jam saja, dan spermatozoa akan mati karena adanya asam laktat yang bersifat racun, sebagai hasil metabolisme pada saat mengadakan pergerakan. Pengencer yang dipakai untuk penyimpanan semen harus sedemikian rupa, sehingga kualitas yang baik dari semen yang disimpan dapat dipertahankan (Hardijanto dan Hardjopranto, 1994).

Syarat penting yang harus dimiliki setiap pengencer adalah menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, melindungi spermatozoa dari kejutan dingin, sebagai penyangga untuk mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat sebagai hasil metabolisme spermatozoa, mempertahankan tekanan osmosis dan keseimbangan elektrolit yang sesuai, dapat mencegah pertumbuhan dan perkembangan kuman serta memperbanyak volume semen sehingga lebih banyak hewan betina dapat diinseminasikan dengan satu ejakulasi (Salisbury dan VanDemark, 1985).

### **II.5.1. Pengencer Kuning Telur Sitrat**

Kuning telur merupakan bagian dari telur yang mempunyai nilai gizi yang tinggi (Romanoff and Romanoff, 1963). Kuning telur mengandung lesitin dan lipoprotein 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 (Salisbury dan VanDemark, 1985).

Komposisi pengencer kuning telur sitrat terdiri atas: air 48,7%, protein 16,6%, lemak 32,6%, karbohidrat 1,0%, dan mineral 1,1%. Unsur lemak dari kuning telur yang terpenting adalah karena *ovolesitin* mengandung *Glyseril Phosphoril Choline* (GPC). Karbohidrat dari kuning telur berupa glukosa dan gabungan karbohidrat yaitu galaktosa dan manosa yang menghasilkan energi dalam proses metabolisme. Protein dalam kuning telur yang terpenting adalah *ovolivetin* dan *ovolitelin* karena kedua protein ini mengandung gugus fosfat. Natrium sitrat berperan sebagai *buffer* yang mempertahankan keasamaan pengencer dan mengikat logam berat. Di samping itu natrium sitrat mampu menyebarkan butir-butir lemak sehingga spermatozoa lebih mudah diamati (Salisbury dan VanDemark, 1985). Penggunaan kuning telur sitrat sejumlah 12,5% sampai 20% dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin dan dapat mencapai daya hidup yang optimal pada suhu 5°C (Salisbury dan VanDemark, 1985; Evans dan Maxwell, 1987).

### II.5.2. Pengencer Susu Skim

Susu sapi umumnya memenuhi kriteria persyaratan sebagai pengencer semen, namun di dalam susu mentah masih mengandung beberapa faktor yang beracun bagi sel spermatozoa. Umumnya untuk digunakan sebagai pengencer, susu sapi dipanaskan lebih dulu pada suhu sekitar 92-98°C atau rata-rata 95°C

selama 10 menit. Pemanasan ini akan melepaskan gugusan *sulphydril* sebagai zat reduktif yang dapat menetralkan pengaruh toksik laktenin dari susu. Di samping itu, manfaat lain dari pemanasan susu adalah untuk mematikan mikroorganisme, mengikat ion kalsium menjadi kalsium-kaseinat yang mudah mengendap dan dapat menguraikan laktosa menjadi bentuk sakarida lain yang dapat digunakan sebagai energi oleh sel spermatozoa (Hardijanto dkk., 2000).

Susu yang dipergunakan sebagai diluter mengandung sejumlah glukosa tertentu yang menyediakan zat karbohidrat yang tidak jelas identifikasinya, substansi pelindung lesitin dan substansi untuk proses oksidasi metabolisme, termasuk penguraian komponen lemak seperti gliserol dan asam lemak. Spermatozoa tidak menghidrolisis laktosa, tetapi menggunakan glukosa dan mungkin beberapa karbohidrat yang tidak dikenal di dalam susu (Salisbury dan VanDenmark, 1985).

Apabila tidak ada susu segar dapat juga digunakan susu bubuk yang dilarutkan dalam aquades steril dengan perbandingan 1:10. Untuk pemakaian susu skim bisa mencapai 8-10% dari jumlah pelarutnya (Hardijanto dkk., 2000).

## **II.6. Kromosom Seks**

Seks secara genetika ditentukan oleh 2 kromosom yang dinamakan kromosom seks untuk membedakannya dari kromosom yang lain (kromosom somatik atau autosom). Pada manusia dan banyak spesies binatang lain, kromosom seks dinamakan kromosom X dan Y (Ganong, 1995).

Proses pembentukan spermatozoa pada mamalia menghasilkan dua tipe berdasarkan kromatin seks yang dibawa. Dari kedua tipe gamet ini, spermatozoa yang membawa kromosom X akan menghasilkan embrio betina sedangkan spermatozoa yang membawa kromosom Y akan menghasilkan embrio jantan setelah fertilisasi oosit (Utama dkk., 1998).

Mamalia betina hanya memiliki tipe kromosom seks X, sedangkan tipe kromosom seks pada mamalia jantan adalah X dan Y. Proporsi alami jumlah kromosom spermatozoa X dan Y pada hewan dan manusia umumnya sama (Nalbandov, 1990).

Menurut Salisbury dan VanDemark (1985), pada hewan jantan memiliki satu kromosom kelamin (kromosom seks) yang lebih besar dari yang lain. Kromosom yang lebih besar adalah kromosom X, yang lebih kecil adalah kromosom Y. Hal tersebut secara morfologi tampak pada bentuk dan ukuran kepala spermatozoa yang berbeda. Pada spermatozoa pembawa kromosom X, ukuran kepala spermatozoanya lebih besar karena kandungan DNA (*Deoxyribonucleic acid*) lebih banyak (3 – 4%) dari pada spermatozoa pembawa kromosom Y yang lebih kecil. Sedangkan dari motilitas dan kelincahan, spermatozoa pembawa kromosom Y lebih cepat dan lincah dari pada spermatozoa pembawa kromosom X (Hafez dan Hafez, 2000). Perbedaan kromosom seks dapat dilihat pada Tabel 1 berikut di bawah ini.



Tabel 1. Perbedaan Kromosom Seks pada Spermatozoa

No	Parameter	Perbedaannya
1.	Kandungan DNA	Spermatozoa kromosom seks Y lebih sedikit
2.	Ukuran	Spermatozoa kromosom seks X lebih besar
3.	Identifikasi	Spermatozoa kromosom seks X berfluoresens
4.	Motilitas	Spermatozoa kromosom seks Y lebih cepat
5.	Kemotaksis	Spermatozoa kromosom seks X lebih tahan pada suasana asam
6.	Aliran listrik	Spermatozoa kromosom X migrasi ke katoda

Sumber: Hafez (1993)

Pengertian rasio kromosom seks X dan Y adalah perbandingan jumlah ukuran kromosom seks X dan Y yang ditentukan dari ukuran kepala sel spermatozoa (panjang kali lebar) (World Health Organization, 1999). Analisis diskriptif dipakai untuk menentukan mikrobiometri (panjang kali lebar) kepala spermatozoa. Proporsi spermatozoa yang diduga pembawa kromosom seks diukur berdasarkan ukuran lebih besar atau sama dengan dan lebih kecil daripada nilai rataannya (Mahaputra dan Mustofa, 2002).



## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **III.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Inseminasi Buatan dan Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Dimulai tanggal 24 Mei 2004 sampai dengan 5 Juli 2004.

#### **III.2. Materi Penelitian**

##### **III.2.1. Bahan Penelitian**

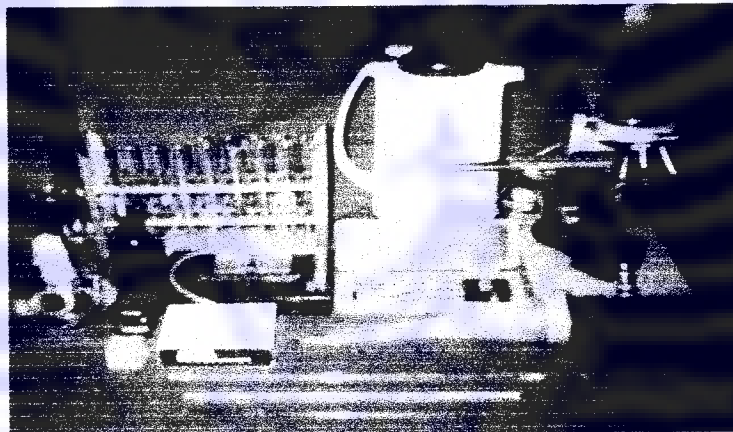
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Semen dari seekor domba ekor gemuk (DEG) jantan yang berumur 2,5 tahun dengan berat badan sekitar 25 kg, penicillin dan streptomycin, susu skim, natrium sitrat, kuning telur, aquadestilata, vaselin, air hangat, kertas saring, alkohol 70%, larutan Eosin-Negrosin. Pejantan domba ekor gemuk yang digunakan dalam penelitian ini terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Domba yang digunakan untuk Penelitian

### III.2.2. Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu unit vagina buatan lengkap dengan tabung penampung semen berskala, termos, penangas air, termometer, gelas ukur, gelas beker, Erlenmeyer, pHmeter, rak tabung, tabung reaksi, gelas obyek, gelas penutup, pemanas Bunsen, pengaduk, hemocytometer, alat suntik tuberkulin 1 ml, mikrometer, alat penghitung, mikroskop, *aluminium foil*, timbangan mikro. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Alat-alat yang digunakan dalam Penelitian

### III.2.3. Persiapan Alat dan Bahan

Persiapan yang dilakukan sebelum penelitian ini adalah penyediaan alat dan bahan, persiapan seperangkat vagina buatan lengkap dengan tabung penampung semen berskala, dan larutan pengencer susu skim, pengencer kuning telur sitrat, pengencer susu skim-kuning telur sitrat.

Pembuatan larutan pengencer susu skim, pengencer kuning telur sitrat, pengencer susu skim-kuning telur sitrat dilakukan sebelum pengambilan semen. Cara pembuatan pengencer susu skim, pengencer kuning telur sitrat, pengencer susu skim-kuning telur sitrat terdapat dalam Lampiran 1, 2 dan 3.

Pengambilan semen domba dilakukan dengan menggunakan vagina buatan dan alat-alat pemeriksaan semen disiapkan dalam kondisi bersih dan siap untuk digunakan. Sedangkan suhu penyimpanan semen dalam lemari pendingin (*refrigator*) diatur dan stabil pada kisaran antara 5-8°C.

### III.3. Metode

Setiap setelah pengambilan semen, semen diperiksa makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi: volume, warna, bau, konsistensi, dan pH. Pemeriksaan mikroskopis meliputi: konsentrasi, gerak massa, gerak individu, persentase hidup dan persentase abnormalitas, dan pengukuran mikrobiometri kepala spermatozoa. Untuk selanjutnya sebagai data penelitian, dilakukan pengukuran panjang dan lebar kepala sel spermatozoa yang hidup setiap hari sampai pada hari ke empat.

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

Sampel semen diambil 0,1-0,2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang masing-masing telah diberi label P1, P2, dan P3, kemudian diencerkan dengan susu skim, kuning telur sitrat, dan kombinasi keduanya dengan perbandingan 1:10 yaitu:

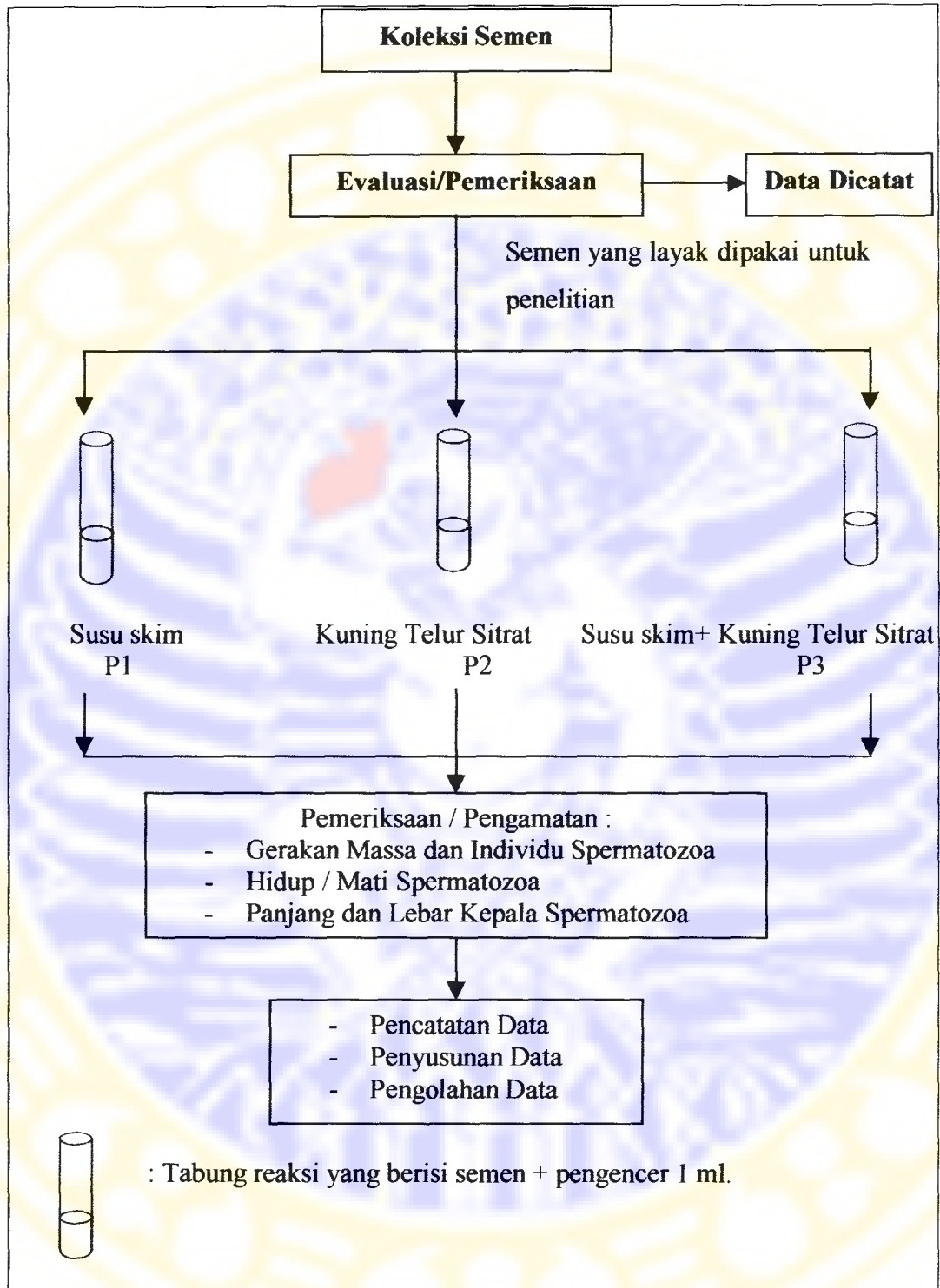
P1 : 0,1 ml semen sampai dengan 1 ml pengencer susu

P2 : 0,1 ml semen sampai dengan 1 ml pengencer kuning telur sitrat

P3 : 0,1 ml semen sampai dengan 1 ml pengencer kombinasi keduanya

Pada masing-masing perlakuan dilakukan 6 kali ulangan dan masing-masing perlakuan dilakukan pengamatan selama empat hari.

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap yaitu pembuatan pengencer semen (Lampiran 1, 2, dan 3), pengambilan semen (Lampiran 4), pemeriksaan semen (Lampiran 5 dan 6), pengenceran dan penyimpanan semen pada suhu 5-8°C. Skema langkah-langkah penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5. Skema Langkah Penelitian**

Untuk metode pengukuran mikrobiometri kepala spermatozoa dapat dilakukan dengan cara: preparat ulas yang telah diwarnai dengan eosin negrosin diperiksa proporsi hidup dan diukur panjang kali lebar kepala spermatozoa menggunakan mikroskop yang telah dilengkapi dengan lensa okuler berskala mikrometer. Hasil pemeriksaan yang didapatkan panjang kali lebar kepala spermatozoa masing-masing sebesar 7,35  $\mu\text{m}$ ; 8,4  $\mu\text{m}$ ; 9,2  $\mu\text{m}$ ; 9,45  $\mu\text{m}$ ; dan 10,5  $\mu\text{m}$  dengan rata-rata 8,98  $\mu\text{m}$ . Berdasarkan rata-rata yang didapat, pada ukuran luas kepala sel spermatozoa yang lebih kecil dari rata-rata diasumsikan sebagai sel spermatozoa pembawa kromosom Y, sedangkan yang lebih besar dari rata-rata diasumsikan sebagai sel spermatozoa pembawa kromosom X (Mahaputra dan Mustofa, 2002).

### **III.3. Rancangan Penelitian dan Analisis Statistik**

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji Anova Dua Arah (faktorial) dengan menggunakan program SPSS. Data yang terdiri dari persentase hidup dan kromosom seks X dan Y spermatozoa diuji dengan menggunakan uji Anova Dua Arah (faktorial), dengan tingkat probabilitas 0,05. Apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Duncan.



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### IV.1. Pemeriksaan Semen Domba Sebelum Perlakuan

Hasil pemeriksaan semen domba sebelum perlakuan dapat dilihat pada

Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Semen Domba Sebelum Perlakuan**

n	Vol (ml)	Ks	Bau	Wrm	pH	Kt (juta/ml)	GM	GI	Hdp (%)	Abn (%)
1	1,2	Kental	Khas	Putih	6,8	2340	+++	P	91	3
2	1,8	Kental	Khas	Putih	6,5	2040	+++	P	89	6
3	1,2	Kental	Khas	Putih	7	2520	+++	P	96	5
4	1,5	Kental	Khas	Putih	6,7	2160	+++	P	92	7
5	1,3	Kental	Khas	Putih	6,5	2230	+++	P	90	9
6	1,1	Kental	Khas	Putih	6,9	2510	+++	P	93	6

Keterangan Tabel 2:

n = Ulangan  
 Vol = Volume  
 Ks = Konsistensi  
 Wrm = Warna  
 GI = Gerakan Individu  
 GM = Gerakan Massa

P = Prograssif  
 Hdp = Hidup  
 Abn = Abnormal  
 Kt = Konsentrasi  
 +++ = Sangat baik

Untuk metode pengukuran mikrobiometri kepala spermatozoa diperiksa proporsi hidup dan diukur panjang kali lebar kepala spermatozoa menggunakan mikroskop yang telah dilengkapi dengan lensa okuler berskala mikrometer. Hasil pemeriksaan yang didapatkan panjang kali lebar kepala spermatozoa masing-masing sebesar 7,35  $\mu\text{m}$ ; 8,4  $\mu\text{m}$ ; 9,2  $\mu\text{m}$ ; 9,45  $\mu\text{m}$ ; dan 10,5  $\mu\text{m}$  dengan rata-rata 8,98  $\mu\text{m}$ . Spermatozoa pembawa kromosom X dan Y ditentukan dengan mengambil ukuran yang lebih kecil dari 8,98  $\mu\text{m}$  yaitu 7,35  $\mu\text{m}$ ; 8,4  $\mu\text{m}$  (spermatozoa pembawa kromosom Y) dan ukuran yang lebih besar dari 8,98  $\mu\text{m}$  yaitu 9,45  $\mu\text{m}$ ; 10,5  $\mu\text{m}$  (spermatozoa pembawa kromosom X).

#### IV.2. Persentase Hidup Spermatozoa Domba Setelah Perlakuan

Data mengenai persentase hidup spermatozoa domba pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari telah disusun dalam bentuk tabel (Lampiran 7), kemudian data tersebut ditransformasikan untuk dianalisis lebih lanjut (disajikan pada Lampiran 8). Berikut ini rata-rata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa domba (%) pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari dapat dilihat pada Tabel 3 berikut ini.

**Tabel 3. Rata-rata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa domba (%) pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C.**

Perlakuan kombinasi	Rata-rata $\pm$ SD	pH
P3 Hari-0	86,17 <sup>a</sup> $\pm$ 3,061	7
P2 Hari-0	86,00 <sup>a</sup> $\pm$ 2,366	7
P1 Hari-0	84,50 <sup>a</sup> $\pm$ 2,345	6,8
P2 Hari-1	77,00 <sup>b</sup> $\pm$ 3,406	6,9
P3 Hari-1	76,67 <sup>b</sup> $\pm$ 4,502	6,9
P1 Hari-1	72,67 <sup>c</sup> $\pm$ 1,211	6,7
P2 Hari-2	68,83 <sup>c</sup> $\pm$ 2,858	6,8
P3 Hari-2	68,67 <sup>c</sup> $\pm$ 4,131	6,8
P1 Hari-2	63,67 <sup>d</sup> $\pm$ 1,966	6,6
P2 Hari-3	59,67 <sup>de</sup> $\pm$ 4,844	6,7
P3 Hari-3	57,50 <sup>e</sup> $\pm$ 3,674	6,7
P1 Hari-3	49,33 <sup>f</sup> $\pm$ 5,538	6,5
P2 Hari-4	48,00 <sup>f</sup> $\pm$ 3,464	6,6
P3 Hari-4	46,67 <sup>f</sup> $\pm$ 3,983	6,6
P1 Hari-4	34,33 <sup>g</sup> $\pm$ 3,830	6,4

Keterangan:

Superskrip dengan notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Hasil analisis data persentase hidup spermatozoa domba yang menggunakan uji Anova Dua Arah (faktorial), dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan 5% (Lampiran 9) menunjukkan bahwa terjadi interaksi yang nyata antara perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari, yang berarti kedua faktor tidak bebas satu sama lain. Perlakuan kombinasi yang memberikan persentase hidup terbaik setelah penyimpanan adalah perlakuan P2-Hari 1 yaitu semen yang diberi pengencer kuning telur sitrat dan diperiksa pada hari ke-1, tetapi tidak berbeda nyata dengan P3 yang diberi pengencer kombinasi susu dengan kuning telur sitrat. Sedangkan hasil persentase hidup terendah didapatkan pada perlakuan kombinasi P1-Hari 4 yaitu semen yang diberi pengencer susu dan diperiksa pada hari ke-4. Dalam Tabel 3, dapat dilihat bahwa semen yang diberi pengencer susu (P1) memperlihatkan penurunan persentase hidup lebih cepat dari pada pengencer kuning telur sitrat (P2) maupun kombinasi susu dengan kuning telur sitrat (P3).

#### **IV.3. Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom Y**

Data mengenai persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom Y pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari telah disusun dalam bentuk tabel (Lampiran 10), kemudian data tersebut ditransformasikan untuk dianalisis lebih lanjut (disajikan pada Lampiran 11). Berikut ini rata-rata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom Y (%) pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari dapat dilihat pada Tabel 4 berikut ini.

**Tabel 4. Rata-rata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom Y (%) pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C.**

Perlakuan Kombinasi	Rata-rata $\pm$ SD	pH
P2 Hari-0	41,75 <sup>a</sup> $\pm$ 0,868	7
P1 Hari-0	40,88 <sup>a</sup> $\pm$ 1,569	6,8
P3 Hari-0	40,78 <sup>a</sup> $\pm$ 1,585	7
P2 Hari-1	38,45 <sup>b</sup> $\pm$ 1,093	6,9
P3 Hari-1	37,96 <sup>b</sup> $\pm$ 1,365	6,9
P1 Hari-1	37,07 <sup>bc</sup> $\pm$ 0,724	6,7
P2 Hari-2	35,96 <sup>cd</sup> $\pm$ 1,505	6,8
P3 Hari-2	34,95 <sup>de</sup> $\pm$ 1,407	6,8
P1 Hari-2	34,13 <sup>ef</sup> $\pm$ 1,722	6,6
P2 Hari-3	32,78 <sup>fg</sup> $\pm$ 1,557	6,7
P3 Hari-3	31,17 <sup>g</sup> $\pm$ 1,871	6,7
P1 Hari-3	29,09 <sup>h</sup> $\pm$ 1,314	6,5
P2 Hari-4	28,30 <sup>h</sup> $\pm$ 1,265	6,6
P3 Hari-4	27,38 <sup>h</sup> $\pm$ 1,818	6,6
P1 Hari-4	23,52 <sup>i</sup> $\pm$ 2,019	6,4

Keterangan :

Superskrip dengan notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Hasil analisis data persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom Y yang menggunakan uji Anova Dua Arah (faktorial), dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan 5% (disajikan pada Lampiran 12) menunjukkan bahwa terjadi interaksi yang nyata antara perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan, yang berarti kedua faktor tidak bebas satu sama lain. Perlakuan kombinasi yang dapat mempertahankan persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom Y

selama empat hari penyimpanan adalah P2 Hari-4 yaitu semen yang diberi pengencer kuning telur sitrat dan diperiksa pada hari ke-4, tetapi tidak berbeda nyata dengan P3 yang telah diberi pengencer kombinasi susu dengan kuning telur sitrat. Dalam Tabel 4, dapat dilihat bahwa semen yang diberi pengencer susu (P1) menunjukkan penurunan persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom Y lebih cepat dibandingkan pengencer kuning telur sitrat (P2) dan kombinasi susu dengan kuning telur sitrat (P3).

#### **IV.4. Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom X**

Data mengenai persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom X pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari telah disusun dalam bentuk tabel (Lampiran 13), kemudian data tersebut ditransformasikan untuk dianalisis lebih lanjut (disajikan pada Lampiran 14). Berikut ini rata-rata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom X (%) pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari dapat dilihat pada Tabel 5 berikut ini.



**Tabel 5. Rata-rata dan simpangan baku persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom X (%) pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C.**

Perlakuan Kombinasi	Rata-rata $\pm$ SD	PH
P3 Hari-0	41,36 <sup>a</sup> $\pm$ 0,469	7
P1 Hari-0	40,21 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,602	6,8
P2 Hari-0	40,21 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,141	7
P3 Hari-1	38,64 <sup>bc</sup> $\pm$ 1,530	6,9
P2 Hari-1	38,15 <sup>bc</sup> $\pm$ 1,366	6,9
P1 Hari-1	37,37 <sup>cd</sup> $\pm$ 0,697	6,7
P3 Hari-2	36,76 <sup>cd</sup> $\pm$ 1,385	6,8
P2 Hari-2	35,87 <sup>de</sup> $\pm$ 0,907	6,8
P1 Hari-2	34,64 <sup>ef</sup> $\pm$ 1,673	6,6
P3 Hari-3	33,82 <sup>f</sup> $\pm$ 1,738	6,7
P2 Hari-3	33,19 <sup>f</sup> $\pm$ 1,543	6,7
P2 Hari-4	30,31 <sup>g</sup> $\pm$ 1,416	6,6
P3 Hari-4	30,29 <sup>g</sup> $\pm$ 2,177	6,6
P1 Hari-3	30,24 <sup>g</sup> $\pm$ 3,321	6,5
P1 Hari-4	25,39 <sup>h</sup> $\pm$ 2,617	6,4

Keterangan:

Superskrip dengan notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Hasil analisis data persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom X yang menggunakan uji Anova Dua Arah (faktorial), dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan 5% (disajikan pada Lampiran 15) menunjukkan bahwa terjadi interaksi yang nyata antara perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari, yang berarti kedua faktor tidak bebas satu sama lain. Perlakuan Kombinasi yang dapat mempertahankan persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom X selama empat hari penyimpanan adalah P3-hari 4 yaitu



semen yang diberi pengencer kombinasi susu dengan kuning telur sitrat dan diperiksa pada hari ke-4, tetapi tidak berbeda nyata dengan P2 yang telah diberi pengencer kuning telur sitrat. Dalam Tabel 5, dapat dilihat bahwa semen yang diberi pengencer susu (P1) menunjukkan penurunan persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom X lebih cepat dibandingkan pengencer kuning telur sitrat (P2) dan kombinasi susu dengan kuning telur sitrat (P3).

#### **IV.5. Rasio Seks Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y**

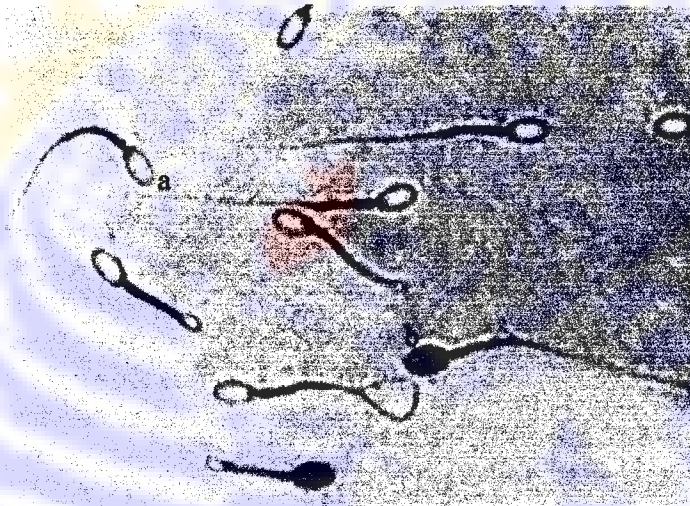
Berdasarkan data mengenai persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari dapat dibandingkan rata-rata persentase hidup seks kromosom spermatozoa. Berikut ini rasio seks spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari dapat dilihat pada Tabel 6 sebagai berikut.

**Tabel 6. Rasio seks spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C.**

Perlakuan Kombinasi	Kromosom X	Kromosom Y
P2 Hari-0	40,21 ± 1,141	41,75 ± 0,868
P3 Hari-0	41,36 ± 0,469	40,78 ± 1,585
P1 Hari-0	40,21 ± 0,602	40,88 ± 1,569
P2 Hari-1	38,15 ± 1,366	38,45 ± 1,093
P3 Hari-1	38,64 ± 1,530	37,96 ± 1,365
P1 Hari-1	37,37 ± 0,697	37,07 ± 0,724
P2 Hari-2	35,87 ± 0,907	35,96 ± 1,505
P3 Hari-2	36,76 ± 1,385	34,95 ± 1,407
P1 Hari-2	34,64 ± 1,673	34,13 ± 1,722
P2 Hari-3	33,19 ± 1,543	32,78 ± 1,557
P3 Hari-3	33,82 ± 1,738	31,17 ± 1,871
P1 Hari-3	30,24 ± 3,321	29,09 ± 1,314
P2 Hari-4	30,31 ± 1,416	28,30 ± 1,265
P3 Hari-4	30,29 ± 2,177	27,38 ± 1,818
P1 Hari-4	25,39 ± 2,617	23,52 ± 2,019

Hasil rasio seks spermatozoa pembawa kromosom X dan Y menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata persentase hidup pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C selama 4 hari. Perlakuan kombinasi spermatozoa pembawa kromosom X dan Y menunjukkan rasio yang mendekati 50% : 50% yaitu P1 Hari-0 ( 40,21 ± 0,602 ) : ( 40,88 ± 1,568 ), P2 Hari-0 ( 40,21 ± 1,141 ) : ( 41,75 ± 0,868 ), dan P3 Hari-0 ( 41,36 ± 0,469 ) : ( 40,78 ± 1,585 ). Proporsi spermatozoa pembawa kromosom X dan Y mengalami penurunan pada setiap harinya dan pada hari ke-3 mengalami penurunan yang drastis dan cepat. Pada perlakuan pengencer susu (P1) menunjukkan penurunan persentase

spermatozoa pembawa kromosom X dan Y lebih cepat dibandingkan pengencer kuning telur sitrat (P2) dan kombinasi susu dan kuning telur sitrat (P3). Pada Tabel 6, dapat dilihat bahwa spermatozoa pembawa kromosom X lebih dapat bertahan hidup dari pada spermatozoa pembawa kromosom Y.



Gambar 6. Spermatozoa hidup dan mati pada pewarnaan eosin-negrosin dengan perbesaran 400 kali

Keterangan :

a: spermatozoa hidup (tidak terwarnai)

b: spermatozoa mati (terwarnai)

## BAB V

### PEMBAHASAN

#### V.1. Persentase Hidup Spermatozoa Domba

Persentase hidup dan motilitas spermatozoa merupakan salah satu indikator untuk menilai baik buruknya kualitas semen, semakin tinggi persentase hidup dan motilitasnya semakin baik pula kualitas semen itu dan sebaliknya. Persentase hidup sel spermatozoa ini sangat dipengaruhi oleh cairan seks pelengkap yang dikeluarkan oleh kelenjar vesikula seminalis, karena cairan seks pelengkap mempunyai fungsi untuk menetralkan keasaman dari saluran kelamin dan juga sebagai media yang mendukung kehidupan dan gerak spermatozoa (Suprayogi, 1996).

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa terdapat interaksi antara perlakuan pengencer dengan lama waktu penyimpanan. Sehingga kedua faktor tidak dapat berdiri sendiri-sendiri atau tidak bebas satu sama lain. Hasil menunjukkan bahwa adanya perbedaan nyata antara perlakuan pengencer dengan lama waktu penyimpanan. Pada perlakuan 3(P3) sebelum disimpan (Hari-0) pada suhu 5°C sebesar  $86,17 \pm 3,061$  setelah disimpan pada suhu 5°C (Hari-1) sebesar  $76,67 \pm 4,502$  ; pada perlakuan 2 (P2) sebelum disimpan (Hari-0) pada suhu 5°C sebesar  $86,00 \pm 2,366$  setelah disimpan pada suhu 5°C (Hari-1) sebesar  $77,00 \pm 3,406$  ; pada perlakuan 1(P1) sebelum disimpan (Hari-0) pada suhu 5°C sebesar  $84,50 \pm 2,345$  setelah disimpan pada suhu 5°C (Hari-1) sebesar

72,67±1,211, diikuti berturut-turut hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-4 dengan nilai persentase hidup terendah.

Penurunan persentase hidup spermatozoa setelah diencerkan disebabkan oleh penyesuaian tekanan osmotik antara semen dengan pengencer. Perubahan ini akan mengakibatkan penurunan permeabilitas membran sehingga akan terjadi lisis dan kematian (Salisbury dan VanDenmark, 1985).

Pada penyimpanan 5°C, spermatozoa tidak memproduksi produk samping yang banyak, peroksidasi lipid berjalan lambat, dan sel tidak rusak dengan cepat. Namun tetap saja pendinginan dalam penyimpanan dapat menimbulkan stres pada spermatozoa dan mengakibatkan kerusakan sel (Anonimus, 2004). Oleh karena itu, persentase hidup spermatozoa pada suhu simpan 5°C tetap menurun walaupun tidak dengan cepat dan drastis.

Dalam penelitian ini, pengencer yang mengandung kuning telur lebih baik dalam mempertahankan persentase hidup spermatozoa dan terdapat pada perlakuan P2 dan P3. Hal ini berhubungan dengan sifat susu yang lebih cepat asam dalam penyimpanan dibandingkan kuning telur. Pengaruh yang ditimbulkan dari keasaman ini adalah menumpuknya asam laktat yang berasal dari hasil buangan metabolisme spermatozoa yang bersifat racun sehingga terjadi kematian spermatozoa yang lebih banyak. Selain itu, pada kuning telur terdapat ovovitelin dan ovolivetin yang mengandung *phosphate* dapat melindungi spermatozoa terhadap *cold shock* (Salisbury dan VanDemark, 1985).



## V.2. Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y

Hasil pemeriksaan yang didapatkan adalah panjang kali lebar kepala spermatozoa masing-masing sebesar 7,35  $\mu\text{m}$ ; 8,4  $\mu\text{m}$ ; 9,2  $\mu\text{m}$ ; 9,45  $\mu\text{m}$ ; dan 10,5  $\mu\text{m}$  dengan rata-rata 8,98  $\mu\text{m}$ . Menurut Hafez (1993), spermatozoa pembawa kromosom Y memiliki morfologi (ukuran) lebih kecil daripada spermatozoa pembawa kromosom X. Dengan ini pula dapat diasumsikan bahwa luas kepala sel spermatozoa pembawa kromosom Y lebih kecil dibandingkan sel spermatozoa pembawa kromosom X. Berdasarkan rata-rata yang didapat, pada ukuran luas kepala sel spermatozoa yang lebih kecil dari rata-rata diasumsikan sebagai sel spermatozoa pembawa kromosom Y, sedangkan yang lebih besar dari rata-rata diasumsikan sebagai sel spermatozoa pembawa kromosom X (Mahaputra, 2002).

Berdasarkan hasil yang didapat pada Tabel 4 dan Tabel 5, penurunan persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom Y lebih cepat dibandingkan spermatozoa pembawa kromosom X pada setiap harinya. Salah satu faktor yang mempengaruhi adalah spermatozoa pembawa kromosom Y lebih tahan pada pH basa sedangkan spermatozoa pembawa kromosom X lebih tahan pada pH asam.

Suasana basa dapat meningkatkan motilitas spermatozoa pembawa kromosom Y untuk membuahi sel telur sehingga energi yang dikeluarkan optimum. Pada suasana asam energi yang dimiliki spermatozoa pembawa kromosom Y sudah habis sedangkan spermatozoa pembawa kromosom X masih aktif karena Bergeraknya lambat sehingga energi yang dimiliki masih banyak yang memungkinkan untuk bertahan hidup lebih lama (Anonimus, 2000).



### V.3. Rasio Seks Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y

Data hasil penelitian yang dihitung berdasarkan perbedaan ukuran mikrobiometri didapatkan proporsi kromosom seks spermatozoa domba pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan mendekati 50% : 50% yaitu P2 Hari-0 (40,21 : 41,75), P3 Hari-0 (41,36 : 40,78) dan P1 Hari-0 (40,21 : 40,88). Hal ini didukung oleh Nalbandov (1990) yang menyatakan karena lingkungan internal dan eksternal mempengaruhi rasio seks yang normal harus 50 : 50. Pada hewan ternak, rasio seks saat kelahiran mendekati 1 : 1 dengan beberapa spesies mengalami sedikit kelebihan akan jantan dan spesies yang lain mengalami kelebihan betina (Legates, 1990).

Berdasarkan hasil penelitian yang kemudian dianalisis dengan menggunakan uji Duncan, didapat perbedaan proporsi kromosom seks X dan Y yang nyata antara perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan didasarkan pada ukuran mikrobiometri kepala sel spermatozoa. Sel spermatozoa pembawa kromosom X menunjukkan lebih bertahan hidup dari pada sel spermatozoa pembawa kromosom Y. Hal ini didukung oleh penampilan kromosom X dan Y berbeda dalam hal penampilan fisik, sebagai contoh adalah spermatozoa pembawa kromosom Y lebih kecil dari spermatozoa pembawa kromosom X, mungkin lebih ringan dan memungkinkan berenang lebih cepat sehingga motilitas lebih cepat menurun menyebabkan tingkat kematian lebih tinggi dalam penyimpanan beberapa hari.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **VI.1. Kesimpulan**

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah :

1. Perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C berpengaruh terhadap persentase hidup dan rasio kromosom seks spermatozoa domba.
2. Terdapat interaksi antara perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C terhadap persentase hidup dan rasio kromosom seks spermatozoa domba.

#### **VI.2. Saran**

Saran yang dapat diberikan setelah dilakukan penelitian adalah :

1. Digunakan semen cair yang diberi pengencer susu, kuning telur sitrat, dan kombinasi keduanya yang disimpan tidak lebih dari 3 hari dalam inseminasi buatan (IB).
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pengencer terhadap kromosom seks spermatozoa dengan metode pemisahan yang lebih baik.

## RINGKASAN

**Linda Christina Indriyanti.** Pengaruh Pengencer Susu, Kuning Telur Sitrat, dan Kombinasi Keduanya Terhadap Persentase Hidup dan Rasio Kromosom Seks Spermatozoa Domba pada Suhu Simpan dan Lama Simpan, di bawah bimbingan Dr. Hardijanto, M.S., Drh selaku pembimbing pertama dan Nusdianto Triakoso, M.P., Drh selaku pembimbing kedua.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pengencer susu, kuning telur sitrat, dan kombinasi keduanya terhadap spermatozoa domba dalam mempertahankan persentase hidup dan rasio kromosom seks pada penyimpanan 5-8°C selama 4 hari.

Bahan penelitian berupa semen dari seekor domba ekor gemuk jantan yang sehat berumur 2,5 tahun. Setiap setelah pengambilan semen, semen diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Sampel semen diambil 0,1-0,2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang masing-masing tabung berisi pengencer susu skim, kuning telur sitrat, dan kombinasi keduanya dan diberi label P1 (susu skim), P2 (kuning telur sitrat), dan P3 (susu skim + kuning telur sitrat). Semen kemudian disimpan pada suhu 5-8°C, untuk selanjutnya dilakukan pengukuran panjang kali lebar kepala sel spermatozoa yang hidup setiap hari. Pada masing-masing perlakuan dilakukan 6 kali ulangan dan dilakukan pengamatan selama 4 hari.

Hasil penelitian persentase hidup menunjukkan bahwa adanya interaksi yang nyata antara perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan yang berarti

kedua faktor tidak bebas satu sama lain. Perlakuan yang memberikan persentase hidup terbaik setelah penyimpanan adalah P2- Hari 1 yaitu semen yang diberi pengencer kuning telur sitrat dan periksa pada hari ke-1, tetapi tidak berbeda nyata dengan P3 yang telah diberi pengencer kombinasi susu dengan kuning telur sitrat.

Hasil analisis terhadap persentase hidup spermatozoa pembawa kromosom X dan Y menunjukkan adanya interaksi antara perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan yang berarti kedua faktor tidak bebas satu sama lain. Pengencer yang mampu mempertahankan persentase hidup selama 4 hari penyimpanan adalah P2 dan P3. Pengencer susu memperlihatkan penurunan yang lebih cepat dibandingkan pengencer yang mengandung kuning telur sitrat.

Hasil rasio seks spermatozoa pembawa kromosom X dan Y menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata persentase hidup pada perlakuan pengencer dan lama waktu penyimpanan pada 5-8°C. Spermatozoa pembawa kromosom X lebih dapat bertahan hidup dari pada spermatozoa pembawa kromosom Y.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2004. *Why is Semen Cooled*. The Goulburn Valley Equine Hospital. [http://www.gvequine.com.au/new\\_page\\_3.htm](http://www.gvequine.com.au/new_page_3.htm)
- Blakely, J. dan Bade, D. H. 1991. *Ilmu Peternakan*. edisi 4. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 101, 104, 105.
- Colas, G. 1984. *Semen Technology in The Ram*. In: M. Courot (Ed.). *The Male in Farm Animal Reproduction*. Martinus Nijhoff Publishers. Brussels-Luxembourg. 220-221.
- Donald's, M. 2003. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 5<sup>th</sup> Edition. Mauricio, H. P. Michael, P. D. A Blackwell Publishing Company. Philadelphia. 267.
- Evans, G. and W. M. C. Maxwell. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths Pty Limited Sydney. 17-30, 93-121.
- Frandsen, R. D. 1993. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 752-792.
- Ganong, W. F. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed. 17. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 360.
- Gatenby, R. M. 1991. *Sheep*. Australia Publishing Company. Sydney. 4-11.
- Hafez, E. S. E. 1993. *X and Y Chromosome Bearing Spermatozoa*. In E. S. E. Hafez (ed) *Reproduction in Farm Animals*. 6<sup>th</sup> Edition, Lea and Febiger. Philadelphia. 440-444.
- Hafez, E. S. E. and B. Hafez. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. 96-108, 172-180.
- Hardijanto dan S. Hardjopranjoto. 1994. *Ilmu Inseminasi Buatan*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 25-28.
- Hardijanto, T. Sardjito, T. Hernawati, Susilowati, T. W. Suprayogi. 2000. *Petunjuk Praktikum Teknik Reproduksi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 2-3, 7-21.
- Hermadi, H. A. 1992. *Daya Fertilisasi Spermatozoa Domba dalam Pengencer Sari Buah Pisang dengan Pengujian Metode Flushing Embrio*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya. 6-7.



- Hozumi, T. 2001. *Reproductive Physiology and Disorders*. International Cooperation Agency. Japan. 3-4.
- Hunter, R. H. F. 1995. *Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik*. Penerbit ITB. Bandung. 123, 147, 153.
- Ismudiono. 1999. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Edisi 2. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 7-12.
- Kusriningrum, R. 1989. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Universitas Airlangga. Surabaya. 139-143.
- Legates, J. E. and E. J. Warwick. 1990. *Breeding and Improvement of Farm Animals*. 8<sup>th</sup>. Ed. Mc Graw Hill Publications in The Agricultural Science. Philadelphia. 49-51.
- Maciejowski, J. and J. Zieba. 1982. *Genetics and Animal Breeding*. Elsevier. Developments in Animal and Veterinary Sciences. 10A. 178-179, 185.
- Mahaputra, L., dan I. Mustofa. 2002. *Pemisahan Sel Sperma Pembawa Kromosom Kelamin dan Perkembangan Embrio Hasil Fertilisasi in vitro pada Sapi Madura*. Media Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 8-10.
- Mulyono, S. 2004. *Teknik Pembibitan Kambing dan Domba*. Penebar Swadaya. Jakarta. 1-2, 8-10.
- Nalbandov, A. V. 1990. *Fisiologi Reproduksi Pada Mamalia dan Unggas*. Edisi ke-3. Universitas Indonesia. Jakarta. 4-11, 43-53.
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara Sumber Widya. Jakarta Pusat. 545-553.
- Perry, E. J. 1973. *The Artificial Insemination of Farm Animals*. Rutgers University Press. Philadelphia. 224-230.
- Romanoff, A. L. and A. J. Romanoff. 1963. *The Avian Egg*. John Wiley and Sons, Inc. Philadelphia. 114-115, 315-343.
- Salisbury, G. W. and N. L. VanDemark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 566-590.
- Suprayogi, T. W. 1996. *Pengaruh Waktu Penyimpanan Bahan Pengencer Kuning Telur Sitrat Terhadap Daya Fertilisasi Sel Mani Domba*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya. 19-22.



- Taylor, R. E. 1992. *Scientific Farm Animal Production: An Introduction to Animal Science*. 4<sup>th</sup>ed. Macmillan Publishing Company. New York. 125.
- Toelihere, M. R. 1985. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung. 93-100, 116-123.
- Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Cetakan 3. Penerbit Angkasa. Bandung. 77-89.
- Trianasari, R. 2001. *Pengaruh Berbagai Bahan Pengencer Dalam Proses Pembekuan Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Domba*. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 12-14.
- Utama, S., L. Mahaputra., I. Mustofa. 1998. *Efektivitas Pemisahan Sel Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y Dengan Teknik Percoll, Sephadex, Swim-Up dan Aside Migration Berdasarkan Analisis Sitogenik*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya. 1-2.
- World Health Organization. 1999. *WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction*. 4<sup>th</sup> Edition. Cambridge University Press. Cambridge.

### Lampiran 1. Pembuatan Pengencer Susu

Pembuatan pengencer air susu masak menggunakan susu skim bubuk Tropicana Slim, caranya ada lima tahap.

1. Timbang 10 gram susu skim bubuk, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer kemudian larutkan dengan aquadestilata ad 100 ml.
2. Masukkan labu Erlenmeyer ke dalam bejana yang berisi air secukupnya dan panaskanlah air susu tersebut secara tidak langsung dan pasanglah termometer sampai suhunya  $92^{\circ}\text{C}$ - $95^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit.
3. Dinginkan air susu tersebut perlahan-lahan hingga mencapai suhu kamar ( $20^{\circ}\text{C}$ - $27^{\circ}\text{C}$ ) sampai  $32^{\circ}\text{C}$ .
4. Lakukan penyaringan memakai kertas saring.
5. Penambahan antibiotik

Setiap satu milliliter air susu ditambahkan satu milligram streptomycin dan 1000 IU penicillin. Aduk merata (Hardijanto dkk., 2000).

### Lampiran 2. Pembuatan Pengencer Kuning Telur Sitrat

Ada tiga tahap pembuatan pengencer ini.

1. Pembuatan larutan sitrat

Larutan sitrat dibuat dengan cara memanaskan

Natrium sitrat                      2,9 gram

Aquadestilata              ad      100 ml

Setelah semuanya larut, larutan sitrat tersebut dibiarkan dingin hingga mencapai suhu kamar ( $20^{\circ}\text{C}$ - $27^{\circ}\text{C}$ ) sampai  $32^{\circ}\text{C}$ .

## 2. Pembuatan larutan kuning telur sitrat

Telur ayam dibersihkan kulitnya dengan menggunakan alkohol 70%. Setelah kering maka telur dipecah dan diambil kuningnya kemudian diletakkan diatas kertas saring untuk menyerap putih telur yang masih tertinggal. Larutan kuning telur sitrat dibuat dengan mencampurkan 1:4 bagian yaitu satu bagian kuning telur dengan empat bagian larutan sitrat.

## 3. Penambahan antibiotik

Setiap satu milliliter larutan kuning telur sitrat ditambahkan satu milligram streptomycin dan 1000 IU penicillin. Aduk merata (Hardijanto dkk., 2000).

### **Lampiran 3. Pembuatan Pengencer Susu dengan Kuning Telur Sitrat**

Pembuatan bahan pengencer ini sama dengan lampiran di depan, hanya dengan melakukan pencampuran pada kedua bahan tersebut menggunakan perbandingan 1:1, kemudian ditambahkan antibiotik. Aduk merata (Trianasari, 2001).

### **Lampiran 4. Cara Pengambilan Semen Domba**

Betina pemancing (bisa juga dengan domba jantan) disiapkan, dengan cara diikat atau dipegang di tempat yang digunakan untuk menampung semen domba. Domba jantan yang akan diambil semennya didekatkan pada betina pemancing, kemudian dilakukan gerakan mendekat dan menjauhkan pejantan dari betina pemancing agar merangsang libidonya lebih besar dan volume semen yang

dikeluarkan lebih banyak. Operator yang akan mengambil semen memeriksa suhu dalam saluran vagina buatan antara 42°C-45°C, kemudian operator mengambil posisi di belakang sebelah kanan betina pemancing. Vagina buatan dipegang dengan tangan kanan miring ke atas dengan kemiringan sekitar 45° dengan garis horizontal. Pada saat pejantan naik dan melakukan gerakan ejakulasi, prepusium dipegang tepat pada pangkal penis dengan tangan kiri dan diarahkan masuk ke dalam vagina buatan. Tabung penampung berskala dilepaskan dari corong karet vagina buatan, dan semen yang ditampung ditutup dengan *aluminium foil* untuk menghindarkan semen dari sinar ultra violet (Hardijanto dkk.,2000).

#### **Lampiran 5. Teknik Pemeriksaan Makroskopis Semen.**

Pemeriksaan makroskopis semen meliputi volume, konsistensi, bau, warna, dan pH dari semen. Pemeriksaan makroskopis dilakukan segera setelah semen ditampung.

Pemeriksaan volume semen dilakukan dengan cara melihat pada skala tabung yang digunakan untuk menampung semen. Rata-rata volume semen domba yang normal adalah 1 ml (0,5-5 ml).

Konsistensi semen dapat diketahui dengan cara memiringkan tabung penampung semen dan kembali ditegakkan. Semen dikategorikan pekat atau kental jika ada cairan menempel pada dinding tabung dan terlihat bintik kecil yang banyak seolah berdesakan turun ke bawah perlahan-lahan. Semen yang pekat atau kental menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa dalam semen

tersebut tinggi. Semen yang encer tidak meninggalkan cairan yang membekas pada dinding tabung.

Semen dari setiap jenis hewan yang normal mempunyai bau yang spesifik. Semen domba berbau merangsang. Bau semen yang tidak normal, misalnya busuk dan anyir dapat digunakan sebagai indikasi adanya radang di dalam saluran reproduksi hewan jantan tersebut. Bau semen yang seperti urin berarti semen tersebut bercampur dengan urin.

Semen dari setiap hewan yang normal mempunyai karakteristik warna tertentu. Warna semen domba yang normal adalah putih pekat. Warna semen yang normal dapat berubah apabila ada kelainan pada alat kelaminnya. Warna kemerahan akan tampak pada semen bila ada luka atau perdarahan di dalam saluran alat kelamin hewan tersebut. Semen akan menampakkan warna abu-abu kotor jika semen bercampur dengan nanah, sedangkan warna kuning pada semen menunjukkan bahwa semen terkontaminasi dengan urin.

Derajat keasaman (pH) semen dapat diukur dengan menggunakan alat pHmeter atau memakai kertas lakmus (kertas pH indicator universal). Semakin rendah pH semen (asam) semakin kurang baik kualitasnya, sedangkan semakin tinggi pH semen (basa) akan menunjukkan tingkat kematian sel spermatozoa yang tinggi. pH semen domba yang normal adalah 6,4-6,8 (Hardijanto dkk., 2000).



### Lampiran 6. Teknik Pemeriksaan Mikroskopis Semen.

Semen yang akan diencerkan dan disimpan selain diperiksa secara makroskopis juga harus diperiksa secara mikroskopis. Pemeriksaan mikroskopis meliputi konsentrasi semen, gerakan massa, gerakan individu, persentase sel spermatozoa yang hidup, dan persentase sel spermatozoa yang abnormal.

Penentuan konsentrasi semen dilakukan menggunakan cara Thoma. Cara ini menggunakan pengencer berupa larutan eosin di dalam NaCl 3%. NaCl 3% berfungsi untuk mematikan sel spermatozoa, sedangkan eosin berfungsi untuk memberikan warna larutan yang melatarbelakangi pandangan menjadi kontras agar dapat menghitung sel spermatozoa dengan mudah. Pemeriksaan dengan cara Thoma adalah sebagai berikut: semen dihisap memakai pipet Hemositometer yang berisi butiran merah sampai tanda 0,5 kemudian ditambahkan larutan eosin dengan cara menghisap sampai tanda 101. Ujung karet penghisap diteuk, kemudian pipet dikocok dengan gerakan membentuk angka delapan beberapa kali sampai larutan didalamnya homogen. Larutan didalam pipet dibuang sebanyak 3 sampai 4 tetes. Setelah itu larutan diteteskan pada papan hitung Thoma melalui salah satu sisi gelas penutup. Sel spermatozoa yang hidup dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

Pemeriksaan untuk menentukan persentase sel spermatozoa yang hidup dilakukan dengan menggunakan zat warna eosin-negrosin. Sel spermatozoa yang mati akan menyerap zat warna, sehingga kepalanya berwarna merah. Sedangkan sel spermatozoa yang hidup tetap jernih, tidak berwarna. Penghitungan persentase sel spermatozoa yang hidup dilakukan dua kali penghitungan 100 ekor.



Sel spermatozoa yang abnormal dapat dihitung sekaligus bersamaan dengan pemeriksaan persentase sel spermatozoa yang hidup. Kelainan sel spermatozoa banyak terdapat pada daerah kepala, leher, ekor, dan adanya protoplasmik droplet.

Gerakan massa adalah gerakan dari sel-sel spermatozoa yang secara bersama-sama membentuk gelombang. Cara pemeriksaan gerakan massa adalah sebagai berikut: satu tetes semen diletakkan di atas gelas objek, kemudian dilakukan pengamatan gerakan massa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Kriteria penilaiannya adalah:

Sangat baik (+++) : Merupakan gelombang kecil sampai besar yang tebal dan gelap dalam jumlah banyak dan bergerak cepat.

Baik (++) : Merupakan gelombang tipis, jarang, dan gerakannya lamban.

Sedang (+) : Tidak terlihat gelombang gerakan spermatozoa sendiri-sendiri.

Buruk (0 atau N) : Hanya sedikit atau tidak ada sama sekali gerakan individunya.

Gerakan massa yang memenuhi syarat untuk pelaksanaan IB dan disimpan adalah yang bernilai (+++) dan (++).

Pemeriksaan terhadap gerakan individu juga dilakukan. Pergerakan yang baik juga memungkinkan sel spermatozoa dapat mencapai sel telur di dalam saluran *oviduct* dalam waktu yang relatif singkat, sehingga memungkinkan terjadinya pembuahan yang sempurna. Cara pemeriksaan: satu tetes larutan NaCl fisiologis diletakkan di atas gelas objek, kemudian ditambahkan satu tetes semen

dan diaduk hingga homogen. Gelas objek ditutup dengan gelas penutup dan dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

Penilaian terhadap gerakan individu adalah sebagai berikut:

- P : Gerakan progresif, merupakan gerakan aktif menuju ke depan.
- O (V) : Gerakan osilatoris atau vibratoris, merupakan gerakan ayun, berputar, dan lamban.
- C : Gerakan sirkular, merupakan gerakan melingkar.
- R : Gerakan *reverse*, merupakan gerakan mundur.
- N : Nekrospermia, tidak ada gerakan.

Semen yang layak digunakan dalam pelaksanaan IB adalah semen dengan gerakan individu P (Hardijanto dkk., 2000).

**Lampiran 7. Data Persentase Hidup Spermatozoa Domba**

Ulangan	Perlakuan														
	a <sub>1</sub>					a <sub>2</sub>					a <sub>3</sub>				
	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>
1	87	74	63	50	38	89	82	74	66	53	90	85	76	63	52
2	84	74	62	41	29	83	77	68	55	44	83	75	66	53	46
3	81	72	66	59	36	85	76	68	56	47	82	73	64	54	41
4	83	73	65	51	38	84	73	66	57	45	86	73	68	59	47
5	85	72	66	46	30	87	75	67	60	51	88	76	70	60	50
6	87	74	61	48	36	88	78	70	62	48	89	79	68	57	44

Keterangan:

a<sub>1</sub>: Pengencer Susub<sub>0</sub>: Hari-0a<sub>2</sub>: Pengencer Kuning Telur Sitratb<sub>1</sub>: Hari-1a<sub>3</sub>: Pengencer Susu + Kuning Telur Sitratb<sub>2</sub>: Hari-2b<sub>3</sub>: Hari-3b<sub>4</sub>: Hari-4

## Lampiran 8. Hasil Transformasi Data Persentase Hidup Spermatozoa Domba

Ulangan	Perlakuan														
	a <sub>1</sub>					a <sub>2</sub>					a <sub>3</sub>				
	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>
1	68,87	59,34	52,53	45,00	38,06	70,63	64,90	59,34	54,33	46,72	71,56	67,21	60,67	52,53	46,12
2	66,42	59,34	51,94	39,82	32,58	65,65	61,34	55,55	47,87	41,55	65,65	60,00	54,33	46,72	42,71
3	64,16	58,05	54,33	44,43	36,87	67,21	60,67	55,55	48,45	43,28	64,90	58,69	53,13	47,29	39,82
4	65,65	58,69	53,73	45,57	38,06	66,42	58,69	54,33	49,02	42,13	68,03	58,69	55,55	50,18	43,28
5	67,21	58,05	54,33	42,71	33,21	68,87	60,00	54,94	50,77	45,57	69,73	60,67	56,79	50,77	45,00
6	68,87	59,34	51,35	43,85	36,87	69,73	62,03	56,79	51,94	43,85	70,63	62,72	55,55	49,02	41,55

## Lampiran 9. Analisis Statistik Data Persentase Hidup Spermatozoa Domba

### Univariate Analysis of Variance

#### Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Perlakuan	0 Susu	30
	1 KTS	30
	2 Susu+KTS	30
Hari	0 Hari-0	18
	1 Hari-1	18
	2 Hari-2	18
	3 Hari-3	18
	4 Hari-4	18

#### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Persentase sperma hidup (y1)

Perlakuan	Hari	Mean	Std. Deviation	N
Susu	Hari-0	84,50	2,345	6
	Hari-1	72,67	1,211	6
	Hari-2	63,67	1,966	6
	Hari-3	49,33	5,538	6
	Hari-4	34,33	3,830	6
	Total		60,90	18,134
KTS	Hari-0	86,00	2,366	6
	Hari-1	77,00	3,406	6
	Hari-2	68,83	2,858	6
	Hari-3	59,67	4,844	6
	Hari-4	48,00	3,464	6
	Total		67,90	13,840
Susu+KTS	Hari-0	86,17	3,061	6
	Hari-1	76,67	4,502	6
	Hari-2	68,67	4,131	6
	Hari-3	57,50	3,674	6
	Hari-4	46,67	3,983	6
	Total		67,13	14,602
Total	Hari-0	85,56	2,572	18
	Hari-1	75,44	3,729	18
	Hari-2	67,06	3,827	18
	Hari-3	55,50	6,392	18
	Hari-4	43,00	7,252	18
	Total		65,31	15,779



## Univariate Analysis of Variance

### Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Perlakuan	0 Susu	30
	1 KTS	30
	2 Susu+KTS	30
Hari	0 Hari-0	18
	1 Hari-1	18
	2 Hari-2	18
	3 Hari-3	18
	4 Hari-4	18

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Arc.Sin. V(y1 %)

Perlakuan	Hari	Mean	Std. Deviation	N
Susu	Hari-0	66,8633	1,85204	6
	Hari-1	58,4817	,77675	6
	Hari-2	52,9350	1,17272	6
	Hari-3	44,6167	3,18493	6
	Hari-4	35,8433	2,33459	6
	Total		51,7480	11,10956
KTS	Hari-0	68,0850	1,96297	6
	Hari-1	61,3967	2,37907	6
	Hari-2	56,0833	1,79196	6
	Hari-3	50,3967	2,45198	6
	Hari-4	43,8500	1,98840	6
	Total		55,9623	8,78595
Susu+KTS	Hari-0	68,2617	2,51194	6
	Hari-1	61,2150	3,19777	6
	Hari-2	56,0033	2,60245	6
	Hari-3	49,3200	2,13327	6
	Hari-4	43,0800	2,28357	6
	Total		55,5760	9,27462
Total	Hari-0	67,7367	2,09936	18
	Hari-1	60,3644	2,59466	18
	Hari-2	55,0072	2,36968	18
	Hari-3	48,1111	3,57205	18
	Hari-4	40,9244	4,25117	18
	Total		54,4288	9,85172

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Arc.Sin. V(y1 %)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	8254,181 <sup>a</sup>	14	589,584	115,203	,000
Intercept	266624,267	1	266624,267	52097,472	,000
Perlakuan	325,634	2	162,817	31,814	,000
Hari	7829,038	4	1957,260	382,442	,000
Perlakuan * Hari	99,508	8	12,439	2,430	,022
Error	383,835	75	5,118		
Total	275262,282	90			
Corrected Total	8638,016	89			

a. R Squared = ,956 (Adjusted R Squared = ,947)

### Post Hoc Tests Perlakuan

Arc.Sin. V(y1 %)

Duncan<sup>a,b</sup>

Perlakuan	N	Subset	
		1	2
Susu	30	51,7480	
Susu+KTS	30		55,5760
KTS	30		55,9623
Sig.		1,000	,510

Means for groups in homogeneous subsets are displayed  
Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 5,118.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30,000.

b. Alpha = ,05.

**Hari**

Arc.Sin. V(y1 %)

Duncan<sup>a,b</sup>

Hari	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Hari-4	18	40,9244				
Hari-3	18		48,1111			
Hari-2	18			55,0072		
Hari-1	18				60,3644	
Hari-0	18					67,7367
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 5,118.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18,000.

b. Alpha = ,05.

**Pengaruh Kombinasi Perlakuan\*Waktu**

Arc.Sin. V(y1 %)

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan Kombinasi	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
Susu~Hari-4	6	35,8433						
Susu+KTS~Hari-4	6		43,0800					
KTS~Hari-4	6		43,8500					
Susu~Hari-3	6		44,6167					
Susu+KTS~Hari-3	6			49,3200				
KTS~Hari-3	6			50,3967	50,3967			
Susu~Hari-2	6				52,9350			
Susu+KTS~Hari-2	6					56,0033		
KTS~Hari-2	6					56,0833		
Susu~Hari-1	6					58,4817		
Susu+KTS~Hari-1	6						61,2150	
KTS~Hari-1	6						61,3967	
Susu~Hari-0	6							66,8633
KTS~Hari-0	6							68,0850
Susu+KTS~Hari-0	6							68,2617
Sig.		1,000	,273	,412	,056	,076	,890	,318

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

## Lampiran 10. Data Presentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom Y

Ulangan	Perlakuan														
	a <sub>1</sub>					a <sub>2</sub>					a <sub>3</sub>				
	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>
1	47	38	34	27	20	46	41	39	34	26	46	42	37	32	26
2	41	36	30	22	13	43	40	35	29	21	40	38	33	25	20
3	40	35	30	25	15	45	40	35	27	22	39	35	30	24	19
4	41	35	30	23	14	43	37	32	28	21	43	37	33	27	21
5	43	37	36	22	16	46	37	33	28	22	43	37	32	25	19
6	45	37	29	23	18	43	37	33	30	23	45	38	32	28	22

**Lampiran 11. Hasil Transformasi Data Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom Y**

Ulangan	Perlakuan														
	a <sub>1</sub>					a <sub>2</sub>					a <sub>3</sub>				
	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>
1	43,28	38,06	35,67	31,31	26,56	42,71	39,82	38,65	35,67	30,66	42,71	40,40	37,47	34,45	30,66
2	39,82	36,87	33,21	27,97	21,13	40,98	39,23	36,27	32,58	27,28	39,23	38,06	35,06	30,00	26,56
3	39,23	36,27	33,21	30,00	22,79	42,13	39,23	36,27	31,31	27,97	38,65	36,27	33,21	29,33	25,84
4	39,82	36,27	33,21	28,66	21,97	40,98	37,47	34,45	31,95	27,28	40,98	37,47	35,06	31,31	27,28
5	40,98	37,47	33,21	27,97	23,58	42,71	37,47	35,06	31,95	27,97	40,98	37,47	34,45	30,00	25,84
6	42,13	37,47	36,87	28,66	25,10	40,98	37,47	35,06	33,21	28,66	42,13	38,06	34,45	31,95	27,97



## Lampiran 12. Analisis Statistik Data Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom Y.

### Univariate Analysis of Variance

#### Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Perlakuan	0 Susu	30
	1 KTS	30
	2 Susu+KTS	30
Hari	0 Hari-0	18
	1 Hari-1	18
	2 Hari-2	18
	3 Hari-3	18
	4 Hari-4	18

#### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Arc.Sin. V(y1 %)

Perlakuan	Hari	Mean	Std. Deviation	N
Susu	Hari-0	40.8767	1.56857	6
	Hari-1	37.0683	.72389	6
	Hari-2	34.1250	1.72167	6
	Hari-3	29.0950	1.31415	6
	Hari-4	23.5217	2.01936	6
	Total		32.9373	6.34722
KTS	Hari-0	41.7483	.86790	6
	Hari-1	38.4483	1.09315	6
	Hari-2	35.9600	1.50522	6
	Hari-3	32.7783	1.55664	6
	Hari-4	28.3033	1.26473	6
	Total		35.4477	4.85647
Susu+KTS	Hari-0	40.7800	1.58536	6
	Hari-1	37.9550	1.36453	6
	Hari-2	34.9500	1.40728	6
	Hari-3	31.1733	1.87135	6
	Hari-4	27.3583	1.81820	6
	Total		34.4433	5.07737
Total	Hari-0	41.1350	1.37304	18
	Hari-1	37.8239	1.18254	18
	Hari-2	35.0117	1.64830	18
	Hari-3	31.0156	2.15823	18
	Hari-4	26.3944	2.67748	18
	Total		34.2761	5.50352

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Arc.Sin. V(y1 %)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2529.929 <sup>a</sup>	14	180.709	81.760	.000
Intercept	105736.661	1	105736.661	47839.520	.000
PERLAKUA	95.785	2	47.892	21.668	.000
HARI	2392.632	4	598.158	270.631	.000
PERLAKUA * HARI	41.512	8	5.189	2.348	.026
Error	165.768	75	2.210		
Total	108432.359	90			
Corrected Total	2695.697	89			

a. R Squared = .939 (Adjusted R Squared = .927)

**Post Hoc Tests  
Perlakuan**

Arc.Sin. V(y1 %)

Duncan<sup>a,b</sup>

Perlakuan	N	Subset		
		1	2	3
Susu	30	32.9373		
Susu+KTS	30		34.4433	
KTS	30			35.4477
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.210.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

b. Alpha = .05.

**Hari**

Arc.Sin. V(y1 %)

Duncan<sup>a,b</sup>

Hari	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Hari-4	18	26.3944				
Hari-3	18		31.0156			
Hari-2	18			35.0117		
Hari-1	18				37.8239	
Hari-0	18					41.1350
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.210.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18.000.

b. Alpha = .05.

**Interaksi Perlakuan\*Hari**

Arc.Sin. V(y1 %)

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan Kombinasi	N	Subset for alpha = .05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Susu~Hari-4	6	23.5217								
Susu+KTS~Hari-4	6		27.3583							
KTS~Hari-4	6		28.3033							
Susu~Hari-3	6		29.0950							
Susu+KTS~Hari-3	6			31.1733						
KTS~Hari-3	6			32.7783	32.7783					
Susu~Hari-2	6				34.1250	34.1250				
Susu+KTS~Hari-2	6					34.9500	34.9500			
KTS~Hari-2	6						35.9600	35.9600		
Susu~Hari-1	6							37.0683	37.0683	
Susu+KTS~Hari-1	6								37.9550	
KTS~Hari-1	6								38.4483	
Susu+KTS~Hari-0	6									40.7800
Susu~Hari-0	6									40.8767
KTS~Hari-0	6									41.7483
Sig.		1.000	.059	.065	.121	.340	.243	.201	.133	.293

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

**Lampiran 13. Data Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom X**

Ulangan	Perlakuan														
	a <sub>1</sub>					a <sub>2</sub>					a <sub>3</sub>				
	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>
1	40	36	29	23	18	43	41	35	32	27	44	43	39	31	26
2	43	38	32	19	16	40	37	33	26	23	43	37	33	28	26
3	41	37	36	34	21	40	36	33	29	25	43	38	34	30	22
4	42	38	35	28	24	41	36	34	29	24	43	36	35	32	26
5	42	35	30	24	14	40	38	34	32	29	45	39	38	35	31
6	42	37	32	25	18	45	41	37	32	25	44	41	36	29	22

**Lampiran 14. Hasil Transformasi Data Persentase Hidup Spermatozoa Pembawa Kromosom X**

Ulangan	Perlakuan														
	a <sub>1</sub>					a <sub>2</sub>					a <sub>3</sub>				
	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>
1	39,23	36,87	32,58	28,66	25,10	40,98	39,82	36,27	34,45	31,31	41,55	40,98	38,665	33,83	30,66
2	40,98	38,06	34,45	25,84	23,58	39,23	37,47	35,06	30,66	28,66	40,98	37,47	35,06	31,95	30,66
3	39,82	37,47	36,87	35,67	27,28	39,23	36,87	35,06	32,58	30,00	40,98	38,06	35,67	33,21	27,97
4	40,40	38,06	36,27	31,95	29,33	39,82	36,87	35,67	32,58	29,33	40,98	36,87	36,27	34,45	30,66
5	40,40	36,27	33,21	29,33	21,97	39,82	38,06	35,67	34,45	32,58	42,13	38,65	38,06	36,87	33,83
6	40,40	37,47	34,45	30,00	25,10	42,13	39,82	37,47	34,45	30,00	41,55	39,82	36,87	32,58	27,97



**Lampiran 15. Analisis Statistik Data Persentase Hidup Spermatozoa  
Pembawa Kromosom X.**

**Univariate Analysis of Variance**

**Between-Subjects Factors**

	Value Label	N
Perlakuan	0 Susu	30
	1 KTS	30
	2 Susu+KTS	30
Hari	0 Hari-0	18
	1 Hari-1	18
	2 Hari-2	18
	3 Hari-3	18
	4 Hari-4	18

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: Arc.Sin. V(y2 %)

Perlakuan	Hari	Mean	Std. Deviation	N
Susu	Hari-0	40.2050	.60225	6
	Hari-1	37.3667	.69744	6
	Hari-2	34.6383	1.67275	6
	Hari-3	30.2417	3.32118	6
	Hari-4	25.3933	2.61673	6
	Total		33.5690	5.67120
KTS	Hari-0	40.2017	1.14052	6
	Hari-1	38.1517	1.36566	6
	Hari-2	35.8667	.90688	6
	Hari-3	33.1950	1.54323	6
	Hari-4	30.3133	1.41619	6
	Total		35.5457	3.76339
Susu+KTS	Hari-0	41.3617	.46868	6
	Hari-1	38.6417	1.53012	6
	Hari-2	36.7633	1.38509	6
	Hari-3	33.8150	1.73816	6
	Hari-4	30.2917	2.17748	6
	Total		36.1747	4.16182
Total	Hari-0	40.5894	.93251	18
	Hari-1	38.0533	1.29314	18
	Hari-2	35.7561	1.55963	18
	Hari-3	32.4172	2.72154	18
	Hari-4	28.6661	3.10950	18
	Total		35.0964	4.68882

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Arc.Sin. V(y2 %)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1745.958 <sup>a</sup>	14	124.711	44.390	.000
Intercept	110858.437	1	110858.437	39458.834	.000
PERLAKUA	110.924	2	55.462	19.741	.000
HARI	1581.819	4	395.455	140.758	.000
PERLAKUA * HARI	53.216	8	6.652	2.368	.025
Error	210.710	75	2.809		
Total	112815.106	90			
Corrected Total	1956.668	89			

a. R Squared = .892 (Adjusted R Squared = .872)

### Post Hoc Tests Perlakuan

Arc.Sin. V(y2 %)

Duncan<sup>a,b</sup>

Perlakuan	N	Subset	
		1	2
Susu	30	33.5690	
KTS	30		35.5457
Susu+KTS	30		36.1747
Sig.		1.000	.150

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.809.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

b. Alpha = .05.

**Hari**

Arc.Sin. V(y2 %)

Duncan<sup>a,b</sup>

Hari	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Hari-4	18	28.6661				
Hari-3	18		32.4172			
Hari-2	18			35.7561		
Hari-1	18				38.0533	
Hari-0	18					40.5894
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.809.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18.000.

b. Alpha = .05.

**Interaksi Perlakuan\*Hari**

Arc.Sin. V(y2 %)

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan Kombinasi	N	Subset for alpha = .05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Susu~Hari-4	6	25.3933							
Susu~Hari-3	6		30.2417						
Susu+KTS~Hari-4	6		30.2917						
KTS~Hari-4	6		30.3133						
KTS~Hari-3	6			33.1950					
Susu+KTS~Hari-3	6			33.8150					
Susu~Hari-2	6			34.6383	34.6383				
KTS~Hari-2	6				35.8667	35.8667			
Susu+KTS~Hari-2	6					36.7633	36.7633		
Susu~Hari-1	6					37.3667	37.3667		
KTS~Hari-1	6						38.1517	38.1517	
Susu+KTS~Hari-1	6						38.6417	38.6417	
KTS~Hari-0	6							40.2017	40.2017
Susu~Hari-0	6							40.2050	40.2050
Susu+KTS~Hari-0	6								41.3617
Sig.		1.000	.945	.164	.208	.148	.079	.055	.264

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.